

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

"ZARAGOZA"



**En la rata el síndrome del ovario poliquístico depende
de la información simpática y parasimpática que
recibe el ovario.**

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:

Castillo Mendieta Nadia Tzayaka

Directora de Tesis: DRA. LETICIA MORALES LEDESMA

México, D. F.

Mayo de 2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Carrera de Biología

**En la rata el síndrome del ovario poliquístico depende de la
información simpática y parasimpática que recibe el ovario.**

Tesis presentada por: Nadia Tzayaka Castillo Mendieta.

Directora de Tesis: Dra. Leticia Morales Ledesma

Realizada en el Laboratorio de Fisiología Reproductiva, en la
Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción.

Durante la realización de ésta Tesis se contó con el Apoyo Financiero de
DGAPA-PAPIIT convenio IN-213110.

Agradecimientos

A la **UNAM**.

A la **Facultad de Estudios Superiores Zaragoza campus-II**.

Agradezco a cada uno de los miembros de mi jurado:

M. en C. Maricela Valdes Ruiz
Dra. Leticia Morales Ledesma
Biól. Carlos Martínez Montoya
Dra. María Elena Ayala Escobar
Dr. José Luis Morán Perales

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

A la Dra. Leticia por todo el tiempo que dedico para trabajar conmigo en la escritura y redacción del presente trabajo, por su apoyo dedicación y sobre todo por su infinita paciencia hacia mí y mi trabajo. Gracias de verdad.

Un agradecimiento a cada uno de mis compañeros de laboratorio, que colaboraron en la realización de esta tesis: Rosa, Gabriela, Deyra, Elizabeth, Juan, Azucena, gracias por el apoyo que me brindaron durante toda mi estancia en el laboratorio 7, gracias por sus consejos, sus enseñanzas y su paciencia.

Gracias a la Dra. Adriana, al Dr. Román y a todo el personal que labora en el bioterio de la FES Zaragoza, por el cuidado a los animales utilizados en este trabajo.

Gracias al Biólogo Roberto Chavira por su colaboración en la medición hormonal del presente trabajo.

Índice

	Páginas
Resumen	1
introducción	3
Marco teórico	4
El ovario.....	4
Desarrollo folicular.....	6
Ovulación.....	9
Atresia folicular.....	11
Esteroidogénesis.....	13
Desarrollo puberal.....	16
Ciclo estral.....	19
Eje hipófisis-ovario.....	21
Síndrome de ovario poliquístico.....	21
Inducción del síndrome de ovario poliquístico por valerato de estradiol.....	22
Inervación ovárica.....	23
Efecto de la denervación simpática sobre las funciones del ovario.....	27
Efecto de la denervación parasimpática sobre las funciones del ovario.....	29
Planteamiento del problema	31
Hipótesis	32
Objetivos	33
Material y método	34
Resultados	38
Experimento 1. Efecto de la operación simulada en hembras tratadas con vehículo o valerato de estradiol, sobre la respuesta ovárica.....	38
Experimento 2. Efecto de la sección uni o bilateral del NOS más la sección bilateral del nervio vago en hembras tratadas con vehículo o valerato de estradiol, sobre la respuesta ovárica.....	44

Histología ovárica	53
Discusión	59
Análisis de los efectos de la denervación simpática y parasimpática	59
Análisis de los efectos de la denervación en la rata con SOPQ	63
Modelo	68
Conclusiones	69
Referencias	70

Resumen

El ovario se encarga de la producción de ovocitos, la síntesis y liberación de hormonas sexuales, funciones que se encuentran bajo el control neuroendocrino del eje hipotálamo-hipófisis y del propio ovario. La alteración de la vía neural o endocrina puede desarrollar algunas patologías, una de ellas es el síndrome de ovario poliquístico (SOPQ), que se presenta en una porción importante de mujeres en edad reproductiva (del 6 al 10%) y se asocia con alteraciones reproductivas (anovulación), con hirsutismo, hiperandrogenismo y obesidad.

En roedores la administración de una dosis de valerato de estradiol (VE) induce el SOPQ, que presenta anormalidades morfológicas y funcionales semejantes a las que se observan en la mujer con esta patología. Este síndrome es asociado a la hiperactividad de las fibras simpáticas que arriban al ovario, vía el nervio ovárico superior (NOS).

En el modelo de la rata con SOPQ, la eliminación total de la información simpática aportada por el NOS, restablece la aciclicidad estral, la respuesta ovulatoria y la concentración sérica de hormonas esteroides, mientras que la eliminación unilateral del NOS restablece la función ovárica sólo en el ovario inervado. En el modelo del animal con síndrome, el nervio vago modula de manera inhibitoria la respuesta ovulatoria y la secreción de estradiol. Estos resultados han llevado a sugerir la participación del vago como otra fuente de información en el establecimiento del SOPQ. Para analizar la participación del NOS y del nervio vago en el animal con SOPQ, utilizamos ratas hembras de 10 días de edad de la cepa CIIZV, a las que se les indujo el síndrome por la administración intraperitoneal de VE (2 mg VE en 0.1 ml de aceite de maíz) y a los de 24 días de edad fueron sometidos a una laparotomía o a la sección uni o bilateral del NOS y en el mismo acto quirúrgico se realizó la sección bilateral del nervio vago. Como grupos de comparación se utilizaron animales inyectados con vehículo (VH) y sometidos a las mismas cirugías o los que fueron laparotomizados. Los animales de los diferentes grupos fueron sacrificados aproximadamente a los 90 días de edad, cuando presentaron un estro vaginal. Se evaluó la ovulación, el aspecto histológico del ovario y la concentración de hormonas esteroides (progesterona y estradiol).

La administración de VE en la etapa infantil, resultó en un adelanto en la edad de apertura vaginal y en una disminución del 90% en la cuota ovulatoria, así como la presencia de quistes ováricos.

En la rata sin la patología, el 90% de los animales sometidos a la sección uni o bilateral del NOS seguida de la sección bilateral del vago, liberó un número de ovocitos similar al grupo testigo absoluto. La sección uni o bilateral del NOS más la sección bilateral del nervio vago, disminuye casi un 50% la concentración plasmática de progesterona y aumenta la concentración plasmática de estradiol.

En animales con la patología, la sección unilateral o bilateral del NOS más la vagotomía bilateral incrementó la tasa ovulatoria, llegando incluso al 90% cuando se corta el NOS-derecho, mientras que sólo el 50% ovula si se corta el NOS-izquierdo o ambos nervios ováricos.

En animales con VE+SNOD+SBNV fue menor la concentración de progesterona (4.8 ± 0.82 vs 13.6 ± 2.7 , $p < 0.05$) y estradiol (129 ± 7.4 vs 156.5 ± 8.7 , $p < 0.05$) en comparación con su grupo tratado con VH. En el grupo con VE+SNOI+SBNV no se modificó la concentración de progesterona (8.3 ± 1.7 vs 11.7 ± 2.7 , N.S), pero sí la de estradiol (149.1 ± 9.79 vs 96.2 ± 4.6 , $p < 0.05$).

Los resultados del presente estudio muestran que en el modelo del animal con SOPQ, hay una mayor participación del NOS-derecho en el proceso de ovulación que del NOS-Izquierdo. En el modelo del animal con VE+SNOI+SBNV la información neural de estas dos vías participa de manera estimulante en la secreción de progesterona y de manera inhibitoria en la de estradiol. Mientras que con VE+SNOD+SBNV la regulación es de manera estimulante para ambas hormonas esteroides.

Introducción

Aproximadamente del 6 al 10% de mujeres en edad reproductiva presenta el síndrome del ovario poliquístico (SOPQ), por lo que es considerado la causa más común de infertilidad femenina. Este síndrome se caracteriza por una alteración en la secreción basal de gonadotropinas, altas concentración de estradiol y de andrógenos, además de ovarios poliquísticos (Schulster y col., 1984). Las consecuencias del SOPQ a largo plazo consisten en el desarrollo de cáncer endometrial, diabetes tipo II y trastornos cardiovasculares. En pacientes con SOPQ se han descrito alteraciones funcionales en el eje hipotálamo-hipófisis-ovario (Yen, 2001).

En el SOPQ se ha atribuido la falta de ovulación a una mayor actividad de las fibras simpáticas que arriban al ovario por el nervio ovárico superior (NOS), de manera que cuando a ambos ovarios se les priva de esta fuente nerviosa resulta en ovulación normal (Barria y col., 1993; Rosa-E-Silva y col., 2003). Sin embargo, resultados previos de nuestro laboratorio muestran que cuando se realiza la denervación unilateral del NOS, es el ovario inervado el que ovula y no lo hace el denervado, aún cuando presenta una menor concentración de noradrenalina (NA) (Morales 2010).

La vagotomía bilateral resulta en el retraso del inicio de la pubertad (Ojeda y col., 1983), sin cambios en la respuesta ovulatoria (Cruz y col., 1986; Morales y col., 2004). El nervio vago modula de manera estimulante la secreción de progesterona, ya que al realizar la vagotomía uni o bilateral resulta en una menor concentración de progesterona (Ojeda y Aguado del 1983; Morales y col, 2004; Hernández 2009), ésta misma respuesta se presenta en la rata preñada (Lawrence y Buden, 1978).

En el presente estudio se analizó la participación del NOS y del nervio vago en la regulación del síndrome de ovario poliquístico, inducido por valerato de estradiol.

El ovario

Los ovarios de la mujer miden unos 3-4 cm de longitud, pesan unos 15 g y se localizan en la fosa ovárica de la pelvis. Están fijos a la pared posterior del abdomen por el mesoovario o mesenterio ovárico.

El órgano está formado por tejido estromal que contiene ovocitos primarios alojados dentro de los folículos primordiales y células intersticiales glandulares (Pocock y Richards 2005) (figura 1).

Las funciones de los ovarios son dos: la producción de ovocitos y la síntesis y liberación de hormonas esteroides (progesterona, andrógenos y estrógenos) y proteicas (inhibina y activina). La primera función la realiza mediante dos procesos estrechamente ligados entre sí, los cuales se denominan foliculogénesis y ovogénesis (Sánchez 1999).

En el ovario se distinguen tres zonas. La zona más dominante es la **corteza**, que contiene folículos en diferentes estadios de maduración con los ovocitos. Entre los folículos se encuentran el tejido conectivo de sostén y las células intersticiales (estroma). Las otras dos zonas del ovario son la **médula**, que contiene una rica red vascular y tejido conectivo, y el **hilio**, donde se encuentra la arteria y la vena ovárica, los vasos linfáticos, las terminales nerviosas y las células intersticiales (Sánchez 1999).

La corteza del ovario de un individuo adulto está constituido por tres unidades funcionales diferentes: el tejido intersticial, los folículos y el cuerpo lúteo. Estas estructuras están en constante transformación (Sánchez 1999).

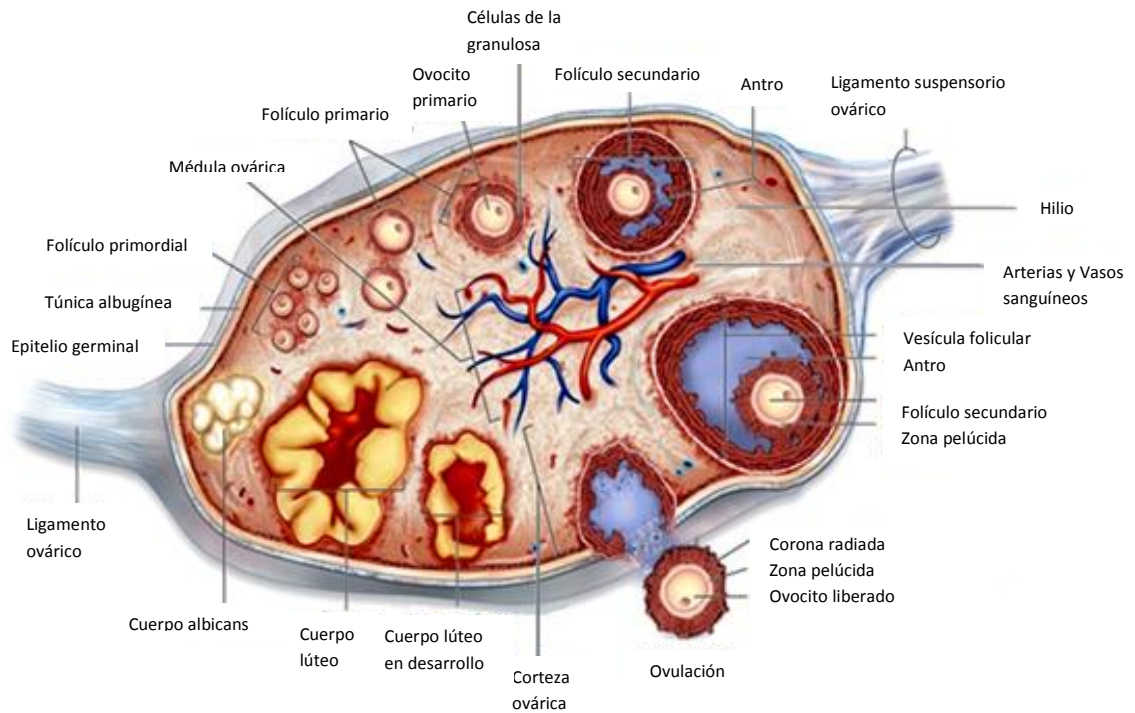


Figura 1. Representación esquemática de la estructura histológica de un ovario de mamífero que indica sus tres regiones (médula, corteza e hilio) y los estadios de desarrollo folicular (Modificado de Pocock y Richards, 2005).

Desarrollo folicular

En cada ciclo ovárico, un folículo crece y pasa por una serie de cambios que incluyen: crecimiento y maduración, ovulación, formación del cuerpo lúteo y en ausencia de fecundación su degeneración (Pocock y Richards 2005).

El desarrollo folicular, se divide en varios estadios que se conocen con nombres que reflejan la estructura o función cambiante del folículo. La primera mitad del ciclo ovárico consta del estadio primordial, preantral, antral, preovulatorio que se relaciona con el crecimiento y desarrollo folicular. La ovulación se produce a mitad de ciclo ovárico, y a continuación el folículo colapsado se convierte en un cuerpo lúteo por un proceso conocido como luteinización (Pocock y Richards 2005) (Figura 2).

Folículo primordial

El folículo primordial contiene un oocito primario (25 μm) en estado de arresto meiótico, rodeado por una capa única de células de la granulosa aplanadas. La lámina basal que rodea a las células de la granulosa aísla al folículo del resto del tejido ovárico, sin acceso directo al sistema vascular y en consecuencia al sistema endocrino (Arce y col., 2006).

Folículo preantral

Cuando el folículo primordial, en respuesta a las gonadotropinas, ya ha iniciado su desarrollo se convierte en folículo preantral. Se produce aumento considerable del diámetro del folículo, que pasa de aproximadamente 20 μm a 200-400 μm . El ovocito primario también aumenta de tamaño dentro del folículo hasta alcanzar aproximadamente los 120 μm , aumenta su actividad anabólica con la finalidad de almacenar nutrientes en su citoplasma que requerirán para su maduración. Las células estromales que rodean al ovocito se dividen formando diversas capas de *células de la granulosa* y secretan una glucoproteína que dejan una región alrededor del ovocito sin células, conocida como *zona pelúcida*. Las células

adyacentes a la lámina basal se multiplican y se diferencian formando capas concéntricas, alrededor del folículo primario, denominada *teca* (Pocock y Richards 2005).

Las capas más externas a las células tecaes son planas y de naturaleza fibromuscular (*teca externa*), mientras que las capas internas son más cuboidales (*teca interna*) (Pocock y Richards 2005).

Folículo antral o secundario

El estadio antral de desarrollo suele durar de 8 a 10 días. Durante este tiempo las capas celulares de la granulosa y tecaes continúan aumentando de grosor. Las células de la granulosa empiezan a secreta líquido folicular alrededor del ovocito. Este líquido forma el antro, que da nombre a este estadio. Hacia el final de este estadio el folículo es mucho mayor (alrededor de 5 mm de diámetro) aunque el ovocito sigue teniendo más o menos el mismo tamaño (120 μm) (Pocock y Richards 2005).

Folículo preovulatorio o de Graaf

A medida que el folículo se acerca al final de la fase antral de desarrollo y se produce el aumento repentino en la concentración sérica de estrógenos, las células de la granulosa adquieren receptores a la hormona luteinizante (LH). El estadio preovulatorio solo dura 36 h, pero durante este tiempo el folículo experimenta importantes cambios que culminan con su ruptura y liberación del óvulo (Pocock y Richards 2005).

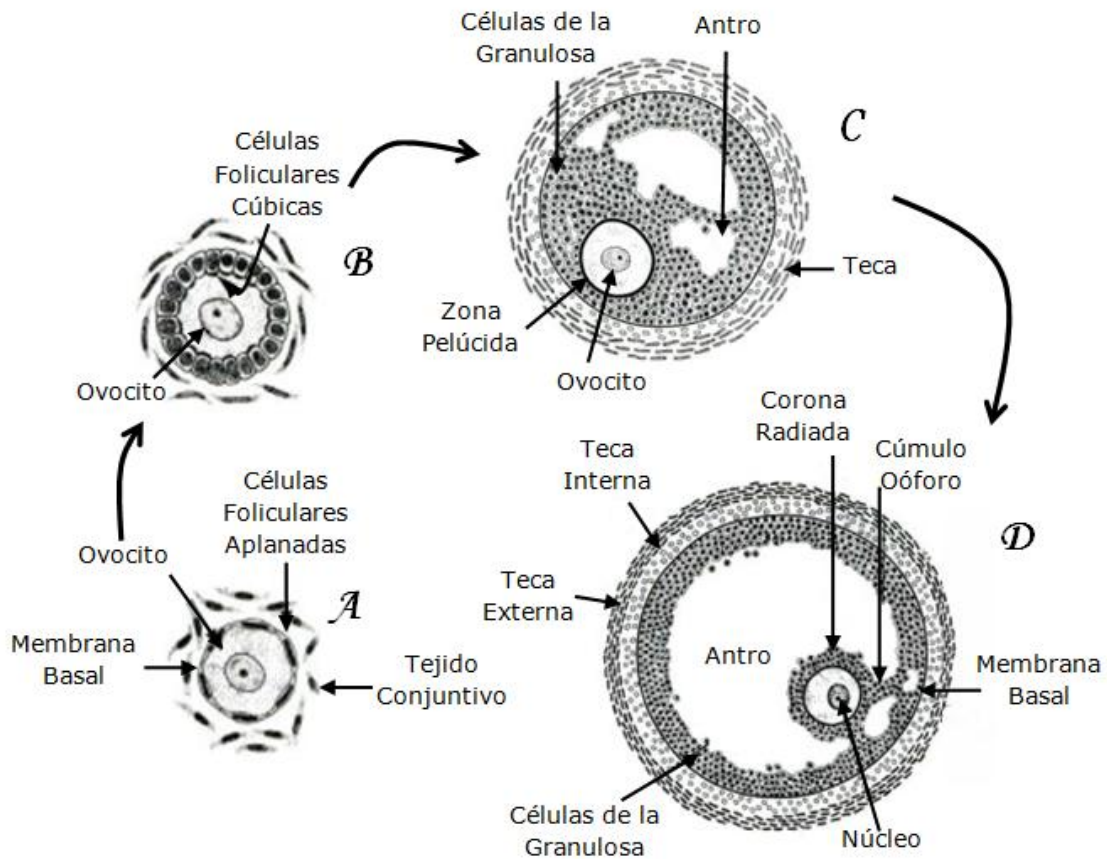


Figura 2. Esquema que muestra las características del folículo ovárico en diferentes etapas de crecimiento en el ovario: (A) primordial, (B) primario, (C) secundario y (D) preovulatorio o de Graaf (Tomado y modificado de Berne y col., 1999).

Ovulación

Aproximadamente en la mitad del ciclo, el folículo ovárico bajo la influencia de la hormona folículo estimulante (FSH) y de la LH, experimenta un crecimiento repentino que origina una prominencia o tumefacción quística en la superficie del ovario. En seguida aparece una pequeña mancha vascular, el estigma, sobre dicha prominencia. Antes de la ovulación, el ovocito secundario y algunas células del cúmulo oóforo se desprenden del interior del folículo distendido (Moore y Persaud 2008).

La ovulación es desencadenada por una elevación brusca de LH, conocida como “pico preovulatorio” y la concentración de los estrógenos aumenta hasta alcanzar un máximo. La ovulación suele producirse 12 a 24 horas después del pico de LH. Las altas concentraciones de estrógenos desencadenada por la secreción de LH, hace que se hinche el estigma como un globo formando la vesícula. El estigma se rompe de inmediato, expulsando el ovocito secundario junto con el líquido folicular (Moore y Persaud 2008).

La expulsión del ovocito es resultado de la presión intrafolicular y posiblemente de la contracción del músculo liso de la teca externa debida a la estimulación por las prostaglandinas. La digestión enzimática de la pared folicular es uno de los mecanismos principales que determinan la ovulación. El ovocito secundario expulsado está rodeado por la zona pelúcida y por una o por más capas de células foliculares, que se disponen radialmente constituyendo la corona radiada, formando el complejo ovocito-cúmulo. El pico de la LH induce la reanudación de la primera división meiótica del ovocito primario (Moore y Persaud 2008) (Figura 3).

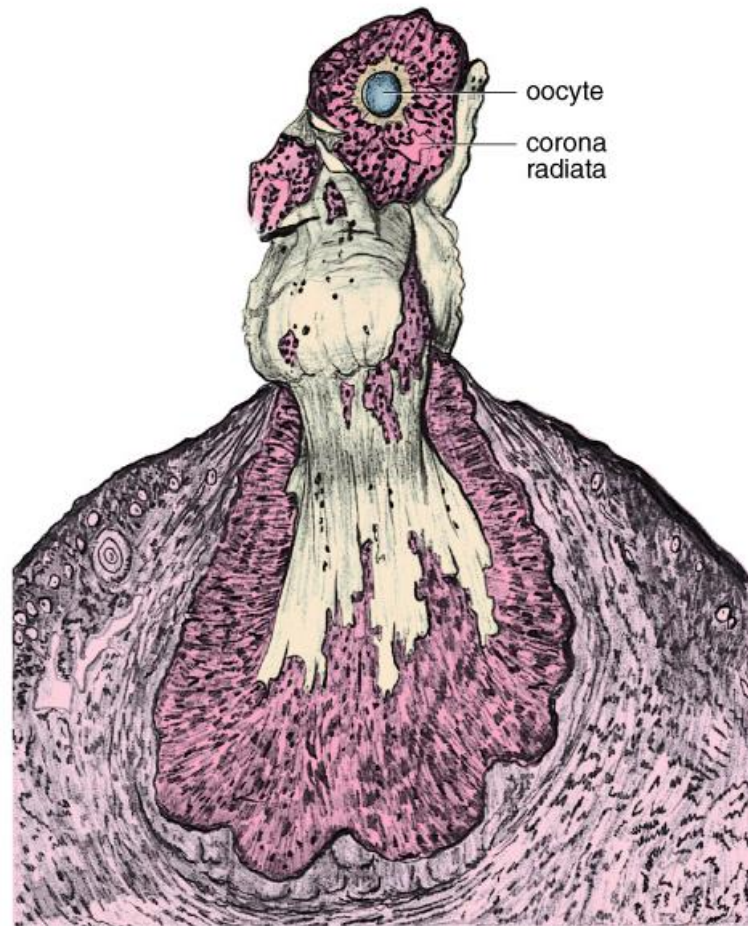


Figura 3. Esquema de la ovulación. Donde se observa el rompimiento del estigma dando paso a la liberación del ovocito (Ross 2004).

Atresia folicular

La atresia folicular es un proceso degenerativo por el cual pasan la mayoría de los folículos presentes en el ovario, por medio de este proceso los folículos y los ovocitos se eliminan del ovario. En las mujeres la atresia comienza alrededor del sexto mes de la vida embrionaria y continua interrumpidamente durante la vida reproductiva (Rosales 1998).

Al igual que todo el desarrollo folicular, la atresia es un fenómeno continuo y finalmente los folículos atrésicos se convierten en cuerpos fibrosos. La atresia parece desempeñar un papel importante en la diferenciación del tejido intersticial esteroideogénico del ovario, conocido con el nombre de glándula intersticial. La atresia folicular ocurre en cualquier momento de la vida del organismo y parece ser que algunas células de la teca interna que rodean al epitelio folicular se hipertrofian y forman pequeños cúmulos de células esteroideogénicas localizadas en el estroma (González-Merlo y col., 2003).

Con la atresia de los folículos disminuyen progresivamente los receptores de estrógenos FSH, LH, pero la teca conserva durante cierto tiempo su capacidad de respuesta a la LH produciendo esteroides, fundamentalmente andrógenos (androstenediona y testosterona). Esta producción androgénica induce, por un lado, la atresia folicular y por otro, aumenta la libido. Los andrógenos estimulan la producción de inhibina por las células de la granulosa, y ésta a su vez, disminuye la FSH; este descenso de la FSH induce una reducción de la aromatización de los andrógenos en estrógenos, lo que favorece la atresia (González-Merlo y col., 2003).

Varios procesos anatomo-fisiológicos están asociados con la atresia folicular, entre ellos se encuentra: desprendimiento y degeneración de las células de la granulosa, presencia de células con núcleos picnóticos en la granulosa, fragmentación de la lámina basal, reducción de la síntesis de ADN, disminución de la síntesis de estrógenos, disminución en la capacidad de unión de las gonadotropinas a sus receptores (Rosales 1998). Otro mecanismo implicado podría consistir en la apoptosis (muerte celular programada), que es un modelo de

muerte celular no tóxica que elimina células aisladas de los tejidos, sin desencadenar una respuesta inflamatoria (Yeh y Adashi 2001).

Mientras que la muerte y la degeneración del ovocito son consecuencias inevitables de la atresia, la continuación de la meiosis y la expulsión de al menos el primer cuerpo polar pueden ser manifestaciones tempranas de atresia en algunos folículos (Yeh y Adashi 2001).

Biosíntesis de las hormonas esteroideas en el ovario

El precursor en la biosíntesis de esteroide es el colesterol que puede ser sintetizado a partir del acetato; pero la principal fuente para la esteroidogénesis del ovario, procede de las lipoproteínas circulantes; en la especie humana, predominantemente las lipoproteínas de baja densidad (LDL); en otras especies, como en osos, predominan las de alta densidad (HDL) (González-Merlo y col., 2003).

Las lipoproteínas se unen a los receptores específicos de las células productoras de esteroideos y penetran en dichas células. En el interior de las células se unen con lisosomas, cuyas proteasas y estererasas desdoblan las lipoproteínas y dejan en libertad el colesterol no esterificado y a los aminoácidos (González-Merlo y col., 2003).

El colesterol intracelular es transportado a la mitocondria por medio de una proteína reguladora de la esteroidogénesis aguda llamada StAR (por sus siglas en inglés steroidogenic acute regulator), aunque probablemente en este transporte intervengan otras proteínas como la transportadora del *esterol 2*, el polipéptido activador de la esteroidogénesis y el receptor periférico de benzodiazepina (González-Merlo y col., 2003).

El colesterol (C27) en las mitocondrias es transformado en *pregnenolona* (C21). Esta reacción está catalizada por un complejo enzimático (22-Hidrolaxa; 20,22-Desmolaxa) (Figura 4).

La pregnenolona es un precursor común a todas las hormonas esteroideas del ovario. Por la vía de la Δ^5 la pregnenolona se convierte en progesterona. Un complejo enzimático microsomal interviene en esta transformación (Δ^5 -3 β -hidroxisteroide-deshidrogenasa; Δ^5 , 4-isomerasa).

Los andrógenos (C19) se sintetizan en el ovario a partir de la pregnenolona y de la progesterona. Existen dos vías, en la producción de andrógenos; una a partir de la

pregnenolona y otra a partir de la progesterona. En las dos vías, el primer paso es la 17 α -hidroxilación y con formación de 17 α -hidroxipregnenolona y 17 α -hidroxiprogesteroa:

1- Vía Δ 4-esteroides:

progesterona \rightarrow 17 α hidroxiprogesteroa \rightarrow androstenediona \rightarrow testosterona.

2- Vía Δ 5-esteroides:

pregnenolona \rightarrow 17hidroxipregnenolona \rightarrow androstenediona \rightarrow testosterona.

La mayoría de los andrógenos producidos en el ovario son transformados en estrógenos. Pero parte de ellos (androstenediona y dehidroepiandrosterona) pasan a la circulación general y pueden ser convertidos en la periferia en testosterona y estrógenos, así como ser excretados por la orina en forma de 17-cetosteroides (González-Merlo y col., 2003).

Los estrógenos (C18), se producen en el ovario, al igual que en las suprarrenales y en los testículos, a expensas de los andrógenos. La androstenediona originará la estrona y la testosterona el estradiol; para ello se ha de producir la hidroxilación en el carbono 3, la aromatización en el anillo A y la pérdida de un grupo CH₃, del carbono 10. Estas transformaciones están provocadas por un complejo enzimático, denominada aromatasa P-450, localizado en las membrana del retículo endoplásmico agranular de las células de la granulosa del ovario (González-Merlo y col., 2003).

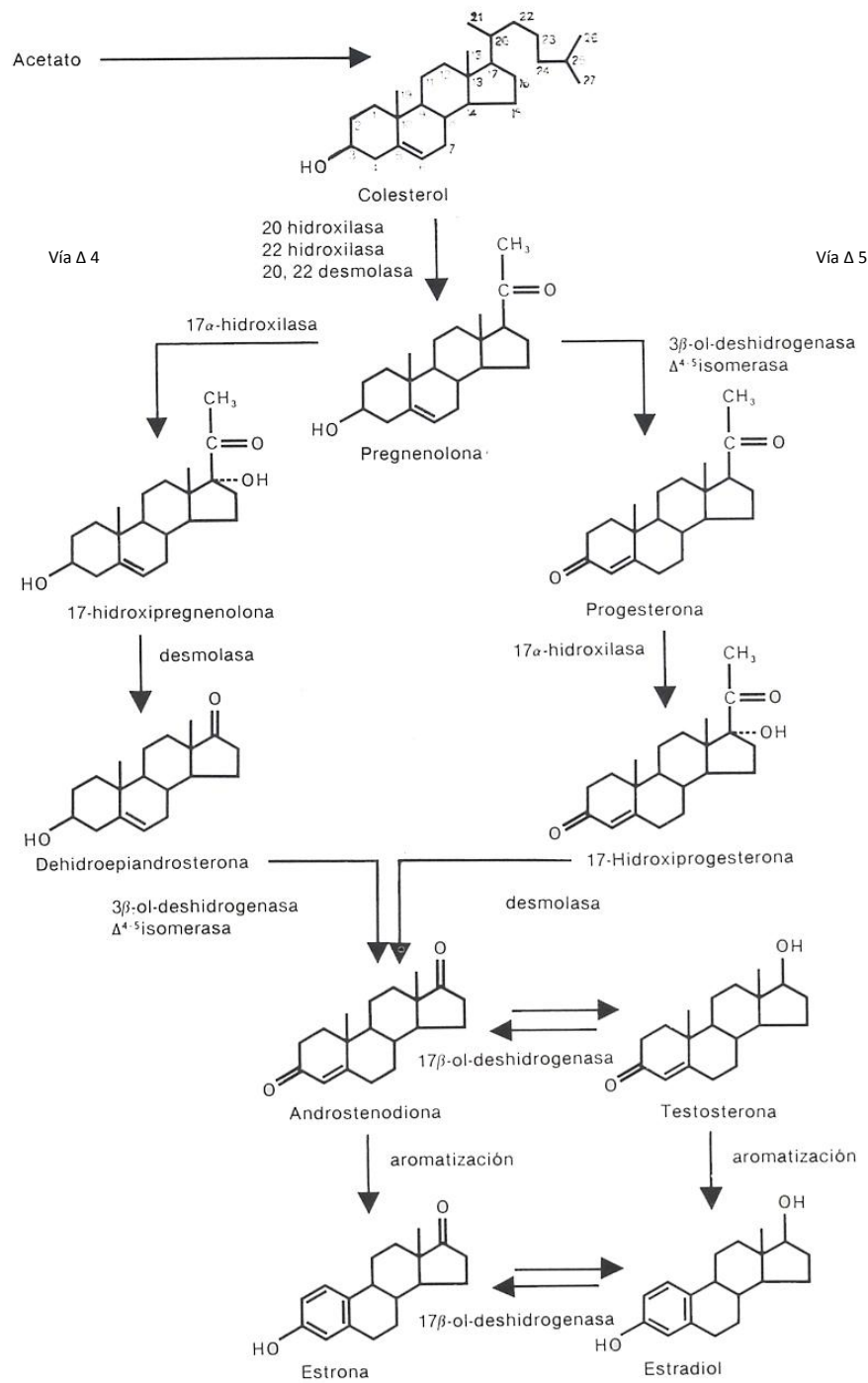


Figura 4. Esquema de la biosíntesis de las hormonas esteroideas (Tomado y modificado de Van Voorhis 1999).

Desarrollo puberal

La pubertad se define como la etapa de transición entre la infancia y la edad adulta. En él tienen lugar cambios físicos, psicológicos, funcionales y psicosociales. Durante esta etapa se desarrollan los caracteres sexuales secundarios y se adquiere la capacidad reproductora (Herrera 1994).

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

En la rata hembra desde el nacimiento hasta la etapa puberal transcurren aproximadamente entre 35 y 40 días. El único signo exterior que señala el inicio de la función reproductora es la canalización de la vagina, que normalmente permanece no perforada en ratas inmaduras. La apertura vaginal ocurre en el día posterior a los picos preovulatorios de gonadotrofinas y los frotis vaginales muestran células correspondientes a un estro. A partir de este momento la rata puede quedar preñada (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido 1990).

En la rata el desarrollo de los mecanismos neuroendocrinos involucrados en la reproducción se produce en un lapso de 5 semanas.

Las etapas por las que atraviesa un animal hasta llegar a la pubertad son cortas y los cambios que ocurren en cada una son determinantes para que se inicie la pubertad (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido 1990).

El desarrollo de la rata hembra se ha dividido en cuatro etapas: 1) neonatal (desde el nacimiento hasta el día 7), 2) infantil (de 8 a 21 días), 3) juvenil (de 21 a 30 días), y 4) peripuberal, periodo que culmina con la primera ovulación (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido 1990).

1.-*Etapa neonatal* se caracteriza por la insensibilidad del ovario a las gonadotrofinas, es decir que el crecimiento folicular se inicia en forma independiente a ellas (Peter 1970). A partir del 5to día la FSH recién comienza a estimular la producción de estradiol a partir de testosterona. A final de esta etapa se hace evidente la respuesta esteroideogénica del ovario a las gonadotrofinas (Lamprecht 1976), las concentraciones de FSH, son bajas antes del nacimiento y a partir de este momento empiezan a aumentar, mientras que la concentración de LH sérica se mantiene baja (Dohler y col., 1974).

2.-*Etapa infantil*, se caracteriza por concentraciones muy altas de FSH (Dohler y col., 1974; Mackinnon y col., 1976) y por la presencia de picos esporádicos de LH (Dohler y col., 1974; Wuttke y col., 1980). Las concentraciones de FSH son fundamentales para el reclutamiento y crecimiento de los folículos que llegarán a ovular en la pubertad (Hage y col., 1978; Ojeda y col., 1980). A partir del día 15 de vida disminuye la FSH y desaparecen los picos de LH.

3.-*Etapa juvenil*, la FSH disminuye sensiblemente y las concentraciones de LH son bajas y constantes en un comienzo. Los cambios más importantes se producen en relación con la LH, que comienza a secretarse en forma pulsátil (Andrews y Ojeda 1981) y hacia el final del periodo, incrementa sus valores basales (Meijs-Roelofs y col 1983) y la amplitud de sus pulsos (Urbanski y Ojeda 1983) durante la tarde, estableciéndose un ritmo circadiano.

En el ovario se observa un aumento en el número de receptores a LH (Smith-White y Ojeda 1981), que junto con el patrón de secreción de la LH se traduce en una mayor esteroideogénesis.

4.- *Etapa peripuberal*, Alrededor de los 30 días comienza esta etapa. El patrón circadiano de LH se establece clara y regularmente. Este ritmo circadiano de LH, al igual que el ritmo de la prolactina que presenta un pico en horas de la tarde, es independiente del control esteroideo (Kimura 1981). En el ovario se observa un máximo número de receptores para FSH y LH (Ojeda y Urbanski 1988). Aumentan consecuentemente las concentraciones de

estradiol, progesterona y testosterona, las concentraciones aumentadas de esteroides afectan al hipotálamo y cuando llegan a las concentraciones adecuadas comienza la descarga de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) que culmina con el pico de gonadotropinas y la primera ovulación (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido 1990).

Ciclo estral

La ciclicidad de la función ovárica durante la vida reproductora es un hecho bien conocido. En la mayoría de las especies, con excepción de los primates, la característica más relevante de la ritmicidad es la aparición de la conducta de “celo” o “estro” (ciclo estral), en la cual la hembra acepta la monta y la cópula. Esta conducta de estro coincide temporalmente con la ovulación (rata, ratón, hámster, cobaya). En otros mamíferos (gato, conejo, hurón) la ovulación es un fenómeno reflejo desencadenado por el estímulo del coito, que solo tiene lugar durante los periodos de “estro” (Sánchez 1999).

El ciclo estral de la rata, dura entre 4 y 5 días y está influenciado por factores exteroceptivos como la luz, la temperatura y las sustancias químicas percibidas por el sentido del olfato. Se divide en 4 fases: estro, metaestro, diestro y proestro (Sánchez 1999) (Figura 5).

La fase del **estro** es el periodo de celo en el que la hembra presenta patrones de conducta sexual característicos. El acercamiento, la monta por el macho y la cópula son permitidos. Como la ovulación ha sucedido pocas horas antes, los óvulos se encuentran en el oviducto. El folículo postovulatorio comienza a estructurarse como cuerpo lúteo. En la mucosa vaginal se encuentran numerosas mitosis que desplazan a las capas más superficiales (epitelio escamoso y cornificado) que son exfoliadas a la luz de la vagina. La presencia de estas células en el frotis vaginal es indicativa de estro y señal probable de que ha ocurrido la ovulación (Sánchez 1999).

Al día siguiente aparece la fase del **metaestro**, que tiene aproximadamente la misma duración que la fase de estro. La monta y la cópula ya no son permitidas. La secreción de progesterona por el cuerpo lúteo y la del estradiol por los folículos inhiben la secreción de gonadotrofinas. La vascularización y la motilidad del útero están disminuidas. En el frotis vaginal se aprecia infiltración leucocitaria junto con algunas células cornificadas (Sánchez 1999).

La fase de **diestro** dura 60-70 horas. Durante esta fase tiene lugar la regresión del cuerpo lúteo (leuteólisis), que en algunos roedores estimula la liberación de prolactina. Mientras tanto la secreción de estradiol por los folículos en crecimiento sigue aumentando. Al igual que en la fase de metaestro, los esteroides ováricos inhiben la secreción basal de gonadotrofinas que a su vez mantienen el crecimiento folicular (Sánchez 1999).

La última fase del ciclo estral es la de **proestro**. Los folículos han adquirido el estadio de folículos preovulatorios y secretan grandes cantidades de estradiol. Esta hormona ejerce ahora un efecto estimulante sobre la secreción de gonadotrofinas. La LH produce la ovulación y la luteinización del folículo postovulatorio. El útero por acción del estradiol se hace extremadamente contráctil y en la vagina aparecen células epiteliales nucleadas. La cópula solo es permitida en el proestro tardío con el comienzo de la fase de oscuridad (Sánchez 1999).

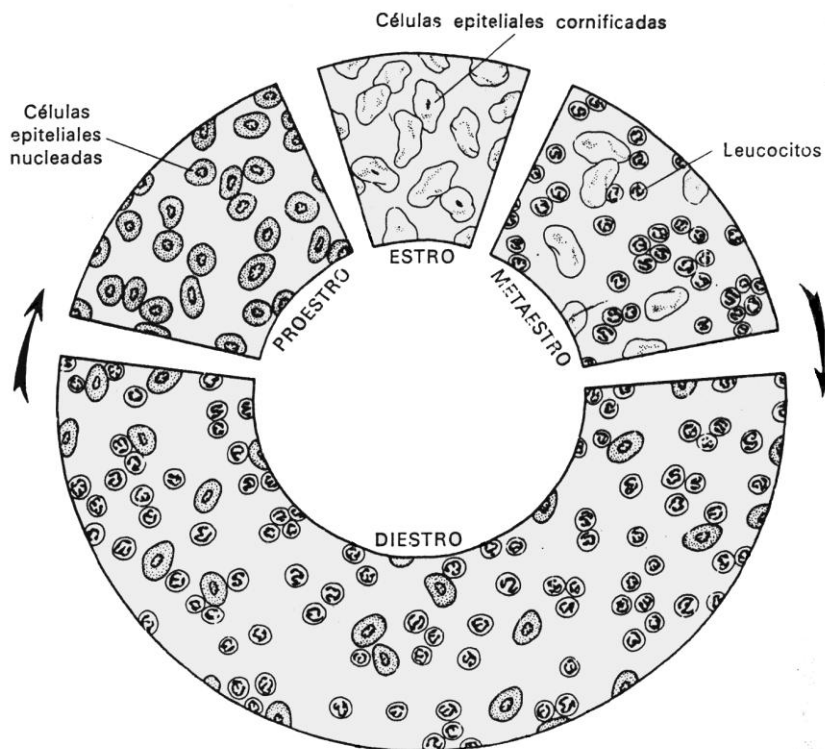


Figura 5. Esquema que representa las células del frotis vaginal recogidas durante las diferentes etapas del ciclo estral de la rata (Hoar 1978).

Eje hipotálamo-hipófisis-ovario

El control endocrino de la función ovárica es ejercido por hormonas, como los estrógenos y la progesterona. La producción de estas hormonas es controlada por el eje hipotálamo-hipófisis. Las neuronas que se encuentran en el área preóptica del hipotálamo segregan de forma pulsátil la GnRH, la cual entra en la circulación portal de la hipófisis y llega a esta última. La GnRH actúa sobre receptores específicos de las células hipofisarias secretoras de gonadotrofinas y estimula la liberación pulsátil tanto de la FSH como de la LH. Estas dos gonadotrofinas actúan sobre los receptores específicos que hay en el ovario y estimulan la producción de esteroides sexuales y hormonas peptídicas, así como la ovulación (Curtis y col., 1998).

Síndrome de Ovario Poliquístico

El síndrome de ovario poliquístico (SOPQ) es un trastorno heterogéneo de etiología incierta. Stein y Leventhal definieron en 1935 el síndrome que lleva su nombre y que consistía en ovarios poliquísticos asociados a la esterilidad, obesidad e hirsutismo. Durante muchos años, a este cuadro clínico se le llamó síndrome de Stein Leventhal (Botella 1995).

El SOPQ se presenta en una porción importante de mujeres en edad reproductiva (del 6 al 10%) y se asocia con alteraciones reproductivas (anovulación), con hirsutismo, hiperandrogenismo y obesidad. Este síndrome constituye un factor de riesgo para el desarrollo de carcinoma endometrial y se encuentra relacionado con alteraciones metabólicas y con una mayor prevalencia de enfermedades cardiovasculares (Lobo 2000). No se han presentado evidencias concluyentes para vincularlo con cáncer de ovario (Balén 2001). Los ovarios presentan aumento de volumen, turgentes y con apariencia globulosa. La túnica albugínea es más gruesa y blanquecina, y hay numerosos folículos de diámetro variable.

A pesar del estado polifolicular del ovario los estrógenos se encuentran en concentraciones bajas. A pesar del aumento en la concentración plasmática de LH, no se produce la ovulación y por consiguiente no se forma el cuerpo lúteo. La progesterona se encuentra en concentraciones bajas que pueden ser inferiores a 1ng/ml, como corresponde a un ciclo anovulador (Botella 1995).

Los cambios en las gonadotropinas son muy característicos, hay aumento de LH y disminución de FSH, algunos autores coinciden con la elevación de LH pero no en la baja de FSH, que estaría dentro de los límites normales. La elevación de LH, explica que el intersticio ovárico esté estimulado y produzca un exceso de andrógenos (Botella 1995).

Inducción del SOPQ por valerato de estradiol

El valerato de estradiol (VE) es un estrógeno de larga actividad, con una vida media de 7-15 días (Rosa-E-Silva y col., 2003), induce mayor hiperactividad de las fibras simpáticas que llegan al ovario vía el NOS, debido a que el VE provoca en el ovario incremento de la concentración del factor de crecimiento neural (NGF) y su receptor de baja afinidad p75, el cual a nivel del ganglio celiaco aumenta la actividad de la enzima tirosina hidroxilasa (TH), enzima limitante en la síntesis de catecolaminas, y como consecuencia aumenta la concentración de NA ovárica (Lara y col., 2000).

En respuesta a la administración del VE aumenta la capacidad de las terminales nerviosas para incorporar y liberar noradrenalina, por lo que incrementa el contenido de noradrenalina (NA) ovárica y disminuye el número de receptores β -adrenérgicos en células de la teca interna y de la glándula intersticial (Lara y col., 1993; Rosa-E-Silva y col., 2003).

Se ha descrito que en los roedores la administración de VE, induce el SOPQ (Brawer y col., 1978, 1986; Hemmings y col., 1983; Schulster y col., 1984; Farookhi y col., 1985; Barria y col., 1993; Lara y col., 1993; Stener-Victorin y col., 2005; Rosa-E-Silva y col., 2003). La administración de VE a ratas reduce la masa ovárica, altera la dinámica del desarrollo folicular, lo cual se ve evidenciado por una disminución en el número de folículos sanos

(Rosa-E-Silva y col., 2003), incremento en la población de folículos antrales pequeños, ausencia de cuerpos lúteos (Barria y col., 1993; Rosa-E-Silva y col., 2003), anovulación y formación de quistes foliculares (Brawer y col., 1978, 1986; Lara y col., 2000).

En el cultivo de ovarios provenientes del animal con SOPQ se observa una alteración en la esteroidogénesis ovárica, donde la secreción de estradiol incrementa de manera significativa, posiblemente como resultado de una mayor actividad de las aromatasas. Mientras que la secreción de progesterona y andrógenos no se ve modificada (Barria y col., 1993). Por otro lado, en el modelo de la rata infantil tratada con VE, se observa una disminución en la concentración sérica de gonadotropinas, en donde la disminución es más evidente en LH que en FSH (Rosa-E-Silva y col., 2003).

Inervación ovárica

La mayoría de las glándulas endocrinas, incluido el ovario, están inervadas por las neuronas del sistema nervioso periférico. Los ovarios de los mamíferos están inervados por neuronas simpáticas, parasimpáticas y sensoriales. Cuyas fibras alcanzan componentes estructurales de la glándula, incluido la vasculatura, el tejido intersticial y los folículos en desarrollo (Dissen y Ojeda 1999).

La inervación ovárica simpática proviene de los ganglios celiaco y mesentérico y de los nervios espláncnicos lumbares (Dissen y Ojeda 1999), la porción simpática de la inervación ovárica se origina en el segmento torácico T-11 al lumbar L-4. La inervación simpática llega al ovario por medio del nervio ovárico superior (NOS) y del plexo ovárico (PO), está compuesta por fibras que transportan neuropéptido Y (NPY), péptido intestinal vasoactivo (VIP) y por aquellas que contienen catecolaminas (principalmente NA). En la inervación sensorial participan fibras que contienen el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), sustancia P (SP) así como VIP (Lawrence y Burden 1980; Dissen y Ojeda 1999) (Figura 6).

El NOS está asociado con el ligamento suspensorio (Burden 1978; Burden 1985) e inerva en el ovario principalmente a las células del tejido intersticial y la teca interna de los folículos y aunque las células de la granulosa y del cuerpo lúteo no están inervadas tienen receptores beta adrenérgicos (Lawrence y Burden 1980; Dissen y Ojeda 1999). Mientras que el PO viaja a lo largo de la arteria ovárica (Dissen y Ojeda 1999) y está formado por una red de fibras nerviosas que revisten la arteria y la vena ovárica, inerva el oviducto, al ligamento ancho uterino y al ovario.

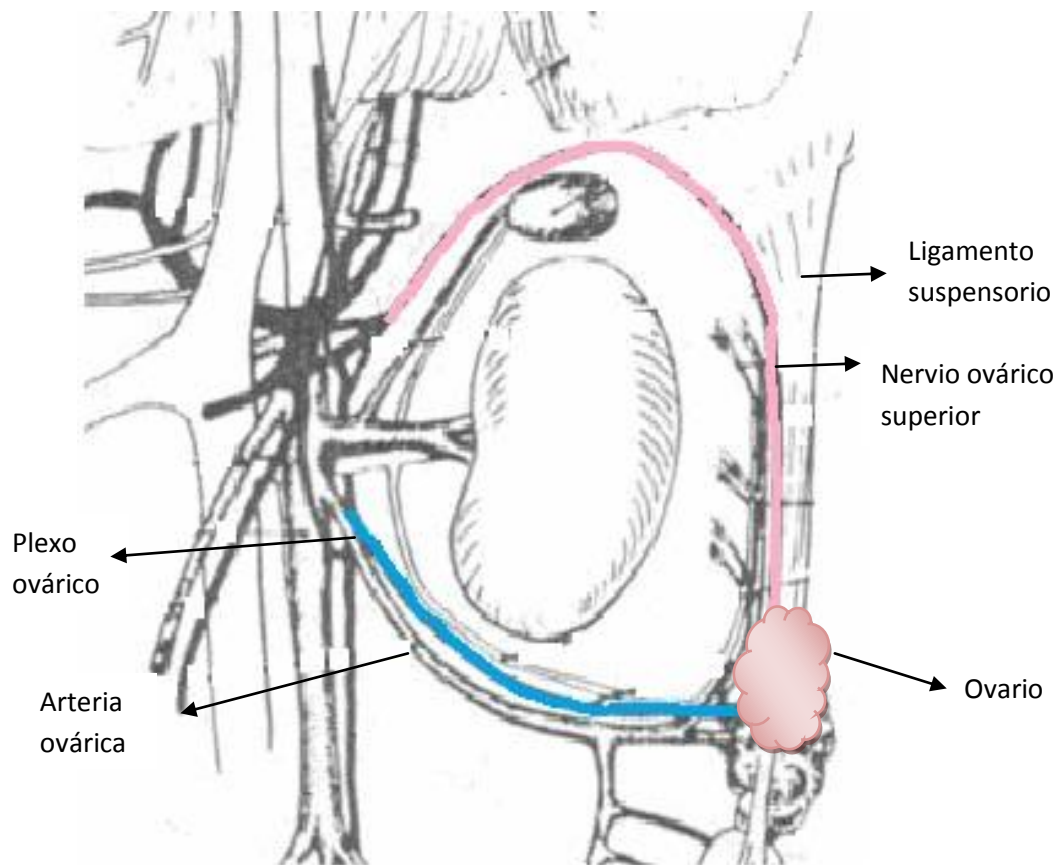


Figura 6. Esquema que muestra la inervación simpática del ovario compuesta por el plexo ovárico y el nervio ovárico superior (Tomada y modificado de Lawrence y Burden 1980).

El nervio vago es el décimo (X) de los doce pares craneales, nace del bulbo raquídeo e inerva la faringe, esófago, laringe, tráquea, bronquios, corazón, estómago, páncreas, hígado, diafragma y ovario (Chummy S 1999).

Los núcleos vagales (Figura 7) están situados en la región del bulbo raquídeo se distribuyen como: dorsales motor y sensitivo (parasimpático), el núcleo ambiguo (motor visceral especial) y el núcleo del tracto solitario (sensitivo visceral). Las fibras sensitivas somáticas probablemente se conectan con el núcleo sensitivo del trigémino. El nervio sale del bulbo por fuera de la oliva en forma de pequeñas raíces y del cráneo a través del agujero rasgado posterior, con el seno petroso inferior y el nervio glossofaríngeo medialmente y el nervio espinal y la vena yugular interna lateralmente. Desciende por el cuello y el tórax hasta el plexo esofágico en donde se une con el nervio del otro lado para formar los troncos vagales anterior y posterior. Junto a la base del cráneo el vago conforma los ganglios sensitivos superior e inferior (Chummy S 1999).

La inervación parasimpática del ovario llega principalmente por el nervio vago (Burden y Lawrence; 1977), el cual transporta SP, CGRP, somatostatina, gastrina, VIP y principalmente acetilcolina (Klein y Burden; 1988).

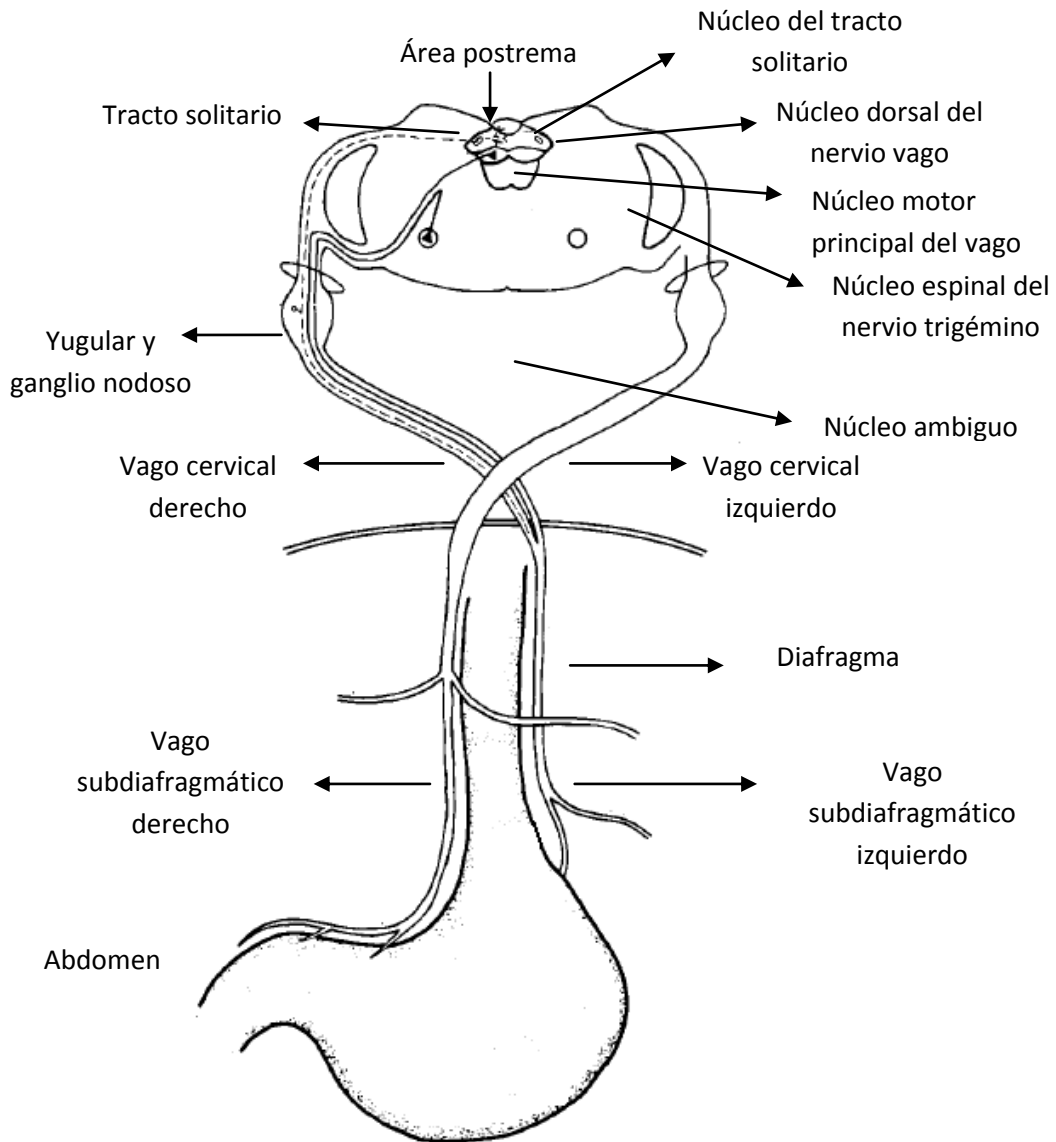


Figura 7. Esquema que muestra la inervación Vagal desde una perspectiva ventral. (Tomada y modificado de Norgren y Smith, 1980).

Efecto de la denervación simpática sobre las funciones del ovario

Diversos estudios han sugerido que la inervación simpática participa en la regulación de la ovulación, el desarrollo folicular y la esteroidogénesis ovárica (Lawrence y Burden, 1980; Aguado y Ojeda, 1984; Morales y col., 1993; Morán y col., 2000).

En ratas adultas la sección bilateral del NOS realizada en la mañana del proestro, resulta en un descenso de la concentración de progesterona y estrógenos minutos después de la sección. Esta disminución se acompaña de una caída en la concentración de NA ovárica. Estos resultados han sido interpretados como que el NOS facilita la secreción de esteroides por el ovario (Aguado y Ojeda 1984).

En ratas prepúberes, la sección del NOS-I, resultó en una menor concentración de estradiol 5 y 72 horas después de la sección, esta disminución también se presentó en animales con sección bilateral del NOS a las 48 horas pos cirugía. Una hora después de realizar la sección bilateral del NOS incrementó la concentración de progesterona, mientras que a los 30 minutos y 72 horas post-cirugía la concentración disminuye. Estos resultados permiten sugerir que el NOS modula la esteroidogénesis ovárica de manera asimétrica y varía con la edad del animal (Vieyra 2007).

La sección bilateral del NOS realizada a los cuatro días de edad, resulta en el retraso de la edad de apertura vaginal y del primer estro vaginal, lo que se puede explicar por la disminución en la concentración de estradiol. Cuando los animales son sacrificados a los 30, 35 ó 60 días de edad no hay cambios en las concentraciones séricas de LH, mientras que las de FSH disminuyen de manera significativa. Con estos resultados se postula que durante la etapa neonatal la información que transcurre por el NOS es fundamental para que se dé la regulación de las funciones ováricas en el animal adulto (Forneris y Aguado, 2002).

En ratas adultas la sección unilateral o bilateral del NOS reduce el número de ovocitos liberados por el ovario denervado. Resultados que llevaron a los autores a sugerir

que la inervación que llega al ovario a través del NOS modula de manera estimulante la ovulación espontánea (Chávez y col., 1991).

En la rata con SOPQ la eliminación del 100% de las fibras simpáticas que llegan al ovario por medio de la sección bilateral del NOS, restablece las funciones del ovario y el ciclo estral (Barria y col., 1993; Rosas-e-Silva y col., 2003).

En el SOPQ se ha atribuido la falta de ovulación a una mayor actividad de las fibras simpáticas que arriban al ovario por el NOS, de manera que cuando a ambos ovarios se les priva de esta fuente nerviosa resulta en ovulación normal (Barria y col., 1993; Rosa-E-Silva y col., 2003).

Experimentos previos realizados en nuestro laboratorio, muestran que en ratas con SOPQ, la sección unilateral del NOS, se restablece la ovulación en el ovario intacto aun cuando la concentración de NA es alta y en el ovario denervado se mantiene la presencia de quistes foliculares aun después de la disminución de NA. Resultados que apoyan la hipótesis de que el SOPQ es más que el resultado del aumento en la actividad de las fibras simpáticas que llegan al ovario y la posible existencia de una comunicación entre los ovarios probablemente dada por el nervio vago (Morales y col., 2010).

En la rata adulta con SOPQ el NOS modula de manera inhibitoria la secreción de progesterona, mientras que regula de manera estimulante la de estradiol (Barria y col., 1993). Por otro lado se ha reportado que cuando se induce la patología en la rata juvenil, el NOS modula de manera asimétrica la secreción de progesterona, donde el NOS-izquierdo modula de manera inhibitoria y el NOS-derecho la modula de forma estimulante (Morales y col., 2010), en tanto la secreción de estradiol siempre es modulada de forma estimulante.

Efecto de la denervación parasimpática sobre las funciones del ovario

El ovario recibe inervación parasimpática por intermedio del nervio vago (Burden y col., 1983), sin embargo, la ruta que siguen estas fibras dentro de la gónada es aún desconocida.

Gerendai y col., (2000) sugirieron la existencia de una vía de comunicación entre el ovario y el hipotálamo dada por el nervio vago. Ya que la inyección del virus de pseudorabia en el ovario de ratas adultas resulta en el marcaje de varias estructuras del sistema nervioso central entre las que destacan el núcleo ambiguo y el núcleo del tracto solitario (núcleos del nervio vago), marcaje que desaparece después de realizar una vagotomía.

La vagotomía bilateral, inhibe el desarrollo de la hipertrofia compensadora del ovario (Burden y Lawrence, 1977) y si se realiza en ratas adultas en el día diestro o proestro, se modifica la duración del ciclo estral y evita la inducción de seudopreñez en respuesta a la estimulación del cuello uterino (Burden y col., 1981). En ratas preñadas la vagotomía bilateral resulta en disminución del número de fetos vivos e incrementa el número de reabsorciones fetales, lo cual se relaciona con la disminución en la concentración de progesterona y LH (Lawrence y col., 1978).

Cruz y col. (1986) mostraron que la sección bilateral del nervio vago realizada en ratas adultas, no modifica la tasa ovulatoria. La vagotomía abdominal uni o bilateral realizada en la rata juvenil, resulta en el retraso del inicio de la pubertad (Ojeda y col., 1983; Morales 2004).

Morales y colaboradores en el 2004 mostraron que la sección bilateral del nervio vago realizada a los 24 días de edad aumenta la concentración de progesterona y a los 28 días la concentración de esta hormona disminuye. Resultados que sugieren que la inervación vagal participa en la regulación de esta hormona, la cual depende de la edad del animal.

Estudios previos de nuestro laboratorio han mostrado que la información neural que transcurre por el nervio vago modula de manera estimulante el desarrollo del SOPQ. Esto con base en el hecho de que la sección uni o bilateral del nervio realizada en ratas juveniles, restablece la ovulación y elimina la presencia de quistes foliculares (Hernández 2009). De igual manera hemos mostrado que cuando se realiza la sección unilateral del NOS más la sección ipsi o contralateral del nervio vago, disminuye la respuesta ovulatoria, respuesta que es menor cuando se elimina el vago derecho. Estos resultados nos permitieron sugerir que la información parasimpática que transcurre por el nervio vago modula de manera estimulante la persistencia del SOPQ (Linares 2011).

Planteamiento del problema

El SOPQ es un desorden endocrino y es la causa más común de infertilidad que afecta a mujeres en la edad reproductiva. Se ha sugerido que el síndrome se debe al incremento en la actividad de las fibras simpáticas que llegan al ovario por el NOS. Con la sección unilateral del NOS, no se restablece la ovulación en la gónada denervada, más si lo hace la gónada intacta, resultados que nos permiten sugerir que existe una comunicación entre los ovarios que permite la ovulación sólo del ovario intacto, esta comunicación podría estar dada por el nervio vago (Morales et al. 2010).

Para probar lo anterior, se utilizó el modelo de la rata con SOPQ, inducido con valerato de estradiol en la etapa infantil y se sometió a la sección uni o bilateral del NOS mas la sección bilateral del nervio vago en la etapa juvenil. Al llegar a la etapa adulta se evaluó la respuesta ovulatoria y esteroidogénica del ovario.

Hipótesis

Si la inervación simpática y parasimpática es estimulante para la persistencia del SOPQ inducido con valerato de estradiol, entonces al eliminar estas vías de comunicación se restablecerán las funciones ováricas.

Objetivo general

Estudiar los efectos de la sección del nervio ovárico superior más la sección bilateral del nervio vago sobre las funciones del ovario, en el modelo de la rata con síndrome de ovario poliquístico inducido experimentalmente.

Objetivos particulares

- * Analizar en la rata con SOPQ, los efectos de la sección uni o bilateral del nervio ovárico superior más la sección bilateral del nervio vago sobre la ovulación espontánea y la presencia de quistes foliculares en la etapa adulta.
- * Analizar en la rata con SOPQ, los efectos de la sección uni o bilateral del nervio ovárico superior más la sección bilateral del nervio vago sobre la secreción de estradiol y progesterona.

Material y método

Se utilizaron ratas hembras recién nacidas de la cepa CII-ZV, mantenidas en condiciones controladas con fotoperiodo de 14 horas de luz por 10 horas de oscuridad y una temperatura de $22 \pm 2^\circ$ C. Se colocaron en grupos de 6 individuos (5 hembras y 1 macho) en donde permanecieron con la madre hasta el destete (24 días de edad), a partir de entonces tuvieron libre acceso al alimento y agua hasta el día de la autopsia. En todos los casos se siguió lo establecido por la Ley Mexicana de Protección Animal para el uso de animales de experimentación. Los animales se asignaron al azar en alguno de los siguientes grupos experimentales, TA (Testigo absoluto), OS (operación simulada), sección uni o bilateral del NOS seguida de la sección bilateral del vago, cada uno de ellos formados de 7 a 10 animales.

Diseño experimental

La administración de la dosis de valerato de estradiol (VE), se llevo acabo al día 10 de edad, por vía intraperitoneal con 2.0 mg de valerato de estradiol (sigma Chemical Co., St. Louis Mo. USA) disueltos en 0.1 ml de aceite de maíz, dosis que se ha probado que es capaz de inducir el SOPQ (Brawer y col., 1986; Lara y col., 1993; Rosas 2006).

Como grupos testigo se consideraron a los animales inyectados a los 10 días de edad por vía intraperitoneal con 0.1 ml de aceite de maíz (vehículo) y otro grupo de animales intactos.

Operaciones

Todos los animales inyectados cuando alcanzaron los 24 días de edad fueron sedados con éter y antes de iniciar la operación se registraron sus pesos corporales. A los animales se les realizó alguna de las siguientes operaciones:

Operación simulada

Se realizó un sección ventral de la piel y del músculo de aproximadamente 3 cm, a lo largo de la línea ventral media del cuerpo y sin tocar ningún órgano se procedió a suturar la herida.

Sección del nervio ovárico superior izquierdo o derecho más sección bilateral del nervio vago

Se realizó una sección ventral de la piel y del músculo de aproximadamente 3 cm, a lo largo de la línea media del cuerpo se expuso el nervio ovárico superior izquierdo (NOSI) o el nervio ovárico superior derecho (NOSD) y se cortó aproximadamente a un centímetro por arriba del ovario. Posteriormente se exteriorizó el estómago se localizaron los troncos vagales y se procedió a seccionar con pinzas de micro disección el nervio vago izquierdo (NVI) e inmediatamente el nervio vago derecho (NVD). Una vez realizadas las denervaciones se suturó la herida.

Sección bilateral del nervio ovárico superior mas sección bilateral del nervio vago

Se procedió como en el caso anterior, sólo que ahora se cortaron el NOSD y el NOSI y ambos nervios vago. Una vez terminadas todas las operaciones los animales fueron regresados a condiciones controladas de bioterio.

Autopsia

Cuando los animales cumplieron los 72 días de edad, se tomaron diariamente los frotis vaginales, hasta que alcanzaron los 90 días de edad y presentaron un estro vaginal; se registraron los pesos corporales y se procedió a sacrificarlos por medio de decapitación entre las 10:00 y 12:00 H.

Se colectó la sangre del tronco en tubos de ensaye y se mantuvieron a temperatura ambiente durante 30 minutos, posteriormente se centrifugaron a 3500 rpm durante 15

minutos y se separó el suero del botón celular. Las muestras del suero se depositaron en tubos eppendorf y se almacenaron a -20° C, hasta el momento de la cuantificación de progesterona y estradiol.

Se disecaron y pesaron ovarios, útero, adrenales, timo, bazo. Se disecaron los oviductos para la cuantificación de ovocitos.

Histología ovárica

Los ovarios izquierdo y derecho de tres animales de cada grupo experimental fueron fijados en solución de Bouin por 24 hrs, deshidratados en alcohol (al 70 y 96%) y cloroformo e incluidos en parafina. Posteriormente se realizaron los cortes histológicos de manera seriada a $10\ \mu\text{m}$ de grosor y fueron teñidos con la técnica de hematoxilina-eosina.

Cuantificación de hormonas esteroides

La concentración de hormonas esteroides (progesterona y estradiol) fue cuantificada por radioinmunoanálisis (RIA) de fase sólida, con kits de reactivos comerciales Coat-A-Count, USA. Los cuales consisten en tubos de polipropileno que contienen anticuerpos específicos para cada hormona (anti-progesterona, o anti-estradiol). Para la medición de progesterona y estradiol se adicionó a cada tubo $100\ \mu\text{l}$ del suero problema más $1\ \text{ml}$ de hormona radioactiva (1125). Posteriormente los tubos se agitaron en un vortex durante $1\ \text{min.}$ y se incubaron durante $3\ \text{hrs}$ a temperatura ambiente; se decantó el sobrenadante y se colocaron los tubos en un contador de centello gama modelo Cobra 5005, packarTM para determinar la concentración de la hormona en la muestra problema, en función de las cuentas por minuto y de la curva de calibración. La concentración de progesterona se expresó en ng/ml de suero y la concentración de estradiol en pg/ml .

Análisis estadísticos

Los resultados del peso corporal, peso relativo de los órganos (ovarios, timo, bazo, adrenales y útero), la concentración sérica de progesterona y estradiol se analizaron por la prueba de Análisis de Varianza Multifactorial (ANDEVA) seguida por la prueba de Tuckey.

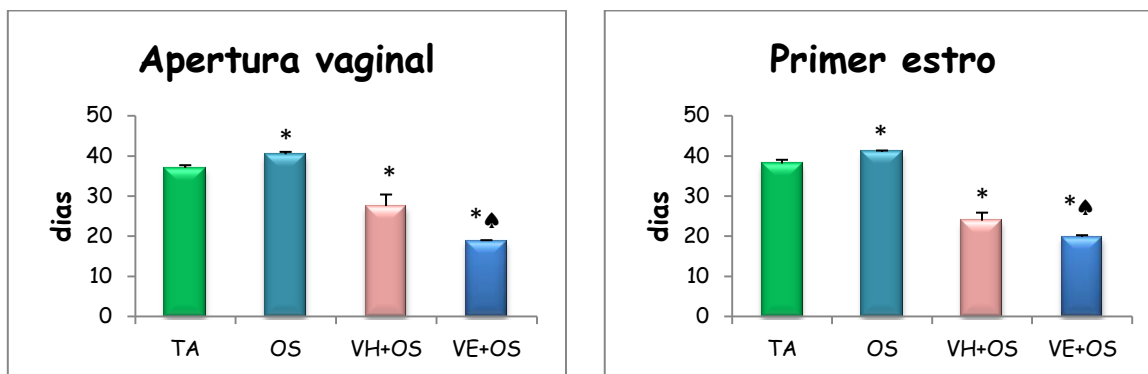
La comparación entre dos grupos se realizó la prueba "t" de Student. La edad de apertura vaginal, primer estro y el número de ovocitos liberados fue analizado por la prueba Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney. La tasa de animales ovulantes (número de animales que ovulan/número total de animales) se analizó por la prueba exacta de Fisher o para proporciones de J_i^2 . Se consideró como estadísticamente significativas aquellas diferencias cuya probabilidad fueran igual o menor a 0.05.

EXPERIMENTO 1

Efecto de la operación simulada en hembras tratadas con vehículo o valerato de estradiol, sobre el inicio de la pubertad y la respuesta ovárica.

Inicio de la pubertad

La operación simulada realizada en hembras inyectadas con VH adelantó el inicio de la pubertad, que fue más evidente cuando los animales fueron inyectados con el VE (Gráfica 1).



*p<0.05 vs TA (Prueba de Kruskal-Wallis seguida por la prueba de U de Mann-Whitney).

♠p<0.05 VH+OS (Prueba de Kruskal-Wallis seguida por la prueba de U de Mann-Whitney).

Gráfica 1. Media ± e.e.m de la edad de apertura vaginal y primer estro vaginal de animales testigo absoluto (TA). Tratados con vehículo (VH) o valerato de estradiol (VE) a los 10 días de edad y sometidas a la operación simulada (OS) a los 24 días de edad. Todos los animales fueron sacrificados a los 90 días de edad.

Respuesta ovulatoria.

No se encontraron diferencias significativas en el grupo tratado con VH y sometido a la operación simulada, en comparación con su testigo.

En el grupo tratado con VE y sometido a la operación simulada, se observó disminución en la tasa ovulatoria, en ambos ovarios, comparado con el testigo absoluto o con el VH (Tabla 1).

Tabla 1. Tasa ovulatoria de animales testigo absoluto (TA) o de animales tratados con vehículo (VH) o valerato de estradiol (VE) a los 10 días de edad y sometidas a la operación simulada (OS) a los 24 días de edad. Todos los animales fueron sacrificados a los 90 días de edad.

Grupo	n	TAO	Ovulantes por ovario	
			Izquierdo	Derecho
TA	10	10/10	10/10	10/10
OS	10	9/10	9/10	9/10
VH+OS	10	8/10	9/10	8/10
VE+OS	10	2/10*	1/10*	1/10*

*p<0.05 vs TA y VH+OS (Prueba de Fisher)

Con respecto al testigo absoluto, en el grupo de animales tratados con VH más la operación simulada se encontró la disminución en el número total de ovocitos liberados. Prácticamente no ovularon los animales tratados con valerato de estradiol y sometidos a la operación simulada (Tabla 2).

Tabla 2. Media ± e.e.m. del número de ovocitos liberados de animales testigo absoluto (TA) o de animales tratados con vehículo (VH) o valerato de estradiol (VE) a los 10 días de edad y sometidas a la operación simulada (OS) a los 24 días de edad. Todos los grupos fueron sacrificados a los 90 días de edad.

Grupo	Total	Ovocitos	
		Izquierdo	Derecho
TA	8 ± 0.8	4.1 ± 0.5	3.9 ± 0.4
OS	6.7 ± 0.8	3.5 ± 0.5	3.1 ± 0.4
VH+OS	4.9 ± 0.8*	3.2 ± 0.4	2.3 ± 0.3
VE+OS	1,1	1	1

*p< 0.05 vs TA (Prueba U de Mann Whitney)

Pesos de órganos.

En comparación con el testigo absoluto, no se encontraron diferencias significativas en el peso corporal de los animales laparotomizados ni en los grupos tratados con VH o VE y sometidos a la laparotomía. En animales tratados con VH y sometidos a la operación simulada, el peso del ovario izquierdo y derecho, así como la masa ovárica, fue mayor respecto al testigo absoluto. En los animales tratados con VE y con operación simulada, disminuyó el peso de los ovarios respecto al grupo tratado con el VH, mientras que el peso del útero fue menor comparado con el testigo absoluto (Tabla 3).

Tabla 3. Media \pm e.e.m. del peso absoluto (mg) de los ovarios y útero, de animales testigo absoluto (TA) o tratados con vehículo (VH) o valerato de estradiol (VE) a los 10 días de edad y sometidas a la operación simulada (OS) a los 24 días de edad. Todos los animales fueron sacrificados a los 90 días de edad.

Grupo	n	Peso corporal (gr)	Ovario		Masa Ovárica	Peso útero
			Izquierdo	Derecho		
TA	10	239.6 \pm 4.0	26.7 \pm 2.3	26.8 \pm 1.9	49.3 \pm 4.3	317 \pm 22.9
OS	10	237.3 \pm 6.0	30.1 \pm 1.8	30.6 \pm 2.1	57.2 \pm 2.9	252.5 \pm 20.9
VH+OS	10	237.1 \pm 5.4	34.5 \pm 0.9*	33.8 \pm 1.3*	69.7 \pm 2.4*	277.4 \pm 21.9
VE+OS	10	236.5 \pm 7.2	24.1 \pm 1.6♠	20.6 \pm 3.2♠	43.3 \pm 5.1♠	226.7 \pm 19.4*

*p0.05 vs. TA (Prueba de ANOVA seguida por la prueba de Tukey-Kramer).

♠ p<0.05 vs VH+OS (Prueba de ANOVA seguida por la prueba de Tukey-Kramer).

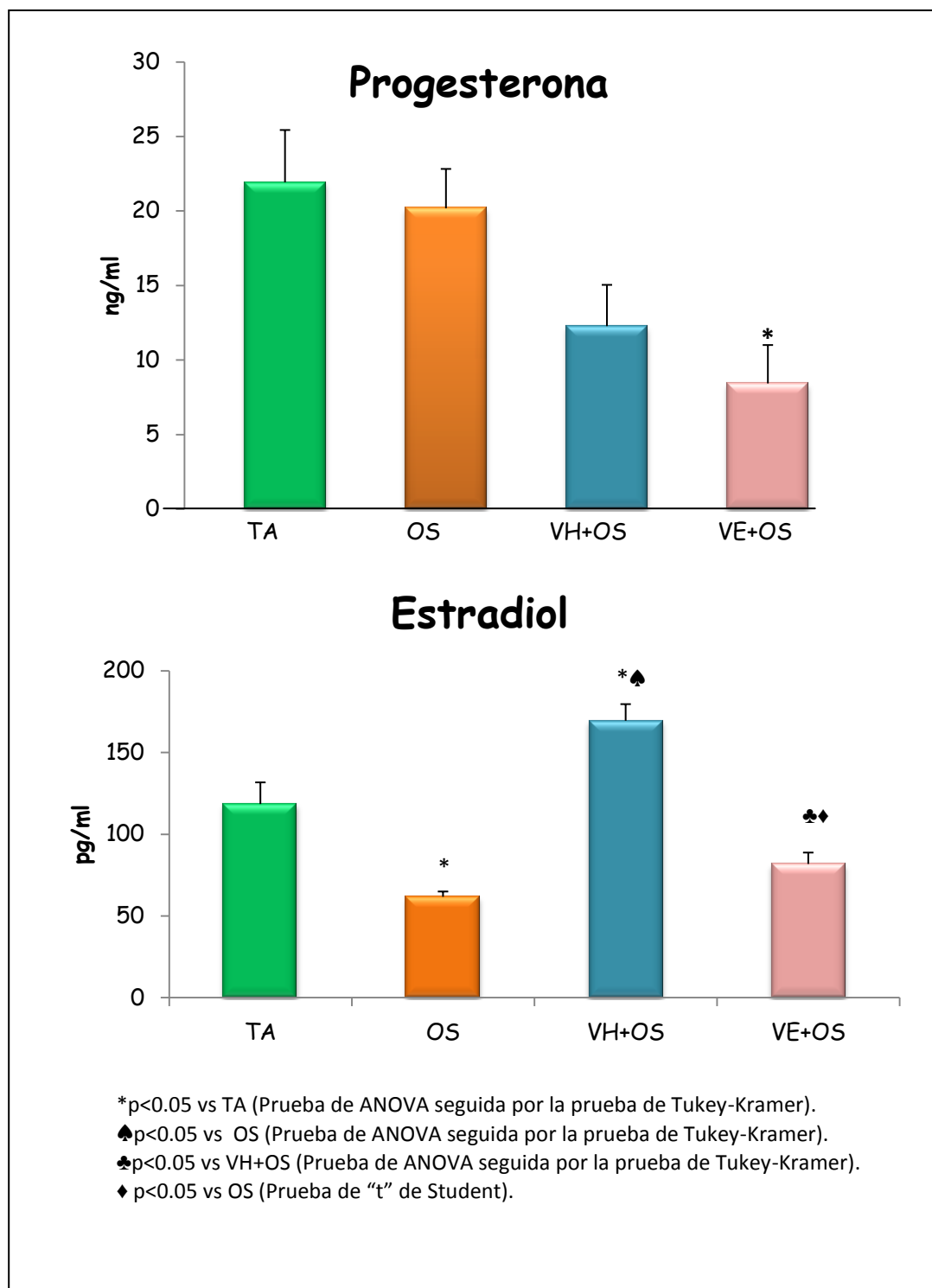
En las hembras tratadas con VE y sometidos a la operación simulada, no se encontraron diferencias significativas en la masa adrenal, el peso del bazo y del timo respecto a sus grupos testigo (datos no mostrados).

Concentración de Hormonas Esteroides

En el grupo de animales sometidos a una operación simulada no se encontraron cambios significativos en la concentración de progesterona en comparación con el testigo absoluto. Los animales tratados con VH y sometidos a la laparotomía no mostraron cambios significativos en la concentración de progesterona. La concentración sérica de progesterona de los animales tratados con VE y sometidos a una operación simulada fue menor comparada con los animales testigo absoluto (Gráfica 2).

En el grupo de animales sometidos a la operación simulada, la concentración sérica de estradiol fue menor respecto al grupo de animales testigo absoluto, en el grupo tratado con VH y sometido a la operación simulada, esta respuesta fue inversa (Gráfica 2).

Fue mayor la concentración sérica de estradiol en el grupo de animales tratado con VE y sometido a la operación simulada, en comparación al grupo con operación simulada y disminuyó al compararlo con el grupo tratado con VH (Gráfica 2).



Gráfica 2. Media \pm e.e.m de la concentración sérica de progesterona y estradiol en animales testigo absoluto (TA), con vehículo (VH) o valerato de estradiol (VE) a los 10 días de edad y sometidas a la operación simulada (OS) a los 24 días de edad. Todos los animales fueron sacrificados a los 90 días de edad.

Resumen de Resultados

	E.A.V	TAO	O.L		P.C	P.O.I	P.O.D	P.U	P4	E2
			O.I	O.D						
OS vs TA	R	=	=	=	=	=	=	=	=	↓
VH+OS vs OS	A	=	=	=	=	=	=	=	=	↑
VE+OS vs VH+OS	A	↓	↓	↓	=	↓	↓	=	=	↓

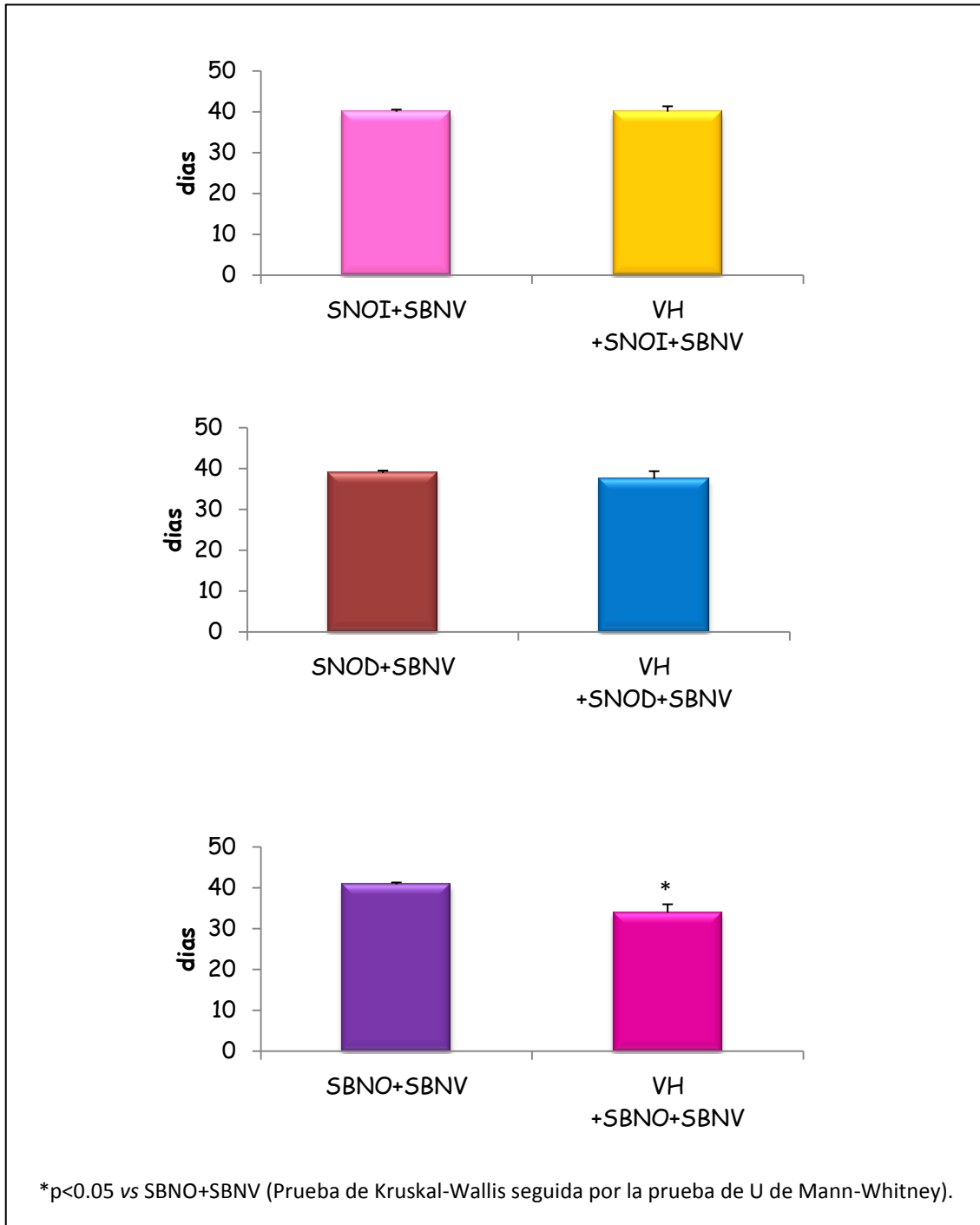
TA, testigo absoluto; VH, vehículo; VE, valerato de estradiol; OS, operación simulada; E.A.V, edad de apertura vaginal; TAO, tasa de animales Ovulantes; O.L, ovocitos liberados; O.I, ovario izquierdo; O.D, ovario derecho; P.C, peso corporal; P.O.I, peso del ovario izquierdo; P.O.D, peso ovario derecho; P.U, peso del útero; E2, estradiol; P4, progesterona; R, retraso; A, adelanto; ↓, disminución; ↑, Aumento; = no hay diferencias.

Experimento 2

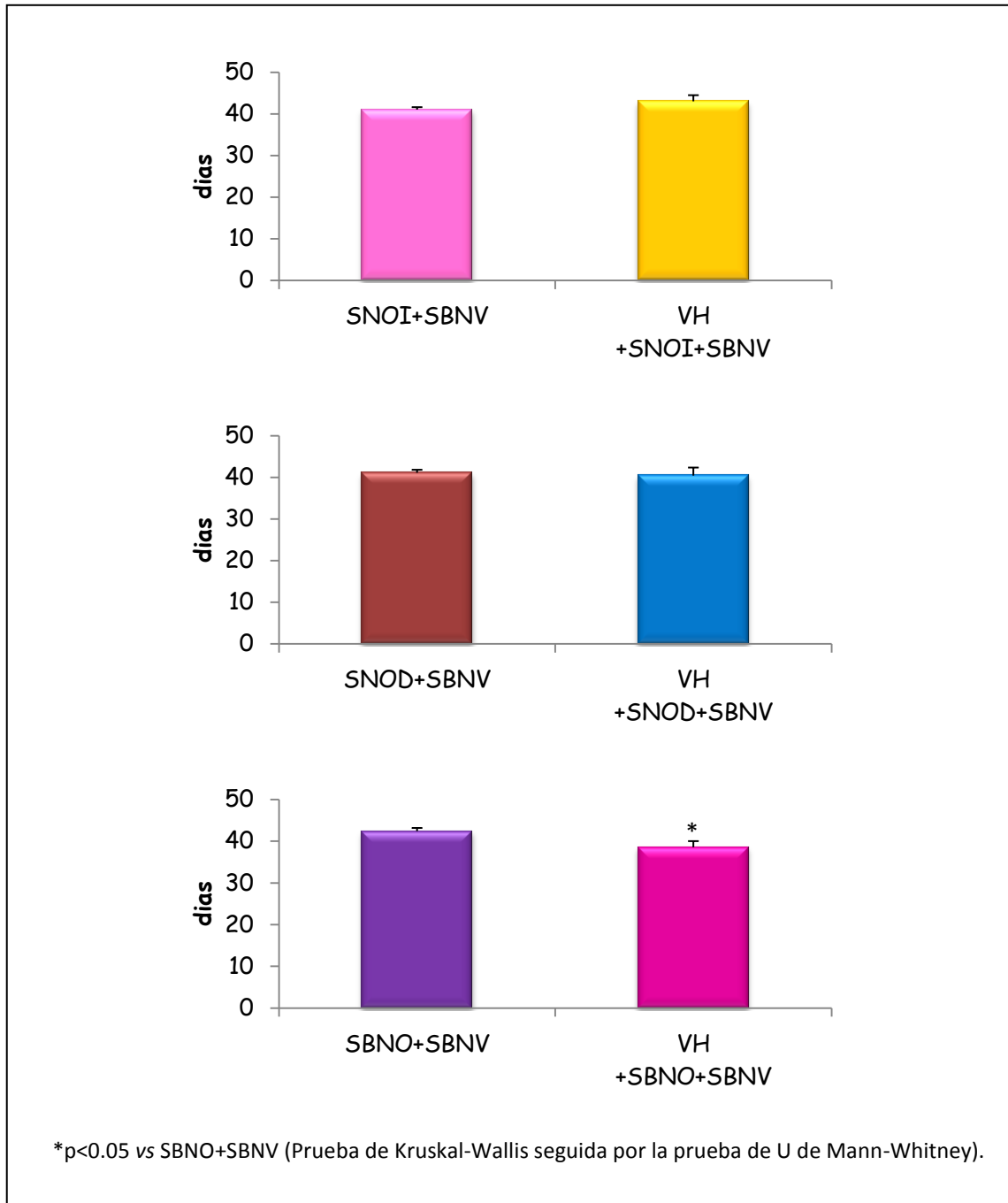
Efecto de la sección uni o bilateral del NOS más la sección bilateral del nervio vago en hembras tratadas con vehículo o valerato de estradiol, sobre el inicio de la pubertad y la respuesta ovárica.

Inicio de la pubertad

En el grupo de animales tratados con VH y sometidos a la sección unilateral del NOS más la sección bilateral del nervio vago no se encontraron diferencias significativas en la edad de apertura vaginal y del primer estro vaginal. En el grupo tratado con VH y sometido a la sección bilateral del NOS y del vago se adelantó la edad de apertura y primer estro vaginal en comparación con el grupo sometido a la sección bilateral del NOS y del vago (Gráficas 3 y 4).



Gráfica 3. Media \pm e.e.m de la **edad de apertura vaginal** de animales sin tratamiento o inyectados con vehículo (VH) a los 10 días de edad y sometidas a los 24 días de edad a la sección del nervio ovárico izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o bilateral (SBNO) más la sección bilateral del nervio vago (SBNV). Todos los grupos fueron sacrificados a los 90 días de edad.



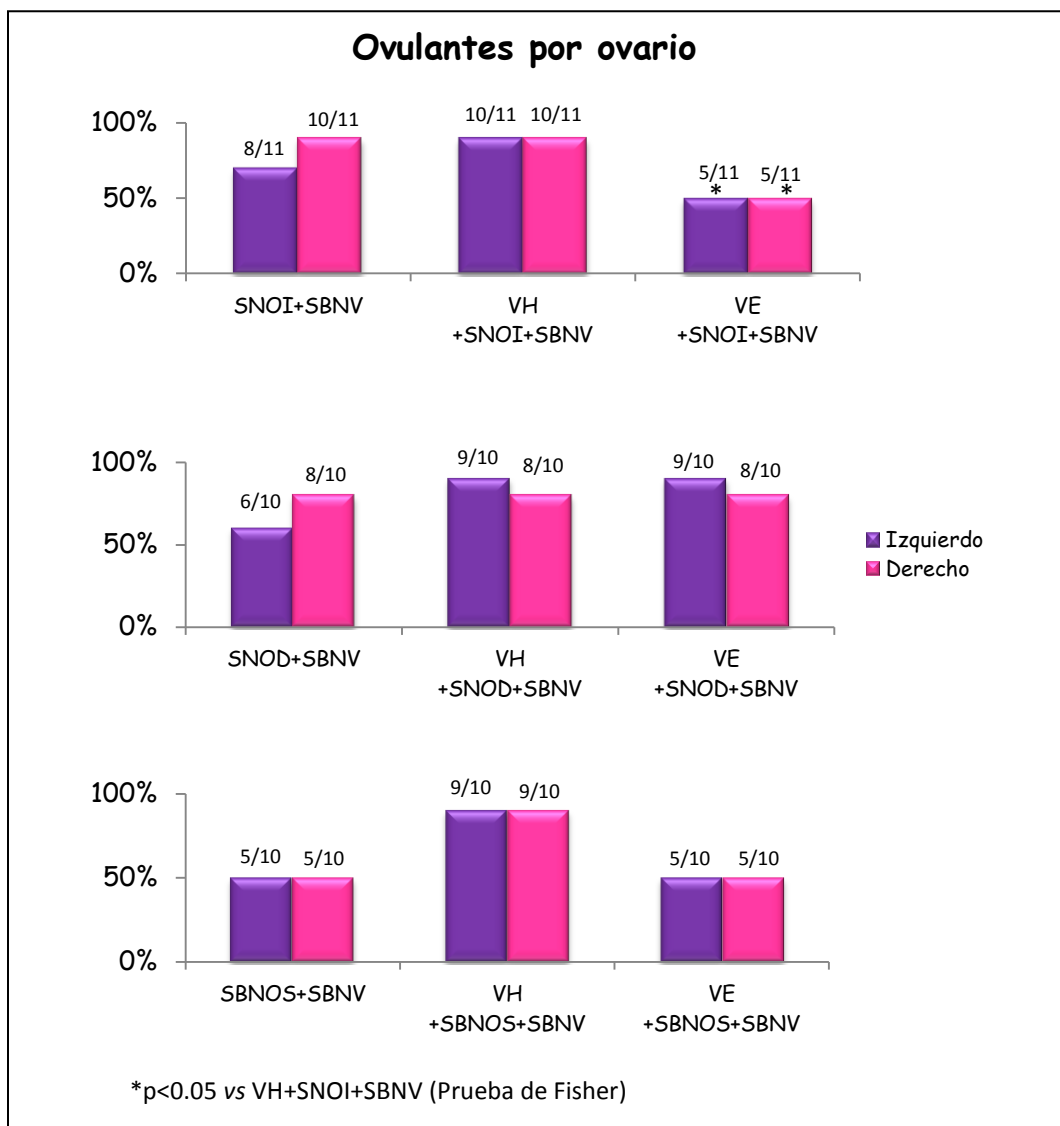
Gráfica 4. Media \pm e.e.m de la **Primer estro vaginal** de animales sin tratamiento o inyectados con vehículo (VH) a los 10 días de edad y sometidas a los 24 días de edad a la sección del nervio ovárico izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o bilateral (SBNO) más la sección bilateral del nervio vago (SBNV). Todos los animales fueron sacrificados a los 90 días de edad.

Respuesta ovulatoria.

La sección unilateral de NOS seguida de la sección bilateral del nervio vago no modificó la tasa de animales ovulantes, en comparación con el TA (90% vs 100%). En contraste, los animales que fueron sometidos a la sección bilateral del NOS seguida de la sección del vago disminuyó la tasa ovulatoria en un 50%.

Sólo ovulo el 20% de los animales tratados con VE y sometidos a la operación simulada (resultados experimento 1), en comparación con el 45% de los animales con VE y sometidos a la sección del NOS-Izquierdo, un efecto similar ocurrió al realizar la sección bilateral del NOS y del vago (50%). Mientras que en las hembras con VE y sección del NOS-derecho más la vagotomía bilateral se restableció la ovulación en el 90% de los animales (Gráfica 5).

No se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de animales ovulantes de los grupos tratados con VE o VH y sometidos a la sección uni o bilateral del NOS más la sección bilateral del vago, en comparación con su grupo de comparación (Gráfica 5).



Gráfica 5. Tasa ovulatoria de animales sin tratamiento o inyectados con vehículo (VH) o valerato de estradiol (VE) a los 10 días de edad y sometidas a los 24 días de edad a la sección del nervio ovárico izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o bilateral (SBNO) más la sección bilateral del nervio vago (SBNV). Todos los animales fueron sacrificados a los 90 días de edad.

En el grupo con valerato de estradiol y sometido a la operación simulada, solo un 20% de los animales ovuló y su cuota ovulatoria fue de un ovocito (Tabla 2). Prácticamente esta respuesta se repite en los grupos con sección uni o bilateral del NOS más la sección bilateral del vago (Tabla 4).

En el grupo de animales con VE y sección unilateral del NOS más sección bilateral del vago, no se encontraron diferencias significativas en el número de ovocitos liberados, en comparación con el grupo tratado con VH y sometido a las mismas cirugías (Tabla 4).

En los animales tratados con VE y sometidos a la sección bilateral del NOS y del vago, se observó disminución en el número de ovocitos liberados por parte del ovario izquierdo y derecho, con respecto a sus grupos de comparación (Tabla 4).

Tabla 4. Media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados de animales sin tratamiento o inyectados con vehículo (VH) o valerato de estradiol (VE) a los 10 días de edad y sometidas a los 24 días de edad a la sección del nervio ovárico izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o bilateral (SBNO) más la sección bilateral del nervio vago (SBNV). Todos los animales fueron sacrificados a los 90 días de edad.

Grupo	Ovocitos		Total
	Izquierdo	Derecho	
SNOI+SBNV	4 \pm 0.9	2.6 \pm 0.4	6.1 \pm 0.9
VH+SNOI+SBNV	3.5 \pm 0.5	3.4 \pm 0.5	6.6 \pm 1.0
VE+SNOI+SBNV	2 \pm 0.4	3.2 \pm 0.6	5.2 \pm 0.9
SNOD+SBNV	4 \pm 0.9	2.7 \pm 0.3	5.1 \pm 0.9
VH+SNOD+SBNV	2.8 \pm 0.6	3.3 \pm 0.5	5.9 \pm 1.0
VE+SNOD+SBNV	2 \pm 0.3	2 \pm 0.2	3.4 \pm 0.4
SBNOS+SBNV	4 \pm 1.6	3.6 \pm 0.7	6.3 \pm 0.8
VH+SBNOS+SBNV	4.2 \pm 0.5	4.6 \pm 0.6	8.0 \pm 1.3
VE+SBNOS+SBNV	2 \pm 0.31 \spadesuit	2.4 \pm 0.4* \spadesuit	3.6 \pm 0.9* \spadesuit

*p<0.05 vs SBNO+SBNV (Prueba U de Mann Whitney).

\spadesuit p<0.05 vs VH+SBNO+SBNV (Prueba U de Mann Whitney).

Pesos de órganos.

En los animales que fueron sometidos a la sección uni o bilateral del de NOS seguido de la sección bilateral del vago la masa ovárica aumentó respecto al testigo absoluto (SNOI+SBNV 68.0 ± 5.8 ; SNOD+SBNV 63.7 ± 4.9 ; SBNO+SBNV 70.1 ± 2.8 vs TA 49.3 ± 4.3 ; $p < 0.05$). Los animales que fueron sometidos a la sección del NOS-izquierdo seguida de la sección bilateral del vago registraron disminución en el peso del útero en comparación con el TA (210.1 ± 26.4 vs 317 ± 22.9 , $p < 0.05$).

En los animales tratados con VH y sometidos a la sección del NOS izquierdo más las sección bilateral del vago, no se encontraron diferencias significativas en el peso corporal, masa ovárica y útero en comparación con su grupo testigo (Tabla 5). De igual forma no se encontraron diferencias significativas en el peso corporal, masa ovárica y útero en el grupo de animales con VE y sometidos a la sección del NOS izquierdo más las sección bilateral del vago, en comparación con el grupo tratado con VH+SNOI+SBNV (Tabla 5).

Los animales a los que se les administró VH y sometidos a la sección derecha del NOS más la sección bilateral del vago presentaron disminución en el peso de los ovarios en comparación con su grupo testigo. El grupo de animales tratado con VE y sometido a la sección del NOS derecho más la sección bilateral del vago, mostró disminución en el peso del ovario izquierdo con respecto al grupo tratado con VH+SNOD+SBNV (Tabla 5).

En el grupo de animales tratado con VH y sometido a la sección bilateral del NOS y del vago, no se encontraron diferencias significativas en el peso corporal, masa ovárica y útero con respecto a su grupo testigo. En los animales tratados con VE y sometidos a la sección bilateral del NOS y del vago se encontró aumento del peso corporal y disminución en el peso del ovario izquierdo con respecto al grupo de animales con sección bilateral del NOS y del vago (Tabla 5).

Tabla 5. Media \pm e.e.m. del peso absoluto (mg) de los ovarios y útero, de animales sin tratamiento o inyectados con vehículo (VH) o valerato de estradiol (VE) a los 10 días de edad y sometidas a los 24 días de edad a la sección del nervio ovárico izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o bilateral (SBNO) más la sección bilateral del nervio vago (SBNV). Todos los animales fueron sacrificados a los 90 días de edad.

Grupo	n	Peso corporal (gr)	Ovario		Masa Ovárica	Peso útero
			Izquierdo	Derecho		
SNOI+SBNV	11	228.8 \pm 8.2	38.3 \pm 1.9	36.5 \pm 1.8	68.0 \pm 5.8	210.1 \pm 26.4
VH+SNOI+SBNV	11	232.6 \pm 6.2	32.7 \pm 1.7	37.1 \pm 2.8	69.5 \pm 4.1	248.2 \pm 32.3
VE+SNOI+SBNV	10	240 \pm 7.1	36.3 \pm 1.1	35.6 \pm 2.1	70.2 \pm 1.7	295.4 \pm 30.9
SNOD+SBNV	9	240 \pm 11.2	38.3 \pm 3	35.9 \pm 3.2	63.7 \pm 4.9	281.2 \pm 21.8
VH+SNOD+SBNV	10	219.2 \pm 4.8	28.3 \pm 2.5*	23.3 \pm 3.1*	52.9 \pm 3.6	320.2 \pm 23.7
VE+SNOD+SBNV	10	239.6 \pm 4	26.7 \pm 2.2*	26.7 \pm 1.9	49.3 \pm 4.3	317 \pm 22.9
SBNOS+SBNV	10	238.0 \pm 6.1	38.4 \pm 2.2	34.7 \pm 1.6	70.1 \pm 2.8	311 \pm 24.3
VH+SBNOS+SBNV	10	226.5 \pm 7.7	34.9 \pm 3.5	31.3 \pm 1.5	60.9 \pm 3.2	275.5 \pm 16.4
VE+SBNOS+SBNV	10	247.8 \pm 3.5♣	26.4 \pm 2.1♣♣	23.9 \pm 2.0♠	49.8 \pm 5.6	304.4 \pm 27.2

*p<0.05 vs SNOD+SBNV (Prueba de ANOVA seguida por la prueba de Tukey-Kramer).

♠p<0.05 vs VH+SBNO+SBNV (Prueba de ANOVA seguida por la prueba de Tukey-Kramer).

♣p<0.05 vs SBNO+SBNV (Prueba de ANOVA seguida por la prueba de Tukey-Kramer).

No se presentaron diferencias significativas en los pesos de adrenales y timo en animales tratados con VE y sometidos a la sección del NOS izquierda o derecha más la sección bilateral del vago comparados con su grupo testigo (datos no mostrados). En los animales tratados con VE y sometidos a la sección bilateral del NOS y del vago se encontró aumentó en el peso del bazo en comparación con el grupo de animales tratados con VH y sometidos las mismas cirugías (579.3 \pm 27.56 vs 430.76 \pm 15.95; p<0.05).

Concentración de Hormonas Esteroides

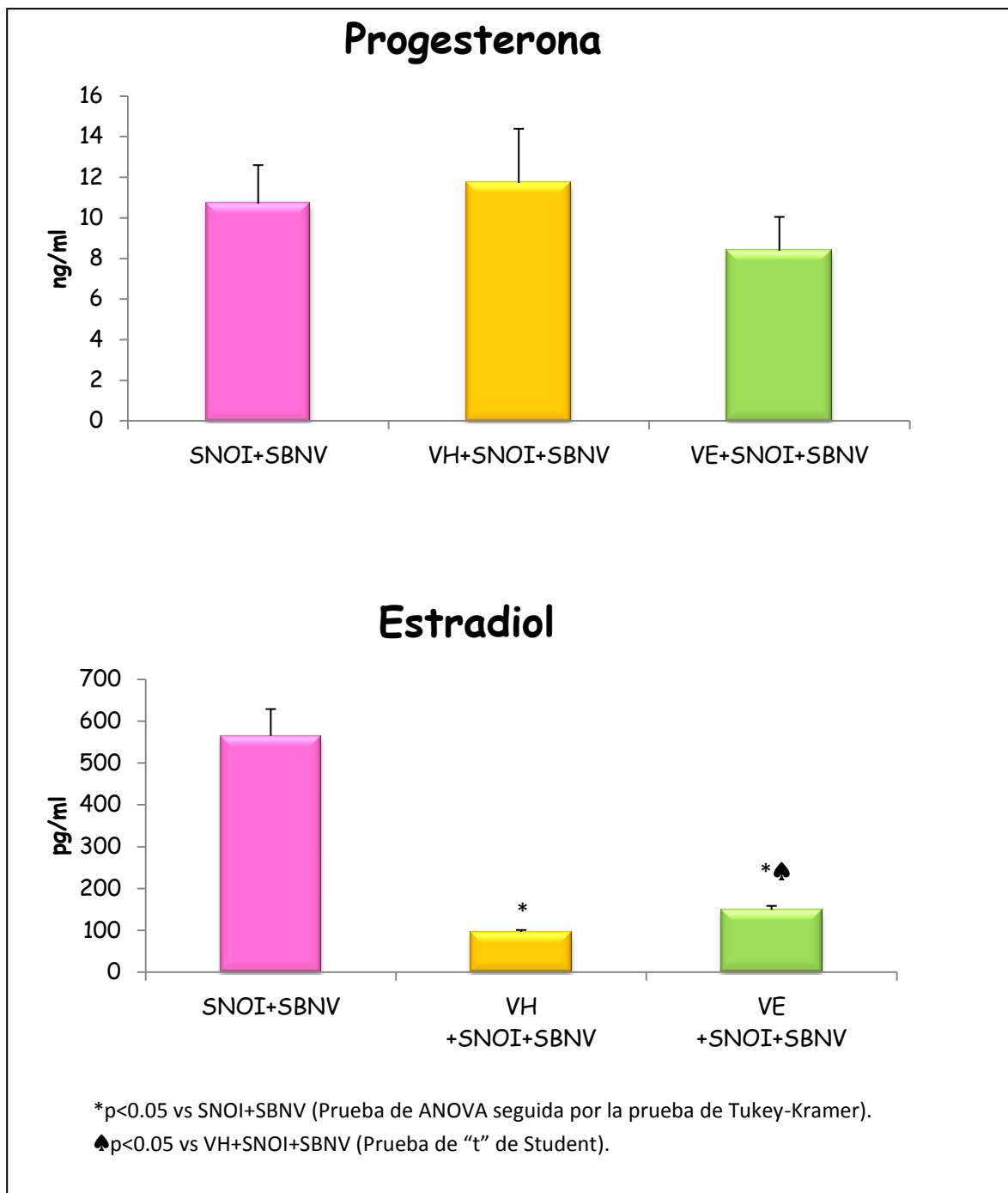
La sección uni o bilateral del NOS seguida de la vagotomía bilateral, disminuyó la concentración sérica de progesterona cuando se compara con un TA (SNOI+SBNV 10.7 ± 1.9 ; SNOD+SBNV 8.6 ± 2.2 ; SBNO+SBNV 13.5 ± 2.8 vs TA 21.9 ± 3.5 ; $p < 0.05$), mientras que incrementó la de estradiol (SNOI+SBNV 565.1 ± 63.8 ; SNOD+SBNV 753 ± 84.1 ; SBNO+SBNV 228 ± 29.2 vs TA 118.4 ± 13.2 ; $p < 0.05$).

En los animales tratados con VE y sometidos a la sección derecha del NOS más la sección bilateral del vago se encontró disminución en la concentración sérica de progesterona, en comparación con los animales tratados con VH. No se encontraron diferencias significativas en la concentración sérica de progesterona en el grupo de animales tratados con VE y sometidos a la sección del izquierda o bilateral del NOS más la sección bilateral del vago en comparación con su grupo testigo (Gráficas 6, 7 y 8).

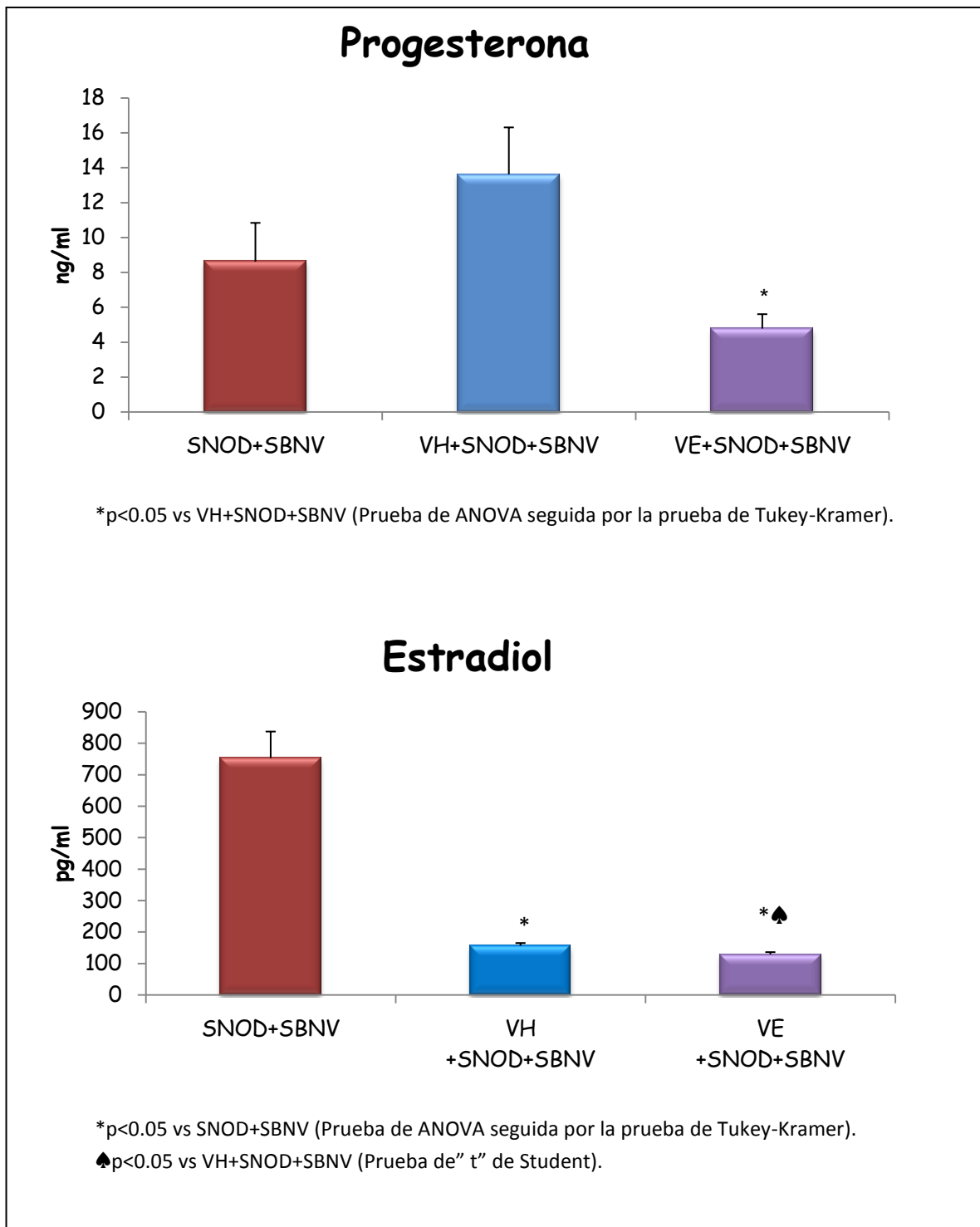
En los animales tratados con VH o VE y sometidos a la sección nervio ovárico superior izquierdo más la sección bilateral del nervio vago, la concentración sérica de estradiol fue menor respecto al grupo SNOI+SBNV. En el grupo de animales al que se les administró VE y sometidos a las sección izquierda del NOS más la sección bilateral del vago, la concentración sérica de estradiol fue mayor en comparación con el grupo con VH y sometido a la misma operación (Gráfica 6).

En el grupo de animales tratados con VH la sección derecha del NOS más la sección bilateral del vago, resultó en menor concentración sérica de estradiol en comparación con su grupo testigo. En los animales tratados con VE y sometidos a la sección derecha del NOS más la vagotomía, se encontró disminución en la concentración sérica de estradiol con respecto a los dos grupos de comparación (Gráfica 7).

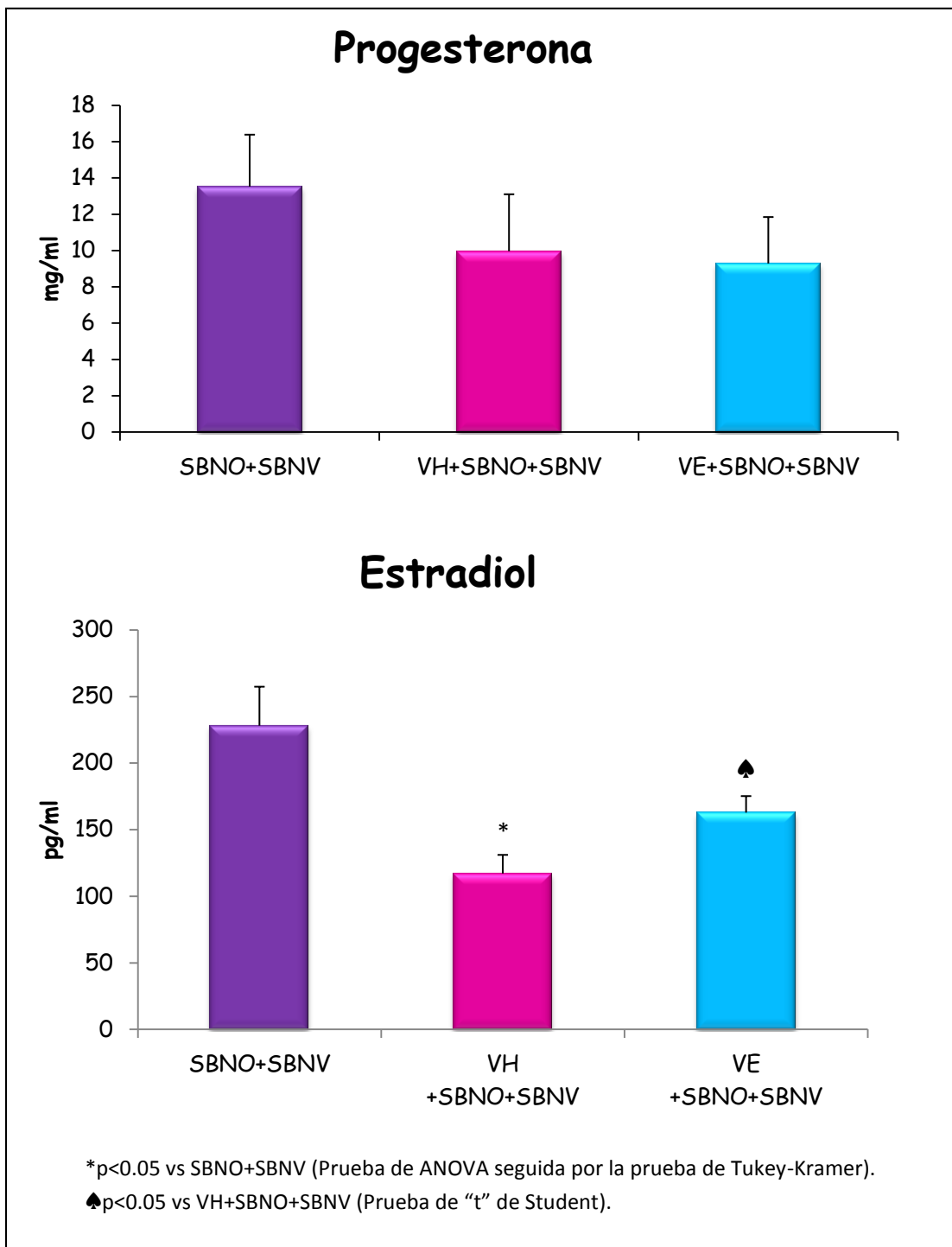
La concentración sérica de estradiol fue menor en el grupo de animales tratados con VH y sometidos a la sección bilateral del NOS y del vago, en comparación con su grupo testigo. En el grupo de animales con VE y sometido a la sección bilateral del NOS y del vago, hubo aumento en la concentración sérica de estradiol en comparación con el grupo con VH y sometido a la misma operación (Gráfica 8).



Gráfica 6. Media \pm e.e.m de la concentración sérica de progesterona y estradiol de animales sin tratamiento o inyectados con vehículo (VH) o valerato de estradiol (VE) a los 10 días de edad y sometidas a los 24 días de edad a la sección del nervio ovárico izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o bilateral (SBNO) más la sección bilateral del nervio vago (SBNV). Todos los animales fueron sacrificados a los 90 días de edad.



Gráfica 7. Media \pm e.e.m de la concentración sérica de progesterona y estradiol de animales sin tratamiento o inyectados con vehículo (VH) o valerato de estradiol (VE) a los 10 días de edad y sometidas a los 24 días de edad a la sección del nervio ovárico izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o bilateral (SBNO) más la sección bilateral del nervio vago (SBNV). Todos los animales fueron sacrificados a los 90 días de edad.



Gráfica 8. Media \pm e.e.m de la concentración sérica de progesterona y estradiol de animales sin tratamiento o inyectados con vehículo (VH) o valerato de estradiol (VE) a los 10 días de edad y sometidas a los 24 días de edad a la sección del nervio ovárico izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o bilateral (SBNO) más la sección bilateral del nervio vago (SBNV). Todos los animales fueron sacrificados a los 90 días de edad.

Histología ovárica

Histología de ovarios de animales con SOPQ los cuales fueron sometidos a la sección del NOS-I (figura 9) o sección del NOS-D (figura 10) seguida de la sección bilateral del nervio vago. Se puede observar en los ovarios con sección del NOS-I, folículos en varias etapas de desarrollo, cuerpos lúteos (reflejo de ovulación) y la presencia de quistes foliculares. En contraste en animales con SON-D seguida de la sección bilateral del nervio vago, se observan más quistes foliculares y menos folículos

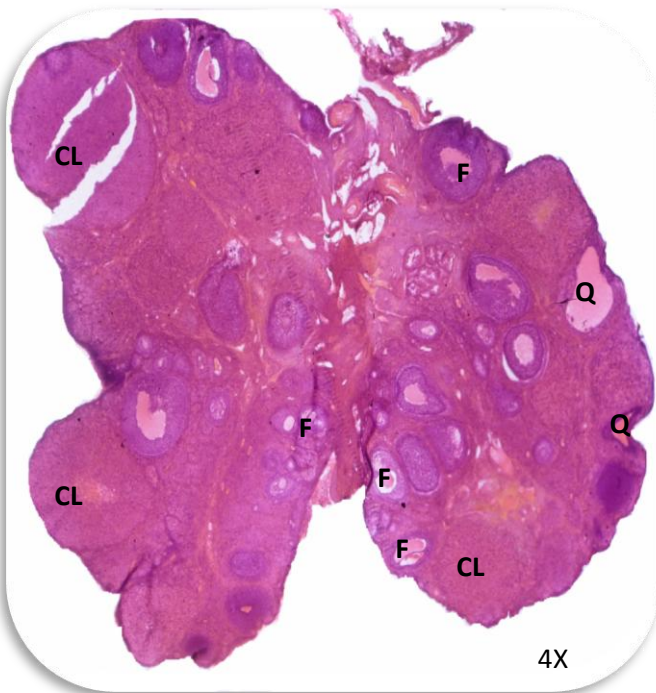


Figura 9. Micrografía de un ovario de rata tratado con VE y sometido a la SNOI+SBNV, en la que se observan cuerpos lúteos (CL), quistes foliculares (Q), folículos (F).

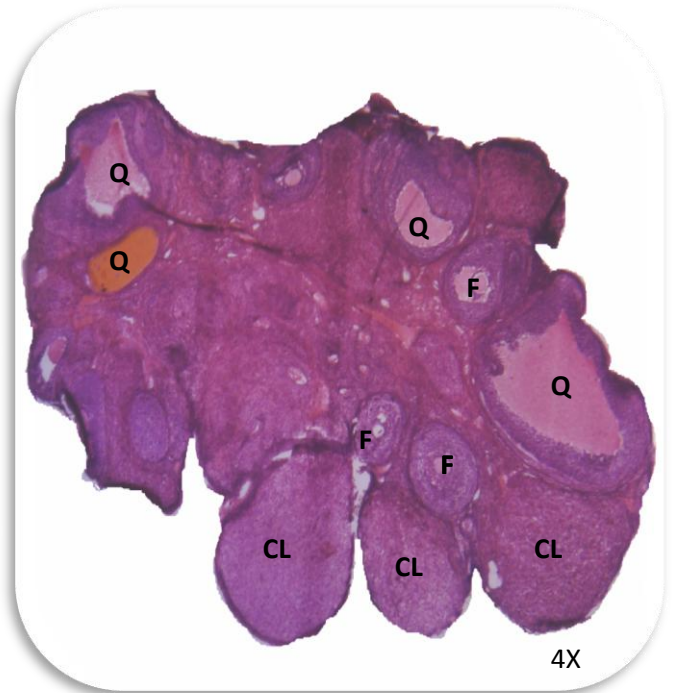


Figura 10. Micrografía de un ovario de rata, en la que se observan numerosos quistes foliculares (Q), cuerpos lúteos (CL) y folículos (F).

Resumen de Resultados

	E.A.V	TAO	O.L		P.C	P.O.I	P.O.D	P.U	P4	E2
			O.I	O.D						
SNOI+SBNV vs VH+SNOI+SBNV	=	=	=	=	=	=	=	=	=	↓
SNOD+SBNV vs VH+SNOD+SBNV	=	=	=	=	=	=	↓	=	=	↓
SBNOS+SBNV vs VH+SBNO+SBNV	A	=	=	=	=	=	=	=	=	↓

Tabla 6. VH, vehículo; VE, valerato de estradiol; SNOI sección nervio ovárico izquierdo; SNOD, sección nervio ovárico derecho; SBNO, sección bilateral del nervio vago; SBNV, sección bilateral del nervio vago; E.A.V, edad de apertura vaginal; TAO, tasa de animales Ovulantes; O.L, ovocitos liberados; O.I, ovario izquierdo; O.D, ovario derecho; P.C, peso corporal; P.O.I, peso del ovario izquierdo; P.O.D, peso ovario derecho; P.U, peso del útero; E2, estradiol; P4, progesterona; R, retraso; A, adelanto; ↓, disminución; ↑, Aumento; = no hay diferencias.

Cuadro de resumen

	SNOI+SBNV		SNOD+SBNV		SBNO+SBNV	
	S/P	C/P	S/P	C/P	S/P	C/P
EAV	=	A	=	A	A	A
TAO	=	↓	=	=	=	=
Ovocito liberados	=	=	=	=	=	↓
Concentración de Progesterona	=	=	↓	↓	=	=
Concentración de Estradiol	↓	↑	↓	↓	↓	↓

Tabla 7. En esta tabla se resumen los efectos de la sección uni o bilateral del NOS seguida de la sección bilateral del nervio vago, en animales sin la patología (**S/P**) y animales con la patología (**C/P**); sobre la edad de apertura vaginal (**EAV**), número de ovocitos liberados; Tasas de animales ovulantes (**TAO**), concentración de progesterona y estradiol. La flecha (↑) indica aumento en los parámetros evaluados, el signo (=) indica que no se presentaron cambios significativos y la letra (**A**) indica adelanto en el parámetro evaluado.

En un animal sin la patología, la sección del NOS-izquierdo modula de manera estimulante la secreción de estradiol, siempre y cuando haya sido privado de ambos nervios vago. Este efecto se invierte en el animal con SOPQ.

La regulación que ejerce el NOS-derecho en la esteroidogénesis ovárica no se ve modificada por la patología. Este comportamiento se mantiene si se elimina de manera bilateral el NOS y el vago.

Análisis de los efectos de la denervación simpática y parasimpática

La regulación que ejerce el NOS y el nervio vago en el proceso ovulatorio es diferente, donde la información simpática aportada por el NOS la regula de manera estimuladora (Chávez y col., 1991; Morales y col., 1993), mientras que la información aportada por el nervio vago no parece ser indispensable para que se dé la ovulación (Chávez y col., 1986; Morales y col., 2004).

En el presente estudio se observó que con la sección unilateral del NOS acompañada de la sección bilateral del nervio vago, el 90% de los animales liberó un número de ovocitos similar al grupo testigo, esta respuesta se repite aun cuando se les administra VH previó a la cirugía. Estos resultados nos indican que para que se produzca normalmente la ovulación se requiere de la presencia de por lo menos uno de los nervios ováricos, idea que se apoya por el hecho de que con la sección bilateral del NOS y del Vago, la tasa ovulatoria disminuye hasta en un 50%.

Estudios previos han mostrado que el papel que juega el NOS en la regulación de la concentración de hormonas esteroides, depende del estado endocrino en que se encuentre el animal, y de la integridad de al menos uno de los nervios. La sección bilateral del NOS realizada en la rata neonata o peripuberal, no modifica la concentración sérica de progesterona a la pubertad o en la etapa adulta (Forneris y Aguado 2000; Vieyra 2007), mientras que si la denervación se realiza en la rata adulta resulta en disminución de la concentración de la hormona (Aguado y Ojeda 1984). Con la sección unilateral del NOS se obtiene una respuesta asimétrica, ya que la sección del NOS-derecho no la modifica, mientras que con el NOS-izquierdo puede disminuir o aumentar la concentración de progesterona en función del tiempo de evolución (Morán y col., 2000; Vieyra 2007; Ramírez 2011).

La información que transcurre por el nervio vago también participa en la regulación de la secreción de progesterona. La vagotomía uni o bilateral resulta en una menor concentración de progesterona (Ojeda y Aguado del 1983; Morales y col., 2004; Hernández 2009), ésta misma respuesta se presenta en la rata preñada (Lawrence y col., 1978). Resultados que apuntan a que el nervio vago modula de manera estimulante la secreción de progesterona, papel que se invierte si al animal vagotomizado se le extirpa el ovario contralateral al vago seccionado (Morales y col., 2007).

En el presente estudio la sección uni o bilateral del NOS más la sección bilateral del nervio vago, disminuye casi un 50%, la concentración plasmática de progesterona cuando se compara con un animal testigo absoluto. Como señalamos previamente que el NOS y el vago regulan de manera estimulante la secreción de progesterona, podemos sugerir que la caída tan drástica en la concentración de la hormona que se observó en nuestros animales, se debe a la falta de ambos tipos de innervación.

A principios de la década de los 80's se postuló que el NOS modulaba de manera estimulante la secreción de estradiol, ya que en la rata adulta la sección bilateral del NOS disminuye la concentración plasmática de la hormona (Aguado y Ojeda 1984). Sin embargo, más recientemente se mostró que este tipo de denervación en la rata neonata participa de manera inhibitoria (Forneris y Aguado 2002). Esta discrepancia se podría atribuir a la edad en la cual se practicó la cirugía. Por otra parte, también se ha observado que los efectos dependen del nervio seccionado y del período de evolución. Así, con la sección del NOS-izquierdo incrementa la concentración de estradiol, mientras que con la sección del NOS-derecho puede observarse aumento o disminución (Vieyra 2007; Ramírez 2011).

En la rata púber, la información aportada por el nervio vago participa en la modulación de la secreción de estradiol de manera estimulante, ya que con la sección uni o bilateral del vago disminuye la concentración de la hormona, efecto que se mantiene si además se extirpa el ovario contralateral a la denervación (Morales y col., 2004, 2007). En la rata adulta, la modulación que ejerce el vago es de tipo inhibitorio (Hernández 2009). De manera general, en la rata adulta el NOS y el vago modulan la secreción de estradiol de manera inhibitoria. En el presente estudio la sección uni o bilateral del nervio ovárico seguida de la sección bilateral del nervio vago, aumenta la concentración plasmática de estradiol. Con estos resultados apoyamos la idea, de que el NOS y el nervio vago, están participando de manera inhibitoria en la regulación del estradiol.

En la rata la sección uni o bilateral del nervio vago disminuye la masa ovárica (Ojeda y col., 1983; Burden y col., 1981, 1986; Morales y col., 2004; Hernández 2009). La sección NOS, puede aumentar o disminuir el peso del ovario (Chávez y col., 1991; Morales y col., 1993). En el presente trabajo, el grupo de animales con sección unilateral o bilateral del NOS seguido de la sección bilateral del nervio vago presentó aumento en el peso de la masa ovárica, en comparación con una animal testigo absoluto. Aunque son varios componentes que determinan el peso del ovario, tales como el estroma, el compartimiento folicular, el luteal y la cantidad de agua que presenta el órgano, no se puede atribuir el aumento o disminución del tejido a una sola variable. Dado que la ovulación no se modificó partimos del hecho que no hay cambios en el número de cuerpos lúteos, probablemente este incremento podría asociarse a una alteración en el número de folículos en crecimiento, idea que se ve apoyada por el hecho de que en la rata adulta la vagotomía bilateral induce incremento en la población de folículos con un diámetro promedio de $500-999 \times 10^5 \mu\text{m}^3$ (Cruz y col., 1986).

El útero presenta receptores a estrógenos (Yen y col., 2001; Brauer y col., 2008) y progesterona (Brauer y col., 2008). El peso del órgano depende no sólo de la concentración de las hormonas esteroides, sino también de la sensibilidad del órgano a las hormonas (Bauer y col., 2008). La sección bilateral del nervio vago, aumenta el peso del útero que se acompaña por el incremento de estradiol y disminución en la progesterona (Hernández 2009). En el presente estudio los animales sometidos a la sección del NOS-Izquierdo acompañada de la sección bilateral del vago, disminuyó el peso del útero, aún cuando la concentración de estrógenos y progesterona fue alta. Esta respuesta podría ser debida a que la denervación provocó disminución en la sensibilidad del útero a los estrógenos y progesterona.

Análisis de los efectos de la denervación en la rata con SOPQ

En los roedores la ruptura de la membrana vaginal es un indicador para determinar el inicio de la pubertad (Ojeda y col., 1983). Se ha planteado que la canalización de la vagina se produce en respuesta al aumento en la concentración de estradiol (Ojeda y col., 1983) o testosterona (Becu-Lacau Villalobos y Mengido1999), que a nivel de vagina inducen hinchazón en la membrana vaginal provocando su canalización. Cuando se administra una dosis de valerato de estradiol a ratas de 14 días de edad, resulta en un adelanto del inicio de la pubertad en un lapso de cuatro días. Estos resultados han sido interpretados como incremento de la sensibilidad de la vagina a los estrógenos circulantes (Rosa-E-Silva y col., 2003). Cuando inyectamos el valerato de estradiol a los 10 días de edad, el inicio de la pubertad fue nueve días antes de lo que se registró en los animales inyectados con el vehículo, y se acompañó por una mayor concentración plasmática de estradiol. Estos resultados apoyan la idea de que el fármaco aumenta la sensibilidad de la vagina a los estrógenos.

Resultados previos de nuestro laboratorio han mostrado que la administración de vehículo en la etapa infantil no modifica el inicio de la pubertad (Hernández 2009; Espinoza 2010; Linares 2011). En el presente estudio se observó que al comparar con un grupo de animales intactos, las hembras inyectadas con aceite de maíz y sometidas a una operación simulada presentaron adelanto en la edad de apertura vaginal, que se acompañó por el incremento en la concentración de estradiol. Este adelanto, podría ser debido a la mayor concentración de estradiol que tornó a la vagina más sensible o bien, ser debido al estrés inducido por la operación simulada. No sabemos el mecanismo neuroendocrino por el cual el estrés puede modificar el inicio de la pubertad, lo que sí se sabe, es que el sólo hecho de realizar una laparotomía conduce a una disminución en la concentración de estradiol desde los primeros minutos y que se mantiene hasta por 12 días post-laparotomía (Morán y col.,

2000, Vieyra 2011), mientras que la de testosterona incrementa (Vieyra 2011). Con estas evidencias es claro que la canalización de la vagina no depende sólo de la concentración de hormonas esteroides. Al momento, no contamos con otra explicación ya que en el resto de la bibliografía no se analiza el efecto de la laparotomía en el inicio de la pubertad (Ojeda y col., 1983; Rosa-E-Silva y col., 2003).

Es controversial la información disponible sobre la participación del NOS en los mecanismos que conllevan a la canalización de la vagina. Hay quienes plantean que en la rata infantil o juvenil la sección bilateral o unilateral del NOS no modifica el inicio de la pubertad (Aguado y Ojeda 1984; Morales y col., 1993), mientras que si se realiza en la etapa neonata resulta en un retraso (Forneris y Aguado 2002). Mientras que la información que transcurre por el nervio vago modula de manera estimulante el inicio de la pubertad, ya que en la rata juvenil la sección uni o bilateral del vago resulta en un retraso de la edad de apertura vaginal (Ojeda y Aguado 1983; Morales y col., 2004; Hernández 2009). En el presente estudio se observó que cuando se combina la sección unilateral del NOS con la vagotomía bilateral, el NOS-izquierdo modula de manera estimulante el inicio de la pubertad, mientras que parece no participar el NOS-derecho. Esta respuesta no se ve modificada si previo a la denervación se administra aceite de maíz.

En nuestro modelo experimental, el grupo de animales tratados con VH y sometidos a la sección bilateral del NOS y del vago, adelantó la pubertad en comparación con el grupo denervado sin la administración del VH. Esto nos permite indicar que la información vagal modula de manera inhibitoria la canalización de la vagina, ya que con la sola vagotomía bilateral se retrasa este evento.

En el SOPQ se ha atribuido la falta de ovulación a una mayor actividad de las fibras simpáticas que arriban al ovario por el NOS, de manera que cuando a ambos ovarios se les priva de esta fuente nerviosa resulta en ovulación normal (Barria y col., 1993; Rosa-E-Silva y col., 2003). Cuando se realiza la denervación unilateral del NOS, el 84% de los ovarios inervados ovula y sólo lo hace el 26% de los denervados, aún cuando éstos presentan una

menor concentración de NA (Morales y col., 2010). Estudios realizados en nuestro laboratorio, muestran que los animales sometidos a la sección del NOS derecho mas la sección ipsi o contralesional del vago presentaron una menor respuesta ovulatoria por parte del ovario derecho, mientras que con la sección izquierda del NOS mas la sección ipsi o contralesional del nervio vago, la ovulación no se modificó. Estos resultados nos llevan a pensar que la ovulación es modulada por la información que viaja por el NOS de una manera asimétrica, y al parecer el NOS derecho está más comprometido con el proceso que culmina con la ovulación (Linares 2011).

En el presente estudio se observó que con la administración del VE sólo el 20% de los animales ovuló una cuota muy baja de ovocitos. Si a estos animales, se les practica la sección unilateral o bilateral del NOS más la vagotomía bilateral incrementa la tasa ovulatoria, llegando incluso al 90% cuando se cortó el NOS-derecho, sin embargo, la cuota ovulatoria es más baja respecto al grupo con sección del NOS-izquierdo. Esto nos permite apoyar la idea de que en la rata con síndrome de ovario poliquístico, la información que llega al ovario por el NOS-derecho regula de manera inhibitoria la tasa ovulatoria y estimuladora la ruptura del folículo para la expulsión del ovocito.

La inducción del SOPQ en la rata adulta y sometida a la eliminación del aporte simpático por la sección bilateral del NOS resulta en el incremento de la concentración de progesterona, resultados que llevaron a los autores a sugerir que el NOS regula de manera inhibitoria la secreción de la hormona (Barria y col., 1993). Este efecto inhibitorio podría ser debido a la información que transcurre por el NOS-izquierdo, ya que su eliminación resulta en un incremento de la secreción de progesterona, mientras que el NOS-derecho la modula de forma estimulante (Morales y col., 2010). Mientras que la secreción de estradiol es modulada por el NOS de manera estimulante, ya que en ratas juveniles o adultas la sección uni o bilateral del NOS disminuye la concentración de esta hormona (Barria y col., 1993; Rosa-E-Silva y col., 2003; Morales y col., 2010).

Nuestro grupo de trabajo ha aportado algunas evidencias sobre el papel del nervio vago en el desarrollo del SOPQ. En donde se siguiere que el vago está participando de manera estimulante en la secreción de progesterona, efecto que es mediado principalmente por el vago derecho, ya su sección resulta en la caída de la concentración de la hormona. En tanto que, la secreción de estradiol es regulada de manera inhibitoria por el nervio vago izquierdo (Hernández 2009).

En animales con SOPQ la sección del NOS-derecho seguida de la sección bilateral del nervio vago, la concentración de progesterona y estradiol fue menor en comparación con su grupo control. Resultados que nos permiten apoyar la idea de que en la rata juvenil con SOPQ, el NOS-derecho y el nervio vago están participando de manera estimulante en la secreción de progesterona. De igual manera en nuestro modelo, la secreción de estradiol es regulada de manera estimulante, probablemente por la información que transporta el NOS-derecho, ya que cuando seccionamos este nervio y realizamos la vagotomía bilateral se produce una menor concentración de estradiol. Esta respuesta podría ser explicada por el hecho de que el NOS-derecho contiene un mayor número de fibras que el izquierdo (Klein y Burden 1988).

En los animales con SOPQ y sometidos a la sección bilateral del nervio ovárico superior y del vago, aumento el peso corporal en comparación con su grupo control, éste incremento puede ser atribuido a la acción de los estrógenos circulantes que actúan sobre el tejido adiposo (Basilio y col., 2000).

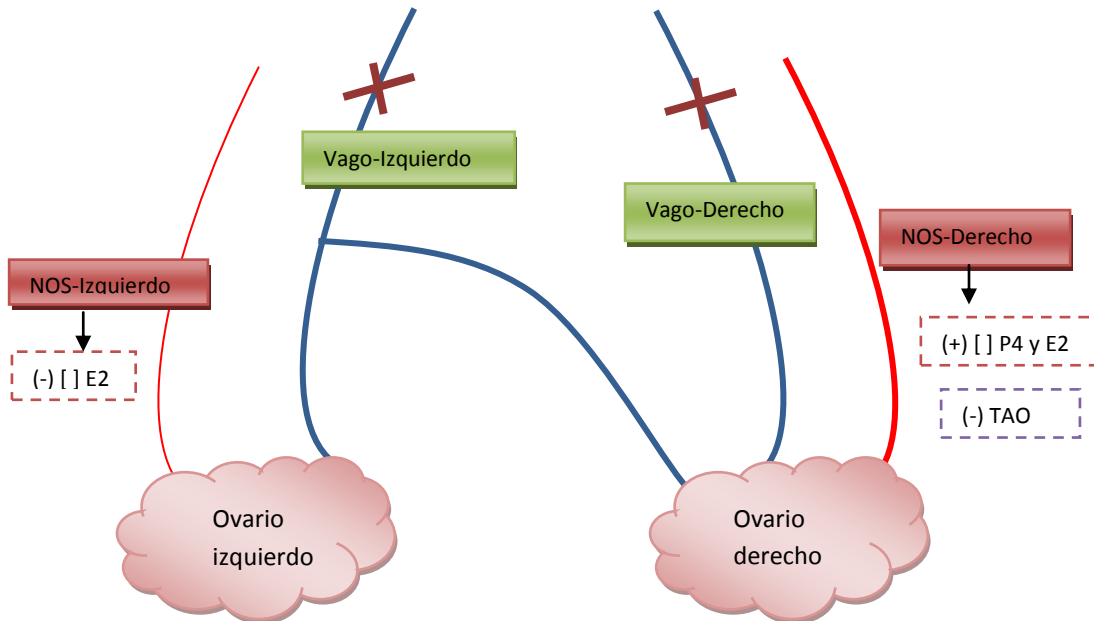
En respuesta a la administración del VE, se produce un menor peso de los ovarios, que representa aproximadamente el 50% de la masa ovárica de un animal testigo (Farookhi y col., 1985; Brawer y col., 1986). En el presente estudio se encontró que en los animales con el síndrome de ovario poliquístico, la sección bilateral del nervio ovárico superior seguida de la sección del vago resultó en una disminución en el peso de los ovarios. Esta disminución podría deberse a la acción del valerato de estradiol que está actuando sobre el crecimiento y la población folicular, se ha reportado que la acción del valerato después de 8 semanas de

exposición, los ovarios se tornan más pequeños y la población de folículos secundarios disminuye y se reduce el número y tamaño de folículos sanos (Brawer y col., 1986).

La disminución en el peso del útero en respuesta a la administración del VE no se puede atribuir a cambios en la concentración de estradiol, sin embargo puede ser el resultado de un cambio en el número de receptores a estradiol o bien en la afinidad de éstos (Bauer y col., 2008).

Los resultados obtenidos en el presente estudio, muestran que en el modelo del animal con SOPQ la información simpática aportada por el NOS y la información parasimpática aportada por el nervio vago, es estimulante en la persistencia del síndrome, donde la información que transcurre por el NOS-derecho pareciera estar más comprometido en las funciones ováricas que la del NOS-izquierdo.

Efecto de la sección unilateral o bilateral del NOS más la sección bilateral del nervio vago



	NOS-I + NV	NOSD+ NV
EAV	=	=
TAO	=	Inhibitoria
Ovocito liberados	=	=
Concentración de Progesterona	Estimulante	Estimulante
Concentración de Estradiol	Inhibitoria	

Con los resultados del presente estudio podemos decir que el NOS-D modula de manera estimulante la secreción de estradiol y progesterona, mientras el NOS-I modula de manera estimulante la secreción de progesterona y de manera inhibitoria la de estradiol. El NOS-D está más comprometido en los procesos que conllevan a la ovulación.

Conclusiones

- ❖ En el modelo del animal con SOPQ la información simpática aportada por el NOS y la información parasimpática aportada por el nervio vago, es estimulante en la persistencia del síndrome.
- ❖ En el modelo del animal con VE+SNOD+SBNV, el NOS-derecho tiene una mayor participación en el proceso de la ovulación.
- ❖ En el modelo del animal con VE+SNOI+SBNV, la información de estas dos vías están participando de manera estimulante en la secreción de progesterona y de manera inhibitoria en la secreción de estradiol.
- ❖ En animales con VE+SNOD+SBNV, estas dos vías están participando de manera estimulante en la secreción de progesterona y estradiol.
- ❖ NOS-Izquierdo regula de manera estimulante la secreción de progesterona en los animales con VE+SBNO+SBNV, ya que las concentraciones son semejantes al grupo con VE+SNOI+SBNV.
- ❖ NOS-derecho modula de manera estimulatoria la secreción de estradiol en los animales con VE+SBNO+SBNV, ya que las concentraciones son semejantes al grupo con VE+SNOD+SBNV.

REFERENCIAS

- * Andrews W y Ojeda S. (1981). A detailed analysis of the serum luteinizing hormone secretory profile in conscious, free-moving female rats during the time of puberty. **Endocrinology**. 109:2032-2039.
- * Aguado L y Ojeda S. (1984). Ovarian adrenergic nerves play a role in maintaining preovulatory steroid secretion. **Endocrinology**. 114: 1944-1946.
- * Arce V, Catalina P, Mallo F. (2006). Endocrinología. Editorial **Universidad de Santiago de Compostela**. Pp 96.
- * Balen A. (2001). Ovario poliquístico. En: Grases P. y col., Patología ginecológica: bases para el diagnóstico morfológico. **Masson**. Barcelona. Pp 125.
- * Barria A, Leyton V, Ojeda S, Lara H. (1993). Ovarian Steroidal Response to Gonadotropins and, β -Adrenergic Stimulation Is Enhanced in Polycystic Ovary Syndrome: Role of Sympathetic Innervation. **Endocrinology**. 133:2696-2703.
- * Becú-Villalobos D, Lacau-Mengido M. (1990). Control hormonal del desarrollo puberal en la rata hembra. **Acta physiology pharmacology latinoamerican**. Volumen 40.
- * Berne R, Levy M, Harcourt B. (1999). Fisiología, 2da edición, **Elsevier**. España. Pp 697-701.
- * Basilio M, Monereo S, Álvarez J. (2000). Obesidad: la epidemia del siglo XXI. 2da edición, editorial **Díaz de santos**. Madrid, España. Pp 50-55.
- * Botella J. (1995). El ovario: fisiología y patología. Editorial **Díaz de Santos** Madrid, España. Pp 255-578.

- * Brauer M. (2008). Cellular and molecular mechanisms underlying plasticity in uterine sympathetic nerves. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**. 140:1–16.
- * Brawer J, Munoz M, Farookhi R. (1986). Development of the polycystic ovarian condition. (PCO) in the estradiol valerate-treated rat. **Biology of Reproduction**. 35: 647-655.
- * Brawer J, Naftolin F, Martin J, Sonnenschein C. (1978). Effects of a single injection of estradiol valerate on the hypothalamic arcuate nucleus and on reproductive function in the female rat. **Endocrinology**. 107:274-279.
- * Burden H, Lawrence E. (1977). The effect of denervation on compensatory ovarian hypertrophy. **Neuroendocrinology**. 23:368–378.
- * Burden H. (1978). Ovarian innervations. En: Jones RE. (ed) The vertebrate ovary: comparative biology and evolution. **Plenum Press New York** 615-638.
- * Burden H, Lawrence E, Louis T, Hodson C. (1981). Effects of abdominal vagotomy on the estrous cycle of the rat and the induction of pseudopregnancy. **Neuroendocrinology**. 33:218–222.
- * Burden H, Leonard M, Smith CO, Lawrence E. (1983). The sensory innervation of the ovary: a horseradish peroxidase study in the rat. **Anatomical Record**. 207:623–627.
- * Burden H. (1985). The adrenergic innervation of mammalian ovaries. En: Catecholamines as Hormone Regulator. Edit por: Ben Jonathan N, Barh JM, Weiner RI. **New York: Raven Press**. 261-278.

- * Cruz M, Chávez R, Domínguez R. (1986). Ovulation, follicular growth and ovarian reactivity to exogenous gonadotropins in adult rats with unilateral or bilateral section of the vagi nerves. **La Revista de Investigación Clínica.** 38:167-171.
- * Chávez R, Carrizosa L, Domínguez R. (1991). Effects of superior ovarian nerve on spontaneous and induced ovulation in adult rats. **Medical Science Research.** 19:41-42.
- * Chávez R, Cruz M, Domínguez R. (1986). Differences in the ovulation rate of the right or left ovary in unilaterally ovariectomized rats: effect of ipsi-and contralateral vagus nerves on the remaining ovary. **Journal endocrinology.** 113:397-401.
- * Chummy S. (2003). Anatomía de last: regional y aplicada. Editorial **Paidotribo.** **Barcelona, España.** Pp 494-495.
- * Curtis M, Clive P, Morley S. (1998). Farmacología integrada, editorial **Harcourt.** Pp 288.
- * Dissen G, Ojeda S. (1999). Ovarian Innervation. En: Knobil E, Neill J. (Eds.) **Encyclopedia of reproduction.** Academic Press. USA. 3:583-589. *Endocrinology.* 133: 2690-2695.
- * Dohler K. D. y Wuttke W. (1974). Serum LH, FSH, prolactin and progesterone from birth to puberty in female and male rats. **Endocrinology.** 94:1003-1008.
- * Dorner G. (1980). Sexual differentiation of the brain. **Vitamins and hormones.** 38:325:334.

- * Espinoza A. (2010). Efecto de la ovariectomía unilateral realizada en la rata juvenil, sobre la concentración de hormonas esteroides y la respuesta compensadora del ovario en la rata con síndrome de ovario poliquístico. Tesis de licenciatura. **UNAM, FES-Zaragoza**.
- * Farookhi R, Hemmings R, Brawer R. (1985). Unilateral ovariectomy restores ovulatory cyclicity in rats with a polycystic ovarian condition. **Biology of reproduction**. 32:530-40.
- * Forneris M y Aguado L. (2002). Neonatal superior ovarian nerve transection disturbs the cyclic activity of the female rats. **Journal of steroid biochemistry and molecular biology** 82:75–82.
- * Gerendai I, Tóth E, Boldogkői Z, Medveczky I, Halász B. (2000). CNS structures presumably involved in vagal control of ovarian function. **Journal of the Autonomic Nervous System**. 80:40–45.
- * González-Merlo J, González J, González E. (2003). Ginecología. 8va edición. Editorial **MASSON S.A.** Barcelona, España. Pp 57-60, 85.
- * Grases P, Tresserra F, Devesa R. (2003). Patología ginecológica: bases para el diagnóstico morfológico. Editorial **MASSON S.A.** Barcelona. (España). Pp 125.
- * Hage, A. J., Groen-Klevant, A. C, Welschen, R. (1978). Follicle growth in the ammature rat ovary. **Acta endocrinología**. 88:375-382.
- * Hemmings R, Farookhi R, Brawer J. (1983). Pituitary and Ovarian Responses to Luteinizing Hormone Releasing Hormone in a Rat with Polycystic Ovaries. **Biology of Reproduction**. 29:239-248.

- * Hernández D. (2009). Efecto de la sección uni o bilateral del nervio vago sobre la persistencia del síndrome del ovario poliquístico. Tesis de licenciatura. **UNAM, FES-Zaragoza.**
- * Herrera E, Pavia C, Yturriaga R. (1994). La pubertad. Actualizaciones en endocrinología 1. Ediciones **Díaz de santos S.A.** Madrid, España. Pp 1.
- * Hill R. (1962). Paradoxical effects of ovarian secretions. In The Ovary. vol 2, Ed.S. Zuckerman. **Academic Press**, New York. Pp 231-261.
- * Hoar W. (1978). Fisiología general y comparada. Edit **Omega.** Barcelona.
- * Kimura F y Kawakami M. (1981). Two daily surges of prolactin secretion preserved after ovariectomy in the immature rat. **Endocrinology.** 28:647-652.
- * Klein C, Burden H. (1988). Anatomical localization of afferent and postganglionic sympathetic neurons innervating the ovary. **Neuroscience letters.** 85:217-222.
- * Lamprecht S, Kohen F, Ausher J, Zor U, Lindner H. (1976). Hormonal stimulation of oestradiol-17 β release from the rat ovary during early postnatal development. **Journal endocrinology.** 68:343-344.
- * Lara H, McDonald J, Ojeda S. (1990). Involvement of nerve growth factor in female sexual development. **Endocrinology.** 126:364-375.
- * Lara H, Ferruz J, Luza S, Bustamante D, Borges Y, Ojeda S. (1993). Activation of ovarian sympathetic nerves in polycystic ovary syndrome. **Endocrinology.** 133:2690-2695.

- * Lara H, Dissen G, Leyton V, Paredes A, Fuenzalida H, Fiedler J, Ojeda S. (2000). An increased intraovarian synthesis of nerve growth factor and its low affinity receptor is a principal component of steroid-induced polycystic ovary in the rat. **Endocrinology**. 133:2690-2695.
- * Lawrence E, Burden H. (1980). The origin of the extrinsic adrenergic innervations to the rat ovary. **Anatomical Record**. 196:51–59.
- * Lawrence E, Burden H. Louis T. (1987). Effect of abdominal vagotomy of the pregnant rat on LH and progesterone concentrations and fetal resorption. **The Journal of the society Reproduction Fertility**. 53:131-136.
- * Linares Culebro R. (2011). Interacción entre los nervios ovárico superior y vago en la regulación de la ovulación y la secreción hormonal. La rata con síndrome de ovario poliquistico como modelo de estudio. Tesis de Maestría. **UNAM, FES-ZARAGOZA**.
- * Lobo. (2000). Ovario poliquistico. En: Patología ginecológica: bases para el diagnóstico morfológico. Editores: Grases P, Grases G, Tresserra F, Casas R, Devesa H. Editorial **Masson**. Barcelona. Pp 125.
- * Mackinnon P, Mattock J, Ter-Harr M. (1976). Serum gonadotrophin levels dering development in male, female and androgenized female rats and the effect of general disturbance on high luteinizing hormone levels. **Journal endocrinology**. 97: 361-371.
- * Meijs-Roelofs, H.M, Kramer P, Sander H. (1983). Changes in serum concentration of luteinizing hormone in the female rat approaching puberty. **Journal endocrinology**. 98:24-249.

- * Morales L, Chávez R, Ayala M, Domínguez R. (1998). Effects of unilateral or bilateral superior ovarian nerve section in prepubertal rats on the ovulatory response to gonadotrophin administration. **Journal endocrinology**. 158:213-219.
- * Morales L, Chávez R, Domínguez R. (1993). Participation of the superior ovarian nerve in the regulation of ovulation in the prepubertal rat: differential effects of unilateral and bilateral section of the nerve. **Medical science research**. 21:15–17.
- * Morales L., Betanzos R, Domínguez R. (2004). Unilateral or bilateral vagotomy performed on prepubertal rats at puberty onset of female rat deregulates ovarian function. **Archives of medical research**. 35:279–283.
- * Morales L, Ricardo B, Bolaños A, Chavira R, Domínguez R. (2007). Ipsilateral vagotomy to unilaterally ovariectomized pre-pubertal rats modifies compensatory ovarian responses. **Reproductive biology and endocrinology**. 5:24, 1-9.
- * Morales L, Linares R, Rosas G, Morán C, Chavira R, Cárdenas M, Domínguez R. (2010). Unilateral sectioning of the superior ovarian nerve of rats with polycystic ovarian syndrome restores ovulation in the innervated ovary. **Reproductive biology and endocrinology**. 8:99, 1-7.
- * Morán C, Morales L, Quiróz U, Domínguez R. (2000). Effects of unilateral or bilateral superior ovarian nerve section in infantile rats on follicular growth. **Journal of endocrinology**, 166:205–211.
- * Moore K, Persaud T. (2008). Embriología Clínica, 8va edición. Editorial **Elsevier Saunders**. Barcelona, España. Pp 26.
- * Moreno B, Monereo S, Álvarez J. (2000). Obesidad: la epidemia del siglo XXI, edit. **Díaz de santos**, 2da edición. Pp 50-55.

- * Norgren R, Smith G. (1988). Central distribution of subdiaphragmatic vagal branches in the rat. **The journal of comparative neurology.** 273:207-223.
- * Ojeda S, Andrews W, Advis J, White S. (1980). Recent advances in the endocrinology of puberty. **Endocrine reviews.** 1:228-257.
- * Ojeda S, White S, Aguado L, Advis J, Andersen J. (1983). Abdominal vagotomy delays the onset of puberty and inhibits ovarian function in the female rat. **Neuroendocrinology.** 36:261-267.
- * Ojeda S y Urbanski H. (1988). Puberty in the rat. En: The physiology of reproduction. Knobil E, Neill J. Editorial **Raven press.** Nueva York. Pp 1699-1737.
- * Peter H. (1970). Some aspects of early follicular development. En: Ovarian follicular Development and function. Midgley, A. R, Salder, W. A., Eds. (Raven Press, NY, 1970). Pp 1-3.
- * Pocock G. y Richards C. (2005). Fisiología Humana: La base de la Medicina. 2da edición. Editorial **MASSON.** Barcelona España. Pp 487-491.
- * Ramírez D. (2011). ¿La participación del nervio ovárico superior en la regulación de la ovulación y la esteroidogénesis depende del ciclo circádico? La rata adulta como modelo de estudio. Tesis de maestría. **UNAM, FES-Zaragoza.**
- * Rosa-E-Silva A, Guimaraes M, Padmanabhan V, Lara H. (2003). Prepuberal administration of valerate disrupts cyclicity and leads to cystic ovarian morphology during adult life in the rat: role of symphatetic innervation. **Endocrinology.** 144:4289-429.
- * Rosales A. (1998). Atresia folicular. En: Vázquez J. Biología de la reproducción. **Universidad Autónoma Metropolitana.** México. Pp 223-261.

- * Ross M, Kaye G. (2004). Y Pawlina Wojciech. Histología. 4ª ed. **Panamericana**. México. Pp 730-742.
- * Schulster A, Farookhi R, Brawer J. (1984). Polycystic ovarian condition in estradiol valerate-treated rats: spontaneous changes in characteristic endocrine features. **Biology of reproduction**. 31:587-593.
- * Shirwalkar H, Modi D, Maitra A. (2007). Exposure of adult rats to estradiol valerate induces ovarian cyst with early senescence of follicles. **Molecular and Cellular Endocrinology**. 272: 22-37.
- * Sánchez C. (1999). Fisiología del Ovario. En: Tresguerres J.A. (Ed). Fisiología Humana. 2ª edición. Editorial **McGraw-Hill Interamericana**. Madrid. Cap. 75. Pp 1020-1032.
- * Smith-White y Ojeda S. (1981). Changes in ovarian luteinizing (LH) and follicle stimulating hormone (FSH) receptor content and in gonadotropin-induced ornithine decarboxylate activity during prepubertal and pubertal development of the rat. **Endocrinology**. 109:152-161.
- * Stener-Victoryn E, Ploj K, Larsson B, Holmäng A. (2005). Rats with steroid-induced polycystic ovaries develop hypertension and increased sympathetic nervous system activity. **Reproductive Biology and endocrinology**. 3:44.
- * Urbanski H, Ojeda S. (1983). The juvenile-Peripubertal transition period in the female rat: establishment of a diurnal pattern of pulsatile luteinizing hormone secretion. **Endocrinology**. 117:644-649.
- * Van Voorhis B. (1999). Follicular steroidogenesis. En: Encyclopedia of Reproduction, Vol 2. **Academic Press**. Pp 389-395.

- * Vieyra E. (2007). Efecto agudo de la sección uni o bilateral del nervio ovárico superior sobre la concentración de hormonas esteroides. La rata prepúber como modelo de estudio. Tesis de licenciatura. **UNAM, FES-Zaragoza.**

- * Vieyra E. (2011). Un estudio de los efectos agudos y sub-agudos de la sección del nervio ovárico superior, en ratas prepúberes con ovariectomía unilateral, sobre el inicio de la pubertad y las funciones del ovario. Tesis de Maestría. **UNAM, FES-Zaragoza.**

- * Wuttke E, Honma K, Lamberts J, Honm K. (1980). The role of monoamines in female puberty. **Fed. Proc.** 39: 2378-2383.

- * Yeh J, Adashi Y. (2001). El ciclo ovárico. En: Yen S, Jaffe R. (Eds.) *Endocrinología de la reproducción: Fisiología, fisiopatología y manejo clínico.* 4ª edición. Editorial **Médica Panamericana.** Argentina. Capítulo 6. Pp 164-193.

- * Zhang X, Zhang L, Shuying H, Jianlin W, Sheng C. (2010). Neonatal superior ovarian nerve transection inhibits follicle development by enhancing follicular atresia and suppressing granulosa cell proliferation in rats. **Reproduction, Fertility and Development.** 22:1148–1158.