



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

LABORATORIO DE BIOLOGÍA DEL DESARROLLO
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

“EFECTOS DE LA SECCIÓN DEL NERVIIO OVÁRICO
SUPERIOR A LAS 07:00 H EN CADA ETAPA DEL CICLO
ESTRAL DE LA RATA CON O SIN OVARIECTOMÍA
UNILATERAL EN LA REGULACIÓN DE LA SECRECIÓN DE
PROGESTERONA Y 17 β -ESTRADIOL”

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
B I Ó L O G O
P R E S E N T A:
MARTHA LAURA SANTIAGO CHIÑAS

DIRECTORA DE TESIS
M. en IBSH. Angélica Flores Ramírez

Durante el desarrollo de esta tesis se contó con el apoyo
financiero de DGAPA-PAPIIT clave IN 209508-3, IN218911-3.

MÉXICO, D.F.

Abril de 2012





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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

**“EFECTOS DE LA SECCIÓN DEL NERVIO OVÁRICO
SUPERIOR A LAS 07:00 H EN CADA ETAPA DEL CICLO
ESTRAL DE LA RATA CON O SIN OVARIECTOMÍA
UNILATERAL EN LA REGULACIÓN DE LA SECRECIÓN DE
PROGESTERONA Y 17 β -ESTRADIOL”**

Tesis presentada por: **Martha Laura Santiago Chiñas**

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

Durante esta tesis se contó con el apoyo financiero de DGAPA-PAPIIT convenio IN209508-3,
IN218911-3.

Dedicatorias

A mis padres.

Mamá, esto va dedicado a ti por todo el apoyo incondicional que siempre me has dado y que ha sido parte fundamental de este éxito logrado el día de hoy. Dedicado para ti Papá porque este logro es una prueba de que tu apoyo hacia mí ha valido la pena. Gracias a los dos por ayudarme a ser la persona que soy el día de hoy y por ser parte de esto.

A mis hermanos.

Luis, hemos sido en muchos momentos el apoyo uno del otro y al igual tu hoy compartes conmigo este momento ten por seguro que siempre estaré para ti y estoy agradecida de tener a mi lado a un hermano como tú. Carlos, tan diferente a mí que sin duda eso forma parte de esta relación de hermanos, gracias por todo.

Fam. Sánchez.

A mis tíos Elena y Armando, a Raúl, Lety, Tere, Alfredo, Javier y Gis. No hay forma de agradecerles todo lo que han hecho por mí, sin embargo, esta es una pequeña muestra de ese agradecimiento infinito que siempre tendré hacia todos ustedes. Gracias por su apoyo en todo momento y por fomentar en mí aún más el deseo de superación y ser una guía en mi vida. Llavía, Omar, Brenda y Andrea, al igual que sus papás fueron para mí un apoyo yo espero ser el de ustedes siempre que lo necesiten y gracias por traer una nueva alegría a mi vida.

A Eduardo, Elizabeth, Fabián, Fabiola, Jaime, Miguel C., Miguel M., Raúl y Yariko.

Sin duda de las mejores cosas que me llevo de la universidad es el tenerlos a ustedes en mi vida y el saber que cuento con su amistad. Me llevo de todos y cada uno de ustedes las experiencias buenas y malas que hemos vivido juntos y la promesa de que no serán las últimas. Los quiero amigos.

A Adriana, Camilo, Carlos, Guadalupe, Kenia, Leidy, Liliana, Pamela y Verónica.

No solo conseguí experiencias académicas en el laboratorio sino que además me llevo de ahí la experiencia de haber conocido a gente tan maravillosa como ustedes y que hicieron de todo este trabajo algo inolvidable. Adriana, Guadalupe, Kenia y Verónica, amigas, amigas, tan diferentes entre nosotras que nos complementamos tan bien, gracias por todo lo vivido a su lado, las quiero.

A Antonio, Eduardo y Joaquín.

Chicos, la experiencia de conocerlos ha sido genial y los momentos que he vivido al lado de ustedes me han dejado grandes alegrías que espero duren por mucho tiempo más. Gracias por eso.

Martha Laura Santiago Chiñas

Agradecimientos

M. en IBSH. Angélica Flores Ramírez.

Gracias por dejarme ser parte de su equipo de trabajo, por el apoyo durante la realización de este trabajo, por la confianza brindada y por aportar sus conocimientos a mi formación académica.

A los miembros del Jurado.

Dra. Ma. Esther Cruz Beltrán

Dra. Elia Roldán Reges

Dra. Juana Monroy Moreno

Biól. Pamela María Everardo Arévalo

Por su tiempo, dedicación, conocimientos y sugerencias aportadas en la revisión de esta tesis con el fin de obtener mejores resultados y enriquecer este trabajo.

A toda mi familia y amigos

Gracias a todos y cada uno de ustedes por ser parte de este logro conseguido y por formar parte de mi vida.

Adriana y Leidy

Un agradecimiento especial para ustedes por formar parte de mi equipo de trabajo y compartir conmigo todas y cada una de las experiencias buenas y malas que formaron parte de este proyecto. Gracias ha ustedes lo conseguí.

ÍNDICE

Resumen.....	1
Introducción.....	3
Marco teórico	
- Ovarios.....	5
- Esteroidogénesis.....	9
- Ciclo estral.....	17
- Regulación hormonal	19
- Inervación ovárica.....	21
Justiviación.....	30
Hipótesis.....	31
Objetivos.....	32
Materiales y método.....	33
Resultados.....	35
Análisis de resultados.....	44
Conclusiones.....	50
Anexo 1.....	51
Participación en foros y congresos.....	55
Bibliografía.....	57

RESUMEN

Las funciones del ovario son reguladas por una vía endocrina y una neural que modifica su capacidad de respuesta a gonadotropinas.

La modulación por parte de la vía neural esta dada por la inervación extrínseca que llega a los ovarios a partir del sistema nervioso central. El nervio ovárico superior (NOS) es parte de este tipo de inervación y se ha sugerido su participación sobre la función estereoidogénica de los ovarios. Por ello, en el presente estudio nos propusimos analizar la participación del NOS sobre los mecanismos neuroendocrinos que regulan la concentración de progesterona y 17 β -estradiol.

Para ello, se utilizaron ratas hembra vírgenes adultas que a las 07:00 h en cada etapa del ciclo estral fueron sometidas a los siguientes tratamientos: laparotomía ventral, sección uni o bilateral del NOS, ovariectomía unilateral, sección unilateral del NOS seguida de la ovariectomía unilateral y ovariectomía unilateral seguida de la sección unilateral del NOS. Además se utilizó un grupo de animales intactos para cada una de las etapas del ciclo estral. Todos los animales fueron sacrificados a las 08:00 h por decapitación, se recolectó la sangre troncal y se cuantificó la concentración sérica de progesterona y 17 β -estradiol por radioinmunoanálisis.

En comparación con el grupo de animales intactos, en los animales con laparotomía ventral la concentración de progesterona incrementó en las etapas de proestro y estro, se observó un efecto contrario con 17 β -estradiol en diestro-1 y estro.

La sección unilateral o bilateral no modificó la concentración de progesterona y en estro incrementó la concentración de 17 β -estradiol.

La falta de un ovario en las etapas de diestro-1, proestro y estro no representó un cambio significativo sobre la concentración de progesterona, pero, la ovariectomía izquierda en la etapa de diestro-2 resultó en mayor concentración de esta hormona en comparación con su grupo control.

La concentración sérica de 17 β -estradiol aumentó en aquellos animales a los cuales se les realizó la ovariectomía izquierda en las etapas de diestro-1 y estro.

La ovariectomía unilateral realizada en animales con sección del NOS izquierdo durante el ciclo estral no modificó significativamente la concentración de progesterona.

A diferencia de los resultados obtenidos con progesterona la concentración de 17 β -estradiol fue menor cuando a los animales se les realizó la ovariectomía izquierda con previa sección del NOS izquierdo en la etapa de diestro-1, pero, se obtuvo un efecto contrario en la etapa de diestro-2 con este mismo tratamiento.

La extirpación del ovario contralateral a la sección del NOS izquierdo resultó en aumentó de la concentración de 17 β -estradiol en la etapa de diestro-1 cuando se comparó contra el grupo con el

ovario derecho *in situ* e inervado. La ovariectomía ipsilateral o contralateral a la sección del NOS derecho no indujo alteraciones en ambas hormonas durante el ciclo estral.

La concentración sérica de progesterona fue menor en los animales con ovariectomía izquierda seguida de la sección del NOS derecho en diestro-2 y proestro, mientras que, 17 β -estradiol fue menor independientemente de cuando se realizó el tratamiento. En animales con ovariectomía izquierda seguida de la sección del NOS derecho se presentó menor concentración de progesterona y 17 β -estradiol en la etapa del diestro-2 y proestro.

En animales con ovariectomía derecha seguida de la sección del NOS derecho en la etapa de diestro-1 la concentración de progesterona fue mayor. A diferencia de ello, dicho tratamiento en la etapa del diestro-2 resultó en mayor concentración de 17 β -estradiol.

La sección del NOS contralateral a la ovariectomía derecha en las etapas de diestro-2 y proestro resultó en disminución de la concentración de progesterona.

La extirpación del ovario derecho seguida de la sección del NOS izquierdo se acompañó de menor concentración de 17 β -estradiol respecto a la registrada en los animales con ovariectomía derecha.

Con base en los resultados obtenidos proponemos que la información neural que llega a los ovarios vía el NOS participa sobre los mecanismos que regulan la concentración de progesterona y 17 β -estradiol lo que depende de la etapa del ciclo estral, del nervio y del ovario en estudio.

INTRODUCCIÓN

Al igual que otras glándulas endocrinas, la liberación de hormonas en el ovario está bajo control del eje hipotálamo-hipófisis. El hipotálamo libera la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) cuya función es estimular la secreción de gonadotropinas en la adenohipófisis las cuales tendrán como órgano blanco las células del folículo ovárico (Brown, 1994; Mongiat *et al.*, 2004).

Existen evidencias que sustentan que la respuesta de los ovarios a las gonadotropinas está modulada también por la inervación que llega a ellos y que la información neural presenta asimetría (Aguado y Forneris, 2002; Aguado y Ojeda, 1986; Albuquerque-Araujo *et al.*, 1995; Barco *et al.*, 2003; Cruz *et al.*, 2006; Flores *et al.*, 2005; Flores *et al.*, 2006b; Lawrence y Burden, 1980).

La inervación extrínseca de los ovarios lleva información sensorial, simpática y parasimpática, que llegan vía el nervio del plexo ovárico (PO), NOS y nervio Vago (Bortoli *et al.*, 1998).

El ovario recibe noradrenalina (NA) y péptido intestinal vasoactivo (VIP) que llegan por el NOS y, NA y sustancia P por el PO (Aguado y Ojeda, 1984; Baljet y Drukkler, 1979).

Las fibras simpáticas del NOS inervan directamente las células de la teca y las intersticiales, sin embargo, las células de la granulosa a pesar de no ser inervadas directamente poseen receptores β -adrenérgicos que responden a estímulos simpáticos (Aguado y Forneris, 2002; Aguado y Ojeda, 1986; Dissen y Ojeda, 1999; Lawrence y Burden, 1980) Estas fibras también están asociadas con los vasos sanguíneos y el estroma ovárico (Dees *et al.*, 1986; Klein y Burden, 1988; Parra *et al.*, 2007).

Estos neurotransmisores liberados en el interior del ovario han sido considerados como reguladores de la estereidogénesis, del desarrollo folicular y de la ovulación temprana (Bortoli *et al.*, 1998; Morán *et al.*, 2009).

Se tienen evidencias de que la sección del NOS en animales con o sin ovariectomía unilateral realizados a las 13:00 h en cada etapa del ciclo estral resulta en alteraciones sobre las concentraciones séricas de progesterona y 17 β -estradiol que dependen de la etapa del ciclo estral en la que se realicen los tratamientos, así como del ovario y el nervio *in situ* (Flores *et al.*, 2008, 2011; Gallegos *et al.*, 2005; Mendoza, 2007; Montiel, 2005; Velasco, 2007).

La sección unilateral del NOS realizada a las 07:00 h y evaluada al estro vaginal resultó en menor número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo en las etapas de diestro-2, proestro y estro, y en el ovario derecho en proestro. En las etapas de diestro-1, proestro y estro disminuyó el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo cuando se realizó la sección de ambos nervios, este mismo efecto se observó sobre el ovario derecho en la etapa de proestro. La tasa de animales ovulantes fue menor en la etapa de diestro-1 y estro cuando se realizó la sección de ambos NOS y únicamente en diestro-1 con la sección derecha (González, 2011).

Con base en dichos antecedentes, se analizará si los resultados obtenidos por González (2011) pueden ser explicados por alteraciones en la secreción de progesterona y 17 β -estradiol por la falta de información noradrenérgica y vipérgica que llega por el NOS a los ovarios, ya que como se mencionó, modulan la acción de las gonadotropinas sobre los folículos ováricos al estimular el proceso de la esteroidogénesis. Por ello, en este estudio se llevará a cabo el análisis de la participación del NOS a las 7:00 h en cada etapa del ciclo estral en animales enteros o con ovariectomía unilateral en la regulación de la secreción de hormonas esteroides una hora después de realizado los tratamientos.

MARCO TEÓRICO

El funcionamiento correcto de la gónada femenina es de vital importancia en el tema de reproducción. Es por ello que en este trabajo se abordará la importancia de los mecanismos de regulación (hormonales y neurales) que actúan sobre ella.

OVARIOS

Los ovarios (del latín *ovum*, huevo) son los órganos reproductores femeninos y cumplen una doble función: ovulación y secreción de hormonas que participan en la regulación de las funciones reproductivas (Yao y Bahr, 1999). Ambas funciones son reguladas por el eje hipotálamo-hipófisis y por la inervación que llega a ellas a partir del sistema nervioso central (Ross y Wojciech, 2007; Vander y Sherman, 1980; Yao y Bahr, 1999).

Las hormonas secretadas por los ovarios son de tipo esteroide (progesterona, testosterona y estradiol) y polipeptídico (relaxina, inhibina, activina y folistatina); además de secretar factores de crecimiento y prostaglandinas (Botella, 1995; Clark *et al.*, 1978; Yen *et al.*, 2001a).

El ovario se divide histológicamente en médula y corteza. En la médula se encuentra el tejido conjuntivo laxo, los vasos sanguíneos y linfáticos, y los nervios. Los folículos en desarrollo y el cuerpo lúteo se localizan en la corteza (Ross y Wojciech, 2007; Sanders, 2004).

El folículo ovárico es la unidad anatómico-funcional del ovario, a partir del cual se originan los tres compartimientos del órgano: el folicular, el luteal y el intersticial (Figura 1). En su evolución el compartimiento folicular da origen a los otros dos (Domínguez *et al.*, 1991).

- **Compartimento folicular**

En este compartimento se encuentran los folículos en diferentes etapas de desarrollo (foliculogénesis), que darán como resultado un óvulo capaz de ser fertilizado (Domínguez *et al.*, 1991; Rajkovic *et al.*, 2006; Velázquez, 2001).

El aumento en el tamaño del ovocito y el crecimiento y proliferación de las células de la granulosa de los folículos ováricos son algunas de las características que definen la etapa de desarrollo en la que se encuentran los folículos (Domínguez *et al.*, 1991).

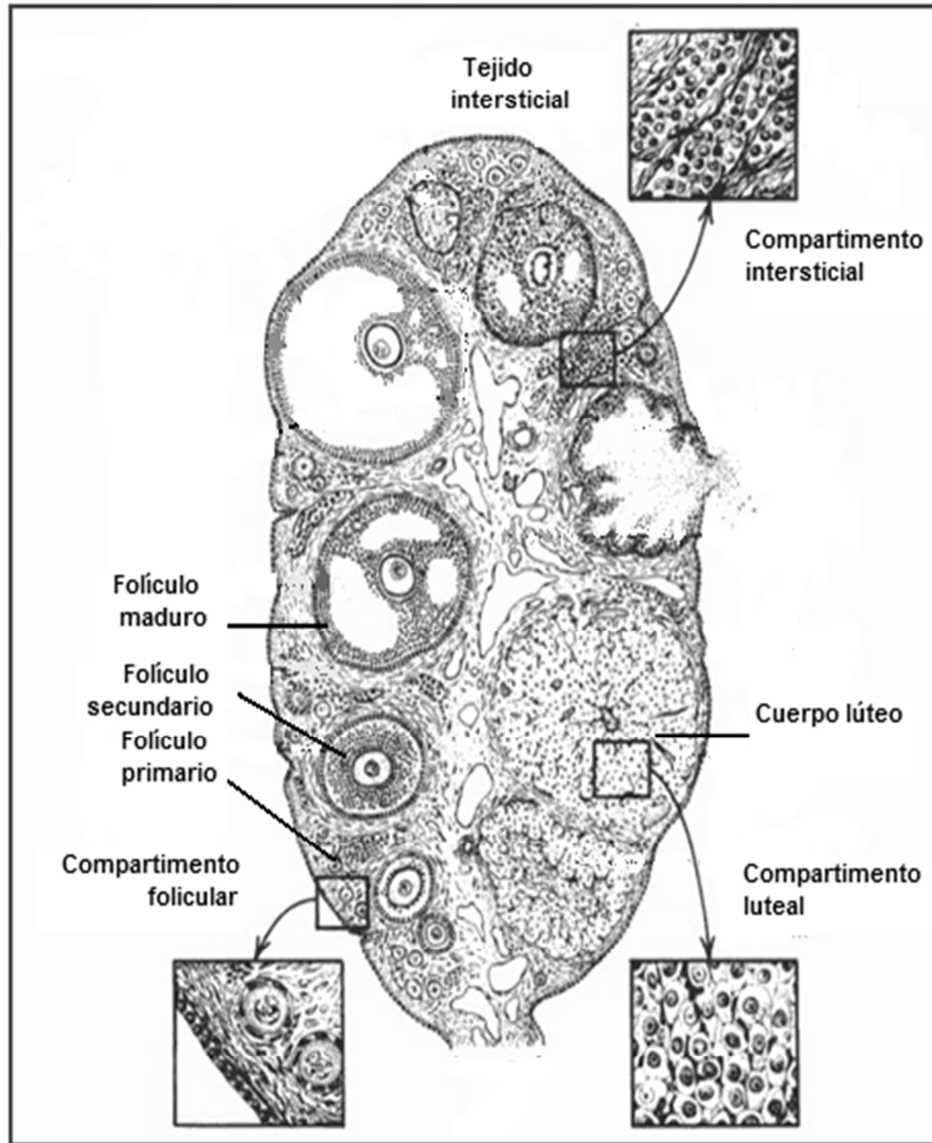


Fig. 1. Ovario de mamíferos. Se pueden observar los tres compartimentos endocrinos del ovario: folicular, luteal e intersticial. Además, de la presencia de folículos en distintas etapas de desarrollo (Tomada y modificada de Freeman, 2006).

Mayerhofer *et al.* (1997), mostraron que en las 24 horas iniciales de vida posnatal ocurre la formación masiva de folículos primordiales que están formados por una sola capa de células aplanadas rodeando al ovocito (McGee *et al.*, 1997; Xiaoxin *et al.*, 2010).

Los primeros folículos que inician su crecimiento son aquellos que se encuentran cerca del hilio ovárico posiblemente por la exposición a los neurotransmisores que son liberados por las fibras nerviosas que llegan a esta región durante la etapa feto-neonatal de las ratas (Hirshfield, 1991; Mayerhofer *et al.*, 1997).

La etapa de maduración del folículo primordial al primario y de este al secundario es considerada como una etapa independiente a las gonadotropinas, ya que los folículos aún no poseen receptores a ellas. Los neurotransmisores como NA y VIP, y la activina son los factores de los cuales depende esta etapa de desarrollo folicular (Domínguez *et al.*, 1991; Mayerhofer *et al.*, 1997).

Los folículos secundarios continúan su maduración hasta la formación de folículos antrales y posteriormente preovulatorios (Xiaoxin *et al.*, 2010; Yacobi *et al.*, 2003). En el folículo antral, las células de la granulosa forma el cúmulo ooforo que será expulsado junto con el ovocito en el momento de la ovulación (Domínguez *et al.*, 1991).

El líquido folicular presente en los folículos antrales contiene proteínas, polipéptidos, hormona estimulante del folículo (FHS), hormona luteinizante (LH), prolactina, estrógenos, progesterona y noradrenalina (NA) (Domínguez *et al.*, 1991).

El folículo preovulatorio está formado por un ovocito rodeado de varias capas de células de la granulosa, un antro folicular y una membrana basal que separa a las células de la teca interna y externa (Xiaoxin *et al.*, 2010; Yacobi *et al.*, 2003).

En general, el desarrollo de los folículos antrales y preovulatorios es controlado por las gonadotropinas, factores de crecimiento IGF-1, factor de crecimiento epidérmico y hormonas esteroideas (Mayerhofer *et al.*, 1997; Yacobi *et al.*, 2003) (Figura 2).

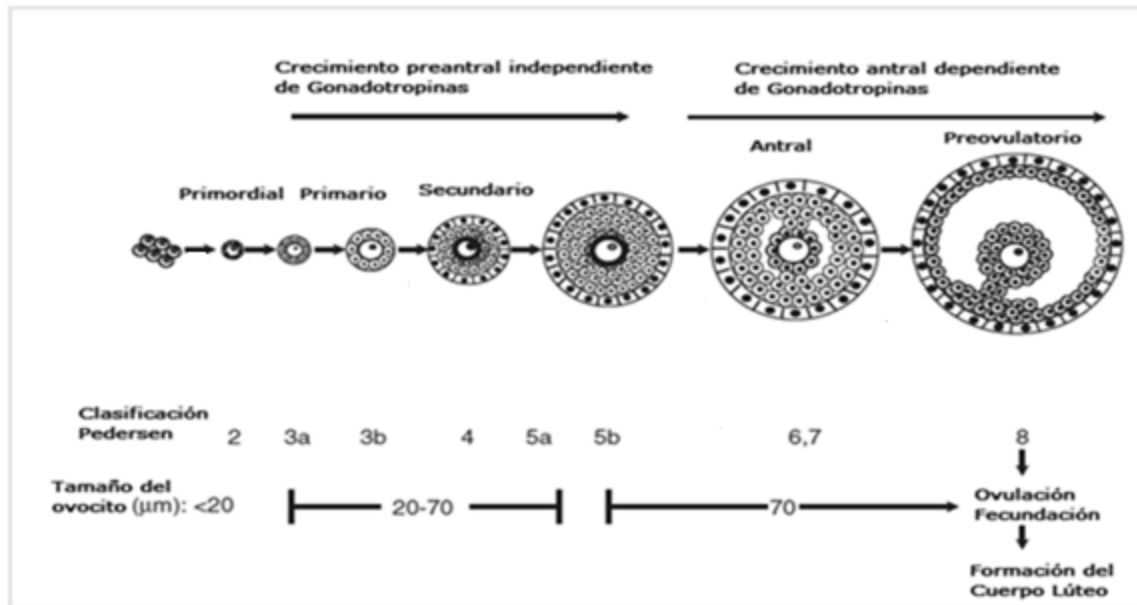


Fig. 2. Clasificación de los folículos de ratón. De izquierda a derecha se puede observar el desarrollo folicular. El crecimiento del folículo es independiente de las gonadotropinas hasta antes de la etapa antral. Después de la ovulación se forma el cuerpo lúteo. Además se muestra una clasificación de acuerdo a la etapa de crecimiento (tipos 2 a 8) y los diámetros correspondientes (Tomada y modificada de Rajkovic *et al.*, 2006).

El rompimiento de la pared folicular de los folículos preovulatorios liberando al ovocito es el proceso biológico que se conoce como ovulación y se encuentra regulado por la acción de las hormonas adenohipofisarias FSH y LH (Espey y Richards, 2006; Molina, 2004).

La ovulación se produce de 10 a 14 horas después de secreción preovulatoria de las gonadotropinas siempre y cuando el ovocito haya alcanzado el grado de diferenciación adecuado para ser liberado (Domínguez *et al.*, 1991).

- **Compartimento luteal**

Una vez que el ovocito es liberado se forma el cuerpo lúteo; considerado como la fase final de maduración del folículo (Velázquez, 2001). Las células tecales se transforman en células tecoluteínicas del cuerpo lúteo (Domínguez *et al.*, 1991).

En la rata el cuerpo lúteo es responsable de la secreción de progesterona, sin embargo, puede sintetizar también progestinas como la 20 α -hidroxilasa o 5 α -reductasa, andrógenos y estrógenos (Vallcaneras *et al.*, 2009; Velázquez, 2001).

- **Compartimento intersticial**

En el caso de los mamíferos el 99% de los folículos no completan su desarrollo y mueren antes de liberar al ovocito mediante el proceso llamado atresia. En las primeras etapas de desarrollo folicular la apoptosis es el principal mecanismo para la eliminación de las células de la granulosa, mientras que, en etapas posteriores se da por muerte de células de la granulosa (Devine *et al.*, 2000; Domínguez *et al.*, 1991; Xiaoxin *et al.*, 2010; Yacobi *et al.*, 2003).

La glándula intersticial se forma a partir de los folículos atrésicos con antro cuyas células tecointersticiales poseen receptores a LH, prolactina, hormona adrenocorticotrópica (ACTH), NA, GnRH y estrógenos (Domínguez *et al.*, 1991).

ESTEROIDOGÉNESIS

La esteroidogénesis es la capacidad biológica de un órgano para sintetizar hormonas esteroides (Van Voorhis, 1999). Son producidas en células de la corteza adrenal, testículos, ovarios, tejido adiposo y en el cerebro (conocidos como neuroesteroides) (Hu *et al.*, 2010; Yoshinaga, 1999).

Las hormonas esteroides son sustancias solubles en grasas, tienen bajo peso molecular y entre sus funciones se encuentran el desarrollo folicular, la ovulación, regulación de la presión sanguínea, reabsorción de sodio, supervivencia de células nerviosas, etc (Hu *et al.*, 2010). Tienen como órganos blanco el sistema reproductor, el sistema nervioso central, el músculo-esquelético y el cardiovascular (Hu *et al.*, 2010; Van Voorhis, 1999).

Hay cinco tipos de hormonas esteroides: andrógenos, estrógenos, progestágenos, glucocorticoides y mineralocorticoides (Hu *et al.*, 2010; Van Voorhis, 1999; Yoshinaga, 1999) (Figura 3).

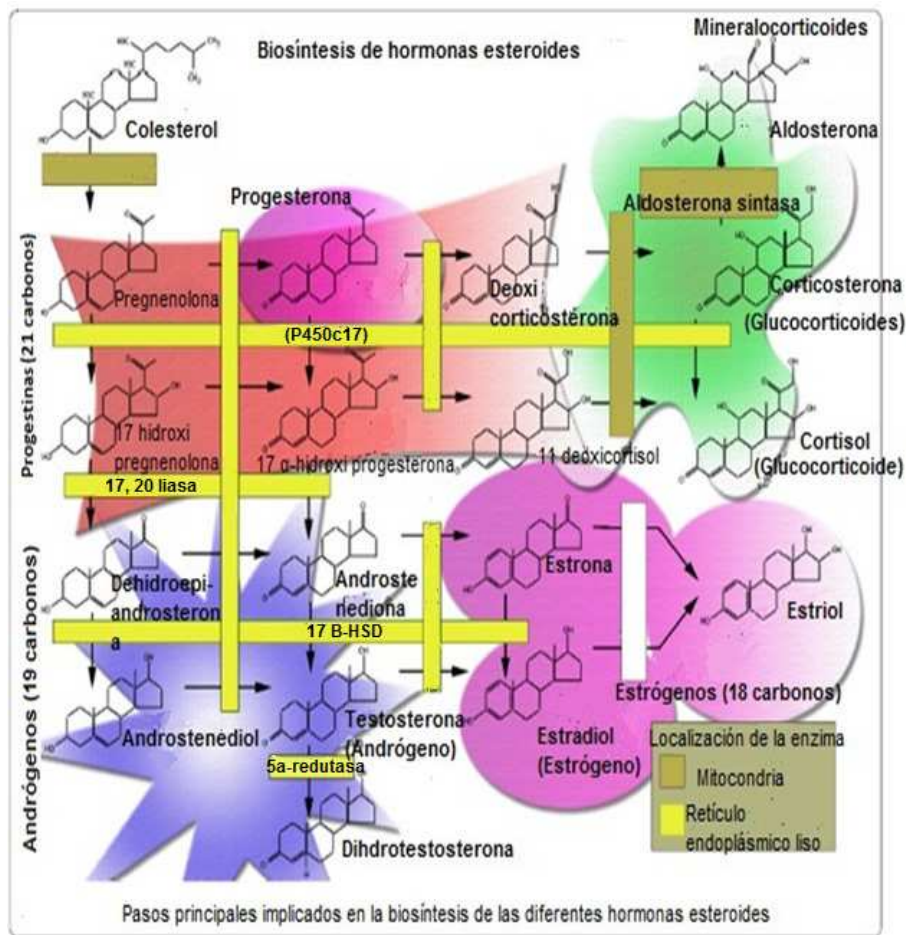


Fig. 3. Biosíntesis de hormonas esteroides (Tomada y modificada de Hu *et al.*, 2010).

En el ovario, las células de los folículos ováricos son los responsables de la síntesis de tres tipos de esteroides: progestinas, andrógenos y estrógenos (Van Voorhis, 1999).

Las progestinas son compuestos formados por 21 carbonos, como la pregnenolona, 17 hidroxiprogestero y la progesterona, que en el ovario son secretados por el cuerpo lúteo y los folículos preovulatorios. Los andrógenos poseen 19 átomos de carbono y los más importantes son la androstenediona y la testosterona. Los compuestos de 18 átomos de carbono son los estrógenos, entre estos se encuentran la estrona, el estriol y el 17 β -estradiol (Hu *et al.*, 2010; Van Voorhis, 1999; Yoshinaga, 1999) (Figura 3).

Las hormonas tróficas como la LH, FSH o ACTH regulan el proceso de esteroidogénesis mediante la unión a sus receptores localizados en la membrana celular acoplados a proteínas G (Hu *et al.*, 2010).

- Colesterol

El colesterol es el punto de partida para la síntesis de hormonas esteroides, su núcleo químico básico es el ciclopentanoperhidrofenantreno que está constituido por 27 átomos de carbono (Hicks, 2007; Pedemera, 1993) (Figura 4).

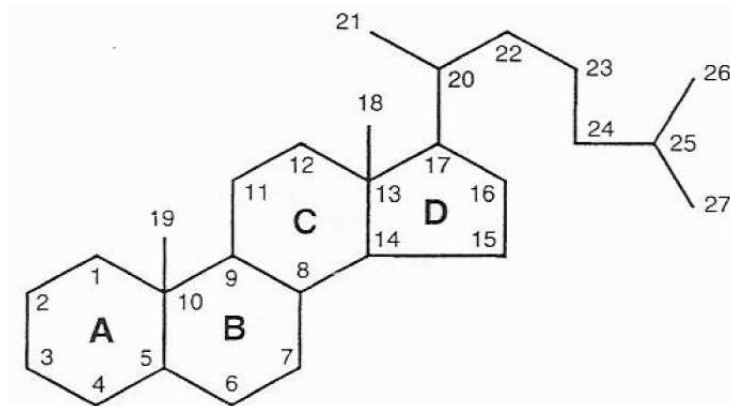


Fig. 4. Núcleo químico del colesterol. Formado por 27 carbonos distribuidos en cuatro anillos aromáticos: tres ciclohexanos y un ciclo pentano denominados A, B, C y D (Tomada y modificada de Hicks, 2007).

Las células esteroidogénicas obtienen el colesterol a partir de tres fuentes diferentes: sintetizándolo de *novo* a partir del acetato, incorporándolo del plasma a partir de las lipoproteínas circulantes o el derivado a partir de la hidrólisis de ésteres de colesterol almacenados en forma de lípidos en el citoplasma (Hu *et al.*, 2010; Pedemera, 1993; Van Voorhis, 1999).

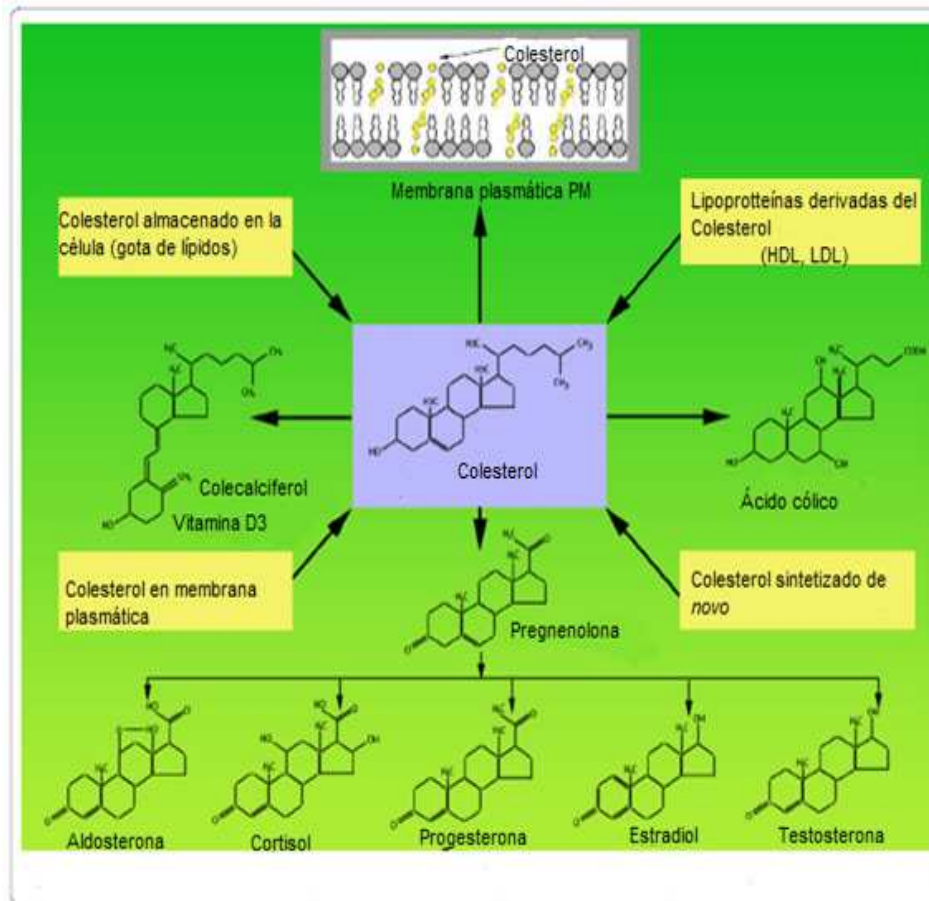


Fig. 4. Fuentes de colesterol para la formación de diversos productos (esteroides, vitamina D y ácidos biliaters) (Tomada y modificada de Hu *et al.*, 2010).

Las células esteroideogénicas ováricas y las de las glándulas suprarrenales obtienen en su mayoría el colesterol a partir del plasma (Hu *et al.*, 2010; Pedernera, 1993). El colesterol llega a través de lipoproteínas y entra por endocitosis a la célula, formando gotas lipídicas de éteres de colesterol que al ser hidrolizados serán transportados a la membrana interna de la mitocondria por la proteína reguladora de la esteroideogénesis (StAR) (Hu *et al.*, 2010).

La síntesis de esteroides en el cerebro se da a partir del colesterol sintetizado de *novo* y este mecanismo es parcialmente independiente de las células esteroideogénicas (Hu *et al.*, 2010).

La respuesta aguda de los esteroides se produce en minutos y se caracteriza por la rápida movilización de los ésteres de colesterol almacenados o lípidos almacenados que iniciarán su transporte hacia la mitocondria en donde se llevará a cabo su conversión a pregnenolona para iniciar la síntesis de las hormonas esteroides (Hu *et al.*, 2010).

- Biosíntesis de hormonas esteroides

El primer paso en la ruta biosintética de hormonas esteroides es la conversión del colesterol a pregnenolona, la enzima del citocromo P450scc cataliza tres reacciones diferentes para dicha conversión: la 20 α -hidroxilación, la 22 hidroxilación y la escisión del carbono 20, 22 (Figura 5). Este complejo enzimático está localizado en la membrana interna mitocondrial (Devlin, 1989; Hicks, 2007; Hu *et al.*, 2010; Koolman y Röhm, 2004; Mendoza, 2008; Van Voorhis, 1999).

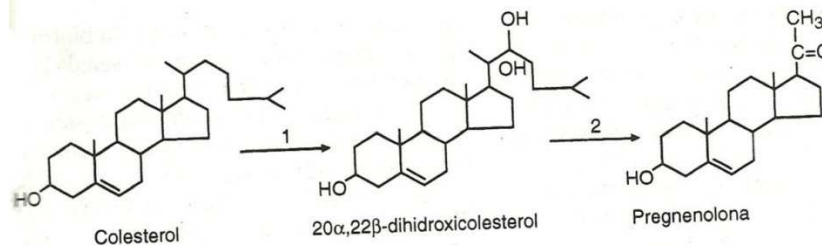


Fig. 5. Conversión de colesterol a pregnenolona por acción de la enzima P450scc (Tomada y modificada de Hicks, 2007).

Este paso inicial también representa un paso limitante en la síntesis de esteroides, debido a que es dependiente del acceso de colesterol a partir de un sustrato externo a la membrana mitocondrial (Hu *et al.*, 2010).

- Síntesis de progesterona y andrógenos

A partir de la pregnenolona se pueden seguir dos vías enzimáticas diferentes: la ruta Δ^4 y la ruta Δ^5 . La síntesis de Progesterona se da por la ruta Δ^4 y es la enzima 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3 β -HSD) la encargada de sintetizarla a partir de la pregnenolona. Esta enzima está localizada en el retículo endoplasmático (Devlin, 1989; Hicks, 2007; Hu *et al.*, 2010; Koolman y Röhm, 2004; Mendoza, 2008; Van Voorhis, 1999) (Figura 6).

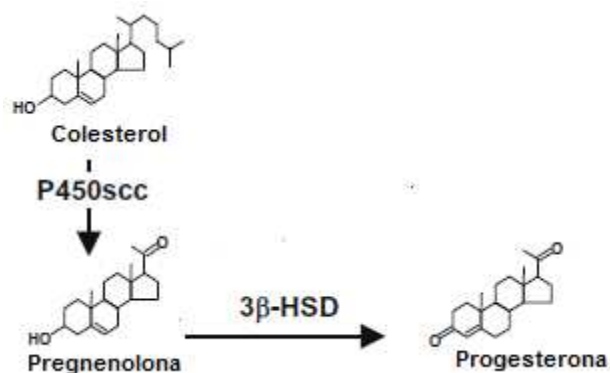


Fig. 6. Síntesis de progesterona a partir de pregnenolona. Reacción catalizada por la enzima 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3 β -HSD) (Tomada y modificada de Rego, 2009).

En la ruta Δ^4 la progesterona es hidroxilada en el carbono 17 por acción de la enzima P450c17 convirtiéndola en 17 α -hidroxiprogesterona que al ser de nuevo hidroxilada formará androstenediona. En la ruta Δ^5 la pregnenolona es hidroxilada por la enzima P450c17 que la transforma a 17 α -hidroxipregnenolona y posteriormente a dehidroepiandrosterona (DHEA). La DHEA forma androstenediona cuando actúa en ella la enzima 3 β -HSD. Todas estas enzimas se encuentran localizadas en el retículo endoplasmático (Devlin, 1989; Hicks, 2007; Hu *et al.*, 2010; Koolman y Röhm, 2004; Van Voorhis, 1999) (Figura 7).

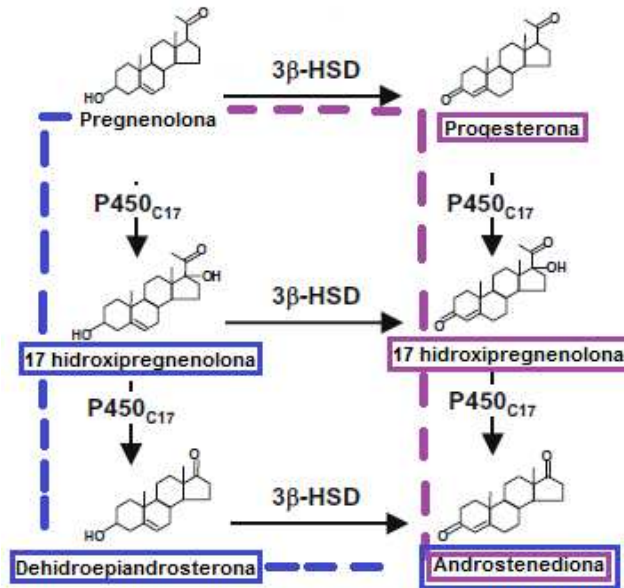


Fig. 7. Vías enzimáticas Δ^4 y Δ^5 . Vía Δ^4 mediante la cual se forma la androstenediona por hidroxilación del carbono 17 de la progesterona y la 17 α -hidroxiprogesterona. Vía Δ^5 mediante el cual se forma la 17 α -hidroxipregnenolona y la dehidroepiandrosterona por acción de la enzima P450c17. La enzima 3 β -HSD convierte la dehidroepiandrosterona en androstenediona (Tomada y modificada de Rego, 2009).

La parte final en la síntesis de andrógenos es la formación de testosterona que puede tener dos orígenes diferentes. El primero de ellos es a partir de la androstenediona formada por ambas rutas enzimáticas y en la cual participa la enzima 3 β -HSD para su formación. El segundo de ellos es a partir de la DHEA formada en la vía Δ^5 y en la cual actúa la enzima 3-cetoesteroide Δ^4 - Δ^5 isomerasa para formar androstenediol que finalmente formara testosterona por acción también de la 3 β -HSD (Devlin, 1989; Hicks, 2007; Hu *et al.*, 2010; Koolman y Röhm, 2004; Mendoza, 2008; Van Voorhis, 1999).

La androstenediona es el principal andrógeno en la rata y es el precursor en la síntesis de estrógenos, además, ejerce una acción trófica sobre el cuerpo lúteo y determina el camino hacia la atresia de los folículos ováricos (Orozco *et al.*, 2010).

- Síntesis de estrógenos

La enzima aromatasa P450 forma la estrona a partir de la androstenediona o bien de la convierte la testosterona a estradiol. Esta enzima está localizada en el retículo endoplasmático (Hicks, 2007; Koolman y Röhm, 2004; Mendoza, 2008; Van Voorhis, 1999) (Figura 8).

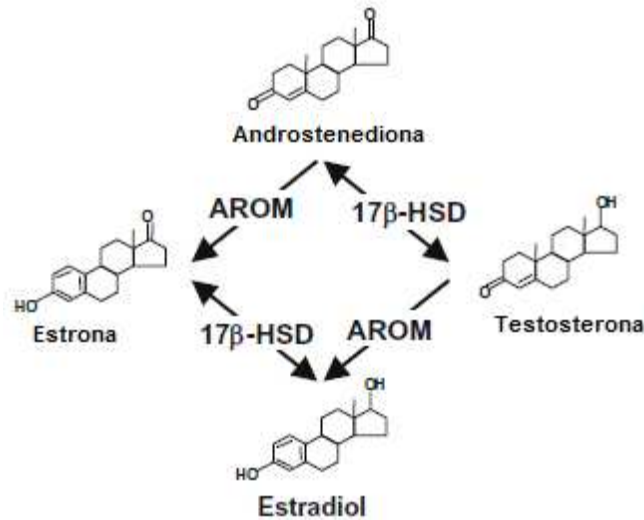


Fig. 8. Biosíntesis de estradiol a partir de testosterona o androstenediona. La enzima aromatasa P450 cataliza estas reacciones (Tomada y modificada de Rego, 2009).

La síntesis de estrógenos en los ovarios es regulada por la acción de las gonadotropinas. La teoría de la doble célula-doble hormona explica que la unión de la LH a sus receptores localizados en las células de la teca interna de los folículos ováricos actúa en el sistema adenilato ciclasa lo que resulta en el aumento del adenosín monofosfato cíclico (AMPc) y estimula la vía enzimática que lleva a cabo la conversión del colesterol a androstenediona (Domínguez, 1991; Yen *et al.*, 2001a; Yoshinaga, 1999).

La androstenediona es transportada a las células de la granulosa de los folículos ováricos, en donde la unión de la FSH a sus receptores aumenta la actividad del AMPc y de la aromatasa para la conversión de los andrógenos en estrógenos. (Domínguez, 1991; Yen *et al.*, 2001a; Yoshinaga, 1999) (Figura 9).

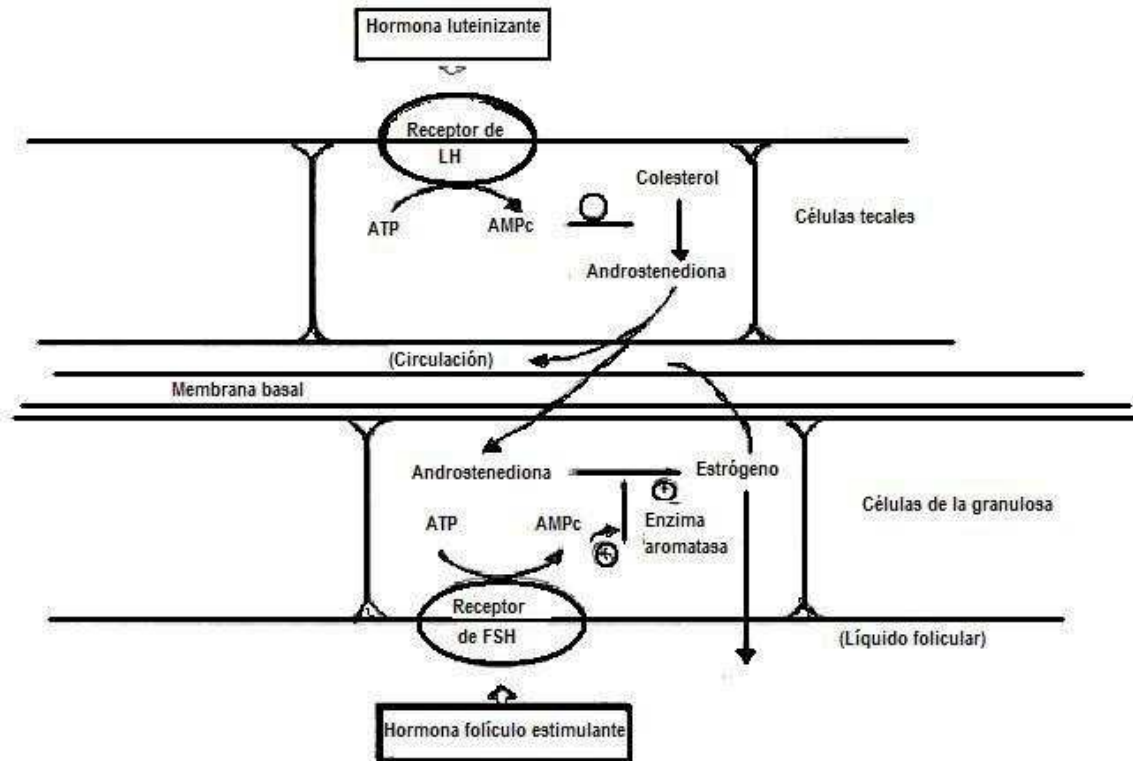


Fig. 9. Teoría de la doble célula-doble hormona. La unión de la hormona luteinizante a su receptor localizado en las células tecaes estimula la actividad del AMPc y la actividad de las enzimas encargadas de la conversión del colesterol a androstenediona. La androstenediona atraviesa la membrana basal para llegar a las células de la granulosa en donde la unión de la hormona foliculoestimulante a sus receptores aumenta la actividad enzimática de la aromatasa encargada de la conversión de la androstenediona en estradiol (Yen *et al.*, 1991a).

- Funciones biológicas de la progesterona y el estradiol

Los estrógenos son los responsables de la conducta sexual de celo o receptividad sexual en la hembra, promueven la división celular en las células de la granulosa y en las células tecointersticiales desencadenan el efecto antiatrésico. Además regulan la secreción de gonadotropinas, Prolactina (PRL) y hormona del crecimiento (GH) e incrementan la actividad de la enzima aromatasa (Arias, 2010; Yen *et al.*, 2001b). El Estradiol actúa a nivel hipotalámico en el núcleo ventromedial, en médula espinal y en el tejido nervioso periférico (Feder, 1981).

También elevan la actividad de la enzima responsable de su propia formación, lo que explica el aumento preovulatorio en las concentraciones circulantes. Los estrógenos inhiben de manera directa la síntesis de Andrógenos en el ovario al bloquear la conversión de Progestágenos a Andrógenos (Yen *et al.*, 2001a). En el útero aumentan su capacidad de retención de agua y vascularización (Arias, 2010).

La Progesterona es indispensable para la implantación del óvulo y el mantenimiento de la gestación. Las altas concentraciones de este esteroide inhiben la ovulación, mientras que, un descenso en su concentración provocada por el proceso de luteólisis (degradación del cuerpo lúteo) permite la secreción preovulatoria de LH (Álvarez *et al.*, 2009; Spuch *et al.*, 2006).

- **Depuración metabólica**

La inactivación enzimática de las hormonas esteroideas tiene lugar principalmente en el hígado, donde es eliminada la potencia biológica del esteroide y su estructura se hace hidrosoluble, para poder ser excretadas por el riñón (Dominiczak y Beastall, 2007).

En el caso de los estrógenos, el hígado los convierte a formas menos activas por ejemplo el estradiol a estrona o estriol. También puede oxidarlos para formar compuestos inertes por medio del ácido glucorónico (Koolman y Röhm, 2004; Netter, 2006).

La degradación de progesterona da como producto principal el pregnandiol, su degradación ocurre a pocos minutos de haber sido secretada y aproximadamente el 10% de la progesterona sintetizada es excretada por la orina en forma de pregnandiol (Guyton y Hall, 2006).

Las concentraciones hormonales en la rata hembra varían con base en la etapa de su ciclo reproductivo o ciclo estral y la hora del día. La variación en estas concentraciones preparan al animal ante distintas situaciones, como la ovulación, la preñez o la etapa de celo (Guyton y Hall, 2006).

CICLO ESTRAL

El ciclo estral se define como el tiempo que transcurre entre el inicio de un periodo de celo al inicio del siguiente. En la rata, el ciclo estral ha sido dividido en cuatro etapas y cada una está caracterizada, además de sus concentraciones hormonales, por la proporción entre los tres tipos de células de la citología vaginal: epiteliales, cornificadas y leucocitos (Freeman, 2006; Marcondes *et al.*, 2002; Westwood, 2008).

En el estro ocurre la ovulación e inicio de la formación del cuerpo lúteo, la tasa de secreción de estradiol es baja por la mañana y disminuye rápidamente por la tarde hasta alcanzar concentraciones basales (Figura 10). En el frotis vaginal aparecen células epiteliales degeneradas o cornificadas que pueden o no poseer núcleo (Freeman, 2006).

En la etapa de diestro-1 se ha formado el cuerpo lúteo, por lo tanto, la concentración de progesterona aumenta. La mucosa vaginal entra en regresión y en el frotis vaginal aparecen leucocitos y algunas células cornificadas (Costa *et al.*, 1993; Freeman, 2006; Hill y Gordon, 2004; Marcondes *et al.*, 2002; Westwood, 2008). Durante esta etapa la concentración de estradiol comienza a aumentar de manera significativa durante la tarde, además se presenta el primer incremento de la enzima 20 α -hidroxiprogesterona. (Freeman, 2006) (Figura 10).

Al inicio del diestro-2 las concentraciones de progesterona se encuentran elevadas, sin embargo, la regresión del cuerpo lúteo disminuye dichas concentraciones (Costa *et al.*, 1993; Hill y Gordon, 2004; Marcondes *et al.*, 2002; Westwood, 2008) (Figura 10).

Durante la tarde del diestro-2, la LH estimula la actividad aromatasa en las células de la granulosa que han sido previamente estimulada por FSH; por lo que incrementa la secreción de estradiol. Mientras que, en la etapa prepúber, este mismo efecto se ve cuando se da la unión de la prolactina a sus receptores en las células de la granulosa (Domínguez *et al.*, 1991). Al final de la etapa inicia un incremento gradual en la secreción de estradiol. Los leucocitos constituyen la mayor parte de la citología vaginal (Costa *et al.*, 1993; Freeman, 2006; Hill y Gordon, 2004; Marcondes *et al.*, 2002; Westwood, 2008) (Figura 10).

Por último, la etapa de proestro está caracterizada por el crecimiento de los folículos ováricos bajo la influencia de FSH, por lo que la secreción de estradiol alcanza valores máximos. En el frotis vaginal aparecen células epiteliales nucleadas (Costa *et al.*, 1993; Hill y Gordon, 2004; Marcondes *et al.*, 2002; Westwood, 2008) (Figura 9). Durante la tarde y noche del proestro incrementa la concentración de progesterona, simultáneamente con la secreción preovulatoria de LH que también alcanza su concentración máxima (Freeman, 2006) (Figura 10).

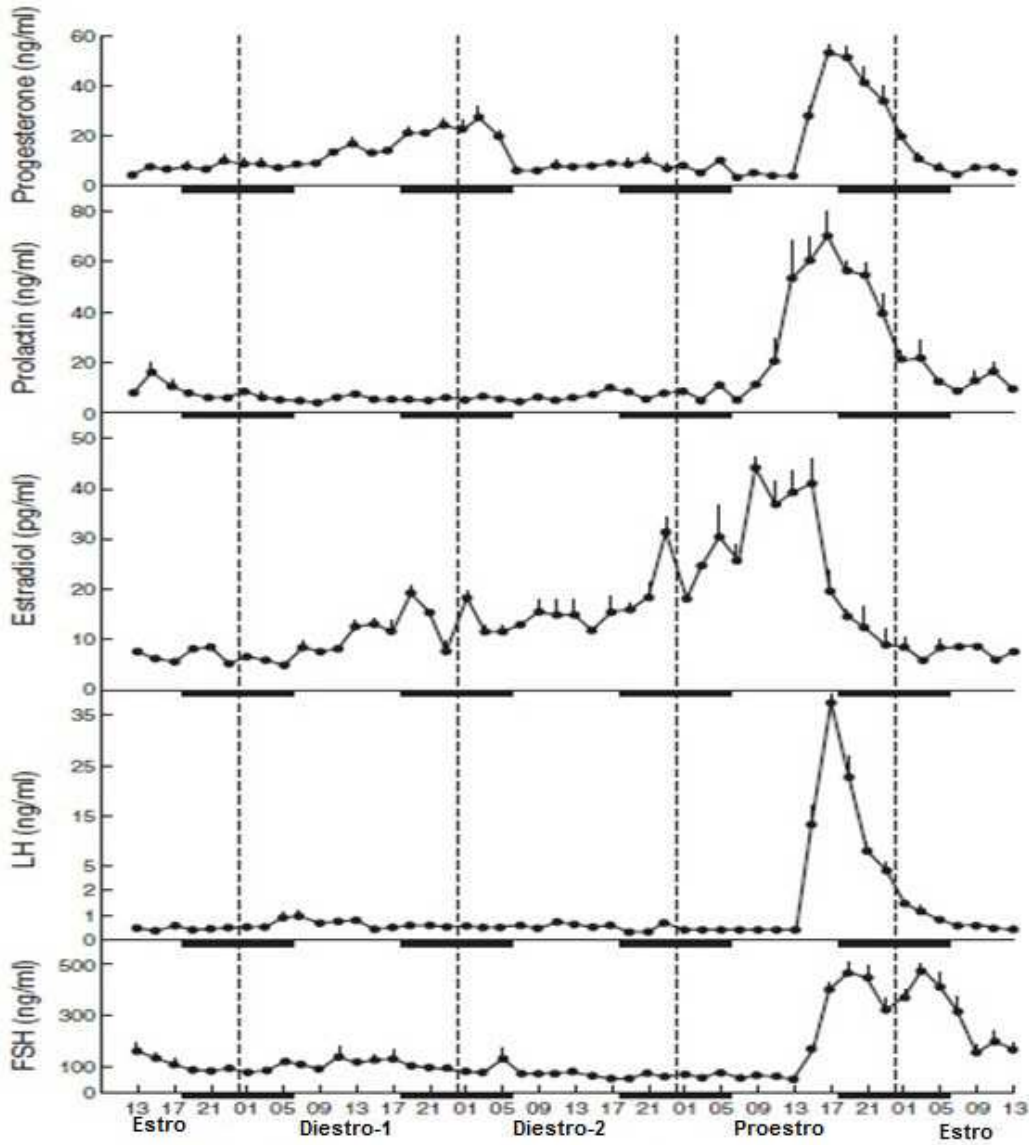


Fig. 10. Perfil de las concentraciones plasmáticas de progesterona, prolactina, estradiol, LH y FSH durante los cuatro días del ciclo estral de la rata. Las barras negras representan el periodo de oscuridad en el que se encuentran los animales (18:00 – 06:00 h) (Tomada de Freeman, 1994).

REGULACIÓN HORMONAL DE LAS FUNCIONES OVÁRICAS

Las funciones del hipotálamo incluyen la regulación del sistema endocrino, la temperatura corporal, los ritmos biológicos y el comportamiento emocional (Brown, 1994; Gartner y Hiatt, 2008; Genuth, 2006; Snell, 2007).

La regulación del sistema endocrino se lleva a cabo de dos formas diferentes: mediante la secreción de neurohormonas que son liberadas a la circulación a través de los vasos sanguíneos de la neurohipófisis y la segunda es indirectamente secretando hormonas reguladoras en la eminencia media que drena los vasos sanguíneos de la adenohipófisis (Ganong, 1986).

La adenohipófisis está formada por tejido epitelial y es la encargada de secretar seis hormonas, la secreción de estas hormonas es controlada por los agentes químicos transportados en los vasos sanguíneos portahipofisarios desde el hipotálamo (Ganong, 1986).

Una de las hormonas reguladoras que el hipotálamo secreta es la GnRH, la cual llega a las células gonadotrópicas localizadas en la adenohipófisis donde estimularán la liberación de las gonadotropinas (Brown, 1994; Mongiat *et al.*, 2004) (Figura 11).

Las gonadotropinas tienen como órgano blanco las células de la granulosa y de la teca de los folículos ováricos en donde estimularán la síntesis de diferentes hormonas esteroideas (Brown, 1994; Mongiat *et al.*, 2004).

La síntesis de estrógenos y la progesterona son estimuladas por la acción de la FSH y la LH, cuando las concentraciones de estrógenos son máximas producen un efecto de retroalimentación positiva sobre la secreción de las gonadotropinas, favoreciendo el proceso de ovulación. Posteriormente al proceso de ovulación, los estrógenos inhiben la liberación de las gonadotropinas. (Mendoza, 2008).

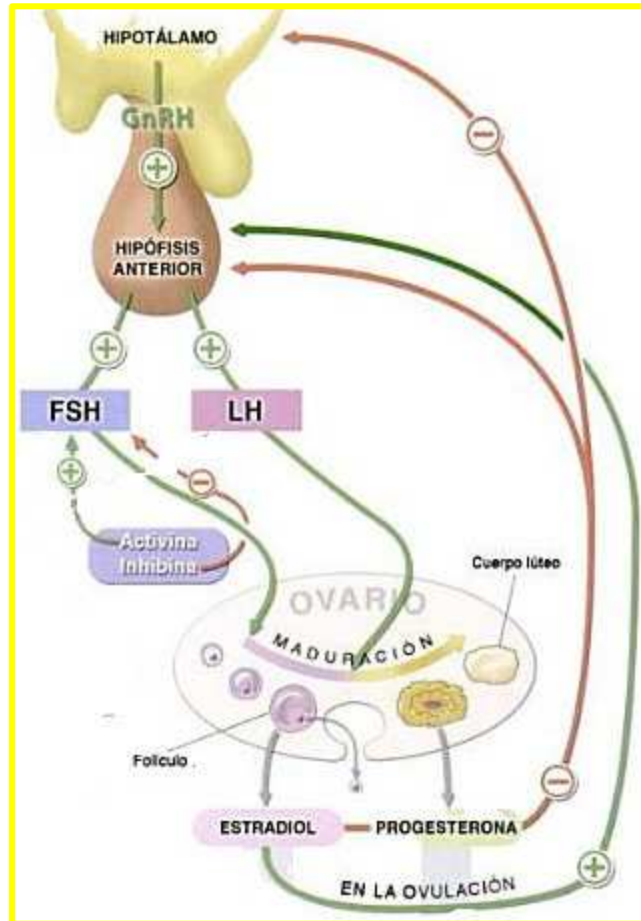


Fig. 11. La GnRH liberada por el hipotálamo controla la liberación de las gonadotropinas (FSH y LH). La FSH estimula el sistema enzimático de aromatasas, necesario para la producción de estrógenos a partir de los andrógenos en las células de la teca. Las células de la granulosa, secretan activina e inhibina que activan e inhiben respectivamente la síntesis y liberación de FSH. Los estrógenos sintetizados en las células teca ayudan a la maduración folicular e inducen una retroalimentación positiva en este eje, lo que da como resultado una mayor liberación de LH que induce la ruptura de la pared folicular para que ocurra la ovulación y en el cuerpo lúteo estimula la activación enzimática para la producción de progesterona. Los estrógenos y la progesterona son los responsables de la retroalimentación negativa de este eje (Tomada y modificada de Mendoza, 2008).

INERVACIÓN OVÁRICA

Se ha demostrado que el ovario posee inervación intrínseca y extrínseca. La inervación intrínseca tiene su origen en las neuronas que se encuentran en el ovario y está organizada en ganglios que originan a su vez fibras nerviosas intraováricas formando plexos ganglionares y cuya proyección va hacia los vasos sanguíneos e inerva el estroma ovárico, tejido intersticial y a la teca folicular (D'Albora, 2002).

En la rata wistar la presencia de neuronas catecolaminérgicas en los ovarios evidenciaron el desarrollo de ganglios en el hilio y mesovario, mientras que, en la médula y corteza ovárica esta neuronas se encuentran aisladas (D'Albora, 2002).

- Evidencias de la inervación extrínseca ovárica

La inyección del virus de la pseudorabia como trazador retrógrado realizada en los ovarios evidenció la presencia de neuronas en la médula ventrolateral, en el núcleo magnocelular, en el área postrema, en el núcleo vagal (núcleo del tracto solitario y dorsal del vago), grupos celulares noradrenérgicos A1 y A5, núcleo caudal del rafe, núcleo paraventricular hipotalámico y en el hipotálamo lateral, comprobando de esta manera la existencia de conexiones entre las gónadas y el sistema nervioso central (Gerendai *et al.*, 2009; Tóth *et al.*, 2007) (Figura 12).

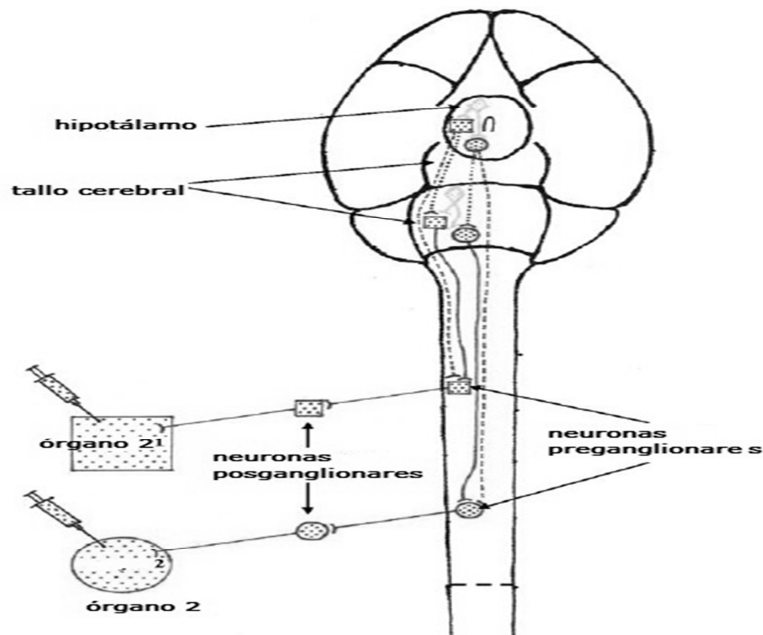


Fig. 12. Esquema que ilustra la técnica de doble trazado viral. Dos órganos (adrenal y ovario) diferentes son inoculados con el virus. Las terminaciones nerviosas del área infectada captan al virus y lo desplazan a lo largo de los axones posganglionares. Posteriormente, el virus se replica mediante la sinapsis de las neuronas preganglionares, las del tronco cerebral e hipotálamo son infectadas (Tomada de Gerendai *et al.*, 2009).

Por otra parte, Lawrence y Burden (1980) y Klein y Burden (1988) demostraron la presencia de la inervación adrenérgica mediante la técnica de histoquímica fluorescente y estudios de microscopía electrónica. Esta inervación llega a los ovarios a través de dos rutas diferentes: vía nervio ovárico superior (NOS) que viaja a través del músculo liso del ligamento suspensorio e inerva además de la gónada al oviducto y útero, y la vía plexo ovárico (PO) a través de la arteria ovárica. Además del NOS y del PO también se ha identificado como vía de inervación extrínseca al nervio vago (Baljet y Drukkler, 1979; Berthoud y Powley, 1996; Bortoli *et al.*, 1998; Dissen y Ojeda, 1999; Gerendai *et al.*, 1998; Lawrence y Burden, 1980) (Figura 13).

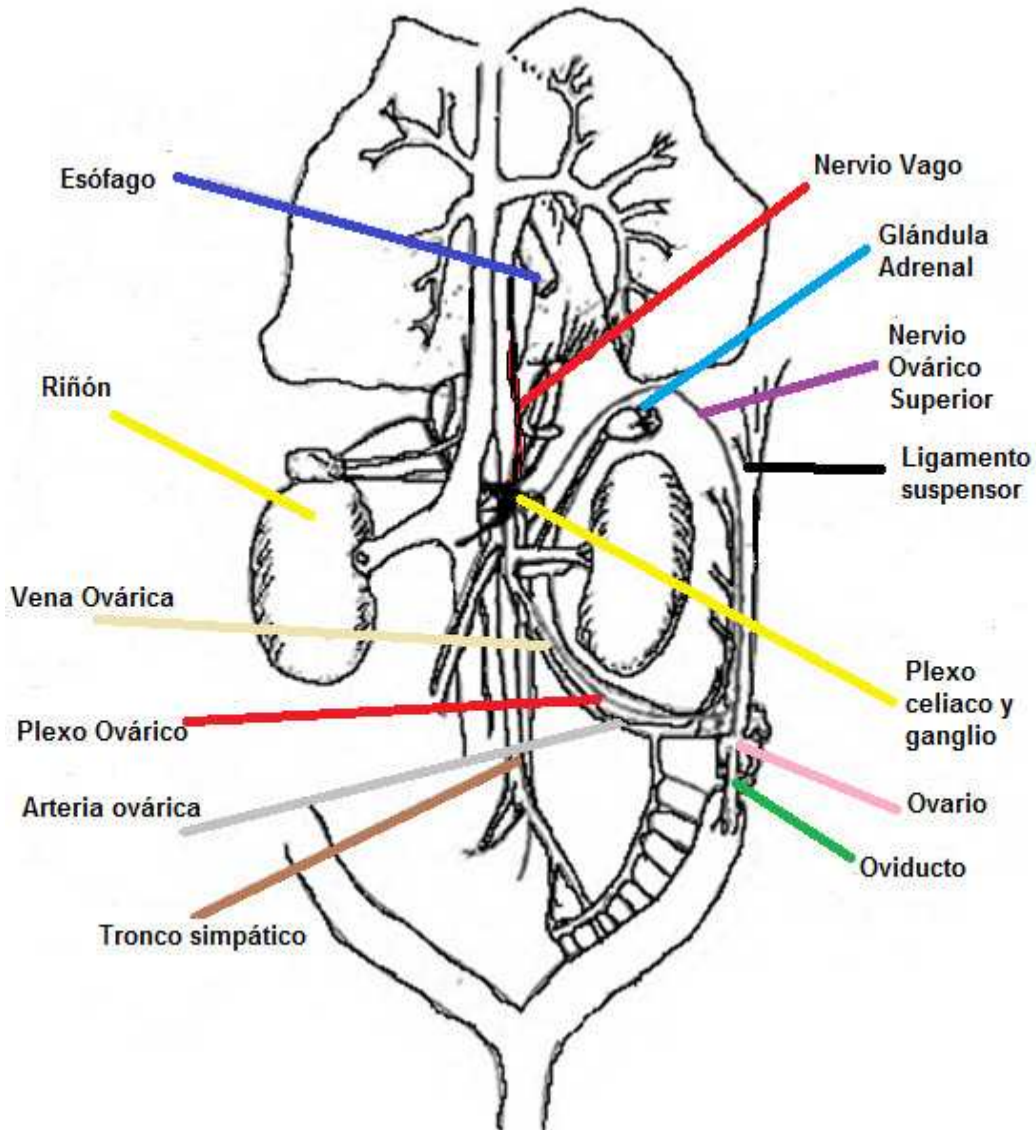


Fig. 13. Inervación de los ovarios. Vía nervio ovárico superior, nervio vago y plexo ovárico (Tomada y modificada de Lawrence y Burden, 1980).

- Nervio ovárico superior

El ovario recibe inervación simpática y parasimpática del sistema nervioso autónomo. Estos nervios poseen fibras aferentes (sensoriales) que llevan información al sistema nervioso central (Ahmed *et al.*, 1986).

En el cerebro se han localizado las neuronas a partir de las cuales descienden las fibras preganglionares simpáticas en distintos núcleos, como el caudal del rafé, los grupos celulares A1 y A5 noradrenérgicos, núcleo paraventricular e hipotálamo lateral, además, del núcleo del tracto solitario, núcleo dorsal del vago y en estructuras del sistema límbico (Tóth *et al.*, 2007).

La porción simpática de la inervación ovárica se origina en los segmentos de la médula espinal T-11 y L-4 en la cadena ganglionar simpática y hace sinapsis en el ganglio celíaco y mesentérico (Ahmed *et al.*, 1986; Dissen y Ojeda, 1999; Sosa *et al.*, 2000) (Figura 14).

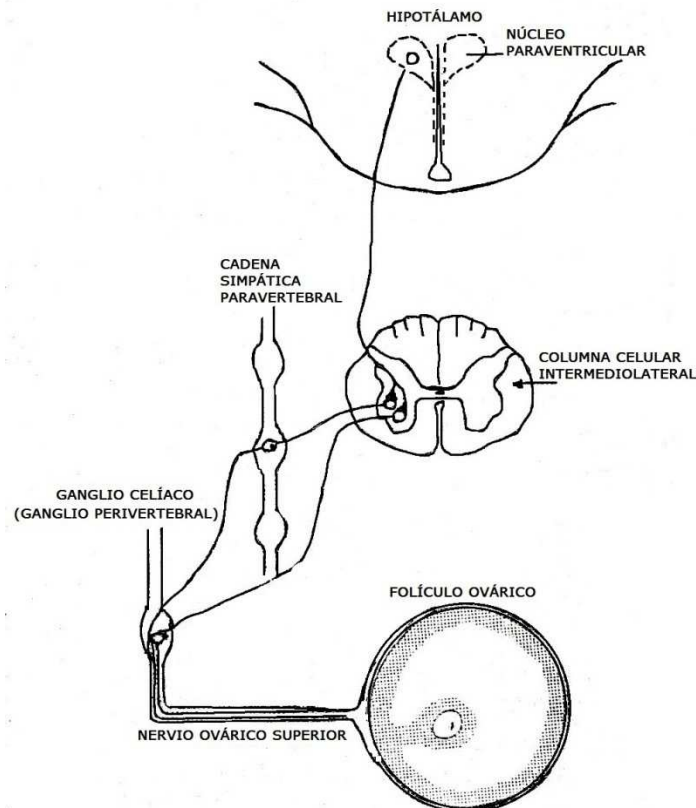


Fig. 14. La neuronas de primer orden que proyectan al ovario están localizadas en el Ganglio y en ganglios de la cadena simpática paravertebral, en donde reciben proyecciones de neuronas localizadas en la columna intermediolateral de la médula espinal que a su vez está conectada sinápticamente con el núcleo paraventricular del hipotálamo (Tomada y modificada de Dissen y Ojeda, 1999).

Las fibras posganglionares del NOS y PO tienen su origen en los ganglios pre-vertebrales del ganglio mesentérico superior-ganglio celiaco (GC) y de otros pequeños ganglios situados cerca del origen de la arteria ovárica y renal (Baljet y Drukkler, 1979; Bortoli *et al.*, 1998; Dissen y Ojeda, 1999; Isomura *et al.*, 1985; Klein y Burden, 1988). El GC es el principal centro nervioso encargado de transmitir información entre las gónadas y el sistema nervioso central (Ricu *et al.*, 2008) (Figura 15).

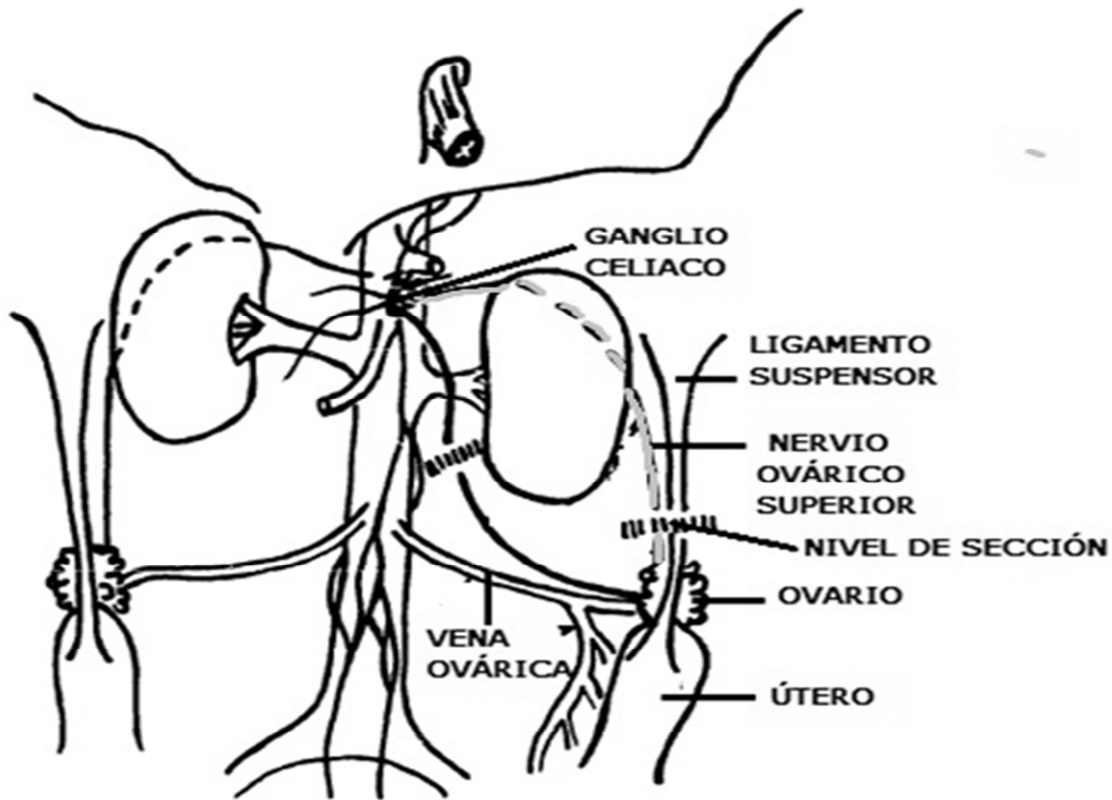


Fig. 15. Trayectoria del nervio ovárico superior a partir del ganglio celiaco y hasta el ovario (Tomada y modificada de Klein *et al.*, 1989).

Las fibras que provienen del NOS aportan a los ovarios NA y VIP. Estas fibras inervan directamente las células de la teca y las intersticiales; otras como las del cuerpo lúteo y de la granulosa, a pesar de no ser inervadas directamente, poseen receptores que responden a estímulos simpáticos (Aguado y Forneris, 2002; Aguado y Ojeda, 1986; Dissen y Ojeda, 1999; Lawrence y Burden, 1980).

Las fibras simpáticas también están asociadas con los vasos sanguíneos, el estroma ovárico y específicamente en los folículos antrales y primordiales (Ahmed *et al.*, 1986; Klein y Burden, 1988; Parra *et al.*, 2007).

- Participación de la noradrenalina en las funciones ováricas

Los estudios en ratas han demostrado que los nervios noradrenérgicos llegan al ovario momentos antes del nacimiento, por lo que, el inicio de la foliculogénesis es dependiente de la inervación que llega a los ovarios (Dissen y Ojeda, 1999; Moran *et al.*, 2009; Ricu *et al.*, 2008) y no de la capacidad de respuesta a las gonadotropinas. En resultados *in vitro*, se demostró la capacidad de respuesta del ovario, específicamente de los receptores β -adrenérgicos para producir AMPc y sintetizar receptores a FSH (Jordan, 1981; Morán *et al.*, 2009).

Las terminaciones nerviosas noradrenérgicas tienen sus cuerpos celulares ubicados en el locus coeruleus y en el bulbo raquídeo, donde forma cinco zonas principales. Estas vías se dividen en dorsal y ventral, la vía ventral inerva la corteza cerebral, el bulbo olfativo, el tálamo y el hipotálamo, mientras que la vía dorsal va desde el locus coeruleus hasta el mesencéfalo (Brown, 1994) (Figura 16).

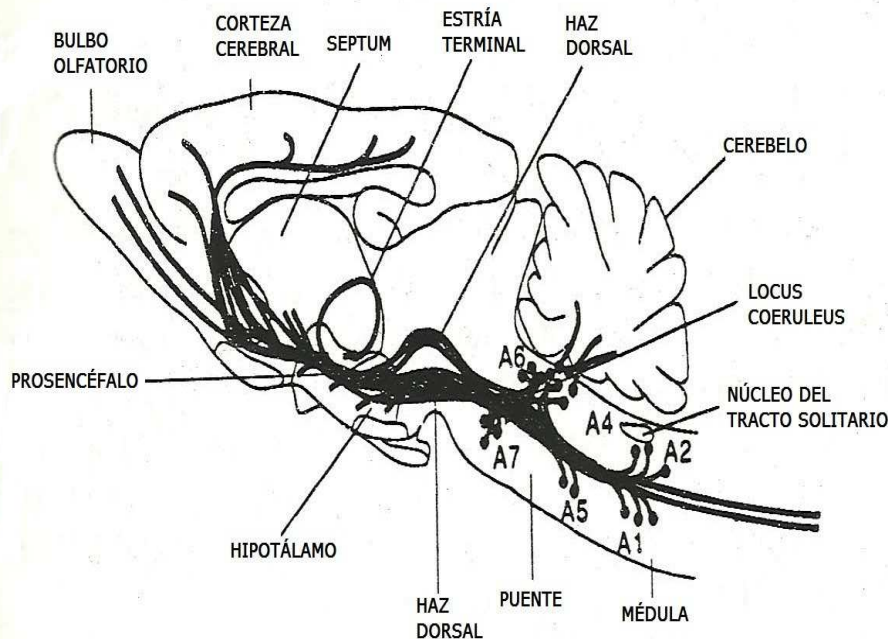


Fig. 16. Vías noradrenérgicas en el cerebro de ratona. Grupos de células noradrenérgicas (A1-A7), con dos vías principales de ascenso: haz dorsal que se proyecta desde el locus hasta el mesencéfalo y haz ventral desde los núcleos hipotalámicos y eminencia media (Tomada y modificada de Brown, 1994).

La NA actúa mediante receptores específicos de tipo β -adrenérgicos. Estudios *in vitro* han demostrado que el número de receptores en las células de la granulosa está regulado por la acción de las catecolaminas, como evidencia de ello se ha encontrado que el incremento en la concentración de NA durante el proestro produce un decremento en el número de receptores (Aguado y Ojeda, 1986).

Al actuar sobre los receptores β -adrenérgicos que se encuentran presentes en las células de la teca y granulosa la NA estimula la liberación de progesterona y andrógenos (en las células teco-intersticiales), pero, no de estradiol (Aguado y Ojeda, 1984; Dissen y Ojeda, 1999; Hernández *et al.*, 1988; Itóth, 2005; Sosa *et al.*, 2000; Yen *et al.*, 2001b).

En el líquido folicular se encuentran altas concentraciones de NA y la función de este neurotransmisor sobre el proceso de ovulación parece estar relacionado con la estimulación de las contracciones del músculo liso de la pared de los folículos (teca externa y estroma ovárico) cuando actúa sobre los receptores alfa adrenérgicos (Itóth, 2005).

El sistema *ex vivo* que estandarizó Sosa *et al.*, (2000) le permitió aislar parte del ganglio celíaco-NOS-ovario izquierdo (GC-NOS-OI) con el propósito de evaluar los efectos que tenían la NA (agonista adrenérgico), la fentolamina (antagonista α) y el propanolol (antagonista β) sobre la liberación de progesterona ovárica.

Las modificaciones en la liberación de progesterona ovárica variaron con la etapa del ciclo y el tipo de agente añadido. En proestro, la NA incrementó la liberación de progesterona, pero, disminuyó al añadir los antagonistas alfa y la fentolamina. En el estro, la NA, la fentolamina y el propanolol incrementaron progesterona. En diestro-1, la NA y el propanolol incrementaron la progesterona, mientras que, la fentolamina la disminuyó. En diestro-2, la NA inhibió la liberación y el propanolol la estimuló. En este trabajo también se demostró que la capacidad de respuesta del cuerpo lúteo a la NA es menor en la etapa de estro y posiblemente en proestro la secreción preovulatoria de LH evita que la NA sea detectable. Los resultados obtenidos pueden ser explicados por la participación de otros neurotransmisores como el neuropéptido Y o VIP, los cuales son reguladores de la liberación de NA, además podría sugerirse la presencia de receptores alfa y beta adrenérgicos en las neuronas del ganglio (Sosa *et al.*, 2000).

- Participación de péptido intestinal vasoactivo sobre las funciones ováricas

Utilizando la técnica de inmunohistoquímica se han localizado fibras vipérgicas alrededor de las venas y arterias ováricas, tejido intersticial y teca de los folículos en desarrollo (Dees *et al.*, 1986).

Experimentos *in vitro* con células de la granulosa inmaduras de rata han demostrado que el VIP actúa sobre estas células para ayudar a su maduración y generar una respuesta a neurotransmisores como la NA, lo que posteriormente les permite adquirir la capacidad de respuesta a las gonadotropinas. Además, estas fibras activan la síntesis de AMPc en el mismo tipo de células e inducen la expresión génica del receptor a FSH en ovarios de ratas neonatales (Dissen y Ojeda, 1999).

La aplicación de True Blue (marcador) en los ovarios permitió analizar la trayectoria de las fibras simpáticas que llegan por el NOS o por el PO. Los resultados obtenidos demuestran que el

17% de las células marcadas en los ganglios paravertebrales fueron inmunorreactivas para VIP en el NOS, mientras que, en el PO solo 1% fue para este péptido (Klein y Burden, 1988).

Este neurotransmisor está implicado en la regulación de la actividad androgénica y el estímulo de la producción de progesterona y estradiol en cultivos de células de la granulosa (Dissen y Ojeda, 1999; Parra *et al.*, 2007). La participación de este neurotransmisor en la esteroidogénesis podría estar relacionada con la actividad de la proteína reguladora de la esteroidogénesis (proteína StAR) (Kowalewski *et al.*, 2010).

El efecto de VIP sobre estradiol es mediado por el incremento en la biosíntesis de la aromataso o por el incremento en la actividad específica de esta enzima; ambos procesos no son excluyentes. También activa la síntesis de la división de la cadena lateral del colesterol (Parra *et al.*, 2007).

La estimulación de VIP sobre la producción de estradiol durante el proestro tardío es antecedido por un incremento en la concentración ovárica de VIP en diestro-2 y un aumento en la capacidad de VIP para inducir la liberación máxima de estradiol (Johnson *et al.*, 1992; Mayerhofer *et al.*, 1997; Parra *et al.*, 2007; Trzeciak *et al.*, 1986).

El efecto de VIP sobre la secreción de andrógenos en diestro-2, proestro y estro puede ser un reflejo de la habilidad de este neurotransmisor para incrementar la actividad enzimática de P450scc (Parra *et al.*, 2007).

- Participación del nervio ovárico superior sobre las funciones ováricas

El efecto de la sección del NOS ha sido objeto de diversos estudios; algunos se han centrado en datos clínicos y/o resultados de laboratorio como: retraso en la aparición de la pubertad, interrupción de la ciclicidad estral, cambios en la producción de esteroides ováricos y alteraciones en las concentraciones de hormonas hipofisarias (Doganay *et al.*, 2010).

Weiss *et al.* (1982), concluyeron que la estimulación en las fibras simpáticas que llegan al ovario influye directamente en la producción de progesterona. Una de las explicaciones para este resultado se podría deber al cambio en el flujo sanguíneo que se da indirectamente al estimular el nervio y que conllevaría a una disminución en la velocidad de eliminación de progesterona y por lo tanto, podría ser interpretada como cambio en su síntesis, o bien que este cambio en el flujo sanguíneo limita la llegada de nutrientes al ovario necesarios para la síntesis de la hormona.

En los animales con sección del NOS a las 13:00 h en el día del proestro se obtuvo menor concentración de progesterona y estradiol. El mismo tratamiento, pero, realizado a las 16:00 h en el día del estro resultó en disminución de progesterona, mientras que estradiol se mantuvo sin cambios (Aguado y Ojeda, 1984).

En ambos días del diestro la sección de uno o ambos nervios realizada a las 13:00 h no resultó en cambios sobre la concentración de progesterona cuando los tratamientos fueron evaluados 24 horas después (Serrano, 2009).

La falta de uno de los nervios en la etapa de diestro-1 a las 13:00 h no modificó la concentración de 17 β -estradiol, sin embargo, en el día del diestro-2 la sección del NOS izquierdo disminuyó la concentración de este esteroide. Estos tratamientos fueron evaluados 24 horas post-cirugía (Guzmán, 2009).

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

La sección unilateral del NOS realizada a las 07:00 y evaluada al estro vaginal disminuyó el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo en las etapas de diestro-2, proestro y estro, y en el ovario derecho en proestro. En las etapas de diestro-1, proestro y estro disminuyó el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo cuando se realizó la sección bilateral del NOS, este mismo efecto se observó sobre el ovario derecho en la etapa de proestro. La tasa de animales ovulantes fue menor en la etapa de diestro-1 y estro cuando se realizó la sección bilateral y únicamente en diestro-1 con la sección derecha (González, 2011).

En estudios previos, se demostró una diferencia en la tasa de ovulación en ratas con sección unilateral del NOS en el día del diestro-2. Estas diferencias se han interpretado como asimetrías entre los sistemas de regulación de los ovarios o bien como diferencias en la producción de estrógenos por parte de los ovarios (Morán *et al.*, 2005).

Existen pruebas de que los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación en animales con ovariectomía unilateral participan de manera diferente a la de animales intactos y dependen del ovario y la inervación *in situ* (Domínguez *et al.*, 1998).

La sección del NOS derecho en el día del diestro-2 en ratas con ovariectomía izquierda resultó en disminución de la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos (Chávez y Domínguez, 1994).

Montiel (2005) analizó los efectos de la sección del NOS en animales con ovariectomía realizada a las 13:00 h en el día del diestro-1 sobre la concentración sérica de hormonas esteroides registradas una hora después de las cirugías. Sus resultados evidencian que el NOS izquierdo modula de forma inhibitoria la concentración de progesterona y 17 β -estradiol, mientras que el NOS derecho modula en forma estimulante la concentración sérica de progesterona.

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

Mendoza (2007), obtuvo como resultados que a las 13:00 h en diestro-1 evaluando los efectos 1 hora después la sección del NOS derecho seguida de la ovariectomía izquierda disminuyen la concentración de progesterona, pero, aumentan la de 17 β -estradiol. Al realizar la sección del NOS derecho en animales con ovariectomía izquierda y la sección izquierda en animales con ovariectomía derecha, la concentración de 17 β -estradiol también aumentó.

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

La ovariectomía izquierda en animales con sección del NOS derecho disminuyó la concentración sérica de progesterona en ambos días del diestro a las 13:00 h y evaluado 24 horas después, como parte de este estudio también se obtuvo que la ovariectomía izquierda seguida de la sección del NOS derecho y la ovariectomía derecha seguida de la sección del NOS izquierdo disminuyeron también la concentración de la hormona (Serrano, 2009).

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

JUSTIFICACIÓN

Las funciones de los ovarios son reguladas por el hipotálamo, la hipófisis y la inervación que llega a las gónadas siendo el nervio ovárico superior una vía de comunicación con el sistema nervioso central que modula la respuesta de los ovarios a las gonadotropinas. Además, existen diferencias vinculadas con la hora del día sobre la regulación de la secreción hormonal y la actividad neural, entonces, se pretende analizar los efectos de la sección del nervio ovárico superior en animales con o sin ovariectomía unilateral, a las 7.00 h, sobre la concentración sérica de progesterona y 17β -estradiol en animales sacrificados una hora después de las cirugías.

HIPÓTESIS

El nervio ovárico superior constituye una de las vías de comunicación neural entre el sistema nervioso central y los ovarios. La presencia de esta inervación antes del nacimiento y durante la etapa post-natal ha llevado a pensar que esta actividad neural es un factor determinante para el desarrollo de las funciones ováricas.

Por lo tanto, la denervación producida por la sección del nervio ovárico superior afectará de manera diferente la secreción de progesterona y 17β -estradiol, lo cual dependerá del día del ciclo estral en que se realice y del ovario inervado.

Así mismo, la secreción de estas hormonas esteroides podría verse afectada si además de la sección del nervio es extirpada alguna de las dos gónadas en cuyos casos, los efectos no solo variarían por la etapa del ciclo estral en que se realicen sino también por el ovario *in situ*.

OBJETIVO GENERAL:

Analizar la participación del nervio ovárico superior a las 07:00 h sobre la secreción de progesterona y 17 β -estradiol durante el ciclo estral de la rata adulta con o sin ovariectomía unilateral.

Objetivos específicos:

1. Analizar si la laparotomía ventral realizada en cada etapa del ciclo estral representa un factor estresante que participa en los mecanismos de regulación de secreción de progesterona y 17 β -estradiol.
2. Analizar si la información noradrenérgica y vipérgica que llega a los ovarios en cada etapa del ciclo estral vía NOS participa en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la concentración sérica de progesterona y 17 β -estradiol.
3. Analizar si la capacidad de secreción de progesterona y 17 β -estradiol en cada etapa del ciclo estral es igual para cada uno de los ovarios.

MATERIALES Y MÉTODO

Se utilizaron ratas hembra, vírgenes, de tres meses de edad de la cepa CIIZ-V, mantenidas en condiciones de fotoperiodo controlado con 14 h luz y 10 de oscuridad (luces 05:00 – 19:00 h) y con libre acceso al agua y alimento (Purina rat chow).

A todos los animales se les realizó frotis vaginal diario para monitorear su ciclo estral y se utilizaron aquellos que presentaron al menos dos ciclos consecutivos de cuatro días cada uno. Los animales fueron distribuidos en los siguientes grupos experimentales:

Todos los tratamientos (n=7) se realizaron a las 07:00 h en cada etapa del ciclo estral.

Grupo testigo absoluto. Ratas sin ninguna manipulación sacrificadas a las 08:00 h en cada etapa del ciclo estral.

Grupo con laparotomía ventral. Este grupo nos permitió analizar los efectos de la incisión ventral en la que se cortó piel, músculo y peritoneo sobre la concentración de progesterona y 17 β -estradiol. Los animales fueron anestesiados previamente con éter. Los órganos internos se mantuvieron intactos y al finalizar la cirugía se suturó la herida (Ver Anexo 1).

Grupo con sección del NOS unilateral (NOS-X) o bilateral (NOS-B). Con el fin de analizar la participación del NOS sobre la función esteroidogénica de los ovarios, después de realizar la laparotomía ventral se seccionó el NOS izquierdo (NOS-I), derecho (NOS-D) o ambos nervios (NOS-B) (Ver Anexo 1).

Grupo con ovariectomía unilateral (Ovx-X). Para analizar los efectos de la presencia de uno de los ovarios sobre la concentración hormonal, a los animales se les realizó la laparotomía ventral y además se les extirpó el ovario izquierdo (Ovx-I) o derecho (Ovx-D). Al terminar, la herida se suturó (Ver Anexo 1).

Grupos con sección del NOS izquierdo (NOS-I) y ovariectomía unilateral (Ovx-X). Con este grupo fue posible analizar los efectos que tiene la presencia sola del NOS derecho y uno de los dos ovarios sobre la función de la gónada *in situ* y del nervio presente. Para ello a los animales se les seccionó el NOS izquierdo y posteriormente se les extirpó el ovario ipsilateral (NOS-I + Ovx-I) o el ovario contralateral al nervio seccionado (NOS-I + Ovx-D) (Ver Anexo 1).

Grupos con sección del NOS derecho (NOS-D) y ovariectomía unilateral (Ovx-X). Con este grupo fue posible analizar los efectos de la presencia sola del NOS izquierdo y uno de los dos ovarios sobre la secreción hormonal del ovario *in situ* y la función del NOS presente. Para ellos a los animales se les seccionó el NOS derecho y se les extirpó el ovario ipsilateral (NOS-D + Ovx-D) o el contralateral al nervio seccionado (NOS-D + Ovx-I) (Ver Anexo 1).

Grupos con ovariectomía izquierda (Ovx-I) y sección del NOS unilateral (NOS-X). El propósito de este grupo fue analizar el efecto de la falta del aporte hormonal del ovario izquierdo seguido de la falta de alguno de los NOS sobre la función del ovario y NOS *in situ*. A estos animales primero se les extirpó el ovario izquierdo y después se les seccionó el NOS izquierdo (Ovx-I + NOS-I) o derecho (Ovx-I + NOS-D) (Ver Anexo 1).

Grupos con ovariectomía derecha (Ovx-D) y sección del NOS unilateral (NOS-X). Con este grupo se pudo analizar el efecto sobre la concentración sérica de progesterona y 17 β -estradiol provocado por la falta del aporte hormonal de la gónada derecha y del NOS ipsi o contralateral al ovario extirpado. Para realizar este grupo, a los animales primero se les extirpó el ovario derecho y después se procedió a seccionar el NOS derecho (Ovx-D + NOS-D) o izquierdo (Ovx-D + NOS-I) (Ver Anexo 1).

Procedimiento de autopsia

Todos los animales fueron sacrificados por decapitación una hora después del tratamiento (08:00 h). Se recolectó la sangre troncal y se mantuvo durante 20 min. a temperatura ambiente. Posteriormente se centrifugó la muestra a 3000 rpm x15 min., se separó el suero y almacenó a -20° C hasta la cuantificación hormonal.

Cuantificación de progesterona y 17 β -estradiol

La cuantificación de la concentración sérica de progesterona y 17 β -estradiol se realizó por radioinmunoanálisis. La concentración de los esteroides se expresó en ng/mL de suero para progesterona (Curva patrón: 0.00099, 0.08, 0.49, 1.88, 9.8, 18.7 y 40 ng/mL) y en pg/mL de suero para el caso de 17 β -estradiol (Curva patrón: 2.48691, 10, 20, 50, 150, 250, 500, 900 y 1800 pg/mL).

Análisis estadístico

Los resultados de las concentraciones hormonales fueron analizados mediante la prueba de "t" de Student para comparar dos grupos y por análisis de varianza múltiple (ANOVA) para comparaciones múltiples. Se consideraron como significantes aquellas diferencias con una probabilidad menor o igual a 0.05.

RESULTADOS

CONCENTRACIÓN SÉRICA DE PROGESTERONA Y 17 β -ESTRADIOL EN ANIMALES INTACTOS

En los animales intactos la concentración de progesterona fue mayor en las etapas de diestro, mientras que, 17 β -estradiol fue menor en diestro-2 (Figura 17).

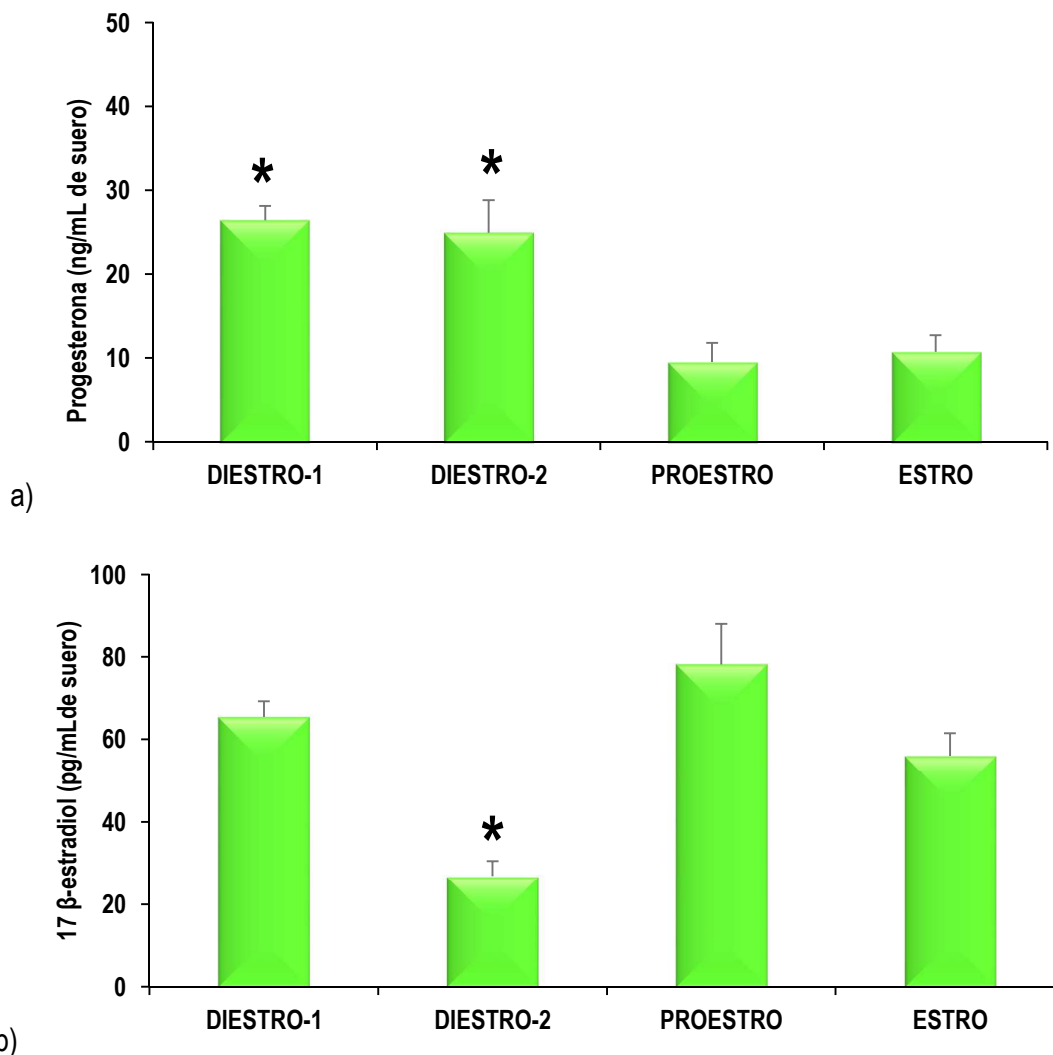


Fig. 17. Media \pm e.e.m. de la concentración sérica de progesterona (a) y 17 β -estradiol (b) en animales intactos sacrificados a las 08:00 h en cada etapa del ciclo estral. a) * $p < 0.01$ vs. proestro y estro (ANDEVA seguida de Tukey-Kramer); b) * $p < 0.05$ vs. diestro-1, proestro y estro (ANDEVA seguida de Tukey-Kramer)

EFFECTOS DE LA LAPAROTOMÍA VENTRAL SOBRE LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DE PROGESTERONA Y 17 β -ESTRADIOL

En comparación con su grupo testigo absoluto la concentración de progesterona fue mayor en los animales con laparotomía ventral realizada en las etapas de proestro y estro (Figura 18).

En cambio, la concentración sérica de 17 β -estradiol disminuyó en animales con laparotomía ventral en las etapas de diestro-1 y estro al compararse los resultados con el grupo testigo absoluto (Figura 18).

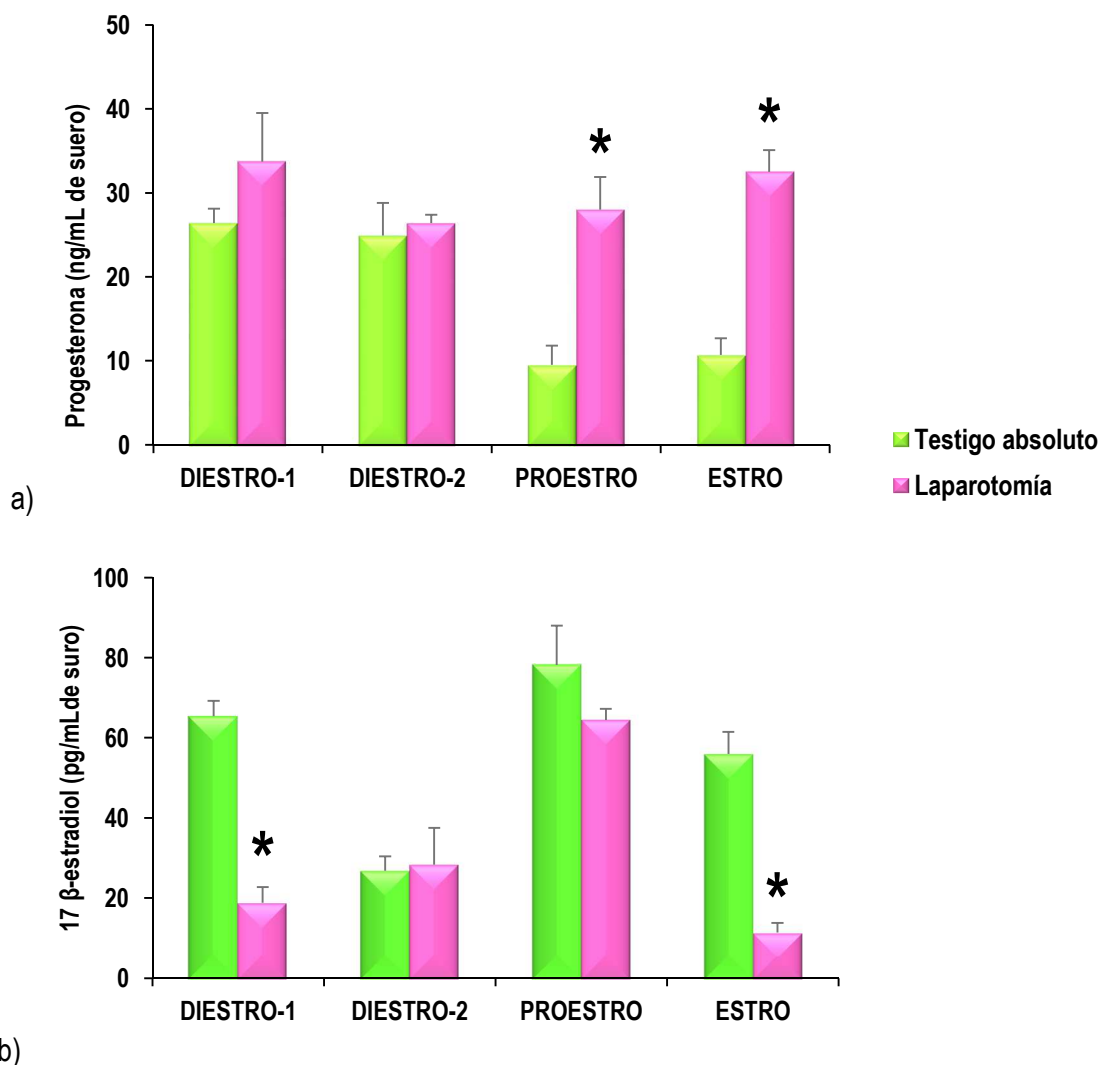


Fig. 17. Media \pm e.e.m. de la concentración sérica de progesterona (a) y 17 β -estradiol (b) en animales con laparotomía ventral realizada a las 07:00 h y sacrificados una hora después en cada etapa del ciclo estral. a) * $p < 0.005$ vs. testigo absoluto (prueba "t" de Student); b) * $p < 0.01$ vs. testigo absoluto (prueba "t" de Student).

EFFECTOS DE LA SECCIÓN DEL NERVIIO OVÁRICO SUPERIOR SOBRE LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DE PROGESTERONA Y 17 β-ESTRADIOL

La falta de uno o ambos nervios durante el ciclo estral no representó cambios significativos sobre la concentración de progesterona en comparación con el grupo de laparotomía ventral (Cuadro 1).

Cuadro 1. Media ± e.e.m. de la concentración sérica de progesterona (ng/mL de suero) en animales con sección del NOS o laparotomía ventral realizada a las 07:00 h y sacrificados una hora después en cada etapa del ciclo estral.

Tratamiento	n	Diestro-1	n	Diestro-2	n	Proestro	n	Estro
Laparotomía	5	33.7±5.8	5	26.4±1.0	4	28.0±3.9	5	32.5±2.6
NOS-I	7	37.6±2.8	7	35.3±4.1	7	35.0±2.2	7	34.0±4.0
NOS-D	5	33.6±3.7	7	33.6±3.8	7	35.3±2.6	7	30.6±2.7
NOS-B	5	34.4±4.8	7	32.8±1.9	5	31.6±2.9	7	28.9±2.4

n= no. de animales, NOS-I: sección del NOS izquierdo, NOS-D: sección del NOS derecho, NOS-B: sección de ambos nervios.

A diferencia de los resultados obtenidos con progesterona, en los animales con sección del NOS realizada en la etapa de estro aumentó la concentración sérica de 17 β-estradiol (Figura 18).

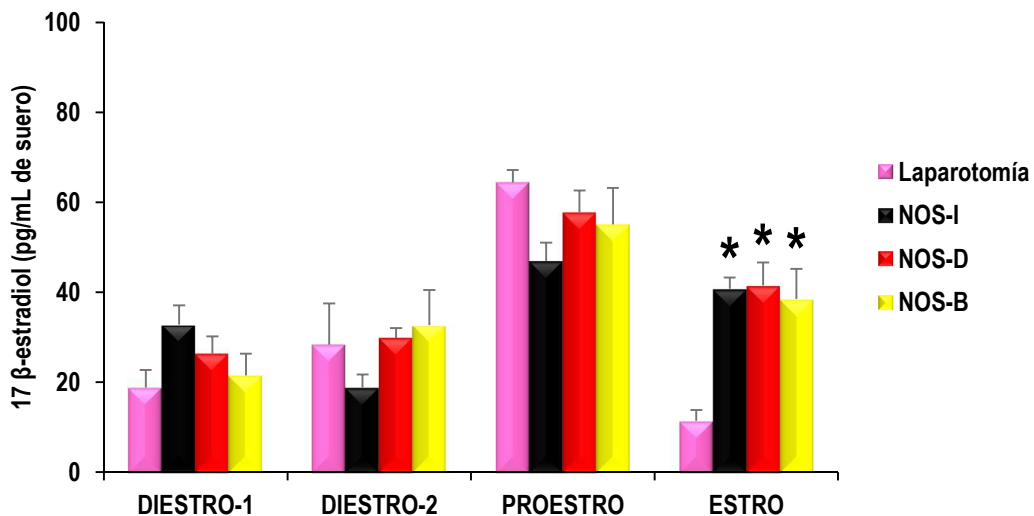


Fig. 18. Media ± e.e.m. de la concentración sérica de 17 β-estradiol en animales con laparotomía ventral o sección del NOS realizadas a las 07:00 h y sacrificados una hora después en cada etapa del ciclo estral. *p<0.01 vs. grupo con laparotomía (ANDEVA seguida de Tukey-Kramer). NOS-I: sección del NOS izquierdo, NOS-D: sección del NOS derecho, NOS-B: sección de ambos nervios.

EFFECTOS DE LA OVARIECTOMÍA UNILATERAL SOBRE LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DE PROGESTERONA Y 17 β -ESTRADIOL

En las etapas de diestro-1, proestro y estro la falta de un ovario no modificó la concentración de progesterona, pero, en la etapa de diestro-2 la ovariectomía izquierda resultó en mayor concentración de esta hormona en comparación con el grupo de laparotomía (Figura 19).

La concentración sérica de 17 β -estradiol aumentó en los animales con ovariectomía izquierda en las etapas de diestro-1 y estro, mientras que, en comparación con este tratamiento la concentración de esta hormona disminuyó en animales con ovariectomía derecha en estas mismas etapas (Figura 19).

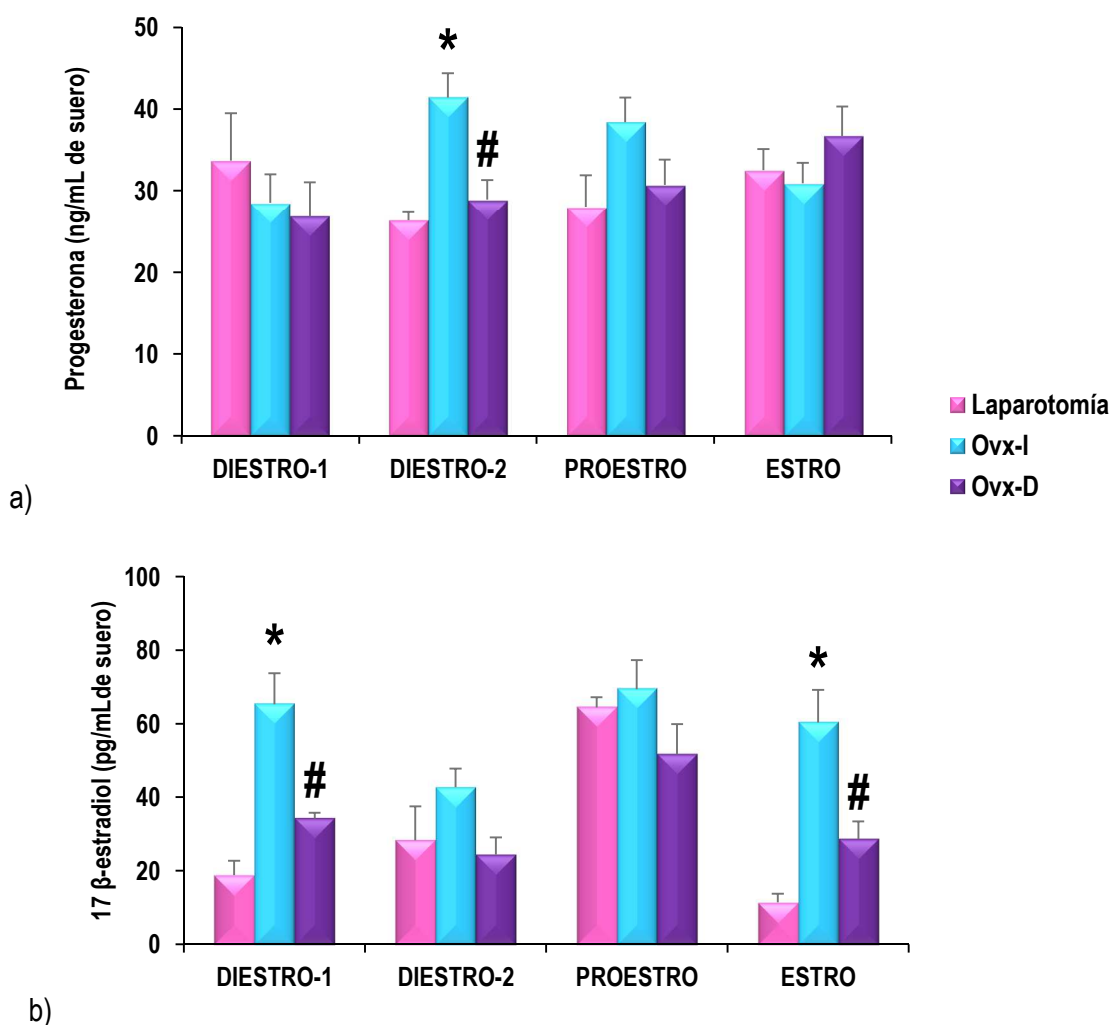


Fig. 19. Media \pm e.e.m. de la concentración sérica de progesterona (a) y 17 β -estradiol (b) en animales con laparotomía ventral u ovariectomía unilateral realizadas a las 07:00 h y sacrificados una hora después en cada etapa del ciclo estral. a) y b) * $p < 0.01$ vs. grupo con laparotomía, # $p < 0.01$ vs. grupo con Ovx-I (ANDEVA seguida de Tukey-Kramer). Ovx-I: Ovariectomía izquierda, Ovx-D: Ovariectomía derecha.

EFFECTOS DE LA OVARIECTOMÍA UNILATERAL EN ANIMALES CON SECCIÓN DEL NERVIJO OVÁRICO SUPERIOR SOBRE LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DE PROGESTERONA Y 17 β -ESTRADIOL

La ovariectomía unilateral realizada en animales con sección del NOS izquierdo durante el ciclo estral no modificó de manera significativa la concentración de progesterona en comparación con los animales que tenían únicamente sección del NOS izquierdo.

Cuadro 2. Media \pm e.e.m. de la concentración sérica de progesterona (ng/mL de suero) en animales con sección del NOS izquierdo seguida o no de la ovariectomía ipsi o contralateral realizadas a las 07:00 h y sacrificados una hora después en cada etapa del ciclo estral.

Tratamiento	n	Diestro-1	n	Diestro-2	n	Proestro	n	Estro
NOS-I	7	37.6 \pm 2.8	7	35.3 \pm 4.1	7	35.0 \pm 2.2	7	34.0 \pm 4.0
NOS-I + Ovx-I	6	39.3 \pm 1.9	7	37.7 \pm 3.7	7	34.7 \pm 2.4	7	27.9 \pm 1.3
NOS-I + Ovx-D	7	37.4 \pm 2.5	7	33.6 \pm 1.2	7	29.8 \pm 3.8	7	33.0 \pm 2.1

n= no. de animales, NOS-I: sección del NOS izquierdo, Ovx-I: ovariectomía izquierda, Ovx-D: ovariectomía derecha.

La concentración de 17 β -estradiol fue menor en los animales con ovariectomía izquierda y previa sección del NOS izquierdo en la etapa de diestro-1, pero, se obtuvo un efecto contrario en la etapa de diestro-2 con este mismo tratamiento (Figura 20).

La extirpación del ovario contralateral a la sección del NOS izquierdo resultó en aumento de la concentración de 17 β -estradiol en la etapa de diestro-1 derecho *in situ* e invadido (Figura 20).

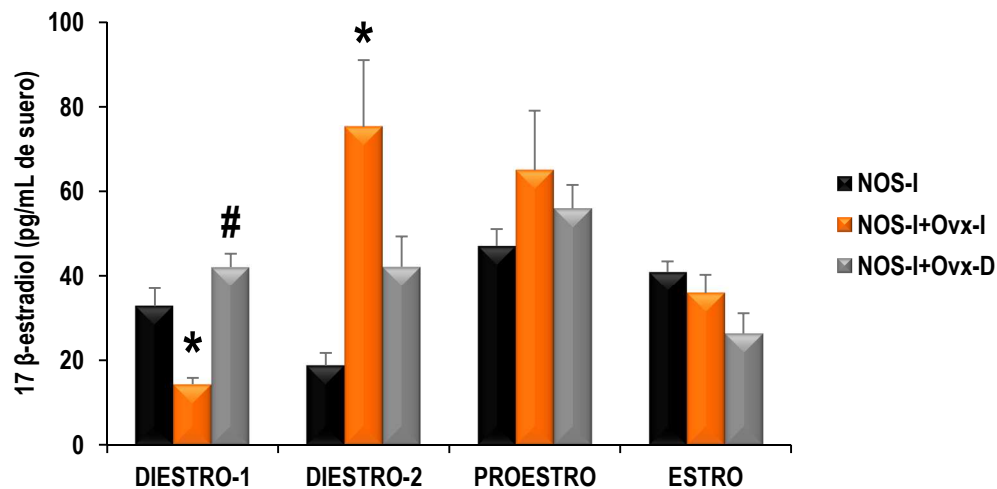


Fig. 20. Media \pm e.e.m. de la concentración sérica de 17 β -estradiol en animales con sección del NOS izquierdo (NOS-I) seguida o no de la ovariectomía izquierda (Ovx-I) o derecha (Ovx-D) realizadas a las 07:00 h y sacrificados una hora

después en cada etapa del ciclo estral. *p<0.01 vs. grupo con NOS-I, #p<0.001 vs. grupo con NOS-I + Ovx-I (ANDEVA seguida de Tukey-Kramer).

La ovariectomía ipsilateral o contralateral a la sección del NOS derecho no trajo alteración en la concentración sérica de ambas hormonas durante el ciclo estral a las 07:00 (Cuadro 4).

Cuadro 4. Media ± e.e.m. de la concentración sérica de progesterona y 17 β-estradiol en animales con sección del NOS derecho seguida o no de la ovariectomía ipsi o contralateral a la sección realizadas a las 07:00 h y sacrificados una hora después en cada etapa del ciclo estral.

Tratamiento	n	Diestro-1	n	Diestro-2	n	Proestro	n	Estro
progesterona (ng/mL de suero)								
NOS-D	5	33.6±3.7	7	33.6±3.8	7	35.3±2.6	7	30.6±2.7
NOS-D+Ovx-D	7	29.7±4.1	5	31.9±3.0	7	30.1±2.6	7	32.3±2.5
NOS-D+Ovx-I	7	43.1±3.8	7	36.3±4.4	7	25.7±4.5	7	34.3±3.7
17 β-estradiol (pg/mL de suero)								
NOS-D	5	26.3±3.9	5	29.8±2.2	5	57.7±4.9	5	41.6±5.1
NOS-D+Ovx-D	5	18.5±3.0	7	30.7±3.5	5	68.3±7.1	5	34.1±3.5
NOS-D+Ovx-I	7	23.0±2.5	5	33.2±3.4	7	61.0±10.9	5	48.7±8.2

n= no. de animales, NOS-D: sección del NOS derecho, Ovx-D: ovariectomía derecha, Ovx-I: ovariectomía izquierda.

EFFECTOS DE LA SECCIÓN UNILATERAL DEL NERVIIO OVÁRICO SUPERIOR EN ANIMALES CON OVARIECTOMÍA UNILATERAL SOBRE LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DE PROGESTERONA Y 17 β -ESTRADIOL

La concentración sérica de progesterona fue menor en los animales a los que se les realizó la ovariectomía izquierda seguida de la sección del NOS derecho en diestro-2 y proestro (Figura 21).

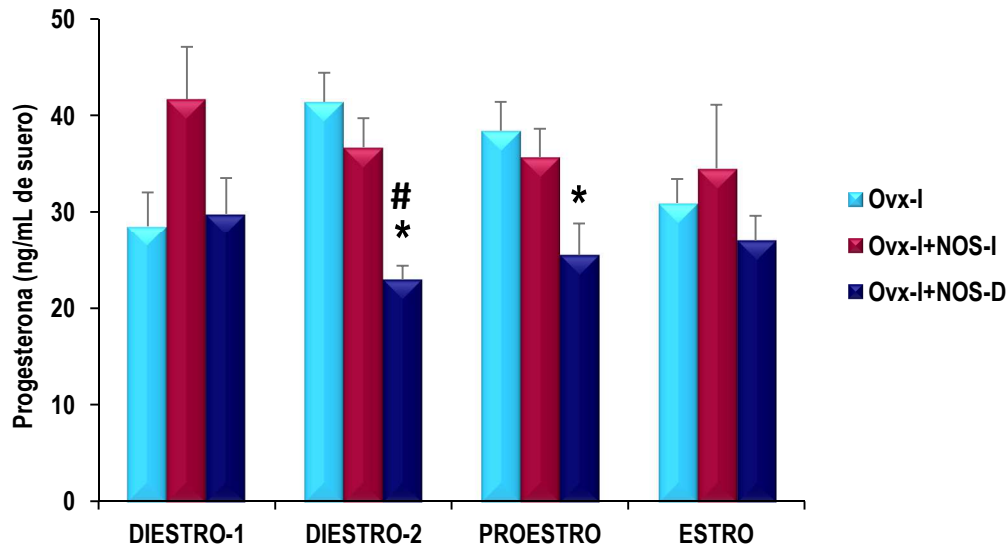


Fig. 21. Media \pm e.e.m. de la concentración sérica de progesterona en animales con ovariectomía izquierda (Ovx-I) seguida o no de la sección del NOS izquierdo (NOS-I) o derecho (NOS-D) realizadas a las 07:00 h y sacrificados una hora después en cada etapa del ciclo estral. * $p < 0.05$ vs. grupo con Ovx-I, # $p < 0.01$ vs. grupo con Ovx-I+NOS-I (ANDEVA seguida de Tukey-Kramer).

En los animales con ovariectomía izquierda seguida de la sección del NOS izquierdo fue menor la concentración de 17 β -estradiol en diestro-1 y estro. Cuando se realizó la ovariectomía izquierda seguida de la sección del NOS derecho la concentración de 17 β -estradiol también disminuyó, independientemente de la etapa del ciclo estral, respecto a lo registrado en los animales con ovariectomía izquierda (Figura 21).

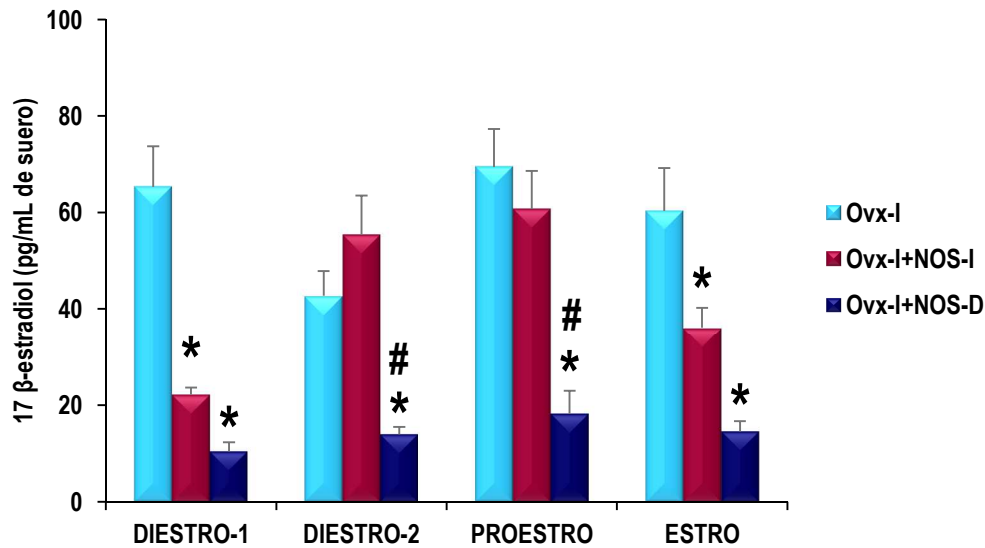


Fig. 22. Media \pm e.e.m. de la concentración sérica de 17 β -estradiol en animales con ovariectomía izquierda (Ovx-I) seguida o no de la sección del NOS izquierdo (NOS-I) o derecho (NOS-D) realizadas a las 07:00 h y sacrificados una hora después en cada etapa del ciclo estral. * $p < 0.05$ vs. grupo con Ovx-I, # $p < 0.01$ vs. grupo con Ovx-I+NOS-I (ANDEVA seguida de Tukey-Kramer).

En animales con ovariectomía derecha seguida de la sección del NOS derecho en la etapa de diestro-1 se presentó mayor concentración de progesterona respecto a lo observado en animales con ovariectomía derecha. A diferencia de ello, dicho tratamiento en la etapa del diestro-2 resultó en mayor concentración de 17 β -estradiol (Figura 23).

La sección del NOS contralateral a la ovariectomía derecha en las etapas de diestro-2 y proestro resultó en disminución de la concentración de progesterona respecto a la que presentaron los animales con ovariectomía derecha y sección ipsilateral del NOS (Figura 23).

La extirpación del ovario derecho seguida de la sección del NOS izquierdo se acompañó de menor concentración de 17 β -estradiol respecto a la registrada en los animales con ovariectomía derecha. Dicha concentración es menor respecto a lo observado en animales con ovariectomía derecha y sección ipsilateral del NOS en las etapas del diestro-1 y estro (Figura 23).

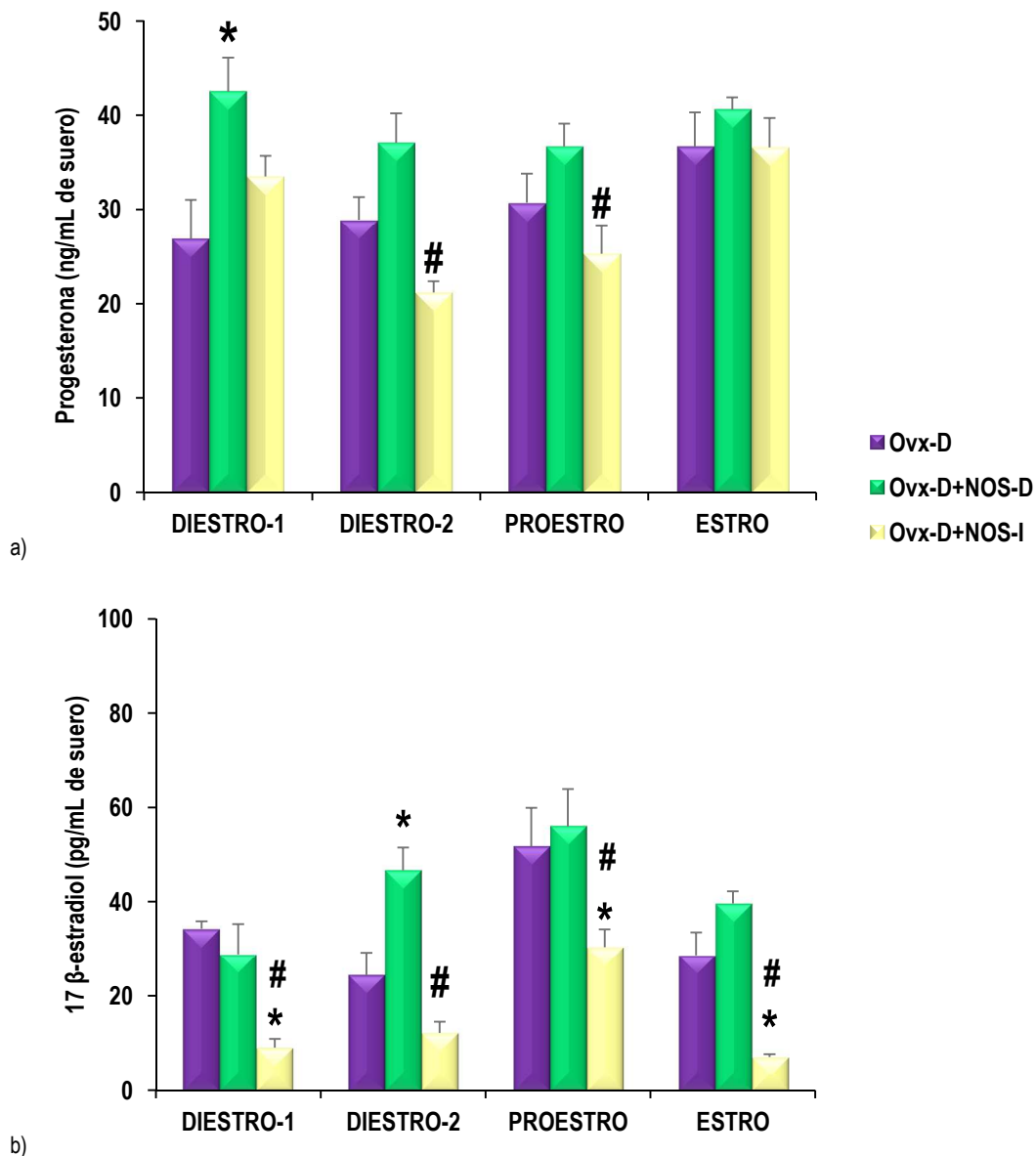


Fig. 24. Media \pm e.e.m. de la concentración sérica de progesterona (a) y 17 β -estradiol (b) en animales con ovariectomía derecha (Ovx-D) seguida o no de la sección del NOS derecho (NOS-D) o izquierdo (NOS-I) realizadas a las 07:00 h y sacrificados una hora después en cada etapa del ciclo estral. a)* $p < 0.05$ vs. grupo con Ovx-D, # $p < 0.05$ vs. grupo con Ovx-D+NOS-D (ANDEVA seguida de Tukey-Krammer), b)* $p < 0.01$ vs. grupo con Ovx-D, # $p < 0.001$ vs. grupo con Ovx-D+NOS-D (ANDEVA seguida de Tukey-Krammer).

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Con base en los resultados obtenidos proponemos que la información neural que llega a los ovarios vía nervio ovárico superior modula participa de manera inhibitoria o estimulante sobre los mecanismos que regulan la concentración de progesterona y 17β -estradiol lo que depende de la etapa del ciclo estral, del nervio y del ovario en estudio.

Los cambios en la concentración de progesterona en los animales con laparotomía ventral son un indicador de que este tratamiento representa un factor estresante que interviene en los mecanismos de regulación de la secreción de hormonas esteroideas y que además los efectos ante este factor regulan de manera diferentes la liberación de cada hormona y varían en función de la etapa del ciclo estral.

El aumento en la concentración de progesterona podría deberse a la participación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal. Se ha comprobado que la presencia de factores estresantes incrementa la secreción de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) hipotalámica, que al ser liberada en la eminencia media hacia la *pars distalis* de la adenohipófisis estimula en sus células corticotropas la secreción de la ACTH hacia el torrente sanguíneo para llegar a la zona fascicular de la corteza adrenal en donde estimula la secreción de progesterona (Ferin, 2006; Kalantaridou, 2004; Tóth *et al.*, 2008).

Sin embargo, los efectos de la activación de este eje varían en función de la etapa del ciclo estral, puesto que, cuando se llevó a cabo en las etapas de diestro-1 y estro el efecto solo se vió sobre la concentración de 17β -estradiol. Por lo que podemos sugerir que un incremento en la secreción de CRH y ACTH inhibe la acción gonadal de la GnRH, por lo que disminuyen las concentraciones plasmáticas de las gonadotropinas que podría dar como resultado una menor síntesis de 17β -estradiol (Ferin, 2006) en diestro-1 y estro. Estos cambios podrían explicar la disminución en el número de ovocitos liberados en los animales con laparotomía realizada en el día del estro (González, 2011). La capacidad de CRH para suprimir la producción de estrógenos podría darse por la inhibición en la vía de acción del AMPc (Calogero *et al.*, 1996; Murase *et al.*, 2002).

Las diferentes respuestas observadas en los animales con laparotomía también pueden ser explicadas por la participación de las vías nerviosas que se activan al cortar el peritoneo. Esto se apoya en las observaciones de Gebhart (2000) y Tanaka *et al.* (2002) que mostraron que el peritoneo parietal de la rata se encuentra inervado por fibras de tipo sensorial, mientras que, el peritoneo visceral recibe inervación de los nervios espinales y vago. Además, la inervación visceral sensitiva atraviesa los ganglios prevertebrales como el ganglio celiaco, ganglio mesentérico inferior y superior, que son puntos de origen de la inervación extrínseca de los ovarios (Baljet y Drukkler, 1979; Bortoli *et al.*, 1998; Dissen y Ojeda, 1999; Isomura *et al.*, 1985; Klein y Burden, 1988) y con base en los resultados se sugiere que la información neural que llega por esas vías modifica la capacidad de respuesta a las gonadotropinas por parte de los ovarios.

La concentración sérica de progesterona no se modificó en los animales con sección unilateral o bilateral del NOS por lo que sugerimos que la información neural que transcurre por este nervio a las 07:00 h no participa en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la concentración de progesterona.

A pesar de que se ha mostrado que los neurotransmisores que llegan a los ovarios modifican la liberación de esta hormona (Aguado y Ojeda, 1984; Dissen y Ojeda, 1999; Parra *et al.*, 2007; Sosa *et al.*, 2000).

En los ovarios, la presencia de VIP, substancia P y Neuropeptido Y (NPY) en diestro-1 inhiben la liberación de progesterona, pero, en diestro-2 la estimulan. Al establecer un sistema *in vitro* ovario-NOS-GC, el NPY y VIP incrementan la liberación de progesterona en diestro-1 y la SP la disminuye (Garraza *et al.*, 2004). Dissen y Ojeda (1999) mencionan que NA y VIP estimulan la liberación de progesterona en cultivos de células de la granulosa.

El incremento en la concentración sérica de 17 β -estradiol en la etapa de estro en animales con sección del NOS, nos sugiere que la información noradrenérgica y vipérgica que llega a los ovarios por esta vía de inervación modula en forma inhibitoria la acción de las gonadotropinas sobre la esteroidogénesis. Sin embargo, también podría sugerirse que la presencia de uno de estos nervios inhibe la función del otro y que al realizar cualquier de las secciones el factor inhibitor desaparece por lo que aumenta la concentración de 17 β -estradiol.

Aguado *et al.* (1984), no reportaron cambios al realizar la sección unilateral del NOS en la etapa de estro. Por otro lado, al igual que nuestros resultados Morales *et al.* (1998), mostraron en ratas prepúber la disminución en las concentraciones de 17 β -estradiol como resultado del mismo procedimiento. Evidenciando aún más la hipótesis de que la esteroidogénesis ovárica es modulada por la inervación que llega a las gónadas.

La liberación de progesterona ovárica fue modificada mediante la estimulación con agentes adrenérgicos, como la NA, el efecto de este neurotransmisor dependió de la etapa del ciclo en que se realizó el estímulo. En la etapa de proestro, la acción de la NA sobre la liberación de progesterona no resultó en cambios significativos. Sin embargo, el efecto adrenérgico sobre la actividad del cuerpo lúteo quedó demostrado en las etapa de diestro-1, en donde la NA potenció aún más la liberación de progesterona (Sosa *et al.*, 2000).

Sin embargo, las catecolaminas que actúan en el ovario y sus receptores β -adrenérgicos pueden tener diferentes orígenes, como la médula de la glándula adrenal y las sintetizadas de *novo* en el ovario y en las cuales se ha demostrado su efecto paracrino sobre las células esteroidogénicas de este órgano (Greiner, 2008).

A pesar de que las células de la granulosa no reciben inervación directa, se ha mostrado que poseen receptores β -adrenérgicos (Aguado y Forneris, 2002; Aguado y Ojeda, 1986; Dissen y Ojeda, 1999; Lawrence y Burden, 1980). A partir de esto, podemos sugerir que los cambios observados en la concentración de 17 β -estradiol en animales con sección del NOS son resultado, también, del estímulo catecolaminérgico que reciben o no estas células de la granulosa.

Los receptores adrenérgicos se encuentran relacionados con una mayor liberación de progesterona y andrógenos (Adashi y Hsueh, 1981; Aguado *et al.*, 1982; Greiner, 2008), es por ello que los cambios en la actividad neural de la inervación extrínseca de los ovarios, principalmente del NOS al liberar NA provoque una mayor liberación de andrógenos que al atravesar la membrana basal son aromatizados a 17 β -estradiol y que con ello se explique el aumento en las concentraciones de esta hormona.

No hay que olvidar, que además de la inervación extrínseca que llega a los ovarios, también, son reguladores de la esteroidogénesis ovárica los factores de crecimiento, la relaxina, inhibina, activina y folistatina los cuales ejercen su efecto a nivel hipofisiario sobre la síntesis de gonadotropinas, por lo que un incremento o disminución en las concentraciones de estas hormonas podría verse reflejado sobre la síntesis de hormonas esteroides ováricas (Botella, 1995; Clark *et al.*, 1978; Shao-Yao y Zhong, 2006; Yen *et al.*, 2001b).

Los cambios registrados cuando se realizó la ovariectomía unilateral nos permiten sugerir que la capacidad secretora de cada ovario depende del esteroide y la etapa del ciclo estral en estudio. Ya que se observó que el ovario derecho aporta mayor concentración de progesterona a la circulación en la etapa de diestro-2 y 17 β -estradiol en las etapas de diestro-1 y estro.

Posiblemente, la participación de la inervación extrínseca de los ovarios modifica de manera diferente la capacidad de respuesta de estos a las gonadotropinas. Además, se ha evidenciado que el número de conexiones con el sistema nervioso central es diferente para cada ovario.

Las conexiones neuronales entre el ovario izquierdo y las estructuras cerebrales como el núcleo del tracto solitario, el núcleo dorsal del nervio vago, el grupo de la celda A5 noradrenérgico, los núcleos del rafé caudal, el núcleo paraventricular del hipotálamo y el hipotálamo lateral, son más abundantes que el número de conexiones neuronales entre estos grupos de células y el ovario derecho (Tóth *et al.*, 2007). Posiblemente una diferencia en estas conexiones sea la explicación de los cambios registrados al realizar las ovariectomías

Klein y Burden (1988), utilizando la técnica de inmunohistoquímica comprobaron que el ovario derecho recibe mayor cantidad de fibras simpáticas que el ovario izquierdo, por lo que, los efectos que resulten por la sección del NOS podrían deberse a la presencia o no de información simpática en las gónadas.

Moran *et al.* (2005) mostraron que la actividad del ganglio celíaco y su comunicación con los ovarios varía en función del día del ciclo estral y del ovario en estudio. Las diferencias en la capacidad de respuesta de los ovarios a las gonadotropinas parecen variar en función de la presencia de fibras posganglionares que provienen del ganglio celíaco-mesentérico superior.

La inyección del marcador retrógrado de true blue en el ovario derecho resultó en un marcaje neuronal diferente al obtenido cuando se inyectó en el ovario izquierdo sugiriendo de esta manera una asimetría en la actividad neural entre los ovarios y el ganglio (Morán *et al.*, 2005).

Los efectos de la ovariectomía unilateral en mamíferos han sido analizados en términos de hipertrofia compensadora del ovario *in situ*, actividad folicular, aumento en el número de ovocitos y cuerpo lúteos. Los mecanismos implicados en la hipertrofia compensadora ovárica y ovulación en ratas con ovariectomía unilateral se dan a través de cambios en la secreción de gonadotropinas y esteroides ováricos (Barco *et al.*, 2003).

Los resultados obtenidos por Howland y Skinner (1973) sugieren que la eliminación de un ovario en el día del estro conlleva a un aumento en las concentraciones de LH y FSH. En las ratas con ovariectomía en el diestro-1 el aumento en las concentraciones de FSH podría ser el responsable de un mayor desarrollo folicular.

Se postula la existencia de una vía multisináptica en el sistema nervioso central que participa en la inervación de los ovarios. Esta vía se compone de varias estructuras incluyendo la columna intermediolateral, el núcleo del tracto solitario, el complejo vagal dorsal, área postrema, grupos celulares A1, A5 y A7 y el núcleo del rafe (Gerendai *et al.*, 1998).

Los resultados obtenidos a partir de la técnica de doble trazado viral indican que hay neuronas que inervan exclusivamente a un órgano determinado, que existe una mayor inervación supraespinal hacia las glándulas endocrinas (ovarios, adrenales), que las poblaciones neuronales coexisten en diferentes áreas del cerebro que están conectadas trans sinápticamente (Gerendai *et al.*, 2009).

Los resultados obtenidos en la etapa de diestro-1 nos permiten sugerir que la información neural que llega vía NOS izquierdo participa en los mecanismos que regulan la capacidad de secreción de 17 β -estradiol de ambos ovarios, debido a que, su ausencia o presencia resulta en cambios sobre la concentración sérica de esta hormona. Sin embargo, a diferencia de ello la ausencia del NOS derecho solo representó un factor de cambio sobre el ovario izquierdo al participar de manera estimulante sobre la secreción de 17 β -estradiol por parte de este ovario.

Además, se puede observar que existe una diferencia en los resultados que depende del orden en que se realicen los tratamientos, es decir, si es eliminada primero la vía neural o el aporte hormonal.

En la etapa de diestro-2, ambos nervios participan de manera estimulante sobre la secreción de progesterona y 17 β -estradiol de cada ovario, pero, se hace evidente el cruce de información, puesto que los efectos que resultan de la sección del NOS derecho se ven reflejados sobre el ovario izquierdo y viceversa.

Los resultados obtenidos cuando se eliminó la información del NOS izquierdo y el aporte hormonal del ovario izquierdo, así como, la falta del aporte hormonal del ovario derecho y la información neural del NOS derecho nos permiten sugerir que ambos nervios y ambos ovarios se encuentran inhibiendo la función de su par y que además la capacidad de secreción de esta hormona en cada ovario está modulada únicamente por el NOS que llega a cada uno.

Las concentraciones séricas de progesterona y 17 β -estradiol en proestro disminuyeron cuando se eliminó primero el aporte hormonal seguido de la sección del NOS contralateral a éste. Al igual, que en la etapa de diestro-2, estos resultados, nos permiten sugerir que existe una comunicación entre ambos ovarios a algún nivel del sistema nervioso central. Es por ello, que la información noradrenérgica y vipérgica que llega vía NOS izquierdo o derecho modula la actividad estereidogénica del ovario contralateral a esta vía de inervación.

Mendoza (2007) no reportó cambios en la concentración de progesterona durante las etapas de proestro y diestro-2 cuando se realizó la ovariectomía derecha y la sección contralateral del NOS a las 13:00 h. Sin embargo, Serrano (2009) reportó una disminución en progesterona similar a lo observado en este estudio en la etapa de diestro-2.

A pesar de que en la etapa de estro la concentración sérica de 17 β -estradiol incrementó cuando se realizó la sección unilateral o bilateral del NOS, cuando este tratamiento fue acompañado de la ovariectomía unilateral, no se registraron cambios sobre la concentración de esta hormona, por lo que, posiblemente la modulación inhibitoria que ejerce este nervio sobre la secreción de 17 β -estradiol dependa de la presencia o ausencia de uno de los ovarios.

Nuestros resultados observados en la etapa de estro fueron similares a los obtenidos en la etapa de diestro-1 cuando se realizó la ovariectomía izquierda o derecha y se seccionó el NOS contralateral, lo que resultó en disminución de la concentración sérica de 17 β -estradiol. En esta etapa, el ovario izquierdo no solo es dependiente de la información que llega a él por el NOS izquierdo, sino también, de la información que aporta el NOS derecho, mientras que, el ovario derecho parece depender únicamente de la presencia o ausencia del NOS izquierdo para que lleven a cabo su función estereidogénica.

La actividad del ganglio celiaco puede ser modificada por la estimulación de agonistas adrenérgicos o antagonistas y esta actividad neural llega al ovario vía NOS modificando la función estereidogénica de las gónadas, por lo que un posible cambio en la concentración de

Progesterona o 17 β -estradiol cuando se realizan tratamientos contralaterales podría ser explicado por la información que llegaría hasta el ganglio celiaco y que comunicaría con la gónada *in situ* (Sosa *et al.*, 2000).

Además del NOS también se han identificado como vías de inervación extrínseca de los ovarios al nervio del PO y al nervio Vago (Baljet y Drukkler, 1979; Berthoud y Powley, 1996; Bortoli *et al.*, 1998; Dissen y Ojeda, 1999; Gerendai *et al.*, 1998). La inervación vagal tiene su origen en ganglios prevertebrales y hace sinapsis con las neuronas preganglionares simpáticas que inervan a su vez al núcleo del tracto solitario, células catecolaminérgicas A5 y otras (Gerendai, 2009).

Se ha sugerido que la participación de la inervación simpática sobre las funciones del ovario es regulada por el nervio vago, esto es a partir de los sitios de origen de la inervación simpática y en donde se ha demostrado la presencia de fibras vagales (Berthoud y Powley, 1996).

Es por ello que se sugiere que además, de una posible conexión entre ambos ovarios a partir del GC y que se establece por medio del NOS, existe también una comunicación a partir de los puntos de origen de la inervación vagal y simpática.

Nuestros resultados confirman la existencia de diferencias en la capacidad de respuesta de los ovarios ante cambios neuroendocrinos. Además, de evidenciar aún más la existencia de una vía de comunicación entre ambas gónadas que se da a partir de los ganglios en donde tiene su origen el NOS. Tal y como lo registraron Morán *et al.* (2005) quienes mostraron que la actividad del GC y su comunicación con los ovarios varía en función del día del ciclo estral y del ovario analizado.

CONCLUSIONES

- La laparotomía ventral realizada a las 07:00 h es un factor estresante que resulta en cambios en la concentración de progesterona y 17 β -estradiol que dependen de la etapa del ciclo estral en la que se realizó la cirugía
- El nervio ovárico superior en animales con ambos ovarios no participa en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la secreción de progesterona y modula de manera inhibitoria la acción de las gonadotropinas sobre el folículo ovárico lo que resulta en aumento de la secreción de 17 β -estradiol.
- El nervio ovárico superior izquierdo en animales con ovariectomía unilateral no participa en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la concentración sérica de progesterona. A diferencia de ello, dicho nervio en el diestro-1 modula en forma estimulante la secreción de 17 β -estradiol y de manera inhibitoria en el día del diestro-2.
- El nervio ovárico superior derecho en animales con ovariectomía unilateral no participa en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la concentración sérica de las hormonas esteroides.
- La participación del nervio ovárico superior en animales con previa ovariectomía unilateral depende de la etapa del ciclo estral, del nervio y ovario en estudio

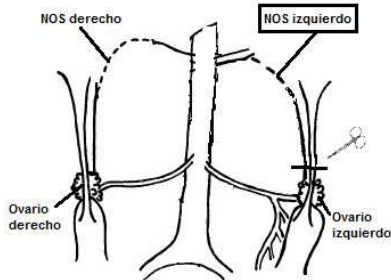
ANEXO 1

1. Animales con laparotomía ventral

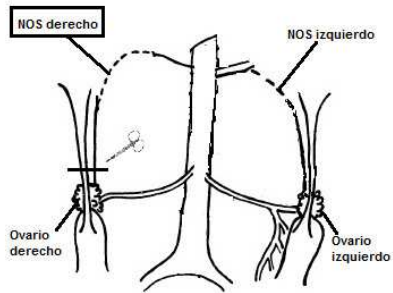


Incisión ventral cortando piel, músculo y peritoneo

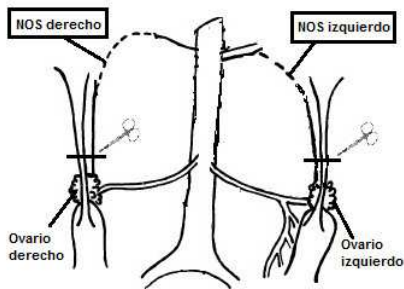
2. Animales con sección del NOS izquierdo, derecho o sección de ambos



Sección del NOS izquierdo y permanece el NOS derecho intacto e *in situ*.

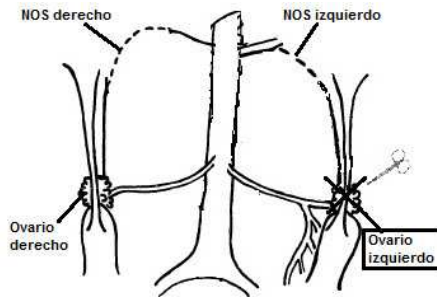


Sección del NOS derecho y permanece el NOS izquierdo intacto e *in situ*.

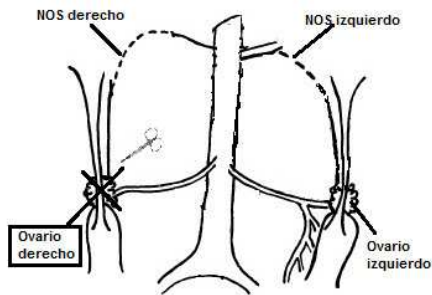


Sección de ambos NOS, primero se seccionó el NOS izquierdo y posteriormente el NOS derecho.

3. Animales con ovariectomía unilateral

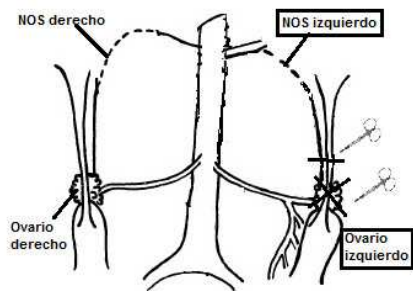


En estos animales se les extirpó el ovario izquierdo y permaneció el ovario derecho *in situ*.

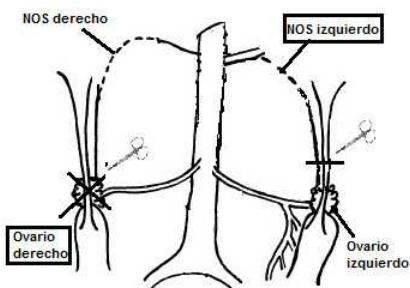


Extirpación de la gónada derecha, dejando la izquierda *in situ*.

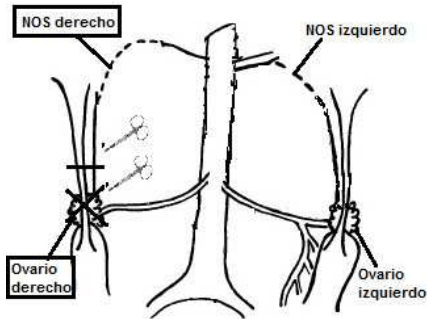
4. Animales con sección unilateral del NOS seguida de la ovariectomía unilateral



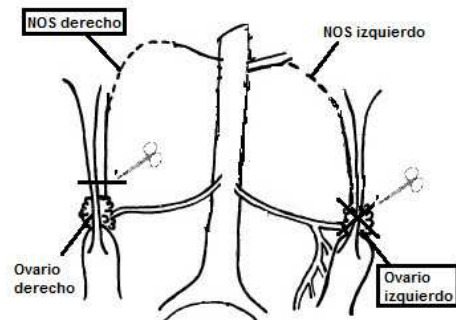
A los animales en este grupo experimental se les realizó como primer paso la sección del NOS izquierdo seguido de la ovariectomía ipsilateral al nervio seccionado. Por lo tanto, el NOS y el ovario derecho permanecieron intactos e *in situ*.



En este grupo experimental se seccionó primero el NOS izquierdo seguido de la extirpación del ovario derecho, por lo que, el ovario izquierdo permaneció *in situ* y denervado.

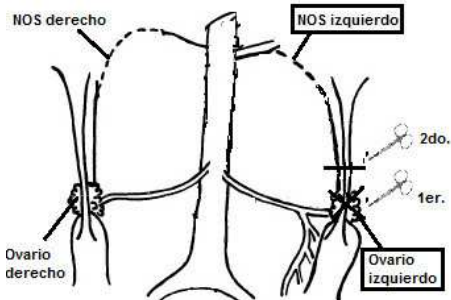


Para realizar este tratamiento primero se realizó la sección del NOS derecho y como segundo paso se extirpó la gónada del mismo lado, por lo tanto, el ovario izquierdo quedo *in situ* e innervado.

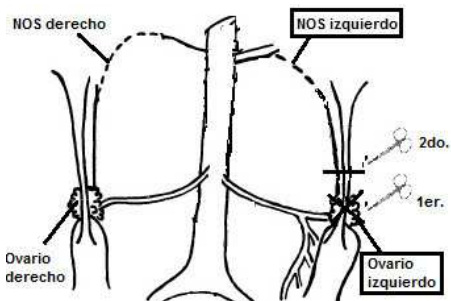


Animales con sección del NOS derecho seguida de la extirpación del ovario izquierdo, por lo tanto, queda el ovario derecho *in situ* y la presencia del NOS contralateral a éste.

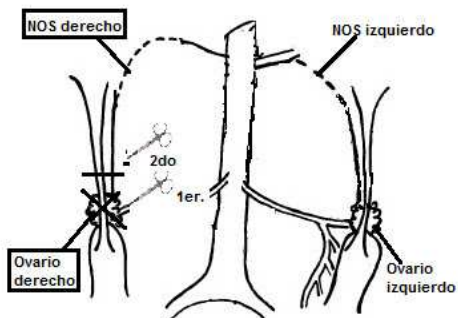
5. Animales con ovariectomía unilateral seguida del sección unilateral del NOS



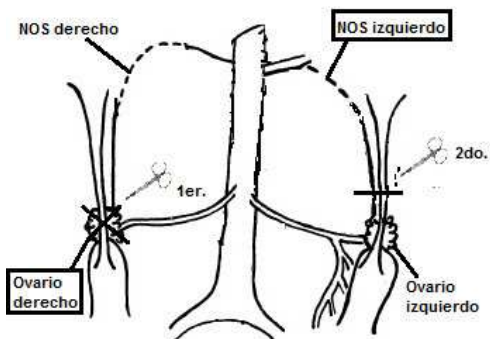
A los animales en este tratamiento primero se les extirpó el ovario izquierdo y se prosiguió con la sección del NOS izquierdo, quedando el ovario derecho *in situ* e innervado.




En este tratamiento la extirpación del ovario izquierdo fue acompañada de la sección del NOS derecho y con ello el ovario derecho y el NOS izquierdo permanecieron *in situ*.




La extirpación del ovario derecho fue acompañada de la sección del NOS del mismo lado. En estos animales el ovario y el NOS izquierdo permanecieron *in situ*.



El primer paso en este tratamiento fue la extirpación de la gónada derecha seguida de la sección del NOS izquierdo. En estos animales permaneció el ovario izquierdo y el NOS derecho *in situ*.



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




Otorga la presente
CONSTANCIA

A: Santiago-Chiñas ML¹, Zárate-Pérez A¹, González-Espinosa LE¹,
Domínguez-Casalá R², Flores-Ramírez A.²

Por la presentación del trabajo:

CONCENTRACIÓN SÉRICA DE PROGESTERONA Y 17 β-ESTRADIOL EN ANIMALES CON SECCIÓN DEL NERVIIO OVÁRICO SUPERIOR A LAS 07:00 H A LO LARGO DEL CICLO ESTRAL

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



Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez
Director



La Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas A.C.
Otorga la presente constancia a:



Santiago-Chiñas ML, Zárate-Pérez A, González-Espinosa LE, Everardo-Arévalo PM, Cruz-Beltrán ME, Flores-Ramírez A, Domínguez-Casalá R

Por la presentación del trabajo:

LOS EFECTOS AGUDOS DE LA SECCIÓN UNI O BILATERAL DEL NERVIIO OVÁRICO SUPERIOR REALIZADOS A LAS 07.00 Ó 13.00 H DE CADA DÍA DEL CICLO ESTRAL DEPENDEN DEL DÍA DEL CICLO ESTRAL Y LA HORA EN QUE SE REALIZÓ EL ESTUDIO

En el marco del LIV Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas
10-14 de Septiembre, 2011. León, Guanajuato, México.



Dra. Carolina Escobar Briones
Presidenta



Dr. David Centurión Pacheco
Secretario



LA SOCIEDAD MEXICANA DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS AC


HACE CONSTAR QUE

MARTHA LAURA SANTIAGO CHIÑAS

PARTICIPÓ EN EL CONCURSO

"LA CIENCIA EN UN MINUTO"

Celebrado durante el LIV Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas
en León Gto. del 10 al 14 de septiembre de 2011


Dra. Carolina Escobar
Presidente


Dr. Roberto Salgado Delgado
Coordinador del Concurso

BIBLIOGRAFÍA

1. **Aguado, L. I.** 2002. Role of the central and peripheral nervous system in the ovarian function. *Microsc Res Tech*, 59 (6): 462-73.
2. **Aguado, L. I. and Forneris M.** 2002. Neonatal superior ovarian nerve transection disturbs the cyclic activity of the female rats. *Journal of steroid biochemistry & molecular biology*, 82: 75-82.
3. **Aguado, L. I. and Ojeda S. R.** 1984. Ovarian adrenergic nerves play a role in maintaining preovulatory steroid secretion. *Endocrinology*, 114 (5): 1944-1946.
4. **Aguado, L. I. and Ojeda S. R.** 1986. Prepubertal rat ovary: Hormonal modulation of β -adrenergic receptors and of progesterone response to adrenergic stimulation. *Biology of Reproduction*, 34: 45-50.
5. **Ahmed, C. E., Dees W. L. and Ojeda S. R.** 1986. The immature rat ovary is innervated by vasoactive intestinal peptide (VIP)- containing fibers and responds to VIP with steroid secretion. *Endocrinology*, 118 (4): 1682 – 9.
6. **Albuquerque-Araujo, W. I., Rosa-E-Silva A. A., Antunes-Rodriguez J. and Favaretto A. L.** 1995. Is ovarian adrenergic innervation essential to gonadal function in adult rats?. *Arch Physiol Biochem*, 103 (1): 109-13.
7. **Alvarez, D. A., Pérez E., De la Cruz M. T. Quincosa T. J. and Sánchez P. A.** 2009. *Fisiología animal aplicada*. Editorial Universidad de Antioquia, Colombia, pp: 99-101.
8. **Arias, P.** 2010. Endocrinología de la reproducción. pp: 726-730. *In: Bases fisiológicas de la práctica médica*. Dvorkin, M. (ed.). 14^a ed. Editorial Medica panamericana. Buenos Aires, Argentina.
9. **Baljet, B. and Drukkler J.** 1979. The extrinsic innervation of the abdominal organs in the female rat. *Acta Anat*, 104 (3): 243-67.
10. **Barco, A. I., Flores A., Chavira R., Damián-Matsumara P., Domínguez R. and Cruz M. E.** 2003. Asymmetric effects of acute hemiovariectomy on steroid hormone secretion by the *in situ* ovary. *Endocrine*, 21 (3): 209 – 215.
11. **Berthoud, H. R. and Powley T. L.** 1996. Interaction between parasympathetic and sympathetic nerves in prevertebral ganglia: morphological evidence for vagal efferent innervation of ganglion cells in the rat. *Microsc Res Tech*, 35 (1): 80-6.
12. **Bortoli, M. A., Garraza M. H. and Aguado L. I.** 1998. Adrenergic intracerebroventricular stimulation affects progesterone concentration in the ovarian vein of the rat: participation of the superior ovarian nerve. *Journal of Endocrinology*, 159: 61-68.
13. **Botellá, L. J.** 1995. Hormonas ováricas no esteroideas factores paracrinos en la función ovárica. Las prostaglandinas y el ovárico. pp: 59-90. *In: El ovárico fisiología y patología*. Ediciones Díaz de Santos, España.
14. **Brown, R. E.** 1994. *Introduction to neuroendocrinology*. Cambridge University Press, Great Britain. pp: 30 - 41.

15. **Calogero, A. E., Burrello N., Negri-Cesi P., Palumbo M. A. Cianci A., Sanfilippo S. and D'Agata R.** 1996. Effects of corticotropin-releasing hormone on ovarian estrogen production in vitro. *Endocrinology*, 137 (10): 4161-6.
16. **Chavez, R. and Domínguez R.** 1994. Participation of the superior ovarian nerve in the regulation of compensatory ovarian hypertrophy: the effects of its section performed on each day of the oestrous cycle. *Journal of Endocrinology*, 140 (2): 197-201.
17. **Clark, M. R., Marsh J. M. and LeMaire W. J.** 1978. Mechanism of luteinizing hormone regulation of prostaglandin synthesis in rat granulosa cells. *The Journal of Biological Chemistry* 253, 21: 7757-7761.
18. **Costa, J., Madrid J. A. and Zamora S.** 1993. Ciclo estral de la rata. pp: 147-148. *In: Manual de clases prácticas de fisiología animal.* P. Mendiola, A. Penalva, F. Pérez-Llamas (ed.). Universidad de Murcia, España.
19. **Cruz, M. E., Flores A., Palafox M. T., Meléndez G., Rodríguez J. O., Chavira R and Domínguez R.** 2006. The role of the muscarinic system in regulating estradiol secretion varies during the estrous cycle: the hemiovariectomized rat model. *Reprod Biol Endocrinol*, 4: 43.
20. **D'Albora, H., Anesetti G., Lombide P., Les Dees W. and Ojeda S. R.** 2002. Intrinsic neurons in the mammalian ovary. *Microscopy research and technique*, 59: 484-489.
21. **Dees, W. L., Ahmed C. E. and Ojeda S. R.** Substance P-and vasoactive intestinal peptide-containing fibers reach the ovary by independent routes. *Endocrinology*, 119 (2): 638 – 41.
22. **Delgado, S. M., Escuderon C. G., Casais M., Gordillo M., Anzulovich A. C., Sosa Z. and Rastrilla A. M.** 2010. Ovaric physiology in the first oestral cycle: Influence of noradrenergic and cholinergic neural stimuli from coeliac ganglion. *Steroids*, 75: 685-694.
23. **Devine, P. J., Payne C. M., Mc Cuskey M. K. and Hoyer P. B.** (2000). Ultrastructural evaluation of oocytes during atresia in rat ovarian follicles. *Biology of Reproduction*, 63: 1245-1252
24. **Devlin, M. T.** 1989. Bioquímica de las hormonas I: Receptores hormonales, hormonas esteroides y tiroideas. pp: 720-728. *In: Bioquímica.* F. Ungar (ed.). 2ª ed. Edit. Reverté, España.
25. **Dissen, G. A. and Ojeda S. R.** 1999. Ovarian innervation. pp: 583-588. *In: Encyclopedia of reproduction.* Knobil E., Neill J. D (ed.). 3ª edith. Academic press, USA.
26. **Doganay, M., Gungor T., Mulazimoglu B. S., Simsek A., Tapisiz O. L. and Yumusak N.** 2010. Superior Ovarian Nerve (SON) transection leads to stunted follicular maturation: a histomorphologic and morphometric analysis in the rat model. *American Society for Reproductive Medicine*, 93: 1711-1714.
27. **Domínguez, C. R. Chávez R. and Cruz M. E.** 1991. La regulación del crecimiento y del desarrollo del folículo ovárico. pp: 163-172, 179-182. *In: Tópicos selectos de biología de la reproducción.* R. Domínguez (ed.). Grupo Editorial Miguel Angel Porrúa, México.

28. **Domínguez, R., Cruz M. E. and Morán C.** 1998. Differential effects of ovarian local anesthesia during pro-oestrus on ovulation by the right or left ovary in normal and hemiovariectomized adult rats. *Journal of Reproduction and Fertility*, 113:185-190.
29. **Dominiczak, M. H. and Beastall G.** 2007. Biosíntesis del colesterol y esteroides. pp: 224-225. *In: Bioquímica médica.* J. Baynes W., H. Marek., Dominiczak H (ed.). 2ª ed. Elsevier, USA.
30. **Espey, L. L. and Richards J. S.** 2006. Ovulation. pp: 425-475. *In: Physiology of reproduction.* Knobil E., Neill J. D (ed.). 3ª edith. Academic Press, USA.
31. **Feder, H. H.** 1981. Hormonas esteroideas y monoaminas neurotransmisoras relacionadas con la conducta sexual femenina. *Revista oficial de la Asociación Nacional de Escuelas de Medicina Veterinaria* (2): 67-70.
32. **Ferin, M.** 2006. Stress and reproductive system. pp: 2627-2647. *In: Physiology of reproduction.* Knobil E., Neill J. D (ed.). 3ª edith. Academic Press, USA.
33. **Flores, A., A. Gallegos, J. Velasco, F. Mendoza, C. Montiel, P. Everardo, M.E. Cruz., R. Domínguez.** 2008. The acute effects of bilateral ovariectomy or adrenalectomy on progesterone, testosterone and estradiol serum levels depend on the surgical approach and the day the estrous cycle when they are performed. *Reproductive Biology and Endocrinology* 6: 48.
34. **Flores, R. A., Meléndez G., Palafox M. T., Rodríguez J. O. Barco A. I., Chavira R., Domínguez R. and Cruz M. E.** 2005. The participation of the cholinergic system in regulating progesterone secretion through the ovarian-adrenal crosstalk varies along the estrous cycle. *Endocrine* (2): 145-51.
35. **Flores, R. A., Rodríguez J. O., Palafox M. T., Meléndez G., Barco A. I. Chavira R., Cruz M. E. and Domínguez R.** 2006b. The acute asymmetric effects of hemiovariectomy on testosterone secretion vary along the estrous cycle. The participation of the cholinergic system. *Reprod Biol Endocrinol*, 1: 4-11.
36. **Flores, R. A., Velasco J., Gallegos A. I., Mendoza F. D., Everardo P. M., Cruz M. E. and Domínguez R.** 2011. Acute effects of unilateral sectioning the superior ovarian nerve of rats with unilateral ovariectomy on ovarian hormones (progesterone, testosterone and estradiol) levels vary during the estrous cycle. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 9 (34): 1 – 11.
37. **Freeman, M. E.** 2006. Neuroendocrine control of the ovarian cycle in the rat. pp: 2347-2388. *In: Physiology of reproduction.* Knobil E, Neill J.D (ed.). 3ª edith. Academic Press, USA.
38. **Gallegos, A. I., Montiel G. C., Chavira R., Cruz M. E., Flores A. and Domínguez R.** 2005. Efectos de la sección unilateral del nervio ovárico superior (NOS) en el día del proestro (P), previo a la ovariectomía unilateral (ULOL) sobre la concentración de Estradiol (E2), Progesterona (P). *Memorias de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas.*
39. **Ganong, W. F.** 1986. *Fisiología médica.* 10ª ed. Edit. El manual moderno, México, pp: 427-429.
40. **Garther, L. P. and Hiatt J. L.** 2008. *Texto atlas de histología.* 3ª ed. Mc Graw-Hill, México, pp: 303-311.
41. **Gebhart, G. F.** 2000. Visceral pain-peripheral sensitization. *Gut*, 47: 54-55.

42. **Genuth, S. M.** 2006. Sistema endocrino. pp: 647-654. *In: Fisiología.* Levy M. N., Koepfen B.M., Stanton B. A (ed.). Elsevier, Madrid, España.
43. **Gerendai, I., Tóth I. E. and Boldogkői H. B.** 2009. Recent findings on the organization of central nervous system structures involved in the innervations of endocrine glands and other organs; observations obtained by the transneuronal viral double-labeling technique. *Endocrinology*, 36:179-188.
44. **Gerendai, I., Tóth I. E., Boldogkői Z., Medveckzy I. and Halász B.** 1998. Neuronal labeling in the rat brain and spinal cord from the ovary using viral transneuronal tracing technique. *Neuroendocrinology*, 68: 244-256.
45. **González, L. E.** 2011. Respuesta ovulatoria en ratas con denervación simpática a las 07:00 h en cada etapa del ciclo estral. Servicio Social, Carrera de Biología, UNAM.
46. **Greiner, M., Paredes A., Rey-Ares V., Saller S., Mayerhofer A. and Lara H. E.** 2008. Catecholamine uptake, storage, and regulated release by ovarian granulosa cells. *Endocrinology*, 149 (10): 4988 – 4906.
47. **Guyton, A. C. and Hall J. E.** 2006. Introducción a la endocrinología. pp: 915, 1017. *In: Tratado de fisiología médica.* 11ª ed. Elsevier, Madrid, España.
48. **Guzmán, B. T.** 2009. Efectos de la sección del nervio ovárico superior en los días del diestro sobre la secreción de 17 β -estradiol en la rata adulta. Tesis Licenciatura. Carrera de Biología. FES Zaragoza, UNAM.
49. **Hernández, E. R., Jiménez J. L., Payne D. W. and Adashi E. Y.** 1988. Adrenergic regulation of ovarian androgen biosynthesis is mediated via beta 2-adrenergic theca-interstitial cell recognition sites. *Endocrinology*, 4: 1592 – 602.
50. **Hicks, G. J. J.** 2007. Hormonas esteroides: Metabolismo. pp: 580 – 611. *In: Bioquímica de Harper.* A. Elena L., G. Pérez P (ed.). 2ª ed. Mc Graw-Hill Interamericana, México.
51. **Hill, R. W. and Gordon A. W.** (2004). *Fisiología Animal.* Editorial panamericana, España, pp: 505-509.
52. **Hirshfield, A. N.** 1991. Development of follicles in the mammalian ovary. *Int Rev Cytol*, 101: 124-43.
53. **Howland, B. E. and Skinner K. R.** 1973. Effect of hemiovariectomy on serum FSH and LH levels during the oestrous cycle in the rat. *J. Reprod. Fert*, 32: 501 – 503.
54. **Hu, j., Zhang Z., Shen W. J. and Azhar S.** 2010. Cellular cholesterol delivery, intracellular processing and utilization for biosynthesis of steroid hormones. *Nutrition & Metabolism*, 7 (47).
55. **Isomura, G., Iwata S., Chiba M. and Shimizu N.** 1985. Constitution of the greater splanchnic nerve in the rat. *Anat Anz*, 159 (1-5): 159-71.
56. **Itoh, M. T. and Ishizuka B.** 2005. α -1 Adrenergic receptor in rat ovary: presence and localization. *Molecular and Cellular Endocrinology*, (240): 58 – 63.
57. **Johnson, E. O. Kamilaris T. C., Chrousos G. P. and Gold P. W.** 1992. Mechanisms of stress: a dynamic overview of hormonal and behavioral homeostasis. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 16: 115 – 130.

58. **Jordan, A. W.** 1981. Changes in ovarian β -adrenergic receptors during the estrous cycle of the rat. *Biology of reproduction*, 24: 245 – 248.
59. **Kalantaridou, S. N., Makrigiannakis A., Zoumakis E. and Chrousos G. P.** 2004. Stress and the female reproductive system. *Journal of Reproductive Immunology*, 62: 61-68.
60. **Karman, B. N. and Tischkau S. A.** 2006. Circadian clock gene expression in the ovary: effects of luteinizing hormone. *Biol Reprod*, 75 (4): 624-32.
61. **Klein, C. M. and Burden H. W.** 1988. Anatomical localization of afferent and postganglionic sympathetic neurons innervating the rat ovary. *Neurosci Lett*, 85 (2): 217-22.
62. **Klein, C. M., Ray R. H. and Burden H. W.** 1989. Direct electrical stimulation of the superior ovarian nerve in rats cause an increase in neuronal activity in the ipsilateral ovarian plexus nerve. *Brain Research*, 479: 194-200.
63. **Koolman, J. and Röhm K. H.** 2004. *Bioquímica texto y atlas*. 3ª ed. Editorial Médica panamericana, España, pp: 376-378.
64. **Kowalewski, M. P., Dyson M. T., Boos A. and Stocco D.** 2010. Vasoactive intestinal peptide (VIP)-mediated expression and function of steroidogenic acute regulatory protein (StAR) in granulosa cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*, (328): 93 – 103.
65. **Kronenberg, H. M., Melmed S., Polonsky K. S. and Larsen P. R.** 2009. *Tratado de endocrinología*. 11ª ed. Elsevier, Barcelona, España, pp: 127-128.
66. **Lawrence, I. E. Jr. and Burden H. W.** 1980. The origin of the extrinsic adrenergic innervations to the rat ovary. *Anat Rec*, 196 (1): 51-9.
67. **Marcondes, F. K., Bianchi F. J. and Tanno A. P.** 2002. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. *Journal of Biology*, 62 (4A): 609 – 614.
68. **Mayerhofer, A †, Dissen A., Costa M. E. and Ojeda S. R.** 1997. A role for neurotransmitters in early follicular development: Induction of functional follicle-stimulating hormone receptors in newly formed follicles of the rat ovary. *Endocrinology*, 138: 3320-3329.
69. **McGee, E. A., Perlas E., Lapolt P. S., Tsafiriri A. and Hsueh A. J. W.** 1997. Follicle-stimulating hormone enhances the development of preantral follicles in juvenile rats. *Biology of Reproduction*, 57: 990-998.
70. **Mendoza, F. D.** 2007. Estudio de la participación de la inervación del ovario por el nervio ovárico superior en la regulación de la secreción de progesterona y estradiol. Interacciones entre los ovarios y las adrenales en el día del diestro-2 de la rata. Tesis Licenciatura. FES Zaragoza, UNAM.
71. **Mendoza, P. N.** 2008. Introducción a la farmacología de la reproducción. pp: 396, 398. *In: Farmacología médica*. Editorial panamericana, México.
72. **Molina, P. E.** 2004. *Fisiología endocrina*. 2ª ed. Editorial Mc Graw–Hill Interamericana, México, pp: 25-29, 43-47, 220-221.
73. **Mongiat, L. A., Lux-Lantos V. A. and Libertun C.** 2004. Evidence for different gonadotropin-releasing hormone response sites in rat ovarian and pituitary cells. *Biology of Reproduction*, 71:464-469.

74. **Montiel, C.** 2005. Efectos agudos de la sección del nervio ovárico superior en el día del diestro-1 sobre la concentración de hormonas esteroides. La rata ovariectomizada como modelo de estudio. Servicio Social. Carrera de Biología. FES Zaragoza, UNAM.
75. **Morales, L., Chávez R., Ayala M. E. and Domínguez R.** 1998. Effects of unilateral or bilateral superior ovarian nerve section in prepubertal rats on the ovulatory response to gonadotrophin administration. *Journal of Endocrinology*, 158: 213-219.
76. **Morán, C., Franco A., Morán J. L., Handal A., Morales L. and Domínguez R.** 2005. Neural activity between ovaries and the prevertebral celiac-superior mesenteric ganglia varies during the estrous cycle of the rat. *Endocrine*, 26 (2): 147-152.
77. **Morán, C., Zárate F., Morán J. L., Handal A. and Domínguez R.** 2009. Lateralization of the connections of the ovary to the celiac ganglia in juvenile rats. *Reprod Biol Endocrinol*, 7:50.
78. **Murase, M., Uemura T., Kondoh Y., Funabashi T. and Hirahara F.** 2002. Role of corticotrophin-releasing hormone in ovarian steroidogenesis. *Endocrine*, 18 (3): 255-60.
79. **Netter, F. H.** 2006. Diferenciación sexual: las gónadas. pp: 116. *In: Sistema endocrino y enfermedades metabólicas.* Editorial Masson, Barcelona, España.
80. **Orozco, A. V., Sosa Z., Fillipa V., Mohamed F. and Rastrilla A. M.** 2006. The cholinergic influence on the mesenteric ganglion affects the liberation of ovarian steroids and nitric oxide in oestrus day rats: characterization of an ex vivo system. *J Endocrinol*, 191 (3): 587-98.
81. **Orrego, B. J.** 2005. Eje hipotálamo hipófisis. pp: 6-9. *In: Endocrinología.* A. Vélez H., M. Rojas W., R. Borrero J., M. Restrepo J (ed.). 6ª ed. Corporación para investigaciones biológicas, Colombia.
82. **Papka, R. E., Traurig H. H., Schemann M., Collins J., Copelin T. and Wilson K.** 1999. Cholinergic neurons of the pelvic autonomic ganglia and uterus of the female rat: distribution of axons and presence of muscarinic receptors. *Cell Tissue Res*, 296: 293-305.
83. **Papka, R. E., Thompson B. D. and Schmidt H. H.** 1996. Identification of uterine-related sympathetic neurons in the rat inferior mesenteric ganglion: neurotransmitter content and afferent input. *J Auton Nerv Syst*, 59 (1-2): 51-9.
84. **Parra, C., Fiedler J. L., Luna L. S., Greiner M., Padmanabhan V. and Lara H. E.** 2007. Participation of vasoactive intestinal polypeptide in ovarian steroids production during the rat estrous cycle and in the development of estradiol valerate-induced polycystic ovary. *Reproduction*, 133: 147 – 154.
85. **Pedernera, E.** 1993. Cooperación celular en la biosíntesis de hormonas esteroides. pp: 33 – 46. *In: Comunicación neuroendócrina. Bases celulares y moleculares.* Pedernera E (ed). Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C., México.
86. **Planas, J.** 2005. Control endocrino de la reproducción. pp: 127-128. *In: Fisiología animal.* Alfaro V., Blasco J., Carbonell T., Gutiérrez J., Navarro I., Pagés T., Palacios L., Palomeque J., Riera M., Puy Sáiz M., Torrella J., Viscor G (ed.). Universidad de Barcelona, España.
87. **Rajkovic, A., Pangas S. A. and Matzuk M. M.** 2006. Follicular development: mouse, sheep, and human models. pp: 383-425. *In: Physiology of reproduction.* Knobil E., Neill J. D (ed.). 3ª edith. Academic Press, USA.

88. **Rego, J. L., Young S. J., Burel D., Leprince J., Luu-The V., Tsutsui K., Tonon M. C., Pelletier G. and Vaudry H.** 2009. Neurosteroid biosynthesis: enzymatic pathways and neuroendocrine regulation by neurotransmitters and neuropeptides. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 30: 259 – 301.
89. **Ricu, M., Greiner M., Lara H. E., Ojeda S. R. and Paredes A.** 2008. Functional development of the ovarian noradrenergic innervation. *Endocrinology*, 149 (1): 50-56.
90. **Ross, M. H. and Woljciech P.** 2007. *Histología: texto y atlas color con biología celular y molecular*. 5ª ed. Editorial Médica panamericana, Argentina, pp: 830-831.
91. **Sanders, D.** 2004. Sistema reproductor femenino. pp: 118. *In: Lo esencial en sistema endocrino y aparato reproductor*. 2ª ed. Elseiver, España.
92. **Serrano, C. A.** 2009. Efectos de la sección del nervio ovárico superior sobre la concentración sérica de progesterona en animales con ovariectomía en los días del diestro. Tesis Licenciatura. Carrera de Biología. FES Zaragoza, UNAM.
93. **Shao-Yao, Y. and Zhong Z.** 2006. Ovarian hormones. pp: 578-579. *In: Physiology of reproduction*. Knobil E., Neill D (ed.). 3ª edith. Academic Press, USA.
94. **Snell, R. S.** 2007. El hipotálamo y sus conexiones. pp: 413-428. *In: Neuroanatomía clínica*. 6ª ed. Editorial Médica panamericana, Argentina.
95. **Sosa, Z. Y., Casais M., Rastrilla A. M. and Aguado L.** 2000. Adrenergic influences on coeliac ganglion affect the reléase of progesterone from cycling ovaries: characterization of an *in vitro* system. *Journal of Endocrinology* (164): 307 – 318.
96. **Spuch, C., Díz-Chaves Y. and Mallo F.** 2006. *Endocrinología*. Universidad de Santiago de Compostela, España, pp: 82-83.
97. **Tanaka, K., Matsugami T.** (2002). The origin of sensory innervations of the peritoneum in the rat. *Anat Embryol*, 205: 307-3.
98. **Tóth, I. E., Banczerowski P., Tóth J. S., Szabó A., Halász B. and Gerendai I.** 2008. Cerebral neurons involved in the innervations of both the adrenal gland and the ovary: a double viral tracing study. *Brain Res Bull*, 77 (5): 306-11.
99. **Tóth, I. E., Wiesel O., Boldogkői Z., Bálint K., Tapasztai Z., Gerendai I.** 2007. Predominance of supraspinal innervation of the left ovary. *Microscopy Research and Technique*, 70: 710-718.
100. **Trzeciak, W. H., Ahmed C. E., Simpson E. R. and Ojeda S. R.** 1986. Vasoactive intestinal peptide induces the synthesis of the cholesterol side-chain cleavage enzyme complex in cultured rat ovarian granulosa cells. *Proc. Nat. Acad. Sci*, (83): 7490 – 7494.
101. **Vallcaneras, S. S., Casais M., Delgado S. M., Filippa V., Mohamed F., Sosa Z. and Rastrilla A. M.** 2009. Androgen receptors in coeliac ganglion in late pregnant rat. *Steroids*, 74: 526-534.
102. **Van Voorhis, B. J.** 1999. Follicular steroidogenesis. pp: *In: Encyclopedia of reproduction*. Knobil E., Neill J. D (ed.). Academic Press, USA.
103. **Vander, A. J., Sherman J. H. and Luciano D. S.** 1980. *Fisiología médica*. 2ª ed. Editorial Mc Graw-Hill, España. pp: 137- 142.

104. **Velasco, M. J.**, 2007. Efectos agudos de la sección del nervio ovárico superior en el día del proestro de ratas con ovariectomía, adrenalectomía o ambas, sobre la ovulación y secreción de progesterona y 17 beta-estradiol. TESIS Licenciatura. FES Zaragoza, UNAM.
105. **Velázquez, M. J.** 2001. Biología de la reproducción II. UAM, México, pp: 76-80.
106. **Weiss, G. K., Dail W. G. and Ratner A.** 1982. Evidence for direct neural control of ovarian steroidogenesis in rats. *Journals of Reproduction & Fertility*, 65: 507-511.
107. **Westwood, F. R.** 2008. The female rat reproductive cycle: a practical histological guide to staging. *Toxicological Pathology*, 36 (3): 375- 384.
108. **Xiaoxin, Z., Zhang L., Huo S., Wang J. and Cui S.** 2010. Neonatal superior ovarian nerve transaction inhibits follicle development by enhancing follicular atresia and suppressing granulosa cell proliferation in rats. *Reproduction, fertility and development*, 22: 1148-1158.
109. **Yacobi, K., Wojtowicz A., Tsafirri A. and Gross A.** 2003. Gonadotropins enhance caspase- 3 and -7 activity and apoptosis in the teca-interstitial cells of rat preovulatory follicles in culture. *Endocrinology*, 145 (4): 1943-1951.
110. **Yao, H.C. and Bahr J.M.** 1999. Ovary, overview. pp: 590-593. *In: Encyclopedia of reproduction.* Knobil E., Neill D (ed.). Academic Press, USA.
111. **Yen, S. C., Jaffe R. B. and Barbieri R. L.** 2001a. Ciclo ovárico. pp: 164-184. *In: Endocrinología de la reproducción.* John y Adashi (ed.). 4ª ed. Editorial Médica panamericana, Argentina.
112. **Yen, S. C., Jaffe R. B. and Barbieri R. L.** 2001b. Hormonas gonadotróficas: biosíntesis, secreción, receptores y acción. pp: 86-111. *In: Endocrinología de la reproducción.* Halvorson y Chin (ed.). 4ª ed. Editorial Médica panamericana, Argentina.
113. **Yoshinaga, K.** 1999. Estrogen secretion, regulation of. pp: 108-109, 111-114. *In: Encyclopedia of reproduction.* Knobil E., Neill J.D (ed.). Academic Press, USA.