



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

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

**“RESPUESTA OVULATORIA A LA DENERVACIÓN VAGAL Y OVARIECTOMÍA
UNILATERAL A LAS 9:00 H EN LOS DÍAS DEL DIESTRO DEL CICLO ESTRAL
DE LA RATA”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

B I Ó L O G A

P R E S E N T A:

ELIZABETH BONILLA RAMÍREZ

DIRECTORA DE TESIS

M. en IBSH. Angélica Flores Ramírez

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



**FES
ZARAGOZA**

MÉXICO, D.F.

20 de junio de 2012

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

CARRERA DE BIOLOGÍA

**“RESPUESTA OVULATORIA A LA DENERVACIÓN VAGAL Y
OVARIECTOMÍA UNILATERAL A LAS 9:00 H EN LOS DÍAS DEL
DIESTRO DEL CICLO ESTRAL DE LA RATA”**

Tesis presentada por: Elizabeth Bonilla Ramírez

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

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

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

AGRADECIMIENTOS

Por Jehová son ordenados los pasos del hombre, y él aprueba su camino. Cuando el hombre cayere, no quedará postrado, porque Jehová sostiene su mano.

Salmos 37:23-24

Por tanto, os digo que todo lo que pidieréis orando, creed que lo recibiréis, y os vendrá.

Marcos 11:24

Infinitas gracias a **mi padre Jesucristo** por amarme tanto y colmarme de bendiciones divinas. Por la vida misma y estar conmigo a cada segundo levantándome cuando caí o sentí caer concediéndome así momentos de dicha como éste en el cual alcanzo una de las metas más preciadas, por supuesto, tomada de su mano. **! TE AMO INFINITAMENTE PADRE !**

Mi más profundo agradecimiento y admiración a la **M. en IBSH. Angélica Flores Ramírez** por ser una excelente profesora, no sólo en lo académico sino también en la vida diaria. Gracias por cada lección impartida, cada regaño, cada palabra de aliento, cada experiencia compartida, cada consejo y sobre todo por su bendita paciencia. Me quedo de usted con el ejemplo de disciplina, tenacidad y compromiso para conseguir nuestros objetivos. ¡ Que Dios la bendiga infinitamente !

A los miembros del jurado:

Dra. Ma. Esther Cruz Beltrán
M. en IBSH. Angélica Flores Ramírez
M. en C. Marisela Valdés Ruiz
Biól. Carlos Martínez Montoya
M. en C. Raúl Zavala Chavero

Por dedicar tiempo a la revisión del presente trabajo y compartir sus conocimientos para enriquecerlo.

A la **Dra. Adriana Altamirano**, al **Dr. Román Hernández** y al **personal técnico del Bioterio de la FES-Zaragoza**, por haberme proporcionado los animales utilizados en el presente estudio.

A **Jacqueline Velasco** y **Pamela Everardo** por su apoyo al instruirme en mis inicios dentro del laboratorio, por su paciencia, amabilidad y compañerismo.

A mis compañeros y amigos de laboratorio **Kenia, Guadalupe, Adriana, Lady, Diana Pamela, Liliana, Camilo y Carlos** por darle vida y alegría al laboratorio, por su gran solidaridad, buena disposición y auxilio cuando me encontraba sola y, por compartir agradables experiencias de aprendizaje y amistad. ¡Los quiero mucho a todos!

DEDICATORIAS

La presente Tesis aunque pudiera parecer simple es fruto de un gran esfuerzo y trabajo en equipo. Alcanzar ésta meta no es mérito únicamente mío y es por ello que la dedico con todo mi amor a:

Mi padre celestial Jesucristo porque me brindaste la inteligencia suficiente para comprender cada elemento académico necesario, los maestros que me han instruido a lo largo de esta apasionada travesía y una hermosa familia que es mi motivo de existir y sonreír cada día.

Mi mamita hermosa porque me diste la vida y a lo largo de ella has estado conmigo a cada segundo compartiendo mis alegrías y tristezas, triunfos y fracasos simplemente porque somos como una misma. Porque si alcancé la meta es gracias a tu guía, trabajo, desvelos, cuidados, consejos, paciencia y porras que aún a pesar de las dificultades de la vida han estado disponibles para mi. Eres mi sol y la mitad de mi vida mamita hermosa.

Mi papito lindo porque tú eres mi otra mitad de vida, mi fuerza y esperanza. Porque al igual que con mamá, gracias a todo tu esfuerzo, desvelos, prisas, amor, cuidados etc. tuve la oportunidad de llegar hasta aquí. Gracias por ser el papito más amoroso y paciente del mundo, por tratar de comprenderme y ayudarme en todo por muchas ocupaciones que haya. Eres mi tesoro y mi alegría de cada día papito.

Carlos Peñaloza porque has sido como un ángel en mi camino y significas muchísimo en mi vida. Porque has estado conmigo en los momentos más difíciles y desde que te conocí te has dedicado a regalarme lo mejor de ti, alegrías, aprendizaje, amor, atenciones, ejemplos, apoyo incondicional y un sin fin de bellas experiencias que de alguna manera me ayudaron a seguir adelante hasta culminar la carrera. Te adoro muchísimo, en verdad no imaginas cuanto y ya no imagino mi vida sin tu presencia, sin importar *¿¿quédate en ella si??*



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
 "ZARAGOZA"
 DIRECCIÓN

JEFE DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
 PRESENTE.

Comunico a usted que la alumna **BONILLA RAMÍREZ ELIZABETH**, con número de cuenta **303703132**, de la carrera de Biología se le ha fijado el día **20** del mes de **junio** de 2012 a las **12:00 hrs.** para presentar examen profesional, el cual tendrá lugar en esta Facultad con el siguiente jurado:

- PRESIDENTE M. C. RAÚL ZAVALA CHAVERO
- VOCAL M. en IBSH. ANGÉLICA FLORES RAMÍREZ
- SECRETARIO Dra. MARÍA ESTHER CRUZ BELTRÁN
- SUPLENTE M. en C. MARISELA VALDES RUIZ
- SUPLENTE BIÓL. CARLOS MARTÍNEZ MONTOYA



El título de la tesis que presenta es: "Respuesta ovulatoria a la denervación vagal y ovariectomía unilateral a las 09:00 h en los días del diestro del ciclo estral de la rata".

Opción de titulación: tesis.

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

ATENTAMENTE
 "POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
 México, D. F., a 24 de mayo de 2012.

DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ
 DIRECTOR DE LA FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES "ZARAGOZA"
 DIRECCIÓN



RECIBI
 OFICINA DE EXÁMENES
 PROFESIONALES Y DE GRADO

VO. BO.
 DR. CARLOS CASTILLO JOSÉ CRUZ
 JEFE DE CARRERA



ÍNDICE

	Página
1. RESUMEN.	i
2. INTRODUCCIÓN.	1
3. MARCO TEÓRICO.	4
Ovarios.	4
Localización, Irrigación, Anatomía.	4
Desarrollo folicular.	5
Atresia folicular.	15
Ovulación.	17
Cuerpo lúteo.	19
Hormonas ováricas.	21
Eje hipotálamo-hipófisis-ovario.	30
Ciclo estral.	35
Asimetría Ovárica.	39
Inervación de Tracto Reproductivo.	42
Inervación Ovárica.	44
Papel del Nervio vago sobre las funciones de los ovarios.	47
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	50
5. HIPÓTESIS.	51
6. OBJETIVOS.	52

7. MATERIALES Y MÉTODO.	53
8. RESULTADOS.	62
Grupo de animales intactos.	62
Respuesta ovulatoria y masa de los órganos de los animales con laparotomía.	63
Respuesta ovulatoria y masa de los órganos de los animales con sección unilateral del Nervio vago.	65
Respuesta ovulatoria y masa de los órganos de los animales con Ovariectomía unilateral	67
Respuesta ovulatoria y masa de los órganos de los animales con ovario derecho inervado.	69
Respuesta ovulatoria y masa de los órganos de los animales con ovario derecho denervado.	73
Respuesta ovulatoria y masa de los órganos de los animales con ovario derecho con denervación vagal bilateral.	76
Respuesta ovulatoria y masa de los órganos de los animales con ovario izquierdo inervado.	79
Respuesta ovulatoria y masa de los órganos de los animales con ovario izquierdo denervado.	82
Respuesta ovulatoria y masa de los órganos de los animales con ovario izquierdo con denervación vagal bilateral.	85
9. ANÁLISIS DE RESULTADOS.	88
10. CONCLUSIONES.	98
11. ANEXO 1. Participación en foros y congresos.	101
12. BIBLIOGRAFÍA.	103

RESUMEN

El Nervio vago aporta a los ovarios información neural parasimpática y sensorial que contiene diversos péptidos como la acetilcolina, la sustancia P, el péptido intestinal vasoactivo, la gastrina, la somatostatina y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina. Resultados de diversos autores han mostrado que dicho nervio a las 13:00 h de cada etapa del ciclo estral de la rata, modula la respuesta de los ovarios a las gonadotropinas sobre la secreción de hormonas esteroides y que a las 9:00 h del Proestro modula en forma estimulante la acción de las gonadotropinas sobre la cantidad de ovocitos liberados por el ovario derecho.

Ya que se desconoce su función en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación en las etapas del diestro del ciclo estral de la rata con o sin ovariectomía unilateral, a las 9:00 h del Diestro-1 y Diestro-2 los animales fueron sometidos a 1) la sección unilateral o bilateral del Nervio vago, 2) ovariectomía unilateral, 3) sección unilateral del Nervio vago seguida de la ovariectomía unilateral ipsilateral o contralateral al nervio seccionado, y 4) ovariectomía unilateral seguida de la sección unilateral ipsilateral o contralateral al ovario extirpado; como animales testigo se utilizaron animales intactos o con laparotomía ventral. El día que los animales presentaron el estro vaginal después de la cirugía, fueron pesados y sacrificados a las 9:00 h, se contó el número de ovocitos liberados y se pesaron los ovarios, el útero y las adrenales.

En animales con laparotomía ventral realizada en Diestro-1 se observó menor número de ovocitos liberados por el ovario derecho (OD) respecto a lo registrado en el grupo de animales intactos.

La sección del Nervio vago derecho se tradujo en menor tasa de animales ovulantes (TAO) por el ovario izquierdo (OI) y el OD respecto a la observada en el grupo con laparotomía. En ratas con sección de ambos Nervios vago en Diestro-1 se presentó el Estro vaginal 24 horas después de lo esperado, lo que fue acompañado de un mayor número de ovocitos liberados por el OD respecto a lo observado en el grupo con laparotomía, y aumento del número de ovocitos liberados por ambos ovarios respecto al del grupo con sección del Nervio vago izquierdo.

La extirpación del ovario derecho (Ovx-D) o izquierdo (Ovx-I) en Diestro-1 resultó en el aumento en el número de ovocitos liberados respecto al grupo con laparotomía.

La sección del Nervio vago izquierdo seguida de la ovariectomía izquierda (Nv-I+Ovx-I: *ovario derecho inervado por el Nervio vago derecho*) en el Diestro-1 resultó en mayor número de ovocitos liberados por el OD *in situ* respecto a lo registrado en animales con sección del Nervio vago izquierdo, mientras que la operación inversa, es decir ovariectomía izquierda seguida de la sección del nervio vago ipsilateral a la sección (Ovx-I+Nv-I) resultó en bloqueo de la ovulación en 6/7 animales que fueron sometidos a dicha cirugía, y el animal que ovuló solo liberó un ovocito en relación a lo registrado en su grupo control. Ambos tratamientos experimentales en la etapa del Diestro-2 resultaron en disminución de la TAO, aunque esta disminución solo fue significativa en animales con ovariectomía izquierda y sección del nervio vago ipsilateral a la sección (Ovx-I+Nv-I).

La sección del Nervio vago derecho seguida de la Ovariectomía izquierda (Nv-D+Ovx-I: *OD sin inervación por parte del Nervio vago derecho*) en el día del Diestro-2 resultó en menor número de ovocitos liberados por el OD *in situ* respecto al grupo con sección del Nervio vago izquierdo. En los animales con el OD *in situ* sin inervación por parte de ambos Nervios vago (Ovx-I+Nv-B) en el Diestro-1 se presentó bloqueo total de la ovulación, lo mismo que en la etapa del Diestro-2 pero en animales con Nv-B+Ovx-I.

La ovariectomía derecha y sección de Nervio vago derecho (Ovx-D+Nv-D; *OI inervado por el Nervio vago izquierdo*) en el Diestro-1 resultó en menor TAO y número de ovocitos liberados por el ovario *in situ* en relación a la de su grupo control. La ovariectomía derecha seguida de sección de Nervio vago izquierdo (Ovx-D+Nv-I; *OI in situ* sin inervación por parte del Nervio vago izquierdo) en el Diestro-2, resultó en menor TAO respecto a la de su grupo control. La sección de ambos Nervios vago seguida de la ovariectomía derecha (Nv-B+Ovx-D; *OI sin inervación de ambos Nervios vago*) en el Diestro-1 resultó en aumento en el número de ovocitos liberados en relación a su grupo control, mientras que en Diestro-2 trajo consigo disminución de la TAO. La operación inversa (Ovx-D+Nv-B) en Diestro-1 trajo consigo disminución en la TAO.

Los resultados del presente estudio muestran que los Nervios vago en los días del Diestro-1 y Diestro-2 participan de manera asimétrica en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación, con lo cual se apoya la hipótesis de que la inervación vagal que reciben los ovarios en los días del diestro del ciclo estral modula de manera diferencial la acción de las gonadotropinas sobre el compartimiento folicular y, que los Nervios vago envían y reciben información de ambos ovarios hacia el SNC, la cual varía en función del día del ciclo estral, del Nervio y del ovario *in situ*, y de la forma en que se realizan las cirugías.

INTRODUCCIÓN

La reproducción en los mamíferos está regulada por el sistema nervioso central (SNC) y el sistema endócrino. A diferencia del sistema nervioso, que controla las funciones del cuerpo a través de impulsos nerviosos eléctricos rápidos, el sistema endócrino utiliza mensajeros químicos u hormonas para regular procesos corporales lentos, como el crecimiento y la reproducción (Hafez, 2002).

El ovario es el órgano fundamental del sistema reproductor. Sintetiza hormonas y genera el gameto femenino que provee el material genético y los nutrientes necesarios para el desarrollo del embrión (Chedrese, 2003; Fox, 2003). Sus funciones están reguladas por hormonas, donde la secreción de la hormona estimulante del folículo (FSH, por sus siglas en inglés) y la hormona luteinizante (LH, por sus siglas en inglés), mediada por la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH, por sus siglas en inglés), estimula la esteroidogénesis de las células de la teca interna y de la granulosa del ovario además de la maduración folicular, con la consecuente liberación del ovocito (Yen, 2001).

Los ovarios de la rata reciben información neural simpática a través del Nervio Ovárico Superior y el Plexo Ovárico, y parasimpática y sensorial por medio del Nervio vago que modula la respuesta de los ovarios a las gonadotropinas (Burden, 1985; Gerendai *et al.*, 1998, 2000; Lawrence y Burden 1980).

En los primeros estudios llevados a cabo para conocer el papel del Nervio vago sobre las funciones ováricas, se realizaron vagotomías bilaterales en los días del Proestro o Estro y se encontró que la vagotomía abdominal altera la longitud del ciclo estral; ya que prolonga la etapa de diestro (10-12 días) y previene la inducción de pseudo-preñez (Burden y Lawrence, 1981).

Posteriormente, Allen *et al.* (1985), mostraron que el Nervio vago participa en la regulación de la liberación de LH, así como en la capacidad de respuesta a las gonadotropinas por parte de los ovarios.

Trkulja y Lackovic (2001) mostraron que en ratas adultas, la información vagal tiene influencia sobre el crecimiento compensatorio del ovario solo durante un corto periodo posterior a la ovariectomía unilateral (menos de 4.5 h).

Y posteriormente, Alanís (2009), Bonilla (2010), Rodríguez (2009) y Guzmán (2011) mostraron que la inervación parasimpática y sensorial proporcionada por el Nervio vago a las 13:00 h modula las funciones del ovario en función de la etapa del ciclo estral en que se realiza el tratamiento.

Aunado a ello, en la regulación de la secreción hormonal y neural existen diferencias vinculadas con la hora del día (ritmo circádico). Los ritmos circádicos son el resultado de las funciones de un oscilador molecular o "reloj maestro" localizado en neuronas del núcleo supraquiasmático (NSQ) del hipotálamo. Las señales temporales derivadas del mismo actúan directamente sobre las células neurosecretoras, el sistema nervioso autónomo y los genes reloj controladores, lo que genera un ritmo de expresión génica (aproximadamente de 24 horas) (Lance *et al.*, 2006).

Así, Zárate (2011) evidenció que a los animales que se les realizó la sección del Nervio vago izquierdo en el día del Proestro se presentó alteración de la ovulación, solo cuando la cirugía se realizó a las 9:00 h, y no en otros horarios de la misma etapa, ya que resultó en menor tasa de animales ovulantes, los que liberaron un menor número de ovocitos.

Hasta el momento no se ha analizado si el Nervio vago izquierdo o derecho en los días del diestro a las 09:00 h manifiestan lateralización y asimetría funcionales y si su participación sobre la ovulación depende de la etapa, el nervio u ovario *in situ*. Por ello, el análisis experimental de este problema se realizó mediante el estudio de los efectos agudos de la sección unilateral o bilateral del Nervio Vago en la rata adulta intacta o con ovariectomía unilateral a las 09:00 h en los días del Diestro-1 o Diestro-2 sobre la ovulación y la masa corporal, de los ovarios, del útero y de las adrenales evaluados en el día del estro vaginal posterior a la cirugía.

MARCO TEÓRICO

OVARIOS

Los ovarios son glándulas con función endócrina y exocrina, ya que secretan hormonas esteroides (como progesterona, andrógenos y estrógenos) y hormonas proteicas (como la inhibina α , inhibina β , activina, activina α , activina β y folistatina) hacia la sangre, y liberan gametos (óvulos) que envían hacia el sistema reproductor a fin de proveer el material genético y los nutrientes necesarios para el desarrollo del embrión (Burden *et al.*, 1983; Fox, 2003; Freeman, 2006; Ruiz, 1988; Yao y Bahr, 1999).

Localización

Los ovarios de la rata se localizan situados cerca de los riñones a lo largo del músculo lateral rodeados de tejido adiposo (Peluffo, 2002).

Irrigación

Los ovarios están muy vascularizados. La arteria ovárica que nace de la aorta abdominal alcanza el ovario junto con el mesovario. Ramas de la arteria ovárica entran en el ovario por el hilio, el mismo lugar por el que sale la sangre venosa (Yao y Bahr, 1999).

Anatomía de los ovarios

El corte perpendicular de un ovario muestra tres regiones bien diferenciadas:

- A. La **médula** que se localiza en la parte central o interna del estroma del ovario, es más pequeña que la corteza y está formada por tejido conjuntivo laxo con fibras elásticas, algunas fibras musculares lisas y numerosos vasos arteriales y venosos de los que se originan pequeñas ramas que se dirigen hacia la

corteza; por lo que también es llamada zona vascular (Figura 1) (Fawcett, 1995; Ross, 2007).

B. La **corteza** es la parte más externa del ovario y contiene los folículos en diferentes etapas de crecimiento y maduración embebidos en el estroma. Está tapizada por el epitelio germinal escamoso o cúbico que se apoya en la túnica albugínea, una capa de tejido conectivo denso que da al ovario su color (Yao y Bahr 1999), y que se encuentra presente en seres humanos pero, está ausente en los roedores (Crisp, 1992). El estroma está compuesto de al menos cuatro tipos celulares diferentes: células de tejido conectivo (fibroblastos) con funciones de soporte, células del músculo liso que regulan las contracciones de los folículos, células intersticiales que incluyen células de la teca y células foliculares que provienen de folículos atrésicos así como de los cuerpos lúteos en regresión. El límite entre la médula y la corteza no es nítido (Figura 1) (Yao y Bahr, 1999).

C. El **hilio** es el punto de entrada y salida de los vasos sanguíneos, linfáticos y nervios (Figura 1) (Tresguerres, 2003).

Desarrollo folicular

El folículo ovárico es la unidad anatómica funcional del ovario, a partir de la cual se originan los tres compartimientos funcionales de la gónada: folicular, luteal e intersticial; en su evolución el compartimiento folicular da origen a los otros dos (Domínguez *et al.*, 1991).

La *Foliculogénesis* es el proceso por el que un determinado número de folículos abandona su estado de quiescencia para llevar a cabo su crecimiento y diferenciación, y que, en sus inicios, es un proceso independiente de las gonadotropinas (Bellver y Requena, 2009). Este proceso permite obtener un folículo

preovulatorio a partir de folículos primordiales y tiene su comienzo en la vida fetal; durante la cual se constituye la reserva de folículos primordiales (Palma, 2001).

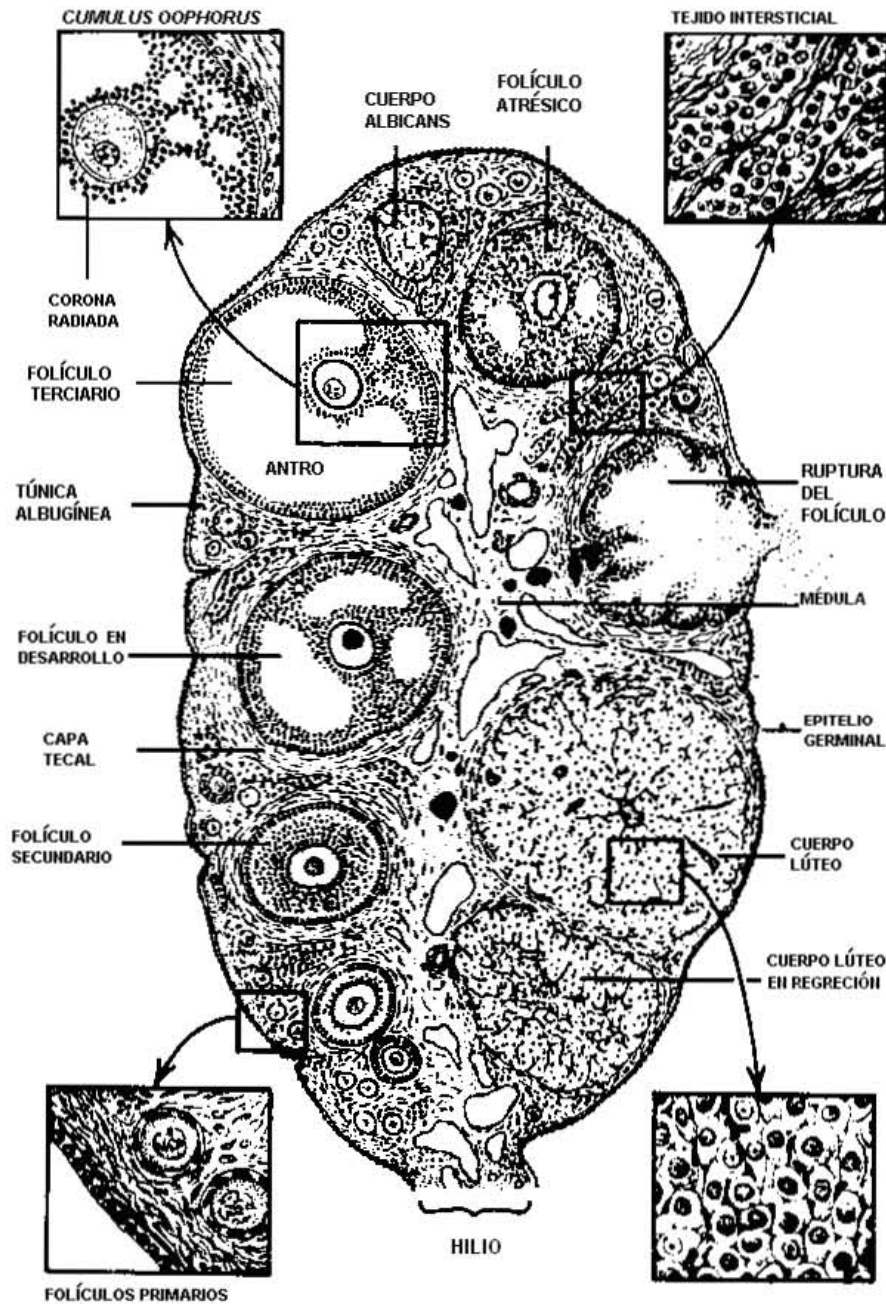


Figura 1: Esquema del ovario de los mamíferos donde se observan las 3 regiones que lo conforman (hilio, corteza y médula) y los folículos en diferentes estadios de desarrollo y diferenciación (Tomado de Freeman, 2006).

En la rata, el comienzo de la foliculogénesis tiene lugar poco después del nacimiento (Funkenstein *et al.*, 1980; Lamprecht *et al.*, 1973; Rajah y Hirshfield, 1991; Rajah *et al.*, 1992; Sokka y Huhtaniemi, 1990). Malamed *et al.* (1992), mostraron que durante las primeras 24 horas de vida postnatal de la rata se observan muy pocos folículos primordiales, sin embargo, doce horas más tarde había alrededor de 500 folículos por ovario; una cifra que se duplicó con creces a cerca de 1.300 durante las posteriores de 12 horas, lo que indica que un período explosivo de diferenciación folicular se produce entre el final de los días 1 y 2 después del parto. La microscopía electrónica reveló que antes del nacimiento los ovarios ya están inervados por fibras que contienen vesículas claras y denso núcleo. Los resultados con inmunohistoquímica realizada en la etapa en la fetal (día 19) o en el recién nacido (menos de 15 horas después del nacimiento), mostraron la presencia de nervios catecolaminérgicos en los ovarios, identificados por su contenido de tirosina hidroxilasa inmunorreactiva (TH), la enzima limitante en la biosíntesis de catecolaminas. Aunque algunas de estas fibras inervan los vasos sanguíneos, otros están asociados con células de los folículos primordiales, lo que sugiere su participación en funciones no vasculares.

El ovario en desarrollo queda sometido a influencias neurogénicas antes de que adquiera la capacidad de respuesta a las gonadotropinas. Mayerhofer *et al.*, 1997, mostraron que el péptido intestinal vasoactivo (VIP) y la noradrenalina (NA), dos neurotransmisores que llegan a los ovarios, acoplados al sistema de generación de adenosín monofosfato cíclico (AMPC), contribuyen al proceso de diferenciación por el cual los folículos primarios recién formados empiezan a adquirir receptores a FSH y su capacidad de respuesta a la misma.

El crecimiento del folículo dura 19 días, desde que pasa del estado de reposo hasta que culmina con la ovulación y durante este tiempo está expuesto por lo menos a cuatro concentraciones plasmáticas de gonadotropinas preovulatorias. La regulación del crecimiento y diferenciación folicular parecen depender fundamentalmente de las condiciones internas de cada ovario más que de la

concentración plasmática de las gonadotropinas. De este modo, las activinas y la cantidad de terminaciones nerviosas alrededor del folículo parecen ser la clave en la selección y el mantenimiento de los folículos que entran al proceso de crecimiento y diferenciación (Domínguez *et al.*, 1991).

En los roedores, la máxima secreción de FSH que se presenta en la tarde del Proestro y la madrugada del Estro, selecciona de manera definitiva los folículos que van a crecer hasta alcanzar la etapa preovulatoria en el próximo ciclo. La máxima secreción de LH que se produce en la tarde del Proestro, además de inducir la ovulación, provoca cambios sustanciales en aquellos folículos preovulatorios, o con antro muy desarrollado, que resulta en la atresia de los mismos en el día del Estro y el Diestro-1. La selección de los folículos inducida por la FSH se hace a partir de los folículos pequeños con antro presentes en el Diestro-1. Los folículos que alcanzarán la etapa preovulatoria, son más activos en su capacidad de secreción hormonal, principalmente de estrógenos (Domínguez *et al.*, 1991).

El ovario de la rata tiene un número definido de *folículos primordiales* (Figura 2) que contienen un pequeño ovocito de aproximadamente 20 μm de diámetro y que a lo largo de su desarrollo incrementa de tamaño hasta alcanzar de 70-80 μm ; sin incluir a la zona pelúcida (Daniel *et al.*, 1989). Luego de comenzada la meiosis, los ovocitos son rodeados por células foliculares como una cápsula uniforme de epitelio folicular y se produce la detención de la misma en el estadio de diploteno, profase I, ovocito I, denominado estado dictiático. El ovocito se mantiene en esta etapa hasta que es seleccionado para su maduración en la etapa del Proestro del ciclo estral de la rata adulta (Domínguez *et al.*, 1991; Freeman, 2006).

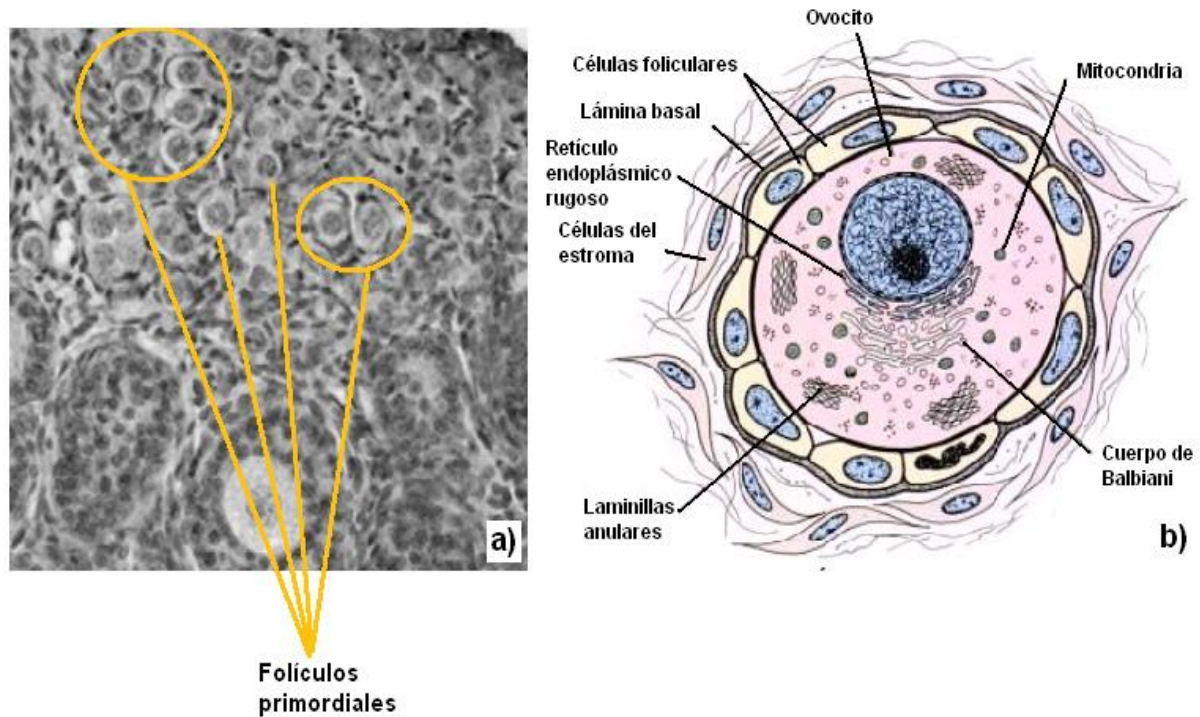


Figura 2: a) Microfotografía del ovario de rata neonatal donde se observan los folículos primordiales y b) sus características (Modificada de Latini *et al.*, 2010; Ross, 2007).

En el *folículo primario*, las células foliculares que rodean al ovocito son de forma cúbica y proliferan rápidamente. Al mismo tiempo, el ovocito aumenta de tamaño y culmina su crecimiento una vez que da inicio la formación del antro folicular (Vitt *et al.*, 2000). Se reconocen dos subestadios: folículo primario (ovocito primario, que empieza a producir glucoproteínas en la zona pelúcida y se rodea por una sola capa de células foliculares cúbicas) y folículo primario con múltiples capas (ovocito primario rodeado de varias capas de células foliculares) (Figura 3) (Kierszenbaum, 2008). Por otro lado, las células de la teca, aún cuando no son reconocibles en cortes histológicos, al igual que en el folículo primordial, comienzan su formación y constituyen una ligera capa que incrementa en número a lo largo del desarrollo folicular (Hirshfield, 1991).

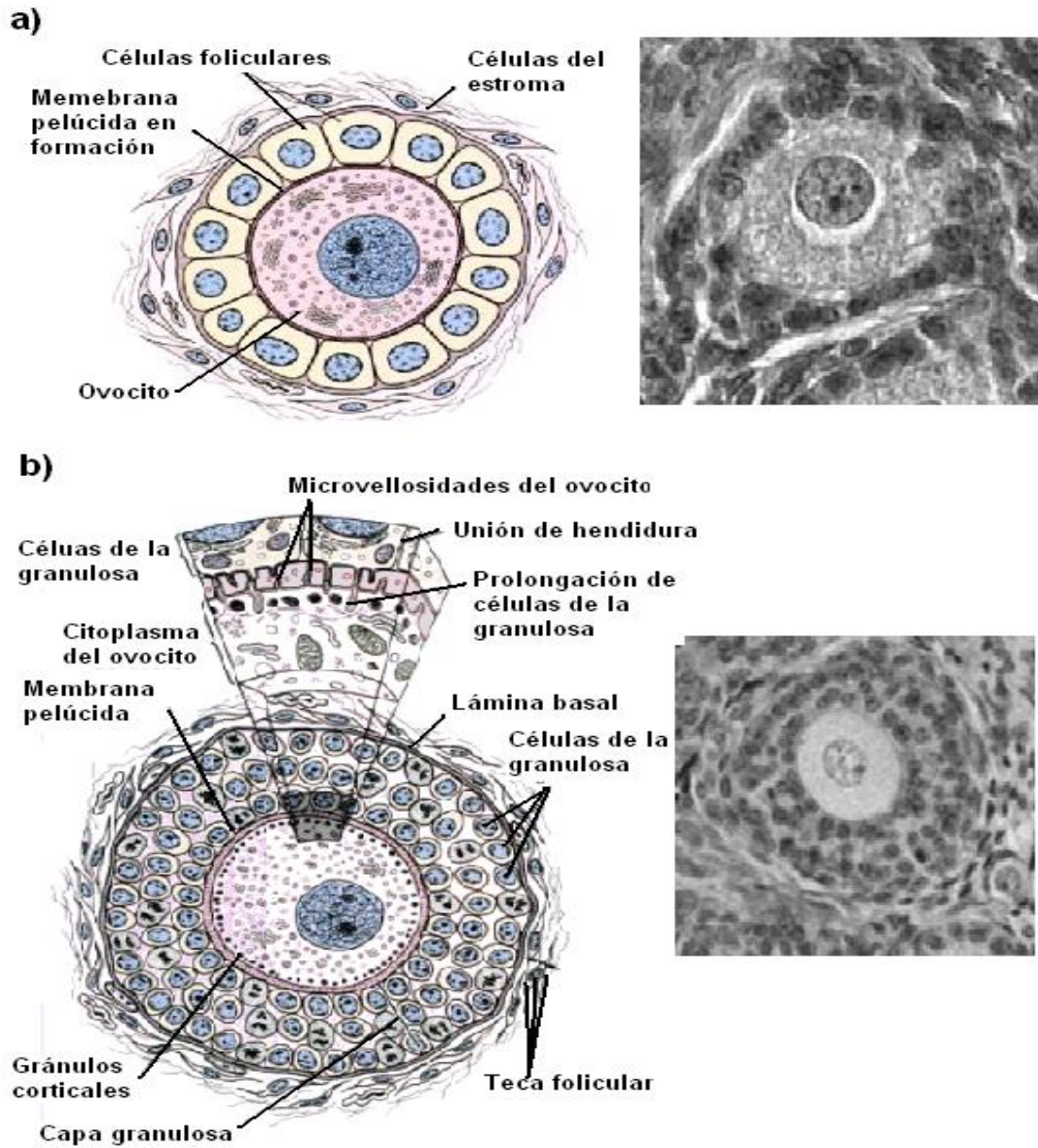


Figura 3: Microfotografía del ovario de rata neonatal donde se observan el folículo primario y el folículo primario con múltiples capas (Modificada de Latini *et al.*, 2010; Ross, 2007).

El epitelio columnar simple se multiplica por mitosis para constituir una estratificación del epitelio folicular cúbico (Domínguez *et al.*, 1991). En esta etapa, las células epiteliales son claramente reconocidas como células de la granulosa, mientras que

los folículos se identifican como *folículos pre-antrales*. El engrosamiento de la capa de las células de la granulosa es estimulado por la hormona estimulante del folículo (FSH, por sus siglas en inglés) (Fawcett, 1995; Palma, 2001).

Los receptores a la hormona luteinizante (LH, por sus siglas en inglés) aparecen en el Diestro-1, aumentan en la tarde del Diestro-2 y alcanzan su máximo antes de la brusca elevación sanguínea de LH, y no a consecuencia de ésta. En la tarde del Diestro-2 y la mañana del Proestro, en las células de la granulosa aparecen receptores a prolactina (PRL), cuya síntesis es estimulada por las gonadotropinas (FSH y LH) y la propia PRL (Domínguez *et al.*, 1991; Freeman, 2006).

Aunque la actividad aromatasa incrementa significativamente en el día 7 de edad de la rata, la producción de estrógenos ovárico está limitada por la baja producción de progesterona y testosterona hasta el día 12 de edad. La actividad de aromatasa incrementada en el día 7 y la producción de andrógenos en el día 12 coinciden con la primera aparición de las células de la granulosa y de la teca, respectivamente. Estos cambios morfológicos y funcionales no están asociados con alteraciones significativas en la masa ovárica o en las concentraciones de LH o FSH en suero (Carson y Smith, 1986).

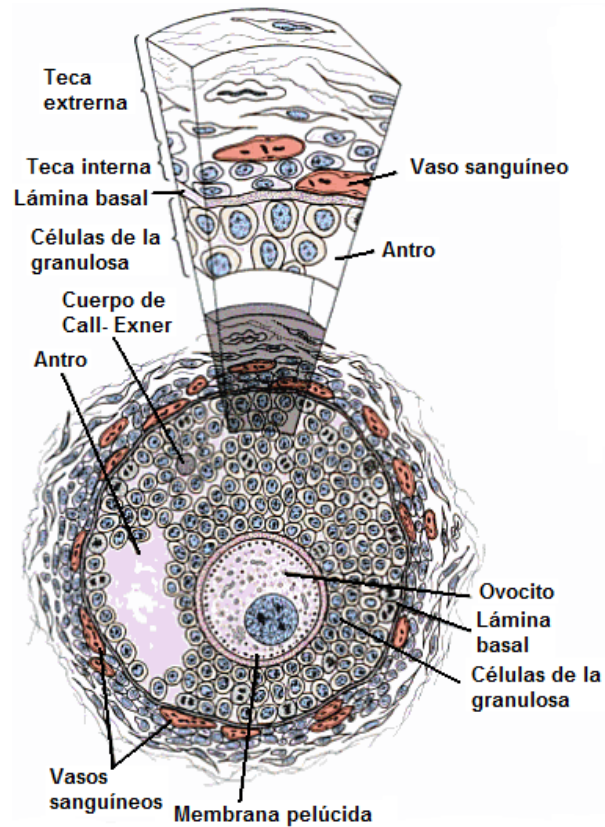
La aparición de las tecas se asocia con la adquisición de la vascularización en el folículo y de arteriolas que terminan en una red de capilares adyacente a la membrana basal. También aparecen, al mismo tiempo, vasos linfáticos. A medida que se forman los capilares, las células teco-intersticiales comienzan su diferenciación con la adquisición de receptores a LH y la capacidad de biosíntesis de esteroides (Yen *et al.*, 2001). Además de los receptores a LH, las células teco-intersticiales, también cuentan con receptores a la PRL, a la hormona adrenocorticotrópica (ACTH), a la NA, a la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH, por sus siglas en inglés) y a los estrógenos (Domínguez *et al.*, 1991).

La teca se divide en teca interna y teca externa. Las células de la teca interna proliferan cuando el ovocito se ha desarrollado completamente y el folículo ha adquirido 2 o 3 capas de células de la granulosa. Esta capa, al acercarse el Proestro, asume forma poligonal con citoplasma vacuolado y núcleo vesicular y es considerada uno de los principales sitios de producción de estrógenos durante el ciclo estral. Por su parte, la teca externa se forma a medida que el folículo se expande y comprime el estroma circundante, conserva la configuración ahusada y contiene tejido contráctil que juega un papel en la ovulación (Freeman, 2006; Yen *et al.*, 2001).

El ovario de la rata neonatal está desprovisto de *folículos antrales* (*Figura 4*) hasta el día 12 de vida (Carson y Smith, 1986). El ovocito aumenta todavía más de tamaño y las células de la granulosa que lo rodean proliferan, lo que hace que aumente el diámetro del folículo. Cuando se han formado de siete a ocho estratos de células de la granulosa alrededor del ovocito, los folículos se transforman en folículos maduros que tienen múltiples espacios llenos de líquido intracelular. Estos espacios se agrandan y se unen finalmente en una sola cavidad más grande llamada antro, en el cual comienza a observarse la presencia de licor folicular que contiene proteínas, polipéptidos, FSH, LH, PRL, estrógenos, progesterona, activinas y NA, cuyas concentraciones varían a lo largo del ciclo estral (Domínguez *et al.*, 1991; Fawcett, 1995).

Las células de la granulosa junto con el ovocito, que una vez ocupó el centro del folículo secundario, se coloca en posición excéntrica y forman un conjunto llamado cúmulus oophorus. Las células de la granulosa que rodean el ovocito forman un anillo conocido como corona radiada. El licor folicular aumenta en volumen conforme la ovulación se aproxima (*Figura 5*) (Freeman, 2006).

Figura 4: Características del folículo antral (Tomada de Ross, 2007).



La maduración del ovocito I y su transformación en ovocito II es estimulada por la LH y la GnRH, sin embargo, estas hormonas no actúan de manera directa ya que, como se dijo anteriormente, el ovocito carece de receptores a ellas. Debido a esta circunstancia, la prostaglandina E, (PGE), actúa como mediadora en la transmisión del mensaje que la LH y GnRH producen sobre el ovocito. Así, se bloquea la formación de AMPc que inhibe la maduración del ovocito, lo que resulta una división de reducción, en la que el número de cromosomas se reduce de los diploides ($n=42$) al número haploide ($n=21$). Una vez que el ovocito adquiere esta configuración es liberado, y permanece así hasta que se une con el espermatozoide en el momento de la fecundación y se lleva a cabo la segunda división meiótica (Domínguez *et al.*, 1991; Freeman, 2006).

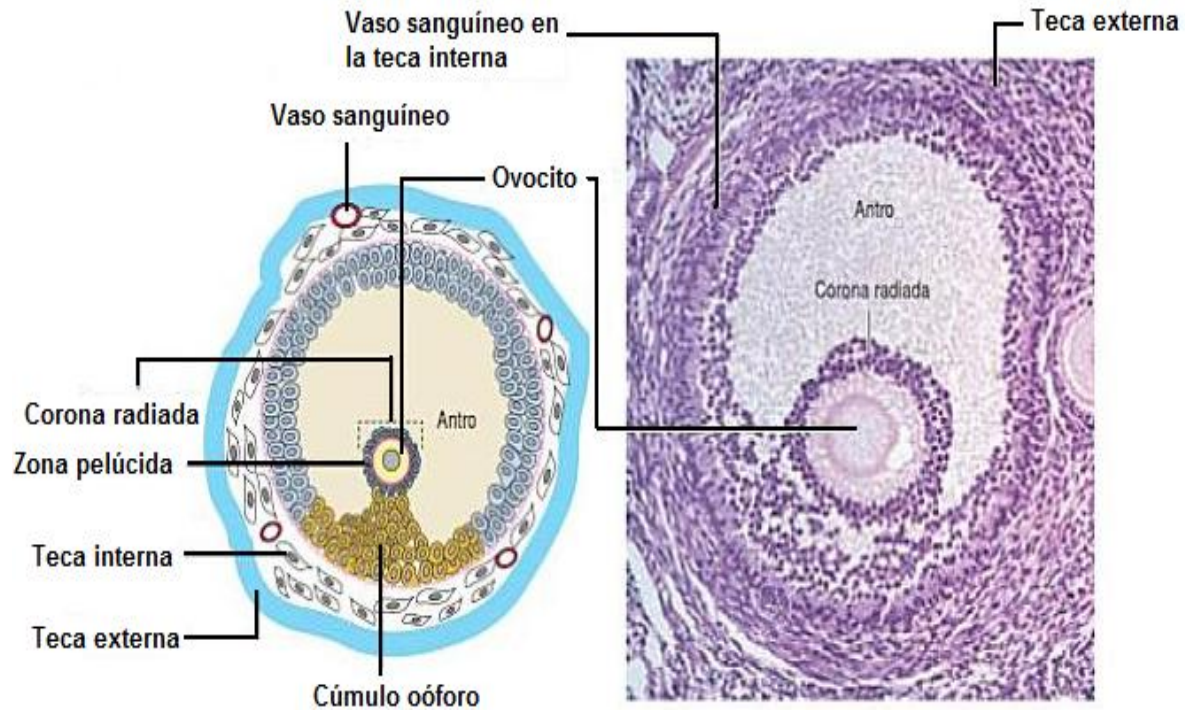


Figura 5. Características del folículo preovulatorio (Tomada de Kierszenbaum, 2008).

En el ovocito del folículo preovulatorio, la pérdida de la vesícula germinal, del nucléolo y el engrosamiento del cromosoma indican el reinicio de la división celular. Este proceso ocurre alrededor de las 17:00-18:00 h del Proestro o aproximadamente dos horas después de que se ha producido la secreción preovulatoria de LH, y la culminación de la primera división celular meiótica ocurre aproximadamente seis horas después de dicha secreción de LH (Domínguez *et al.*, 1991; Freeman, 2006).

En caso de no existir fecundación, el ovocito en reposo sufre un proceso natural de degeneración llamado atresia folicular, mientras tanto, un nuevo grupo de folículos primordiales comienza su maduración (Freeman, 2006; Palma, 2001). Se ha mostrado que el número de folículos en cualquier etapa de crecimiento es regido por tres aspectos 1) la tasa de folículos en reposo que inician su etapa de crecimiento, 2) la tasa de crecimiento de los folículos y 3) la tasa de pérdida de folículos a través de la atresia (Hirshfield y Midgley, 1978).

Atresia folicular

La atresia folicular es un evento fisiológico que involucra la pérdida o eliminación de la mayoría de los ovocitos antes de completar su maduración y llegar a la ovulación (Rosado *et al.*, 1991). En la rata, el número de ovocitos por ovario disminuye de 18000 a 5500 en las tres primeras semanas de vida (Villavicencio, 1991).

La regulación del desarrollo folicular y atresia es un proceso complejo que depende de las interacciones entre los factores endocrinos (gonadotropinas) y los reguladores intraováricos (esteroides sexuales, factores de crecimiento y citoquinas) en el control del destino de las células foliculares; es decir, proliferación, diferenciación y muerte celular programada (Asselin *et al.*, 2000).

Presenta dos patrones principales que la identifican: 1) las primeras generaciones de células de la granulosa se desarrollan mucho más despacio que en las primeras etapas de desarrollo folicular y 2) la mayoría de los folículos se convierten en atrésicos durante la octava o novena generación de células de la granulosa, lo que sugiere que el crecimiento y desarrollo folicular pueden ocurrir normalmente en presencia de concentraciones basales de gonadotropinas, hormonas metabólicas y factores de crecimiento, de tal manera, que únicamente los folículos que son expuestos a señales adicionales específicas pueden continuar hasta la décima generación y ovular (Hirshfield, 1991).

Aparentemente, la atresia inicia con la muerte de las células de la granulosa, mientras que la degeneración de los ovocitos se produce durante las últimas etapas de atresia (Alonso *et al.*, 2003).

Los signos histológicos característicos son: pérdida de la capacidad de sintetizar progesterona, estrógenos y posiblemente también andrógenos (Ryan, 1981), alteración de la zona pelúcida, detención del proceso mitótico de las células de la granulosa y disminución del índice de figuras mitóticas, separación de las células de la granulosa; algunas de éstas células aparecen en la cavidad antral

(descamación) o son fagocitadas, alteraciones del ovocito (ausencia o cambio en la forma de la membrana nuclear o fragmentación del ovocito), disminución del riego sanguíneo y aparición de signos de luteinización (Villavicencio, 1991).

Desde un punto de vista bioquímico, es posible observar encogimiento celular, fragmentación del ADN, disminución en la síntesis y expresión del ARNm que codifica para las aromatasas, y pérdida de receptores a las gonadotropinas. Además, en el estudio histológico se observan núcleos picnóticos y fragmentación nuclear en las células de la granulosa y del complejo cúmulo-ovocito, y en algunos casos hipertrofia de las células de la teca (Sharma, 2000).

El primer cambio reconocible en la rata es la aparición de los núcleos picnóticos en las células de la granulosa que están más cerca del antro folicular y las células externas de la corona radiada de los folículos pre-antrales. El proceso comienza con la contracción del núcleo y la condensación de la cromatina de las células de la granulosa (picnosis). Además, el núcleo de las células de la granulosa puede romperse y se desintegra la cromatina (cariorrexis). Estos fragmentos nucleares y células picnóticas tienden a desprenderse y flotar en el licor folicular; tal desprendimiento resulta en la contracción de la granulosa, del cúmulus oophorus y el alisado de las superficies del antro; un proceso que permite que el óvulo entre finalmente al líquido folicular. Estas células de la granulosa junto con la zona pelúcida degeneran por completo, lo que es seguido inmediatamente por la degeneración del ovocito (Freeman, 2006).

Se han descrito dos vías principales de muerte celular fisiológica: un proceso pasivo que conduce a la necrosis y un programa activo, denominado apoptosis. La apoptosis se puede dar tanto en condiciones fisiológicas como patológicas y la necrosis no ocurre bajo condiciones fisiológicas, es decir, la apoptosis, programada genéticamente, es parte esencial de procesos de desarrollo embrionario y también es vital para la conservación de la homeostasis tisular (Flores *et al.*, 2005).

Estudios recientes indican que la apoptosis ocurre en el ovario durante la atresia folicular en varias especies animales, incluyendo la rata, cerdo, pollo, babuino y conejo (Palumbo y Yeh, 1994).

La vía de muerte celular que tenga lugar durante la atresia depende del estado de energía metabólica o de la producción de condiciones hipóxicas relacionadas con el tamaño folicular. Así, el potencial de transformación en la membrana mitocondrial es el cambio principal que se encuentra en folículos pequeños, mientras que la desestabilización de la función lisosomal es la principal causa de muerte de las células de la granulosa durante la atresia en folículos grandes (Alonso *et al.*, 2003).

La apoptosis se considera como antagonista de la mitosis en la regulación de la homeostasis en el tejido (Collins y Rivas, 1993). Diversas evidencias experimentales, donde se ha utilizado como modelo de estudio la rata, han permitido postular a los autores que algunas hormonas y factores de crecimiento pueden ayudar a los folículos a escapar de la atresia, en tanto que otros, llamados factores atretogénicos son capaces de inducirla. Así, se ha sugerido que las gonadotropinas, el factor de crecimiento epidermal (EGF, por sus siglas en inglés), el factor de crecimiento transformante α (TGF α , por sus siglas en inglés), el factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF, por sus siglas en inglés) y el factor de crecimiento semejante a la insulina I (IGF-I, por sus siglas en inglés) son supresores de la fragmentación de ADN. Entre los factores atretogénicos se encuentran los andrógenos, la interleucina 6 (IL-6) y la GnRH ovárica (Billing *et al.*, 1994; Chung *et al.*, 1994; Hsueh *et al.*, 1994).

Ovulación

El proceso mediante el cual se rompe el folículo y se libera el ovocito se llama ovulación. Se define también como una complicada cascada de eventos moleculares que se inicia cuando la LH se une a sus receptores localizados en la membrana de

las células de la granulosa, así como, en las células de la teca interna de los folículos ováricos maduros (Freeman, 2006).

El proceso ovulatorio en la rata comienza cuando los folículos se abultan en la superficie del ovario y brotan prominentes y altamente vascularizados. Minutos después y por estimulación de las gonadotropinas, la mácula pelúcida o estigma forma el ápice del folículo preovulatorio; la presencia de la mácula pelúcida dura alrededor de 5 minutos o menos. Más allá de la periferia de la mácula se forma un anillo de vasos sanguíneos dilatados (Fawcett, 1995; Freeman, 2006).

Conforme la ruptura folicular se acerca, las células epiteliales de la superficie germinal que cubren el estigma se fragmentan en pequeños grupos. El estroma subyacente se adelgaza y se forma una bolsa delicada que puede ser una ampolla de líquido folicular viscoso. La extrusión de la masa de células del cúmulo y el ovocito toma de 11 segundos a 12 minutos y 40 segundos aproximadamente. Una vez que el óvulo es expulsado, ocurre una gran descarga de líquido folicular (Fawcett, 1995; Freeman, 2006).

En la mayoría de los casos, la masa de células del cúmulus oophorus y los ovocitos no se encuentran junto a la ruptura del estigma. Bajo estas circunstancias, el líquido folicular sale a través de estallidos, como si estuviera bajo presión y es entonces cuando esta masa de células del cúmulus oophorus y el ovocito serán expulsados posteriormente en un chorro; trayecto durante el cual ambos encuentran su camino hasta las fimbrias ciliadas del oviducto. El líquido que rodea inmediatamente al ovocito parece viscoso, mientras el que sigue es muy fluido. Todo el proceso de ovulación se completa en 1,5 horas (Fawcett, 1995; Freeman, 2006).

Las fimbrias del oviducto están estrechamente aplicadas a la superficie ovárica en el momento de la ovulación. Sus movimientos activos y las corrientes producidas en la lámina líquida superficial por los cilios de las células epiteliales tubáricas son responsables de la captación del ovocito en el extremo abierto del

oviducto. El folículo roto se transforma rápidamente en un cuerpo lúteo (Fawcett, 1995).

Cuerpo lúteo

Después de la ruptura folicular, los capilares y los fibroblastos del estroma circundante proliferan y penetran la membrana basal. Simultáneamente, las células de la granulosa sufren cambios morfológicos colectivamente conocidos como luteinización. Estas células tienen uniones de hendidura que forman parte de la maquinaria que facilita la comunicación entre las células lúteas, con la conexina-43 identificada como la proteína presente en esas uniones de hendidura luteínica (*Figura 6*). Un aspecto destacable de este evento fisiológico es que la penetración de la membrana basal folicular por vasos sanguíneos proveen de colesterol a las células de la granulosa foliculares, lo cual sirve como sustrato para la producción de progesterona por el cuerpo lúteo (Yen *et al.*, 2001).

El cuerpo lúteo se considera como la continuación de la maduración folicular, ya que las células lúteas derivan de las células de la teca interna y de la granulosa. Por este motivo, la función de esta glándula se ha asociado con el ambiente hormonal en el cual se desarrolló el folículo ovulatorio (Garverick *et al.*, 1992; Wiltbank y Niswender, 1992).

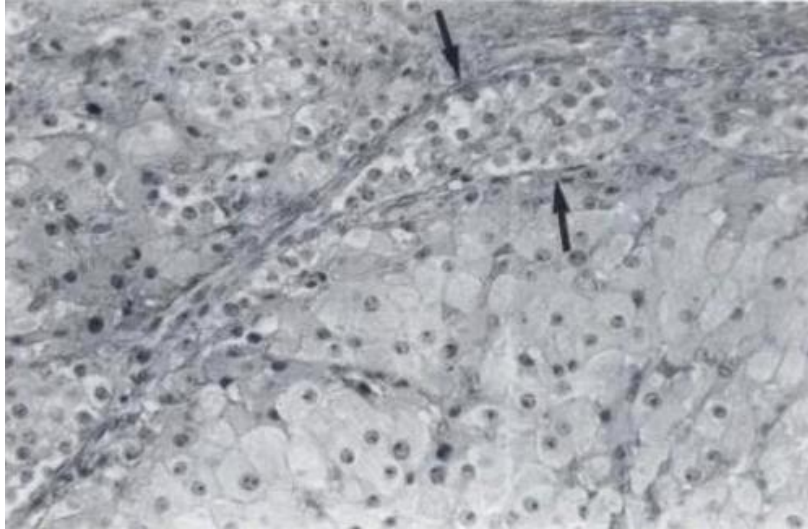


Figura 6: El cuerpo lúteo está formado por células grandes, claras, procedentes de las células de la granulosa. Entre ellas se introducen tabiques conjuntivos, en cuyo interior hay otras células redondas, pequeñas, procedentes de la teca (señalados por las flechas) (Tomada de Botella, 1995).

Durante el ciclo estral de la rata, tres o más generaciones de cuerpos lúteos pueden estar presentes en el ovario. Pueden distinguirse en relación con su tamaño, vascularización y características de tinción (Freeman, 2006; Yen *et al.*, 2001).

En la etapa del Diestro-1, el cuerpo recién formado alcanza su máximo tamaño que se mantiene a lo largo del Diestro-2 del ciclo siguiente. En el Diestro-2 de ese segundo ciclo, el cuerpo lúteo entra bruscamente en regresión, lo que coincide con el cierre de los vasos sanguíneos, la aparición de áreas de degeneración, la infiltración de leucocitos, el aumento en el contenido de 20- α hidroxisteroide deshidrogenasa y el aumento en el contenido de colesterol (Freeman, 2006).

Los cuerpos lúteos que se encuentran presentes en animales sin aparearse se consideran cuerpos lúteos “no funcionales”, debido a que no segretan suficiente progesterona para tolerar respuestas químicas o mecánicas del endometrio al momento de implantarse el blastocisto, por lo que dada la ausencia de células

luteotropas, se secretan grandes cantidades de otra progestina, que es un metabolito de la progesterona; la 20α -hidroxiprogesterona (Freeman, 2006).

Ahora bien, si el animal se aparea y queda preñado o si el cuello uterino recibe algún estímulo, ya sea natural (macho infértil) o artificial, la adenohipófisis secreta cantidades suficientes de una "luteotropina", PRL, para rescatar el cuerpo lúteo y permitirle seguir presente durante varios días más. Si el apareamiento es fértil, la fase lútea persiste todo el período de preñez, es decir, de 20 a 22 días. En caso contrario, si el macho resulta infértil o si el estímulo es artificial, el cuerpo lúteo perdura alrededor de 12 o 14 días; a este periodo se le da el nombre de "pseudopreñez" (Freeman, 2006). La desaparición del cuerpo lúteo se caracteriza por disminución en la síntesis de progesterona (Waddell *et al.*, 1989) y aumento en la muerte celular por apoptosis (Bruce *et al.*, 2001).

La esteroidogénesis lútea es estimulada por la LH y es regulada tanto por la disponibilidad de colesterol en la cadena lateral de la enzima de degradación (citocromo P450scc), como por la tasa de conversión del colesterol a pregnenolona por esta misma enzima (Carlson *et al.*, 1995).

Durante la preñez la síntesis de progesterona total (progesterona y 20α -hidroxiprogesterona (20α -OHP)) disminuye su valor del día 16 hasta la mañana del día 22; antes de ocurrir un nuevo aumento por la tarde de ese mismo día (Waddell *et al.*, 1989). Se ha demostrado que la producción total de progestina en las ratas es un producto de la disminución de la síntesis de la progesterona (Uchida *et al.*, 1970) y aumento de la síntesis de 20α -hidroxiprogesterona (Waddell *et al.*, 1989).

HORMONAS OVÁRICAS

En las células de la granulosa y células luteales se sintetizan péptidos conocidos como inhibinas, activinas y folistatina, que tienen diversas funciones en el tracto reproductivo y son importantes porque el éxito del desarrollo folicular, la ovulación,

fertilización, y eventualmente el desarrollo embrionario, dependen del correcto funcionamiento del hipotálamo, hipófisis y el tracto reproductivo (Yao y Bahr, 1999).

Las inhibinas constituyen una familia de proteínas diméricas formadas por una subunidad α ligada a una de dos subunidades β , β_A o β_B , para dar las principales especies, las inhibinas A y B (Yen *et al.*, 2001). Son hormonas glicoproteínicas heterodiméricas que se producen principalmente en las células de la granulosa y la placenta y cuya función consiste en suprimir la secreción de la FSH. En el folículo, la FSH estimula las células de la granulosa para inducir la secreción de inhibina. Ésta estimulación es disminuida por la GnRH y el EGF, mientras que es aumentada por el IGF-I. La secreción de inhibina β aumenta en forma sostenida durante la fase folicular, y alcanza un aumento simultáneo con el de LH; esto ayuda a frenar la secreción de FSH y asegurar la dominancia del folículo. La cantidad de inhibina α secretada después de la ovulación es mayor que la de la fase folicular. En el ovario suprime la síntesis de andrógenos dependiente de gonadotropinas (Cabero *et al.*, 2010; Kronenberg *et al.*, 2009).

Las activinas son hormonas homodiméricas o heterodiméricas que promueven la replicación del ADN de las células de la granulosa y su proliferación en los folículos de la rata (Cabero *et al.*, 2010; Kronenberg *et al.*, 2009). Esto es elemental, ya que podría explicar cómo un folículo preantral tardío evoluciona a un folículo antral juvenil a partir de una gonadotropina independiente a una gonadotropina dependiente del estado de desarrollo (Muttukrishna *et al.*, 2004).

Las activinas estimulan la secreción de FSH y aumentan su unión a las células de la granulosa e incrementan el estímulo para la aromatización y secreción de inhibina. Antes de la ovulación, la activina suprime la producción de progesterona en la granulosa, lo que impide la luteinización precoz. También incrementa la acción de la FSH para inducir los receptores de LH en la granulosa (Cabero *et al.*, 2010).

Las activinas no tienen efecto alguno sobre la LH. Se encuentran presentes en el líquido folicular, en medios de cultivo de células de la granulosa y extracto testicular de rata (Rojas, 1992; Yen *et al.*, 2001).

Por su parte, la folistatina actúa como proteína fijadora de las activinas, además de tener la capacidad de fijarse a las glucoproteínas de la superficie celular y participar en el proceso de unión de la activina a sus receptores. Es producida localmente en los tejidos que también producen las activinas y, por lo tanto, parece probable que muestre papeles moduladores cruciales en las acciones de las activinas (Yen y Jaffe, 2001).

La folistatina tiene una estructura similar a la del EGF. Posee una débil acción similar a la inhibina, frenando la liberación de FSH (Cabero *et al.*, 2010; Kronenberg *et al.*, 2009). En la rata, las células indiferenciadas de la granulosa presentan menor cantidad de folistatina en comparación con las células de folículos más desarrollados, lo que sugiere que la presencia de un relativo exceso de activina- α libre que es biológicamente activa (Muttukrishna *et al.*, 2004).

En las distintas glándulas endocrinas (adrenales, ovarios, testículos, placenta) se encuentra el equipo enzimático necesario para la síntesis de los esteroides hormonales a partir del acetato pasando por el colesterol (C 27). El núcleo básico de los esteroides son cuatro anillos aromáticos, tres ciclos hexanos y un ciclo pentano; molécula conocida como ciclopentanoperhidrofenantreno (*Figura 7*). Sobre este núcleo se agregan cadenas laterales que determinan las distintas clases de esteroides (Pedernera, 1993).

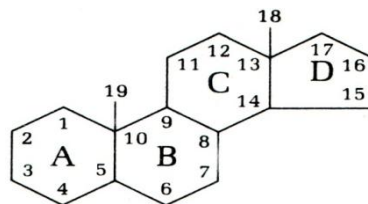


Figura 7: La molécula conocida como ciclopentanoperhidrofenantreno (Tomada de O'Malley y Srtott 2001).

Las células esteroideogénicas obtienen el colesterol a partir de tres fuentes: 1) la sangre, 2) el colesterol almacenado como ésteres en las inclusiones de lípidos del citoplasma y 3) por síntesis “de novo” a partir de acetato (Pedrera, 1993). Las hormonas esteroideas actúan sobre aquellas células que poseen receptores específicos para cada una de las hormonas. Los receptores de las hormonas esteroideas se encuentran en el citoplasma, núcleo y en la membrana plasmática cuya estimulación resulta en la síntesis de proteínas estructurales o de exportación (Domínguez, 1997).

De acuerdo con su actividad biológica, las hormonas esteroideas se clasifican en progestinas, andrógenos y estrógenos:

Progestinas

La biotransformación de colesterol a progesterona implica 3 cambios estructurales en la molécula: pérdida de un fragmento de 6 átomos de carbono de la cadena lateral en el C-17, oxidación del grupo alcohol en el C-3 y migración del doble enlace del anillo B al anillo A (*Figura 8*). La conversión colesterol-progesterona a nivel mitocondrial es selectivamente activada mediante hormonas tróficas de naturaleza peptídica: LH en ovario, hormona coriónica humana (hCG) en placenta y hormona adrenocorticotrófica (ACTH) en corteza adrenal. La formación de progesterona a partir de pregnenolona requiere al inicio la deshidrogenación del grupo alcohólico (β) en el C-3, formándose la 5-pregнено-3,20 diona. Subsecuentemente, por medio de un proceso de isomerización de este compuesto, que implica la migración del doble enlace 5-6 a la posición 4-5, se forma la progesterona. Estos 2 procesos se catalizan mediante 2 enzimas de localización microsómica muy estrechamente relacionadas entre sí que son, la Δ^5 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa dependiente de NADPH y la V3 cetoesteroide Δ^4 - Δ^5 -isomerasa (Hicks, 2006).

Las progestinas reducen la actividad proliferativa de los estrógenos sobre el epitelio vaginal y convierten el epitelio uterino de proliferativo a secretor, preparándolo para la implantación del óvulo fecundado. Además, reducen el flujo sanguíneo periférico lo que disminuye la pérdida de calor de modo que la temperatura corporal tiende a aumentar durante la fase lútea del ciclo (Murray, 1994).

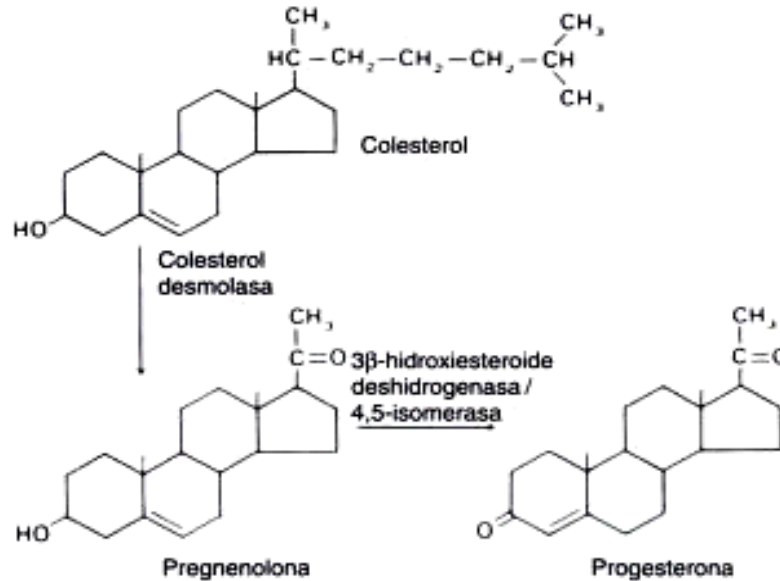


Figura 8: Transformación del colesterol en progesterona (Tomada de Campbell, 2006).

Andrógenos

La pregnenolona y la progesterona son convertidas en dehidroepiandrosterona (DHEA) y androstenediona, respectivamente. Estos metabolitos son transformados en testosterona. Las células teco-intersticiales de los folículos son la fuente principal de andrógenos ováricos. En el sistema nervioso central (SNC), algunas células poseen el complejo enzimático de aromatización, por lo que convierte a los andrógenos en estrógenos (Domínguez, 1997; Yao y Bahr, 1999).

Estrógenos

La biosíntesis de estrógenos se realiza a partir de acetato, utilizando el colesterol, androstendiona y testosterona como intermediarios obligatorios. A partir de los andrógenos, la biosíntesis de estrógenos se lleva a cabo a través de una secuencia de reacciones enzimáticas, genéricamente conocida como proceso de aromatización, que implica la transformación del anillo A neutro de los andrógenos en el anillo aromático (fenólico) de los estrógenos.

En todas las especies de animales estudiadas, el folículo ovárico es el sustrato anatómico más importante de la síntesis de 17β -estradiol, que es el estrógeno que presenta mayor potencia biológica. La biotransformación de los andrógenos a estrógenos (aromatización) requiere tres oxidaciones consecutivas, cada una de las cuales consume un mol de oxígeno y un mol de NADHP. Este proceso que se inicia con la hidroxilación enzimática en el carbono-19, constituye el paso limitante y se cataliza por medio de la 19-esteroidehidroxilasa de localización microsómica. A continuación se introduce un segundo grupo hidroxilo, con la consecuente eliminación estereoespecífica de un átomo de hidrógeno (19-pro R), y por la pérdida de una molécula de agua, el diol formado se transforma en un 19-aldehído. Finalmente, el anillo A es aromatizado con la subsecuente remoción del carbono 19, que se elimina como ácido fórmico (*Figura 9*) (Hicks, 2006).

Los estrógenos estimulan el desarrollo de los tejidos que intervienen en la reproducción. En general, estas hormonas aumentan el tamaño y número de células al incrementar la velocidad de la síntesis de proteínas, RNAr (Ácido ribonucléico ribosomal), RNAt (Ácido ribonucléico de transferencia), RNAm (Ácido ribonucléico mensajero), y DNA (Ácido desoxirribonucléico). Bajo el estímulo estrogénico, el epitelio vaginal prolifera y se diferencia, el endometrio uterino prolifera y las glándulas sufren hipertrofia y alargamiento; el miometrio desarrolla una motilidad rítmica e intrínseca (Murray, 1994).

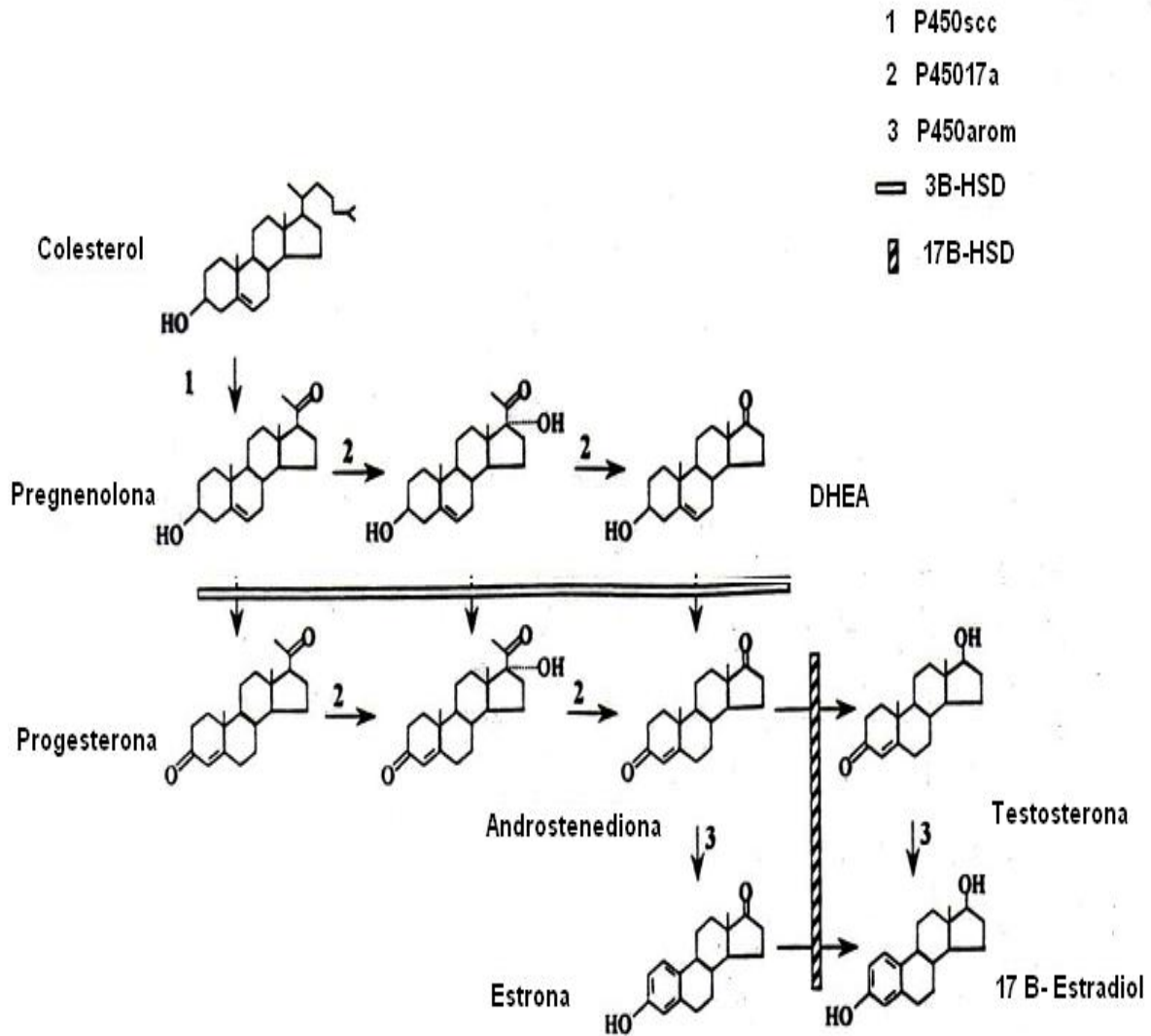


Figura 9: Vía de síntesis de las hormonas esteroides en el ovario (Tomada de Hinshelwood, 1999).

La esteroidogénesis del ovario es función propia de las células de la granulosa y de la teca interna. En las células de la teca interna se lleva a cabo la síntesis de progesterona, androstenediona y testosterona en respuesta a la LH, mientras que en las células de la granulosa se sintetizan el estradiol y la estrona en respuesta a la FSH (conocida como la teoría de la doble célula doble hormona, *Figura 10*). Ambas gonadotropinas realizan sus funciones al inducir en sus células la activación del

adenosín monofosfato cíclico (AMPc) (Baulieu, 1972; Best, 2003; Neyro, 2007; Yao y Bahr, 1999).

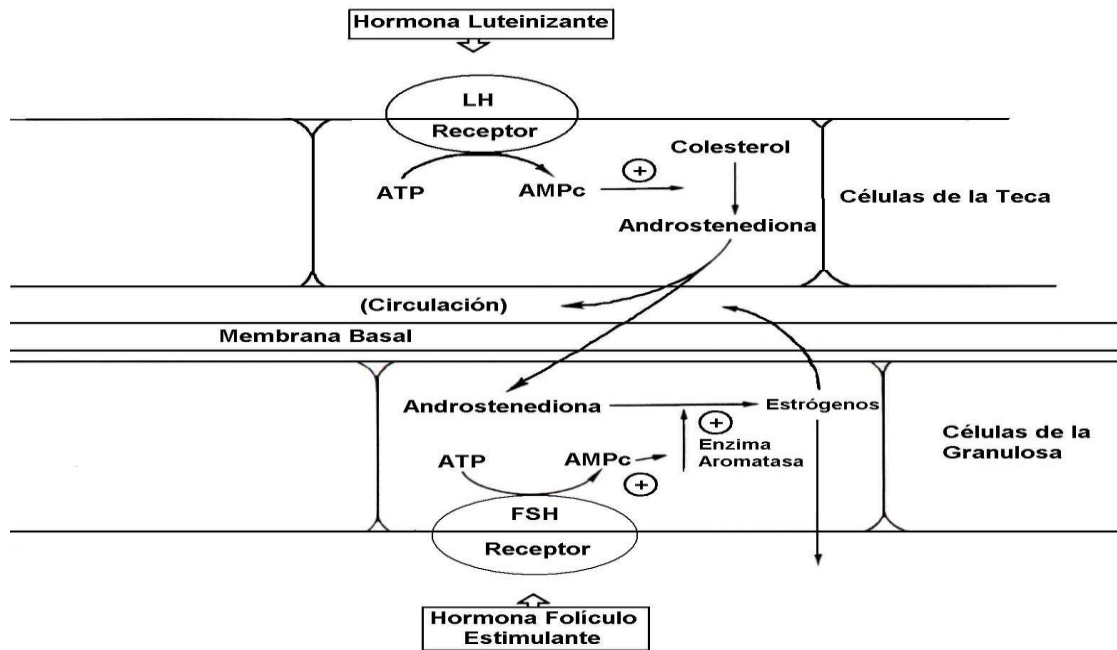


Figura 10: Teoría de la doble célula doble hormona en la esteroidogénesis folicular. La LH se une a receptores de membrana específicos sobre células de la teca interna y estimula la producción de AMPc y la conversión de colesterol a androstenediona y testosterona. Estos andrógenos se esparcen dentro de la circulación y a través de la membrana basal dentro de las células de la granulosa. La FSH se une a receptores de membrana específicos sobre las células de la granulosa y estimula la producción de AMPc, que estimula el incremento de la enzima aromatasa y la conversión de andrógenos a estrógenos (Modificado de Yao y Bahr, 1999).

Las concentraciones de estradiol aumentan de manera gradual en la primera mitad de la fase folicular y luego lo hace en forma más abrupta, hasta alcanzar concentraciones máximas que preceden y desencadenan la descarga preovulatoria de las gonadotropinas (*Figura 13*). Pequeñas cantidades de 17-hidroxi-progesterona, testosterona, 5-dihidrotestosterona y androstenediona, producidas por las células de la teca interna, también se liberan a la circulación (Best, 2003; Neyro, 2007).

Como respuesta a la estimulación de las gonadotropinas, el factor esteroideogénico tipo 1 (SF-1) actúa como pieza clave para iniciar la transcripción de un grupo de genes esteroideogénicos en las células de la teca. Posteriormente, los dos pasos fundamentales en la formación de estradiol es el ingreso del colesterol en las mitocondrias, promovido por la proteína reguladora aguda de la esteroideogénesis (StAR) en las células de la teca, y la conversión de androstenediona en estrona catalizada por P450arom en las células de la granulosa (Kronenberg *et al.*, 2009).

La síntesis de progesterona en el cuerpo lúteo se inicia horas después de la luteinización, tanto en las células de origen tecal (células pequeñas) como en las provenientes de la granulosa (células grandes). Estas últimas también secretan estradiol (Best, 2003; Neyro, 2007).

Los grandes depósitos de colesterol en el cuerpo lúteo provienen principalmente de las lipoproteínas circulantes y son necesarios para la producción de cantidades muy grandes de progesterona. Las células teca luteínicas poseen receptores de LH y producen androstenediona. El AMPc, el SF-1 y la StAR inducida por LH son los reguladores clave en la biosíntesis de la androstenediona de la teca, que sirve como precursora de la producción de estrógenos en las células vecinas granuloso-luteínicas (Kronenberg *et al.*, 2009).

Las células granuloso-luteínicas del cuerpo lúteo están muy vascularizadas, contienen grandes cantidades de colesterol, tienen niveles elevados de receptores a LH, además de receptores a FSH, y producen grandes cantidades de progesterona, que se regula fundamentalmente por la LH y la StAR. Las células granuloso-luteínicas aromatizan también la androstenediona procedente de la teca, y eventualmente, dan lugar a la formación de estradiol mediante la acción de la FSH y de P450arom. Los mediadores comunes conocidos de la LH y de la FSH en las células luteínicas de la granulosa son el AMPc y el aumento de los niveles de LRH-1 (Kronenberg *et al.*, 2009).

La secreción de las hormonas secretadas por los ovarios y la hipófisis, varía con base en la etapa del ciclo estral de la rata (modelo de estudio de esta tesis).

Eje Hipotálamo-Hipófisis-Ovario

Las funciones del ovario dependen principalmente de la actividad hormonal regida por el funcionamiento del eje hipotálamo-hipófisis-ovario (Caravaca *et al.*, 2003).

El hipotálamo tiene varias funciones: 1) regula al sistema nervioso autónomo (simpático y parasimpático); el cual controla las funciones viscerales, 2) modula los mecanismos que regulan la temperatura corporal, 3) contiene un “reloj biológico” que determina los ritmos biológicos, 4) regula el balance electrolítico, 5) controla las conductas emocionales (miedo, ira, euforia) y 6) modula el despertar motivacional (hambre, sed, agresión y motivación sexual) (Brown, 1994).

De igual forma, el hipotálamo mantiene una comunicación de tipo neuroendocrina con la adenohipófisis, ya que cuenta con células nerviosas llamadas células neurosecretoras que liberan neurohormonas a la circulación hipofisiaria. Las neurohormonas liberadas por el hipotálamo son la hormona liberadora de la tirotrópina (TRH), la GnRH (también llamada hormona liberadora de la hormona luteinizante, LHRH), la hormona liberadora de la hormona de crecimiento (GHRH), la hormona inhibidora de la liberación de la hormona de crecimiento (GHIH), la hormona liberadora de la corticotropina (CRH) y el factor inhibidor de la liberación de la prolactina (PIF) (Arimura, 2000; Brown, 1994; Halász, 2000).

La GnRH es la hormona clave en los mecanismos de regulación de la secreción de las gonadotropinas, que culminan con la secreción de las hormonas gonadales y la producción de gametos. Se trata de un decapeptido cuya estructura primaria es pyroGlu¹-His²- Trp³-Ser⁴- Tyr⁵-Gly⁶-Leu⁷-Arg⁸-PrO⁹-Gly¹⁰-NH₂ (MW 1182.4), que es transportado desde los axones de las neuronas GnRHérgicas (llamadas así porque secretan GnRH) a la eminencia media y liberado al sistema portal hipotálamo-hipofisiario; preferentemente en el surco infundibular (Prieto y

Velázquez, 2002). Dichas neuronas se originan en el bulbo olfatorio y se desplazan hasta el hipotálamo, donde se ubican en el órgano vasculoso de la lámina terminal, en el área preóptica-hipotalámica anterior (POA-AHA) y en el hipotálamo medio (en los núcleos arcuato y ventromedial) (Arimura, 2000; Brown, 1994; Domínguez, 1997; Halász, 2000).

En los roedores, el número de neuronas secretoras de GnRH es variable, desde un promedio de 356 neuronas en el hámster *Djungarian* pos puberal, hasta 560-1,300 células en la rata. Sin embargo, aun cuando el número de estas neuronas varía, el patrón de proyección al rinencéfalo, al sistema límbico y al tallo cerebral es similar en el hámster, en la rata, y el cobayo (Prieto-Gómez, 2002).

La GnRH se libera en forma de pulsos, que pueden ser regulados por señales externas al hipotálamo; tales como las hormonas esteroides. En niñas prepúberes, la frecuencia de estos pulsos es de uno cada 3-4 horas, mientras que en la mujer adulta dicha frecuencia es de un pulso cada 90-100 minutos en la fase temprana folicular y de uno cada 60 minutos en la fase folicular tardía. La naturaleza pulsátil de la secreción de la GnRH resulta en la liberación pulsátil de la LH y FSH (Prieto-Gómez, 2002).

Se ha calculado que la vida media de la GnRH en el humano es menor a 10 minutos. Dado que, la vida promedio de esta hormona es muy corta, resulta difícil medir su actividad, por lo que ésta es valorada a través de la concentración de la LH circulante. Los receptores a la GnRH se encuentran exclusivamente en membranas citoplasmáticas. El principal sitio blanco de esta hormona es el gonadotropo de la adenohipófisis. Sin embargo, receptores a esta hormona se han encontrado en gónadas de rata y de humano, en placenta, en tejido adrenal, algunos tejidos cancerígenos de mama y en el SNC (Prieto-Gómez, 2002).

Debido a las concentraciones plasmáticas tan bajas y a una vida media tan corta de la GnRH, se sugiere que los receptores periféricos a esta hormona son

activados por una síntesis local de la hormona (regulador “autocrino”), más que por aquella liberada del hipotálamo (Prieto-Gómez, 2002).

El control de la función hipofisiaria depende, en gran medida, de sus conexiones nerviosas y vasculares con el hipotálamo (Ruiz, 1988). La vascularización de la hipófisis procede de la arteria hipofisiaria superior, rama de la arteria carótida interna, y consta de dos plexos capilares conectados entre sí por los vasos portales largos que recorren el tallo hipofisiario en sentido descendente. El plexo primario, se origina de una amplia red de capilares provenientes de la arteria hipofisiaria superior que se distribuyen en la eminencia media y cuya función es recoger las neurohormonas liberadas por las terminales nerviosas que proyectan sobre dicha región hipotalámica. El plexo secundario se distribuye por la parte distal de la adenohipófisis y transporta las hormonas adenohipofisiarias a la circulación general a través de las venas hipofisiarias anteriores. El plexo infundibular es el encargado de recoger las hormonas secretadas en la neurohipófisis. Además de proporcionar la vascularización de la neurohipófisis, las arterias hipofisiarias inferiores son el origen de los denominados vasos portales cortos que alcanzan la porción inferior de la adenohipófisis y contribuyen a formar el plexo secundario (*Figura 11*) (Arce *et al.*, 2006).

En comparación con la circulación general, el sistema porta, tiene la ventaja de que en él puede secretarse una cantidad mucho menor de la hormona que permanece concentrada, mientras se transporta directamente a su objetivo para obtener una respuesta dada. Por su parte, una dosis de hormona secretada a la circulación general será rápidamente diluida por el volumen total de sangre. Así, un pequeño número de células neurosecretoras en el hipotálamo puede controlar eficazmente a la adenohipófisis (Silverthorn, 2008).

En los gonadotropos de la rata hembra, sólo en el 37-40% se encuentran las dos hormonas gonadotrópicas, mientras que en el macho este porcentaje se incrementa al 70%. El número absoluto de gonadotropos en la rata hembra adulta no

cambia en la adenohipófisis, sin embargo el patrón de almacenamiento de las ambas hormonas varía de acuerdo a las condiciones fisiológicas del animal. Así, en la rata, el hámster, la oveja y la vaca hay cambios en el número de receptores hipofisarios a la GnRH a través del ciclo estral; son bajos en el Estro y en el Metaestro (o Diestro-1) y aumentan gradualmente en el Diestro-2 y permanecen altos hasta la tarde del Proestro, en donde se alcanzan los niveles más altos, es decir, durante el periodo previo a la secreción preovulatoria de la LH. Después, el número de receptores decrece y se pueden requerir varios días para alcanzar los niveles observados en el Proestro (Prieto-Gómez, 2002).

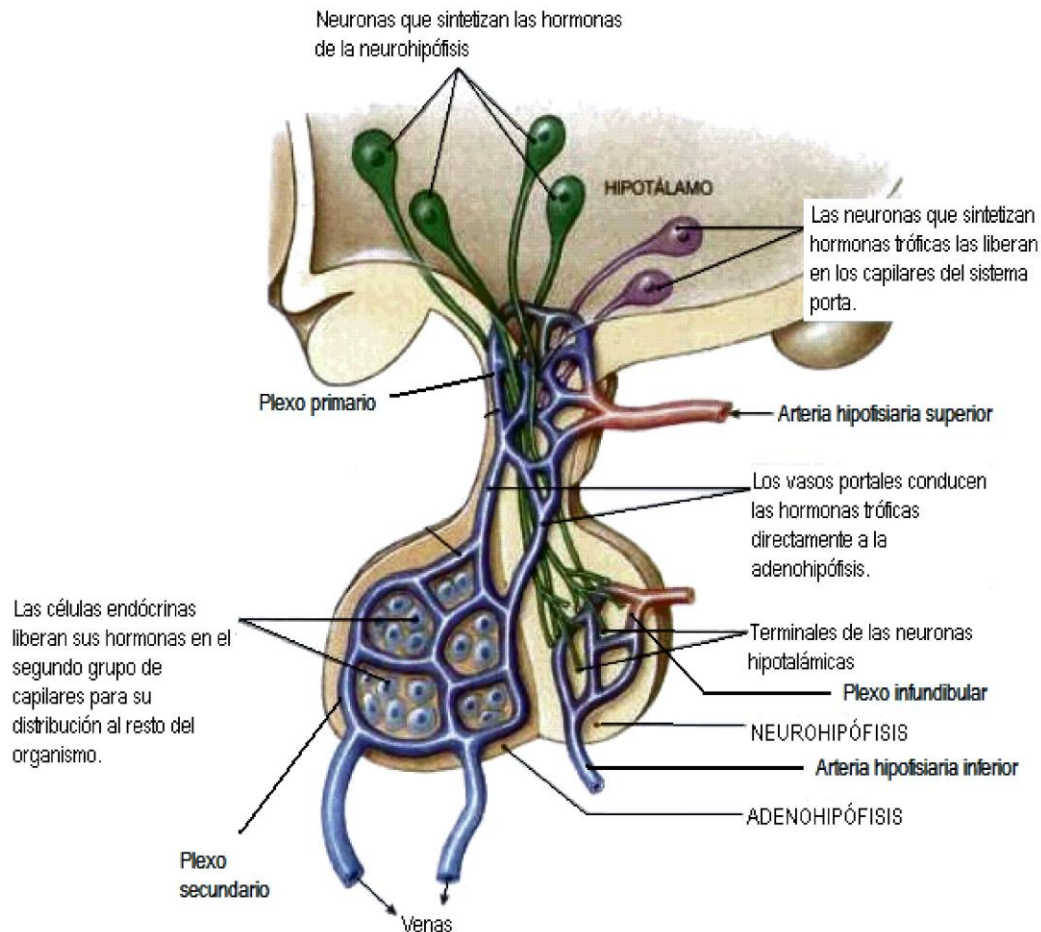


Figura 11: Esquema que muestra la interacción entre el Hipotálamo y la hipófisis: conexiones neurales e irrigación sanguínea (Modificada de Arce *et al.*, 2006; Silverthorn, 2008).

Para evitar la sobreestimulación del ovario y por ende la secreción de gonadotropinas de la adenohipófisis necesita haber un control. Así como en otros sistemas endocrinos, esto es logrado por un mecanismo de retroalimentación inhibitoria, por medio del cual las hormonas secretadas por el ovario actúan como una señal inhibitoria para la unidad hipotálamo-hipófisis, reajustando de esta manera la liberación de GnRH y de las gonadotropinas hipofisiarias. Este mecanismo de retroalimentación inhibitoria está activo a todo lo largo del ciclo reproductivo (Figura 12) (Yao y Bahr, 1999).

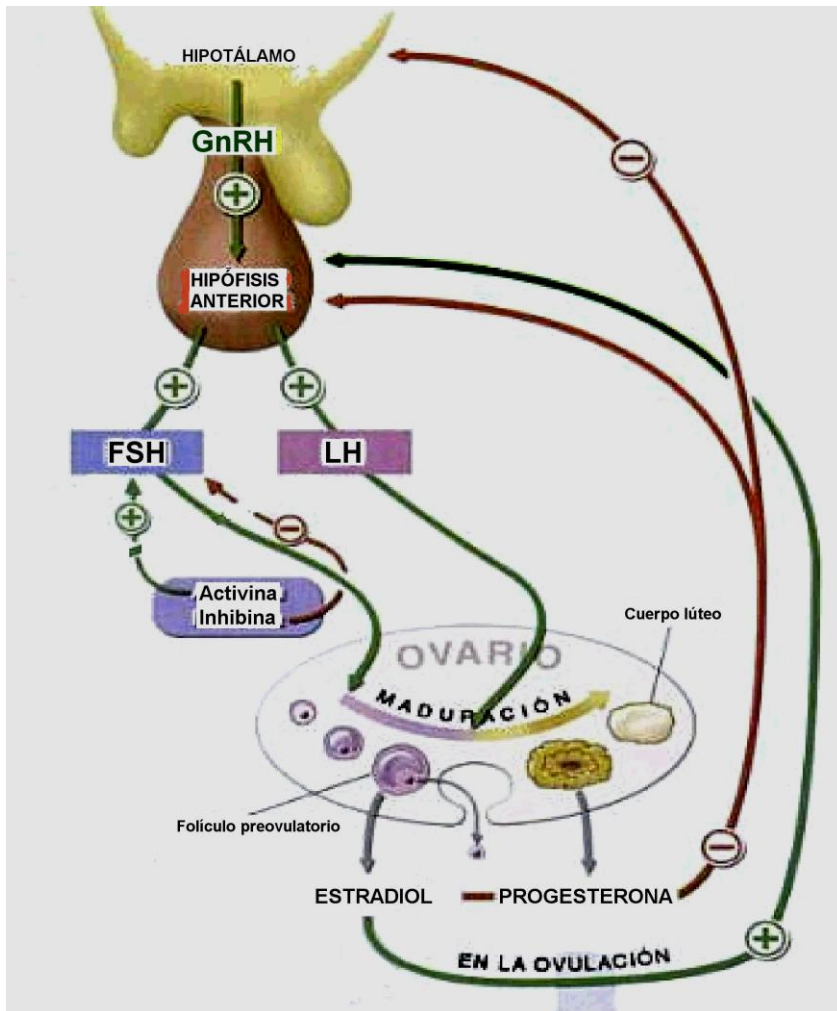


Figura 12: Eje hipotálamo – hipófisis – ovario. El hipotálamo libera la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH), y en la adenohipófisis estimula la secreción de la hormona estimulante del folículo (FSH) y la hormona luteinizante (LH). Estas gonadotropinas llegan a los ovarios y estimulan la secreción de progesterona y 17 β-estradiol. Al mismo tiempo, inhibinas y activinas sintetizadas en las células del folículo ovárico, también regulan la producción de LH y FSH hipofisiarias (Tomada de Mendoza, 2008).

La FSH estimula la maduración folicular, en las células de la granulosa promueve la mitosis, actúa de manera sinérgica con los estrógenos para incrementar el número de sus receptores, refuerza la capacidad de aromatización e induce a los receptores a LH (Yen *et al.*, 2001).

La LH desempeña un papel central en el mantenimiento de la función lútea, además, interviene en la ruptura folicular, promueve la síntesis de andrógenos en las células tecointersticiales, actúa de manera sinérgica con la FSH en las fases más avanzadas del desarrollo folicular y sus pequeños, pero constantes incrementos, son necesarios y suficientes para estimular el crecimiento y desarrollo de los folículos antrales menores hasta el estado preovulatorio (Yen *et al.*, 2001).

Ciclo estral

El ciclo estral de la rata es una cascada de eventos conductuales y hormonales que son progresivos, sincronizados y repetitivos. Durante el ciclo estral existe una interrelación de señales que provienen del medio ambiente (visual, olfatoria, auditiva, etc.), el hipotálamo, la hipófisis, los ovarios y los órganos sexuales accesorios que están bajo el control del SNC, y es lo que da la naturaleza repetitiva al ciclo. La longitud es específica de la especie, ya que puede durar desde cuatro días hasta un año (Kilen y Schwartz, 1999; Schwartz, 2000).

El ciclo estral en la rata hembra se divide en 4 fases que son: el *Proestro* (cuando se inicia el crecimiento y maduración de uno o varios folículos), el *Estro* (etapa en la que la hembra acepta la cópula con el macho), el *Diestro-1* o *metaestro* (periodo de crecimiento del cuerpo lúteo que se forma después de la ovulación) y *Diestro 2* (la fase más larga del ciclo y periodo de inactividad sexual, va desde la madurez del cuerpo lúteo hasta su regresión) (Caravaca *et al.*, 2003).

Con respecto a la ciclicidad de las ratas, se sabe que aquellos animales que muestran un solo ciclo consecutivo de cuatro días de duración, la probabilidad de

que el ciclo subsecuente tenga una duración de cuatro días es de un 70%; después de dos ciclos, la probabilidad es de 94% y después de tres ciclos la probabilidad es de 92% (Tsafiri y Kraiser, 1972).

En el ciclo estral se distinguen dos fases; una fase folicular o estrogénica y una fase luteínica, que constituye dos tercios de la duración total del ciclo estral. La fase folicular consta a su vez de dos fases (Proestro y Estro) y la fase luteínica de otras dos (Metaestro y Diestro) (Caravaca *et al.*, 2003).

Por la tarde del **Metaestro** o **Diestro-1**, y hasta la mañana del Diestro-2, las concentraciones plasmáticas de estradiol comienzan a aumentar, mientras que la secreción de progesterona presenta su primer incremento y disminución en la tarde de este día. Aunado a lo anterior, y por efecto de la secreción de progesterona y estradiol, por parte del cuerpo lúteo, se inhibe la secreción de gonadotropinas (*Figura 13*) (Freeman 2006). En el frotis vaginal hay una vez más sustitución de las células sin núcleo por leucocitos (*Figura 14*) (Frazer, 1969).

Durante el **Diestro-2**, el recién formado cuerpo lúteo de la ovulación anterior ha alcanzado su máximo tamaño y se observa una esteroidogénesis activa acompañada de la formación de tejido fibroso en la cavidad antral que anteriormente se encontraba llena de líquido (Russel, 2008). Siempre y cuando no haya habido fecundación, durante esta fase tiene lugar la regresión del cuerpo lúteo (luteólisis), que se produce por la insensibilidad del cuerpo lúteo a la LH secretada por la adenohipófisis. Cuando hay fecundación, el cuerpo lúteo estimula la secreción de PRL (fase luteotrófica) (Hoar, 1978). El epitelio de la pared vaginal contiene grandes cantidades de pequeñas células llamadas leucocitos o glóbulos blancos normales que se encuentran en la sangre (*Figura 14*) (Frazer, 1969).

Del **Diestro** al **Proestro**, algunos folículos ováricos inician el crecimiento y juntamente con este crecimiento ocurre un aumento y engrosamiento de la pared uterina y especialmente de su capa superficial; el endometrio. Se secretan grandes

cantidades de estradiol por la mañana, sin embargo, por la tarde antes de que llegue el periodo de oscuridad, las concentraciones descienden hasta alcanzar los valores basales propios del inicio del Estro. Esta hormona ejerce ahora un efecto estimulante (retroalimentación estimulante) sobre la secreción de gonadotropinas (Hoar, 1978).

La secreción de testosterona, estimula la secreción continua de FSH durante las primeras horas del Estro (Gay y Tomacari, 1974). Además, a lo largo de todo el ciclo estral, su concentración sérica es semejante a la concentración de estradiol (Dupon y Kim, 1973). La liberación preovulatoria de la LH estimula la ovulación. La secreción de progesterona por su parte, presenta su segundo incremento y disminución durante la tarde del Proestro (*Figura 13*). Los leucocitos desaparecen del frotis vaginal y son sustituidos por células redondas, algo mayores, con grandes núcleos que casi las ocupan por completo (*Figura 14*) (Frazer, 1969; Freeman, 2006).

El **Estro** es la fase en la que los folículos ováricos han alcanzado su crecimiento máximo, se romperán, y los óvulos quedarán liberados en la cavidad del cuerpo o pasarán directamente a las trompas uterinas, según la anatomía de cada animal (Thornton y Finn, 1999).

El Estro se encuentra bajo la influencia de los estrógenos y la progesterona (Thornton y Finn, 1999). La segunda elevación en la concentración de la FSH que se presenta en la madrugada del Estro (*Figura 13*), se debe a la disminución de la secreción de inhibina. Este aumento en la FSH estimula el crecimiento folicular de un nuevo grupo de folículos. Las células que se encuentran en el frotis vaginal son ahora mucho mayores que antes y tienen la forma de láminas aplanadas, sin núcleo y más irregulares (*Figura 14*) (Frazer, 1969; Freeman, 2006; Hoar, 1978).

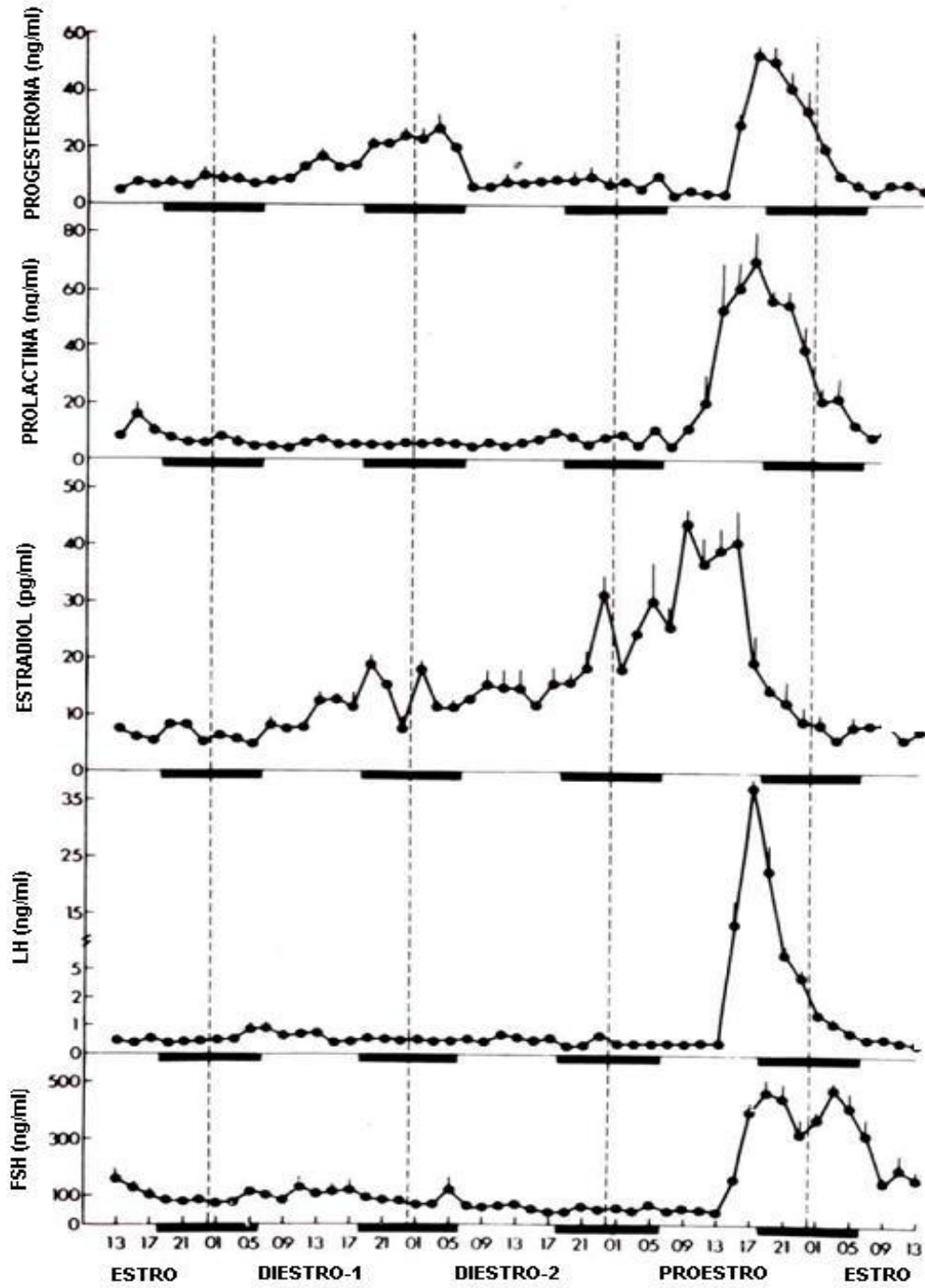


Figura 13. Perfil de las concentraciones plasmáticas de progesterona, prolactina, estradiol, LH y FSH durante los cuatro días del ciclo estral de la rata. Las barras negras representan el periodo de oscuridad en el que se encuentran los animales (18:00 - 06:00 h) (Tomada de Freeman, 1994).

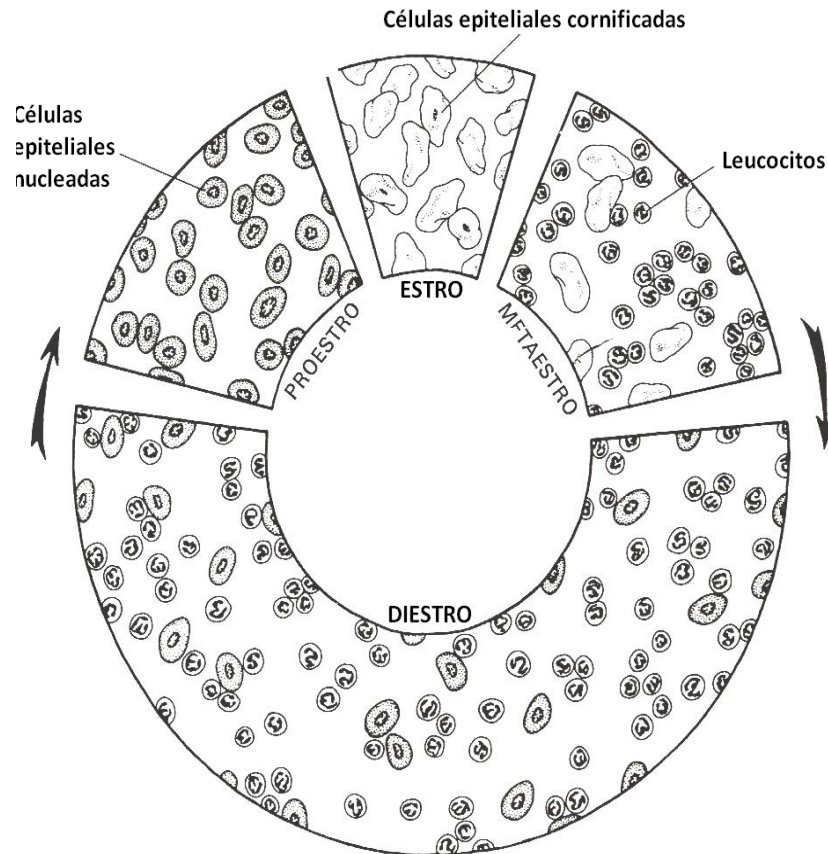


Figura 14: Esquema que muestra las células características del frotis vaginal durante las diferentes etapas del ciclo estral de la rata (Tomado de Hoar, 1978).

El plan corporal de los vertebrados está organizado en tres ejes ortogonales: el anterior-posterior, dorsal-ventral y el izquierda-derecha (LR). Una compleja serie de interacciones genéticas controlan el desarrollo propio del eje LR, lo que lleva posteriormente a la asimetría de los órganos viscerales en el eje LR (Levin, 2005).

ASIMETRÍA OVÁRICA

Hay evidencias de que la mayor parte de los órganos endocrinos pares presentan asimetría. El término asimetría funcional hace referencia a las diferentes respuestas que presentan el órgano derecho y el izquierdo ante el mismo estímulo. Tales

diferencias entre los órganos derecho e izquierdo, pueden observarse en humanos y animales. También se ponen de manifiesto en condiciones patológicas o cuando los animales son sometidos a algún tipo de experimento (Domínguez *et al.*, 2003).

El riego sanguíneo que reciben los ovarios es diferente entre uno y otro; las venas sanguíneas del ovario derecho drenan directamente dentro de la vena cava inferior, mientras que las venas del ovario izquierdo usualmente lo hacen dentro de la vena renal izquierda. Asimismo, el ovario derecho se desarrolla antes que el ovario izquierdo (Gerendai y Halász, 1997).

Existen diferentes pruebas que muestran la asimetría en el control endócrino por parte del hipotálamo hacia el ovario. Algunas de ellas, son proporcionadas por Nance y colaboradores (1984) quienes al inyectar unilateralmente ácido kaínico excitotoxina en el área retroquiasmática del hipotálamo observaron que se bloquea la hipertrofia compensadora ovárica (HCO) si el procedimiento se realiza en el lado ipsilateral a la ovariectomía, es decir, el efecto resulta más evidente si las lesiones y la ovariectomía se efectúan en el lado derecho. Con base en sus resultados, sugieren que la existencia de conexiones nerviosas con las gónadas que modulan la regulación endocrina y que el control hipotalámico del sistema endocrino puede estar organizado asimétricamente.

Algunas de las asimetrías, morfológicas, neuroquímicas y conductuales son distintas entre la hembra y el macho lo que hace suponer que las hormonas sexuales son elementos importantes en el establecimiento de estas diferencias entre el lado izquierdo y el derecho del cerebro (Cruz *et al.*, 2001).

La regulación endócrina de las funciones reproductivas en el lado derecho de las estructuras neuronales juegan un papel predominante (esta tendencia es más evidente en el hipotálamo), al mismo tiempo que el hemisferio derecho juega un papel preponderante en el control del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (Gerendai y Halász, 2001).

Morán y colaboradores (2005), analizaron la relación anatómica entre los ovarios y el ganglio celíaco, para lo cual utilizaron el marcador True Blue que fue inyectado en ambos ovarios en cada etapa del ciclo estral. El marcaje obtenido fue mayor cuando la inyección se realizó en el ovario izquierdo el día del Proestro, no así al realizarse el marcaje en el ovario derecho y en cualquier día del ciclo estral. Con base en ello, los autores sugieren una aparente asimetría en la actividad de las conexiones nerviosas entre los ovarios y los ganglios mesentéricos prevertebral celíaco-superior, y que el número de neuronas activas de estas conexiones varía durante el ciclo estral.

Se tienen evidencias de que la perforación del peritoneo del lado izquierdo (PPI) resultó en menor concentración de estradiol en los días del Diestro o Proestro. En los animales con perforación del peritoneo del lado derecho (PPD) en el Diestro-2 se observó mayor concentración de la hormona, pero en Proestro resultó en menor concentración de la misma. Cuando la perforación del peritoneo se realizó en el lado izquierdo y derecho (perforación bilateral del peritoneo: PPB) en los días del diestro, no se observaron diferencias significativas en la concentración de estradiol, mientras que en día del Estro se observó disminución en la concentración de esteroide (Flores *et al.*, 2004; Palafox, 2007).

En los animales que se les realizó la sección del Nervio vago izquierdo se observó alteración de la cuota ovulatoria cuando la cirugía se realizó a las 9:00 h, ya que resultó en disminución de la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados por los animales ovulantes. La sección del Nervio vago derecho no resultó en alteraciones (Zárate *et al.*, 2011).

La extirpación de un ovario es una herramienta experimental que se usa frecuentemente para analizar la existencia de asimetría entre los ovarios. En la rata, el ovario izquierdo libera más ovocitos que el ovario derecho. Cuando se extirpa el ovario izquierdo (ovario derecho *in situ*), la proporción de animales que ovula en el

día del estro es el doble que cuando queda el ovario izquierdo *in situ* (Domínguez *et al.*, 1988).

En los animales con ovariectomía unilateral que mantuvieron el ovario derecho *in situ* la concentración de estradiol en el día del Proestro fue menor respecto a la de los animales con PPI. En los que permaneció el ovario izquierdo *in situ* el resultado dependió del día del ciclo estral en que se realizó la cirugía (Palafox, 2007).

INERVAÇÃO DEL TRACTO REPRODUCTIVO

Es bien sabido que en ambos sexos, las gónadas y otros órganos del sistema reproductivo están inervados por fibras simpáticas y parasimpáticas eferentes que pertenecen al sistema nervioso autónomo. Además, estos nervios poseen fibras aferentes que llevan información al sistema nervioso central (SNC) (Gerendai *et al.*, 2005).

El equipo de Nance, en 1988, mostró que los niveles T13 a L1 de la médula espinal correspondientes al ganglio de la raíz dorsal proporcionan inervación aferente (sensorial) a la parte anterior del tracto reproductivo, mientras que los niveles L6 a S1 la proporcionan a la parte posterior, así como a la vejiga y el recto (*Figura 15*). Del mismo modo, indican que existe una moderada inervación que llega a la bursa del ovario y el peritoneo que lo rodea, pero un número muy limitado de fibras aferentes son las que realmente entran al ovario.

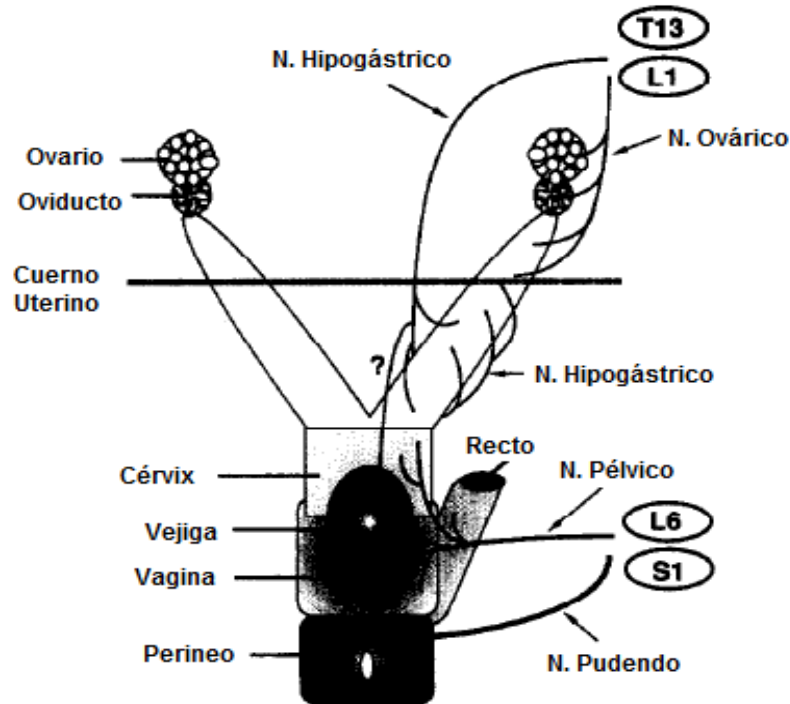


Figura 15: Esquema que ilustra la inervación aferente del aparato reproductor y las vísceras pélvicas de la rata (Tomada de Nance *et al.*, 1988).

Las fibras nerviosas que corren desde y hacia los órganos reproductores de la rata, además de los neurotransmisores convencionales del sistema nervioso autónomo (NA, adrenalina y acetilcolina), contienen otra variedad de neurotransmisores y neuropéptidos como la serotonina, VIP, sustancia P (SP), péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), neuropéptido Y (NPY) y galanina (Gerendai *et al.*, 2005).

Para determinar una posible conexión entre el útero y el cerebro, Ortega y colaboradores (1990) realizaron un estudio con técnicas electrofisiológicas y peroxidasa de rábano (HRP) en ratas adultas en la etapa de Estro. Se les indujo distensión cervico-vaginal para posteriormente monitorear la actividad extracelular del núcleo del tracto solitario y encontraron que la respuesta de las neuronas fue menor durante la distensión cervico-vaginal. De igual forma, realizaron inyecciones

de HRP en las paredes del cuello del útero y en el cuerpo del útero, y hallaron aparición de células marcadas en el ganglio nodoso y en el núcleo motor dorsal del Nervio vago. Con base en lo anterior, demostraron que existe una conexión bidireccional entre el complejo cerebral-útero vía Nervio vago.

Años después, Collings y colaboradores (1999) al utilizar trazadores retrógrados y realizar neurectomías, demostraron que el Nervio vago funciona como un vínculo neural entre el útero y cérvix con el SNC, específicamente con el ganglio nodoso y el núcleo del tracto solitario (*Figura 16*).

INERVACIÓN OVÁRICA

Las funciones de los ovarios no solo son reguladas por las señales químicas provenientes del hipotálamo y la hipófisis, ya que aunado a ello, se ha demostrado que la inervación modula la acción de las gonadotropinas sobre los compartimientos funcionales de las gónadas.

Gerendai y colaboradores (2000, 2002) mostraron la existencia de estructuras cerebrales involucradas en el control de las funciones ováricas. Para ello, inyectaron en el ovario virus de pseudorrabia a ratas con previa vagotomía unilateral y encontraron un marcaje de las neuronas infectadas por el virus que en comparación con los grupos testigo presentaron alteraciones en estructuras como el área postrema, el núcleo del tracto solitario, el complejo dorsal vagal y el núcleo ambiguo.

La inervación extrínseca del ovario está formada por fibras simpáticas, parasimpáticas y sensoriales procedentes de neuronas del sistema nervioso periférico que, a su vez, se encuentran conectadas por medio de vías multisinápticas a las redes neuronales del SNC (D'Albora *et al.*, 2002). Debido a que dos de los principales neurotransmisores de esta inervación, NA y VIP, son potentes estimulantes de la esteroidogénesis ovárica, se ha postulado que la principal función

de la inervación extrínseca consiste en facilitar la producción de hormonas esteroides dentro del ovario (Adashi y Hsueh 1981; Ahmed et al., 1986; Davoren y Hsueh, 1985).

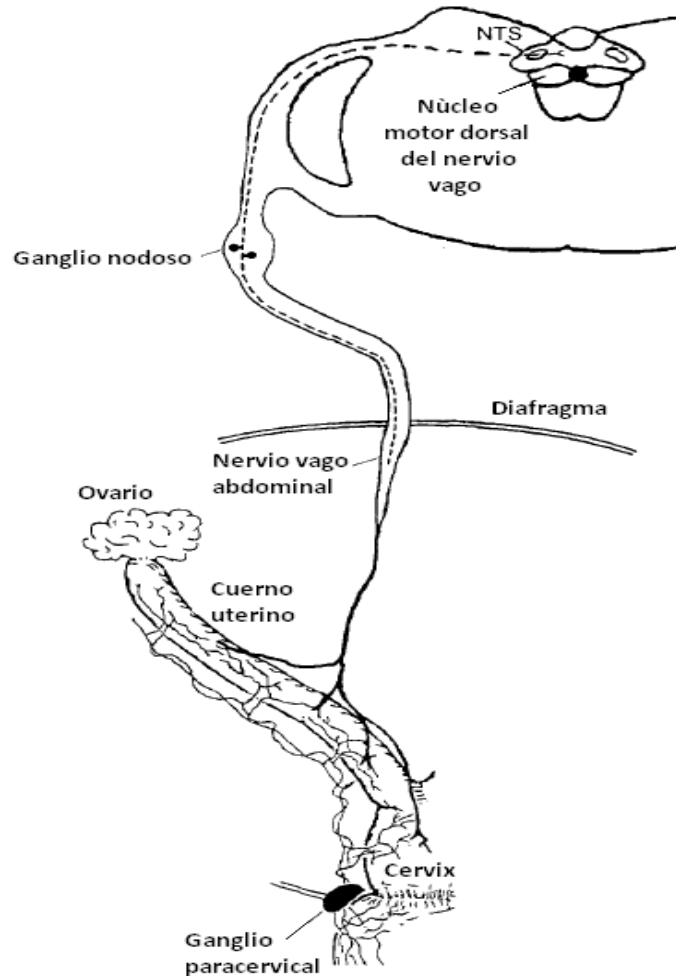


Figura 16: Hemisección de la parte caudal del tallo cerebral, el ganglio nodoso, Nervio vago y el posible curso que recorre este nervio hacia el ovario, útero y cervix. NTS, núcleo del tracto solitario (Tomado de Collings *et al.*, 1999).

La inervación extrínseca también participa en la adquisición de la capacidad de respuesta a gonadotropinas al inicio de la maduración folicular y la regulación de la interacción cíclica entre el eje hipotálamo-hipófisis-ovario durante el ciclo estral (Mayerhofer *et al.*, 1997).

Asimismo, se sabe que el ovario tiene fuentes intrínsecas de neurotransmisores. Entre estas fuentes es posible mencionar a las células de la granulosa de los folículos antrales, quienes sintetizan acetilcolina (Fritz *et al.*, 2001), los ovocitos que producen NA en los ovarios de primates no humanos, así como una red de neuronas situadas en el compartimiento intersticial de la glándula que sintetizan NA (Mayerhofer *et al.*, 1998).

La inervación parasimpática se encuentra constituida por fibras de naturaleza colinérgica postganglionar que llegan al ovario a través de ramas eferentes vagales o del plexo hipogástrico (Burden 1978). Sus somas se encuentran a nivel T10 y T11 de la médula espinal (Gioia, 1996) y sus fibras nerviosas transportan principalmente neurotransmisores como SP, somatostatina y VIP los cuales se encuentran presentes en células del ganglio nodoso y ganglio yugular (Gilbert, 1980).

El 85% de las fibras del Nervio vago son de naturaleza sensorial (Agostoni *et al.*, 1957) y aún cuando no se conoce con exactitud la ubicación de estas fibras dentro del ovario, realizando estudios de radioinmunoanálisis se ha comprobado que la existencia de SP en el ovario de la rata está asociada con folículos antrales, tejido intersticial y vasos sanguíneos; estos últimos le proporcionan una naturaleza varicosa mediante la cual sus fibras penetran en las células de la teca externa de los folículos en desarrollo. Sin embargo, en células de cuerpo lúteo se encuentra totalmente ausente (Dess *et al.*, 1985).

Se cree que la SP a través de sus propiedades vasodilatadoras, está implicada en la regulación del flujo de sangre al ovario. Además se sugiere que la SP puede funcionar como un neurotransmisor aferente baro y quimio-receptor o que regula el nivel de información sensorial en el sistema nervioso (Helke *et al.*, 1980).
Checar información

La somatostatina inhibe la foliculogénesis, mejora los procesos atrésicos y disminuye la actividad proliferativa de las células de la granulosa y de la teca (Nestorovic, 2004).

Las terminales nerviosas que contienen VIP se encuentran presentes en el estroma del ovario y se cree que éste juega un papel fisiológico importante en la regulación de las funciones ováricas, ya que mediante estudios *in vitro* se ha descubierto que el VIP potencia significativamente la estimulación de la esteroidogénesis (Davoren y Hsueh, 1985).

Papel del Nervio vago sobre las funciones de los ovarios

Hill (1972), observó que cuando se realizaban vagotomías transtorácicas se presentaban alteraciones del ciclo estral.

Burden y colaboradores, 1981, mostraron que la vagotomía bilateral en los días del Proestro o Estro resulta en alteración de la longitud del ciclo estral; prolongando la etapa de diestro (10-12 días), y previene la inducción de pseudo-preñez.

Poco después, el grupo de Cruz (1986) realizó un estudio en el cual ratas con vagotomía bilateral e izquierda fueron inyectadas en el día del diestro con 45 ui de FSH de bovino y 56 horas después recibieron 30 ui de LH. Encontraron que no se modificó el número de animales ovulantes. No obstante, la vagotomía bilateral comparada con el grupo testigo y con la vagotomía izquierda resultó en disminución en el número de ovocitos liberados, lo que puede deberse a la reactivación de las funciones ováricas al inyectar FSH y LH después de la vagotomía. De igual manera, encontraron que la sección bilateral del Nervio Vago se tradujo en incremento en la población de folículos preovulatorios en los ovarios. Cuando se realizó la sección unilateral del Nervio vago se observó incremento en el número de folículos preovulatorios, sin embargo, este aumento fue mayor en el ovario derecho. Así, los autores concluyeron que existe incremento en la sensibilidad del ovario a las

gonadotropinas inducido por la vagotomía, que podría estar actuando como inhibidor en la respuesta de los folículos a las gonadotropinas.

Chávez *et al.* (1987), mostraron en ratas adultas que cuando el ovario izquierdo permanece *in situ* y denervado se produce incremento en la HCO, lo que indica que el Nervio vago izquierdo tiene un papel de tipo inhibitorio en dicha función. Ahora, cuando el ovario izquierdo *in situ* permanece inervado, se inhibe la HCO lo que sugiere que el Nervio vago derecho estimula la compensación del ovario izquierdo. Por su parte, cuando el ovario derecho se halla *in situ* y se secciona del Nervio vago ipsilateral se induce la parcial inhibición de la compensación. Contrariamente, en animales con ovario derecho *in situ* y sección del Nervio vago contralateral se reduce la compensación, esto indica que el Nervio vago izquierdo lleva información simultáneamente al Nervio vago derecho.

Burden *et al.* (1986), demostraron que el Nervio vago participa de manera estimulante en la activación folicular cuando la denervación se realiza a nivel abdominal, no así al realizarse a nivel cervical (Burden *et al.*, 1986). Y Trkulja y Lackovic (2001), 30 min después de haber realizado la ovariectomía del lado derecho, realizaron vagotomías bilaterales en el día del Estro y hallaron que la información vagal tiene influencia sobre el crecimiento compensatorio del ovario solo durante un corto periodo posterior a la ovariectomía unilateral (menos de 4.5 horas).

Existen pruebas fisiológicas de la interacción entre los ovarios y las adrenales, las cuales se han explicado siempre por medio de las interacciones endocrinas que juegan las hormonas adrenales y ováricas, así como las interacciones de las hormonas hipotalámicas que regulan la secreción de las hormonas tróficas hipofisarias (Alanís, 2010; Arimura, 2000; Barco *et al.*, 2003; Flores *et al.*, 2008; Jacobs y Pepler, 1980; Meléndez, 2005). Un punto que ha recibido muy poca atención es que las adrenales y los ovarios tienen conexiones nerviosas periféricas que las vinculan entre sí. Esta conexión nerviosa parecería que se realiza a nivel del ganglio celíaco, entre otras regiones nerviosas, centrales y periféricas.

La glándula adrenal recibe inervación preganglionar y postganglionar, las cuales modulan la acción de la ACTH sobre sus células (Roos, 2004). En la médula, una mayor proporción de fibras nerviosas esplénicas son preganglionares y una pequeña proporción de nervios adrenales son postganglionares: los cuerpos celulares postganglionares están en los ganglios autonómicos T4 a T12 incluyendo el ganglio suprarrenal (Tóth *et al.*, 1997). Esto sugiere que la presencia de fibras nerviosas (sensoriales) aferentes desde la corteza adrenal y la médula de la adrenal pueden estar en la raíz del ganglio dorsal. Una pequeña proporción de los nervios aferentes tienen sus cuerpos celulares en el ganglio sensorial vagal (Beck, 1977; Guyton, 2000).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las funciones del ovario son reguladas por señales químicas que provienen del hipotálamo y la hipófisis. Sin embargo, se ha demostrado que los ovarios de la rata reciben información neural simpática, parasimpática, peptidérgica y sensorial que comunican al ovario con el SNC, así como ambas gónadas entre sí.

Pruebas experimentales obtenidas a partir de la sección del Nervio vago sugieren que la inervación parasimpática y sensorial proporcionada por este nervio, modula los mecanismos que regulan las funciones del ovario, las cuales varían en función del día del ciclo estral en que se realiza el tratamiento. Sin embargo, poco se conoce si el Nervio vago izquierdo o derecho manifiestan lateralización y asimetría funcionales en animales con o sin ovariectomía unilateral. Por ello, se propone analizar la respuesta ovulatoria ante la influencia del Nervio vago izquierdo o derecho, partiendo del supuesto de que estos nervios modulan de manera diferente las funciones ováricas.

El análisis experimental de este problema se realizará mediante el estudio de los efectos agudos de la sección uni y bilateral del Nervio Vago a las 9:00 h en animales a los que se les extirpará un ovario (izquierdo o derecho) en los días del Diestro-1 o Diestro-2 de la rata adulta, sobre la tasa de animales ovulantes y número de ovocitos liberados.

HIPÓTESIS

Dado que el Nervio vago inerva al ovario y funciona como vía de comunicación neural entre ellos (los ovarios) y el Sistema Nervioso Central, entonces la denervación producida por la sección uni o bilateral del Nervio vago a las 09:00 h en los días del diestro, afectará la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados en función del día del diestro en que se realice la denervación, de la integridad de la información neural que recibe el ovario por medio del Nervio vago y el ovario *in situ*.

OBJETIVO GENERAL

Analizar la participación del Nervio vago a las 9:00 h en los días del Diestro-1 y del Diestro-2 del ciclo estral de la rata adulta, con o sin ovariectomía sobre la tasa de animales ovulantes, el número de ovocitos liberados y la masa de los ovarios, del útero y de las adrenales.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

En los días del Diestro-1 y Diestro-2:

- a. Analizar si la laparotomía es un factor estresante que altere la ovulación y la masa de los ovarios, del útero y de las adrenales.
- b. Conocer la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados de cada ovario en animales con sección de uni o bilateral del Nervio vago.
- c. Conocer la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo o el derecho en los animales con ovariectomía unilateral.
- d. Analizar la participación de uno o ambos Nervios vago en animales con o sin ovariectomía unilateral sobre la ovulación y la masa de los ovarios, del útero y de las adrenales.

MATERIALES Y MÉTODO

Se utilizaron ratas hembras, adultas, vírgenes, de 3 meses de edad, de la cepa CIIZ-V, mantenidas en condiciones controladas de luz-oscuridad (luz de 05:00-19:00 h) y con libre acceso al agua y alimento (Purina rat chow). Se les realizó frotis vaginal diariamente y únicamente los animales que presentaron 2 ciclos estrales consecutivos de cuatro días de duración (Diestro-1, Diestro-2, Proestro y Estro) fueron utilizados para realizar este estudio. A las 9:00 h de los días de Diestro-1 o Diestro-2 dichos animales fueron repartidos al azar en los siguientes grupos experimentales:

GRUPOS EXPERIMENTALES (n=7)

1. *Grupo de animales Testigo absoluto:* ratas cíclicas intactas (n=7) fueron sacrificadas en el día del Estro vaginal a las 9:00 h para conocer la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados por cada ovario (Figura 17).

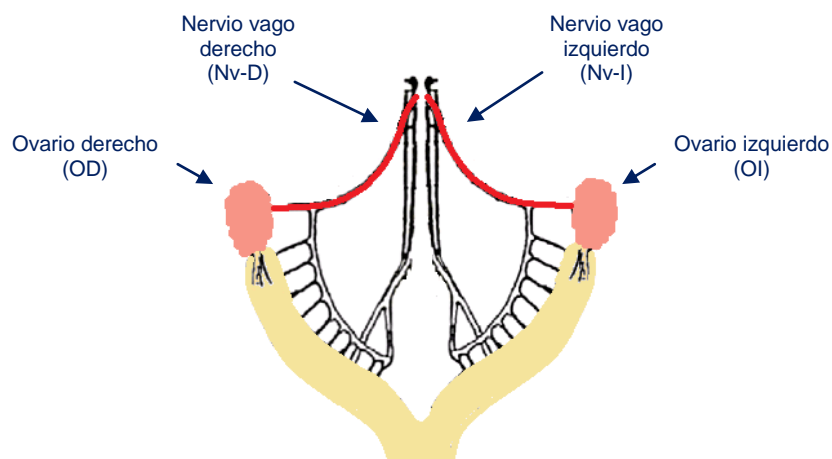


Figura 17: Se muestra que en el animal intacto están los ovarios y el Nervio vago izquierdo y derecho.

2. *Grupo de animales con Laparotomía:* para analizar si laparotomía ventral resulta en alteraciones de la ovulación, en cada día del diestro un grupo de ratas fueron anestesiadas con éter y se les realizó una incisión ventral en el centro de la cavidad peritoneal (aproximadamente 1 cm. por debajo de la última costilla) para cortar la piel, el músculo y el peritoneo; sin tocar los órganos internos. Una vez terminada la laparotomía se procedió a suturar la herida por planos.
3. *Grupo de animales con Sección del Nervio vago (Nv):* con el objetivo de analizar si el Nervio vago a las 09:00 h de cada día del diestro, es una vía neural que modula la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados, a ratas en las mismas condiciones experimentales que el grupo con laparotomía se les seccionó el Nervio vago izquierdo (Nv-I), derecho (Nv-D) o ambos (Nv-B; empezando por el Nervio vago izquierdo) (*Figura 18*).
4. *Grupo de animales con Ovariectomía (Ovx):* para conocer la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados por cada ovario en el día del Estro vaginal, a ratas en las mismas condiciones experimentales que el grupo con laparotomía se les extirpó el Ovario izquierdo (Ovx-I, ovario derecho *in situ*) o el ovario derecho (Ovx-D, ovario izquierdo *in situ*) (*Figura 19*).

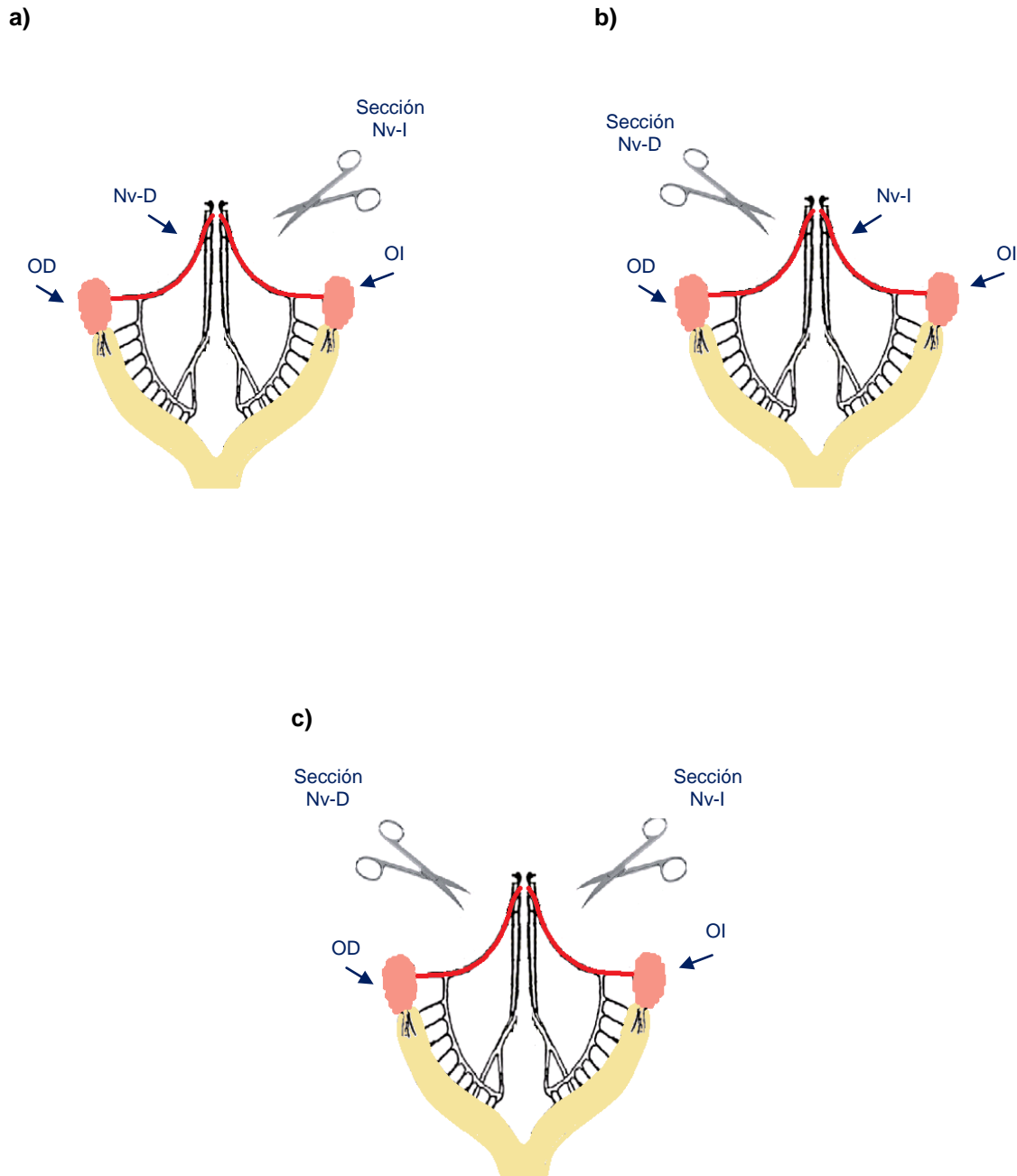


Figura 18: Esquema que muestra la sección a) del Nervio vago izquierdo, b) derecho, o c) de ambos lados, llevadas a cabo en ratas con ambos ovarios.

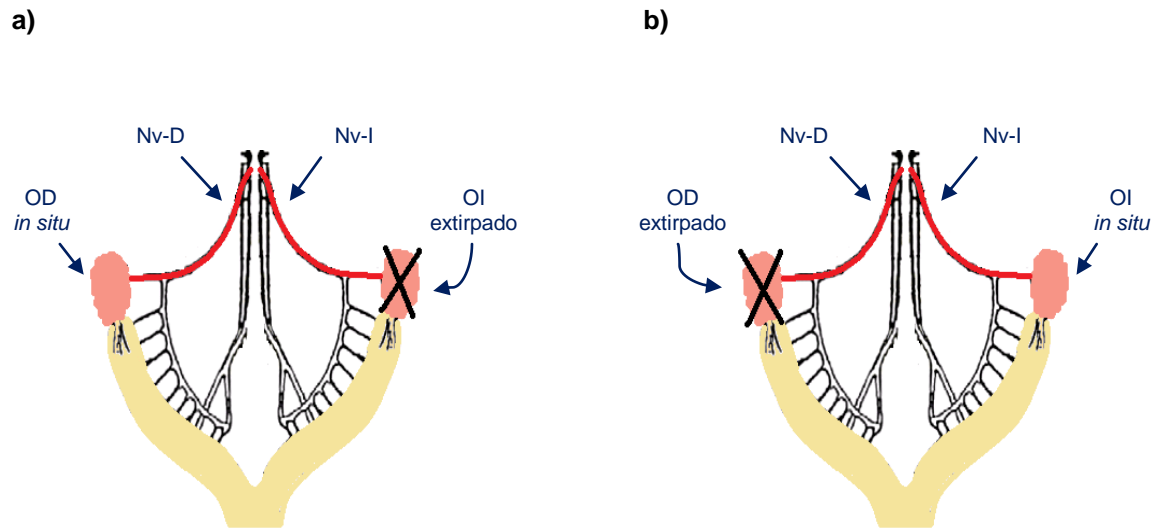


Figura 19: Esquema que muestra la a) Ovariectomía izquierda o b) derecha.

5. *Grupo de animales con ovario in situ inervado:* para analizar la respuesta ovulatoria en animales con el ovario derecho *in situ* inervado por el Nervio vago derecho, se procedió a seccionar el Nervio vago izquierdo y enseguida se procedió a extirpar el ovario ipsilateral a la sección del nervio (Nv-I + Ovx-I). Para analizar si los resultados dependían del orden en que se realizó la cirugía, en otro grupo de animales se extirpó primero el ovario y luego se cortó el nervio (Ovx-I + Nv-I) (Figura 20). Esta operación también se realizó del lado derecho (Nv-D + Ovx-D u Ovx-D + Nv-D) para dejar el ovario izquierdo *in situ* inervado por el Nervio vago izquierdo (Figura 21).

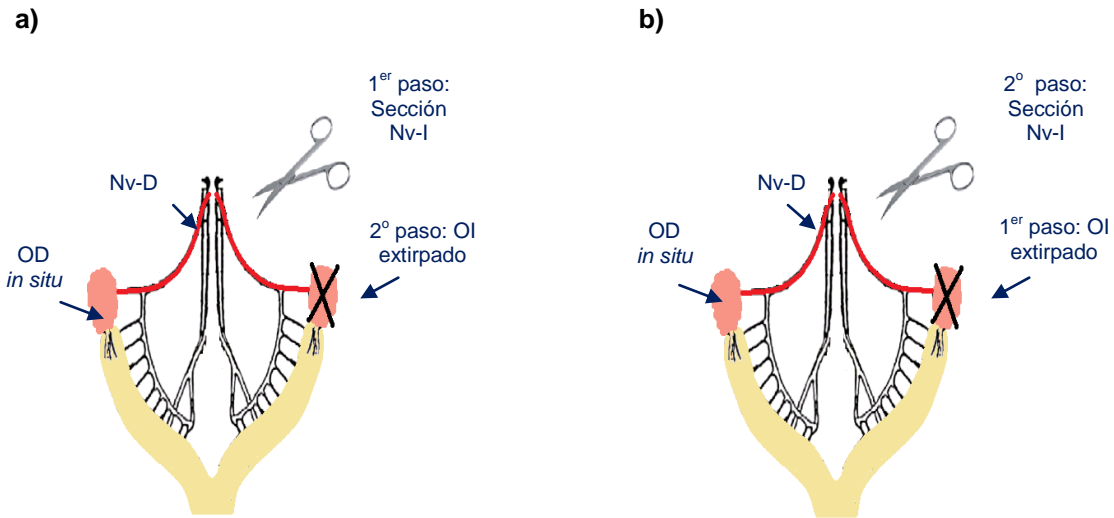


Figura 20: Esquema que muestra en a) la sección del Nervio vago izquierdo seguida de la extirpación del ovario ipsilateral a la sección del nervio (Nv-I + Ovx-I), y en b) la extirpación del ovario izquierdo seguida de la sección del Nervio vago ipsilateral a la extirpación del ovario (Ovx-I + Nv-I), cuya finalidad fue mantener el ovario derecho con inervación vagal.

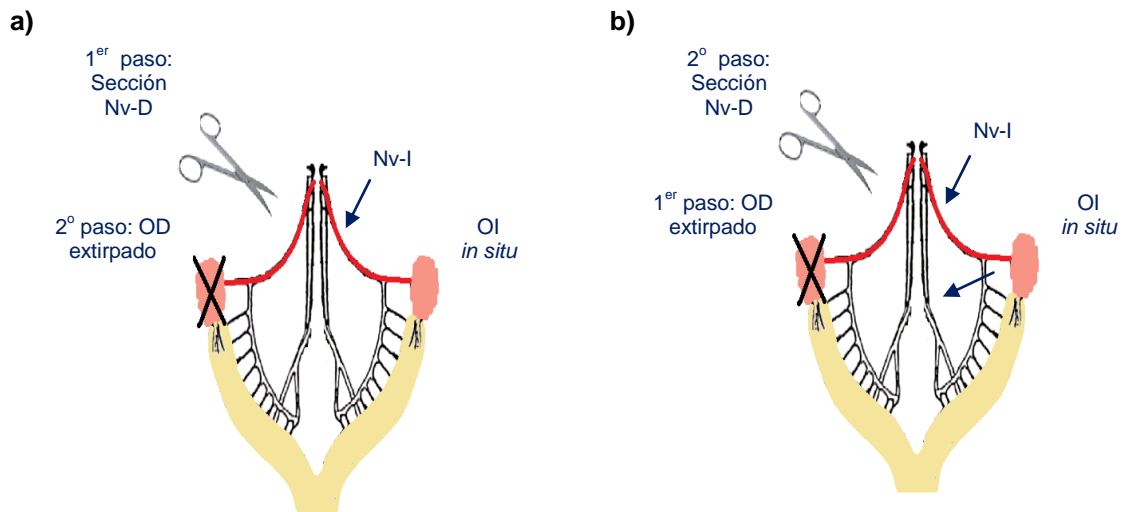


Figura 21: Esquema muestra en a) la sección del Nervio vago derecho seguida de la extirpación del ovario ipsilateral (Nv-D + Ovx-D) y en b) la extirpación del ovario derecho seguida de la sección del Nervio vago ipsilateral (Ovx-D + Nv-D), cuya finalidad fue mantener el ovario izquierdo con inervación vagal.

6. *Grupo de animales con ovario in situ denervado*: para llevar a cabo el análisis de la respuesta ovulatoria en animales con ovario izquierdo *in situ* sin inervación vagal, se procedió a seccionar el Nervio vago izquierdo y enseguida se procedió a extirpar el ovario contralateral (Nv-I+ Ovx-D). Para analizar si los resultados dependían del orden en que se realizó la cirugía, en otro grupo de animales se extirpó primero el ovario y luego se cortó el nervio (Ovx-D + Nv-I) (*Figura 22*). Esta operación también se realizó extirpando el ovario izquierdo (Nv-D + Ovx-I u Ovx-I + Nv-D) (*Figura 23*).

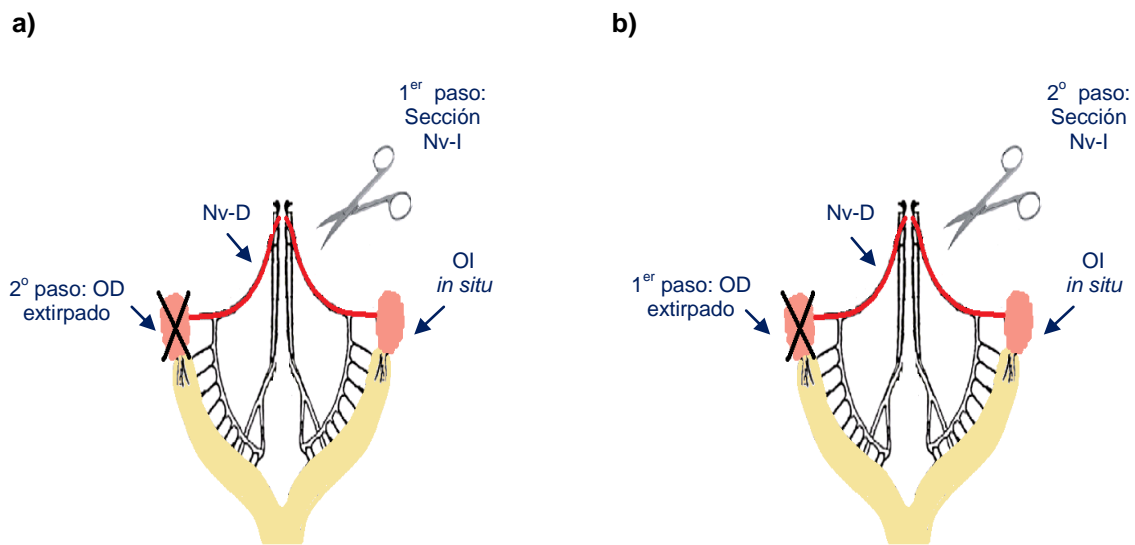


Figura 22: Esquema que muestra en a) la sección del Nervio vago izquierdo seguida de la ovariectomía derecha y en b) la ovariectomía derecha seguida de la sección del Nervio vago izquierdo (contralateral), cuya finalidad fue mantener el ovario izquierdo sin inervación vagal.

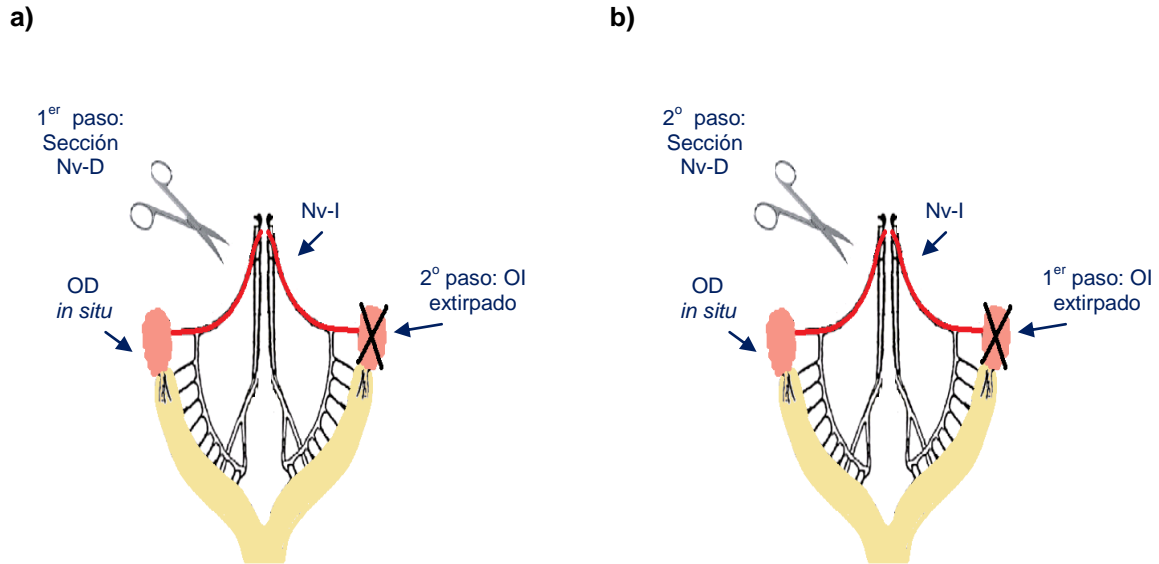


Figura 23: Esquema que muestra en a) la sección del Nervio vago derecho seguida de ovariectomía izquierda y en b) la extirpación del ovario izquierdo seguida de sección del Nervio vago derecho (contralateral), cuya finalidad fue mantener el ovario derecho sin inervación vagal.

7. *Sección bilateral del Nervio vago y ovariectomía unilateral (Nv-B + Ovx):* con el fin de analizar la respuesta ovulatoria en animales con ovario derecho *in situ* y con denervación de ambos Nervios vago, se procedió a seccionar el Nervio vago izquierdo y el Nervio vago derecho y enseguida se procedió a extirpar el ovario izquierdo (Nv-B+ Ovx-I) (Figura 24). Para analizar si los resultados dependían del orden en que se realizó la cirugía, en otro grupo de animales se extirpó primero el ovario y luego se seccionaron los Nervios (Ovx-I + Nv-B). Esta operación también se realizó dejando el ovario izquierdo *in situ* (Nv-B + Ovx-D u Ovx-D + Nv-B) (Figura 25).

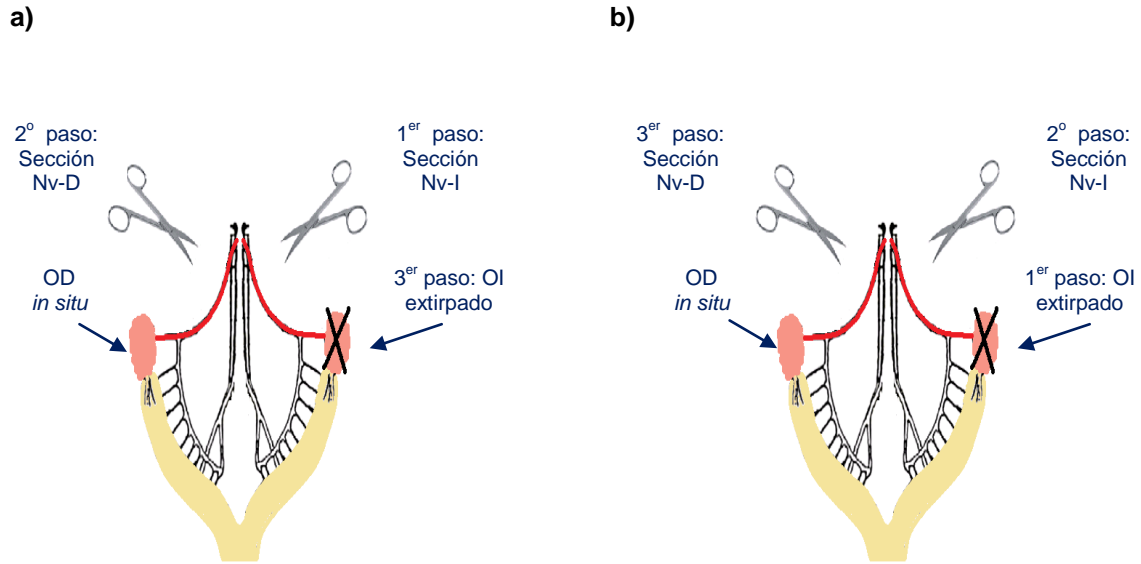


Figura 24: Esquema que muestra en a) la sección bilateral del Nervio vago seguida de ovariectomía izquierda y en b) la Ovariectomía izquierda seguida de la sección bilateral del Nervio vago, cuya finalidad fue mantener el ovario derecho *in situ* sin información vagal.

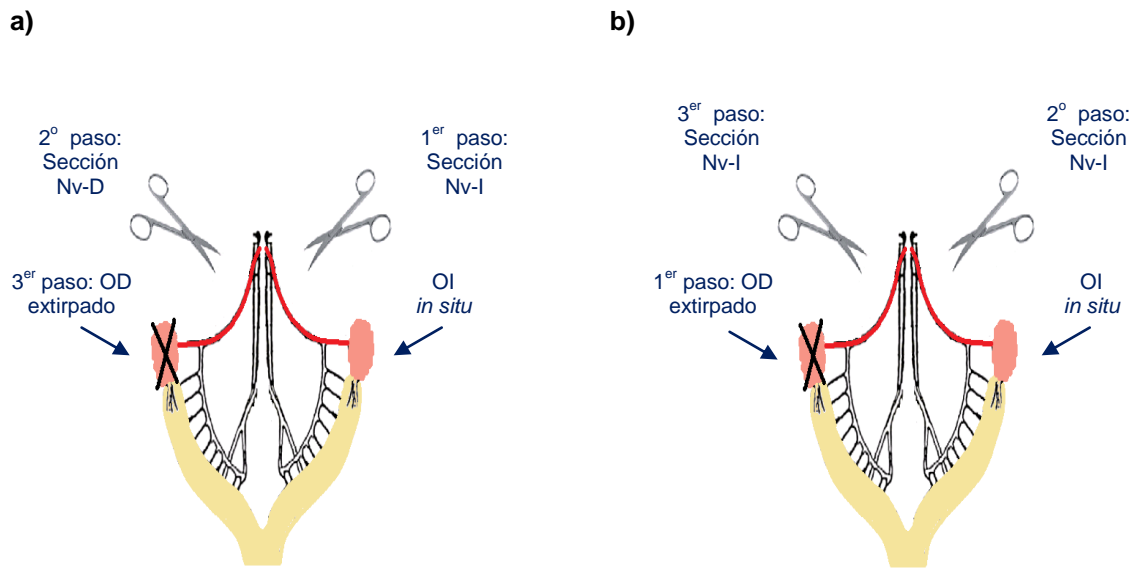


Figura 25: Esquema que muestra en a) la sección bilateral del Nervio vago seguida de ovariectomía derecha y en b) la Ovariectomía derecha seguida de la sección bilateral del Nervio vago, cuya finalidad fue mantener el ovario izquierdo *in situ* sin información vagal.

Procedimiento de autopsia

Una vez que los animales presentaron el Estro vaginal, posterior a la cirugía, se pesaron y fueron sacrificados por decapitación a las 09:00 h.

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

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

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

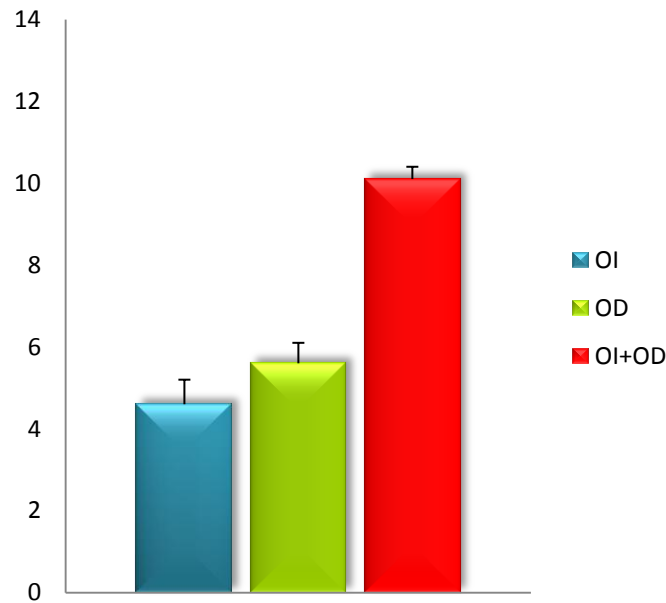
Análisis estadístico

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

RESULTADOS

GRUPO DE ANIMALES INTACTOS

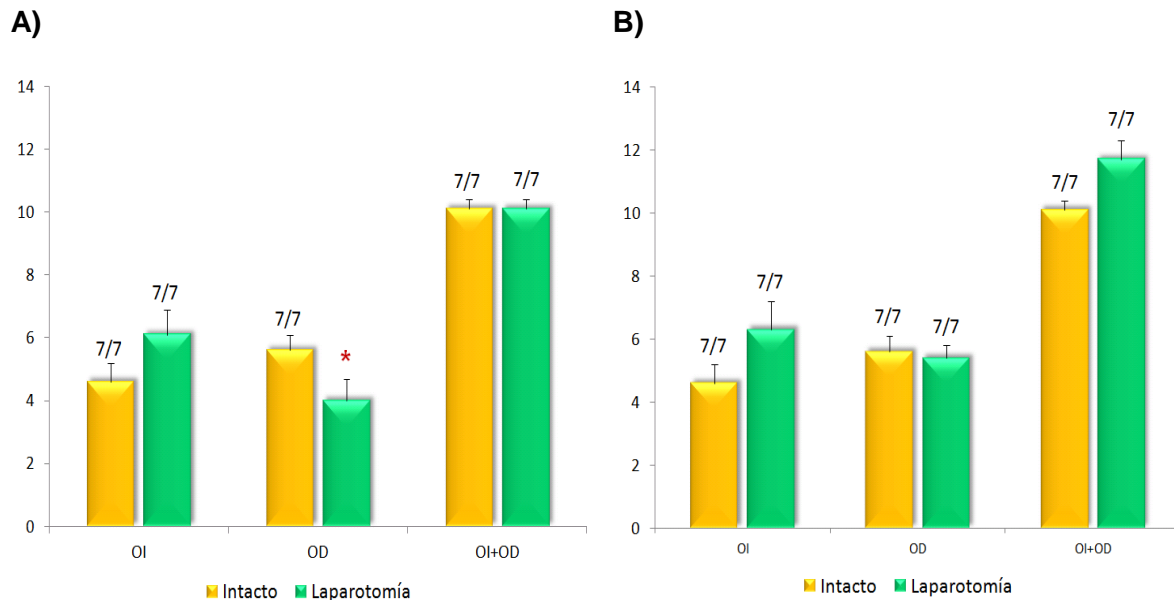
En el día del Estro, en el 100% de los animales se presentó la ovulación y el número de ovocitos liberados fue similar en cada ovario (Gráfica 1).



Gráfica 1: Media ± e.e.m. del número de ovocitos liberados en animales intactos sacrificados a las 9:00 h en el día del estro vaginal.

RESPUESTA OVULATORIA Y MASA DE LOS ÓRGANOS DE LOS ANIMALES CON LAPAROTOMÍA

Los animales que fueron sometidos a laparotomía ventral en el día del Diestro-1 mostraron un menor número de ovocitos liberados por el ovario derecho, mientras que los animales sometidos al mismo tratamiento en el día del Diestro-2 no presentaron cambio alguno respecto a lo observado en animales intactos (Gráfica 2 A y B). Estos resultados se acompañaron de menor masa corporal y mayor masa de la adrenal derecha en los animales tratados en el Diestro-1 (Cuadros 1 y 2).



Gráfica 2: Tasa de animales ovulantes y media ± e.e.m. del número de ovocitos liberados en animales intactos o con laparotomía a las 9:00 h en los días del Diestro-1 (A) y Diestro-2 (B) y que fueron sacrificados a las 9:00 h en el día del estro vaginal.*p<0.05 vs grupo Intacto (Kruskall Wallis seguida de la prueba "U" de Mann-Whitney). OI=ovario izquierdo, OD=ovario derecho, OI+OD=suma de los ovocitos liberados por el ovario izquierdo y el derecho.

Cuadro 1: Media \pm e.e.m. de la masa corporal y de los órganos de los animales intactos o con laparotomía a las 09:00 h en los días del diestro.

Etapa del ciclo estral	Grupo	n	Masa Corporal (g)	Masa ovárica (mg/100 g M.C.)	Útero (mg/100 g M.C.)	Masa Adrenal (mg/100 g M.C.)
Diestro-1	Intacto	7	261.9 \pm 7.1	21.4 \pm 1.2	128.1 \pm 12.7	16.4 \pm 1.5
	Laparotomía	7	235.4 \pm 4.6*	22.6 \pm 1.0	142.6 \pm 10.5	20.9 \pm 1.7
Diestro-2	Intacto	7	261.9 \pm 7.1	21.4 \pm 1.2	128.1 \pm 12.7	16.4 \pm 1.5
	Laparotomía	7	241.6 \pm 7.9	21.0 \pm 0.9	126.4 \pm 10.9	19.5 \pm 1.9

*p<0.05 vs grupo Intacto (Prueba de "t" de Student). M.C.=Masa Corporal.

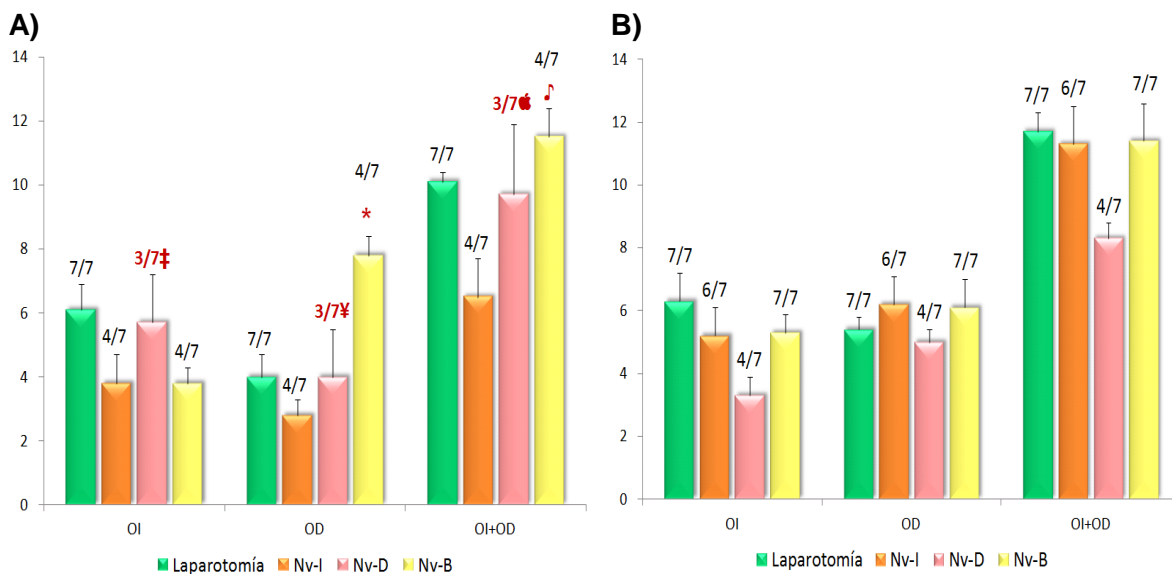
Cuadro 2: Media \pm e.e.m. de la masa de cada ovario y adrenal de animales intactos o con laparotomía a las 09:00 h en los días del diestro.

Etapa del ciclo estral	Grupo	n	Ovario izquierdo (mg/100 g M.C.)	Ovario derecho (mg/100 g M.C.)	Adrenal izquierda (mg/100 g M.C.)	Adrenal derecha (mg/100 g M.C.)
Diestro-1	Intacto	7	10.3 \pm 0.5	11.2 \pm 0.8	8.9 \pm 0.9	7.4 \pm 0.7
	Laparotomía	7	11.3 \pm 0.8	11.3 \pm 0.5	11.2 \pm 1.2	9.7 \pm 0.7*
Diestro-2	Intacto	7	10.3 \pm 0.5	11.2 \pm 0.8	8.9 \pm 0.9	7.4 \pm 0.7
	Laparotomía	7	10.1 \pm 0.9	10.9 \pm 0.8	10.3 \pm 0.9	9.2 \pm 1.2

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

RESPUESTA OVULATORIA Y MASA DE LOS ÓRGANOS DE LOS ANIMALES CON SECCIÓN DEL NERVIIO VAGO

En los animales con sección de ambos Nervios vago en el Diestro-1, se presentó el Estro vaginal 24 horas después de lo esperado, lo que fue acompañado por un incremento en el número de ovocitos liberados por el ovario derecho (Gráfica 3 A) y de la masa corporal respecto a lo registrado en animales con laparotomía (Cuadros 3 y 4). En relación a los resultados de la sección unilateral del Nervio vago, únicamente la sección del Nervio vago derecho resultó en menor TAO (42.86%) en ambos ovarios respecto a lo registrado en animales con laparotomía (Gráfica 3), sin cambios en los demás parámetros cuantificados (Cuadros 3 y 4).



Gráfica 3: Tasa de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados en animales con laparotomía o sección del Nervio vago a las 9:00 h en los días del Diestro-1 (A) y Diestro-2 (B). * $p < 0.05$ vs grupo con Nv-I en Diestro-1, † $p < 0.05$ vs grupo con Nv-I Diestro-1 (Kruskall Wallis seguida de la prueba "U" de Mann-Whitney), ‡ $p < 0.05$ vs grupo con laparotomía en Diestro-1, § $p < 0.05$ vs grupo con laparotomía en Diestro-1, ¶ $p < 0.05$ vs grupo con laparotomía en Diestro-1 (prueba exacta de Fisher "F"). OI=ovario Izquierdo, OD=ovario derecho, OI+OD= ovocitos liberados por el ovario izquierdo y el derecho, Nv-I=sección del Nervio vago izquierdo, Nv-D=sección del Nervio vago derecho, Nv-B=sección de ambos Nervios vago.

Cuadro 3: Media \pm e.e.m. de la masa corporal y de los órganos de los animales con laparotomía o sección del Nervio vago a las 09:00 h en los días del diestro.

Etapa del ciclo estral	Grupo	n	Masa Corporal (g)	Masa ovárica (mg/100 g M.C.)	Útero (mg/100 g M.C.)	Masa Adrenal (mg/100 g M.C.)
Diestro-1	Laparotomía	7	235.4 \pm 4.6	22.6 \pm 1.0	142.6 \pm 10.5	20.9 \pm 1.7
	Nv-I	7	252.0 \pm 5.9	23.8 \pm 1.4	153.2 \pm 8.3	23.4 \pm 3.4
	Nv-D	7	238.6 \pm 5.5	23.9 \pm 1.0	149.2 \pm 9.0	22.5 \pm 0.9
	Nv-B	7	262.9 \pm 10.5*	19.5 \pm 1.4	130.9 \pm 7.7	20.6 \pm 1.8
Diestro-2	Laparotomía	7	241.6 \pm 7.9	21.0 \pm 0.9	126.4 \pm 11.0	19.5 \pm 1.9
	Nv-I	7	239.0 \pm 6.3	19.7 \pm 0.8	125.1 \pm 8.1	22.1 \pm 1.1
	Nv-D	7	232.1 \pm 5.9	22.9 \pm 1.6	143.0 \pm 6.9	22.3 \pm 2.2
	Nv-B	7	219.9 \pm 11.3	24.3 \pm 1.4	146.1 \pm 4.8	26.1 \pm 1.6

* $p < 0.05$ vs grupo con laparotomía (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey). M.C.=Masa corporal, Nv-I=Sección del Nervio vago izquierdo, Nv-D=Sección del Nervio vago derecho, Nv-B=Sección bilateral del Nervio vago.

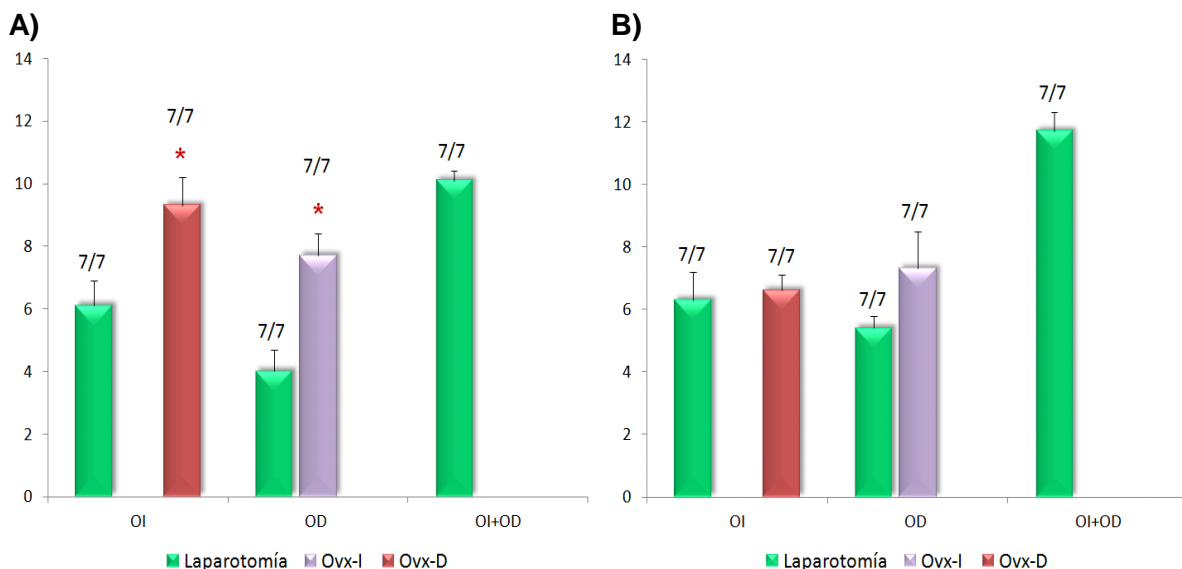
Cuadro 4: Media \pm e.e.m. de la masa de cada ovario y adrenal de animales con laparotomía o sección del Nervio vago a las 09:00 h en los días del diestro.

Etapa del ciclo estral	Grupo	n	Ovario izquierdo (mg/100 g M.C.)	Ovario derecho (mg/100 g M.C.)	Adrenal izquierda (mg/100 g M.C.)	Adrenal derecha (mg/100 g M.C.)
Diestro-1	Laparotomía	7	11.3 \pm 0.8	11.3 \pm 0.5	11.2 \pm 1.2	9.7 \pm 0.7
	Nv-I	7	11.3 \pm 0.9	12.5 \pm 0.7	13.7 \pm 2.9	9.7 \pm 1.1
	Nv-D	7	12.7 \pm 0.8	11.2 \pm 0.5	12.5 \pm 0.8	10.1 \pm 0.3
	Nv-B	7	9.9 \pm 0.8	9.6 \pm 1.0	11.2 \pm 1.5	9.4 \pm 0.8
Diestro-2	Laparotomía	7	10.1 \pm 0.9	10.9 \pm 0.8	10.3 \pm 0.9	9.2 \pm 1.2
	Nv-I	7	9.7 \pm 0.5	10.0 \pm 0.6	11.5 \pm 0.5	10.5 \pm 0.7
	Nv-D	7	11.7 \pm 0.7	11.2 \pm 1.2	11.5 \pm 1.0	10.8 \pm 1.3
	Nv-B	7	12.4 \pm 0.7	11.9 \pm 1.0	13.6 \pm 0.9	12.5 \pm 0.8

Nv-I=sección del Nervio vago izquierdo, Nv-D=sección del Nervio vago derecho, Nv-B=sección de ambos Nervio vago.

RESPUESTA OVULATORIA Y MASA DE LOS ÓRGANOS DE LOS ANIMALES CON OVARIECTOMÍA UNILATERAL

Solamente en Diestro-1, la ovariectomía unilateral resultó en mayor número de ovocitos liberados en cada ovario, respecto a lo observado en animales con laparotomía (Gráfica 4 A). En los animales con ovariectomía izquierda en ambas etapas del diestro no se presentaron alteraciones en la masa corporal o la de los órganos respecto a lo registrado en el grupo con laparotomía, mientras que en aquellos con ovariectomía derecha en el Diestro-2 se presentó aumento de la masa del ovario izquierdo respecto a la del grupo con laparotomía (Cuadros 5 y 6).



Gráfica 4: Tasa de animales ovulantes y media ± e.e.m. del número de ovocitos liberados en animales con laparotomía u ovariectomía unilateral a las 9:00 h en los días del Diestro-1 (A) y Diestro-2 (B) y que fueron sacrificados a las 9:00 h en el día del estro vaginal. *p<0.05 vs grupo con laparotomía, (Kruskall Wallis seguida de la prueba "U" de Mann-Whitney). OI=ovario Izquierdo, OD=ovario derecho, OI+OD=suma de los ovocitos liberados por el ovario izquierdo y el derecho, Ovx-I=ovariectomía izquierda, Ovx-D=ovariectomía derecha.

Cuadro 5: Media \pm e.e.m. de la masa corporal y de los órganos de los animales con laparotomía u Ovariectomía unilateral a las 09:00 h en los días del diestro.

Etapa del ciclo estral	Grupo	n	Masa Corporal (g)	Útero (mg/100 g M.C.)	Masa Adrenal (mg/100 g M.C.)
Diestro-1	Laparotomía	7	235.4 \pm 4.6	142.6 \pm 10.5	20.9 \pm 1.7
	Ovx-I	7	253.6 \pm 8.8	148.1 \pm 5.7	18.0 \pm 1.0
	Ovx-D	7	239.7 \pm 5.2	120.8 \pm 6.2	18.3 \pm 1.0
Diestro-2	Laparotomía	7	241.6 \pm 7.9	126.4 \pm 11.0	19.5 \pm 1.9
	Ovx-I	7	263.4 \pm 11.0	155.8 \pm 13.6	23.2 \pm 1.7
	Ovx-D	7	239.6 \pm 6.1	137.4 \pm 7.5	22.8 \pm 0.9

M.C.= Masa corporal, Ovx-I=ovariectomía izquierda, Ovx-D=ovariectomía derecha.

Cuadro 6: Media \pm e.e.m. de la masa del ovario *in situ* y adrenal de animales con laparotomía u Ovariectomía unilateral a las 09:00 h en los días del diestro.

Etapa del ciclo estral	Grupo	n	Ovario izquierdo (mg/100 g M.C.)	Ovario derecho (mg/100 g M.C.)	Adrenal izquierda (mg/100 g M.C.)	Adrenal derecha (mg/100 g M.C.)
Diestro-1	Laparotomía	7	11.3 \pm 0.8	11.3 \pm 0.5	11.2 \pm 1.2	9.7 \pm 0.7
	Ovx-I	7	extirpado	13.5 \pm 1.1	9.4 \pm 0.7	8.6 \pm 1.0
	Ovx-D	7	12.8 \pm 0.5	extirpado	9.5 \pm 0.5	8.8 \pm 0.7
Diestro-2	Laparotomía	7	10.1 \pm 0.9	10.9 \pm 0.8	10.3 \pm 0.9	9.2 \pm 1.2
	Ovx-I	7	extirpado	13.2 \pm 1.1	12.7 \pm 1.0	10.5 \pm 0.7
	Ovx-D	7	12.9 \pm 0.8*	extirpado	11.9 \pm 0.7	10.9 \pm 0.6

*p<0.05 vs grupo con Laparotomía en Diestro-2 (Prueba de "t" de Student). Ovx-I=ovariectomía izquierda, Ovx-D=ovariectomía derecha.

RESPUESTA OVULATORIA Y MASA DE LOS ÓRGANOS DE LOS ANIMALES CON OVARIO DERECHO INERVADO

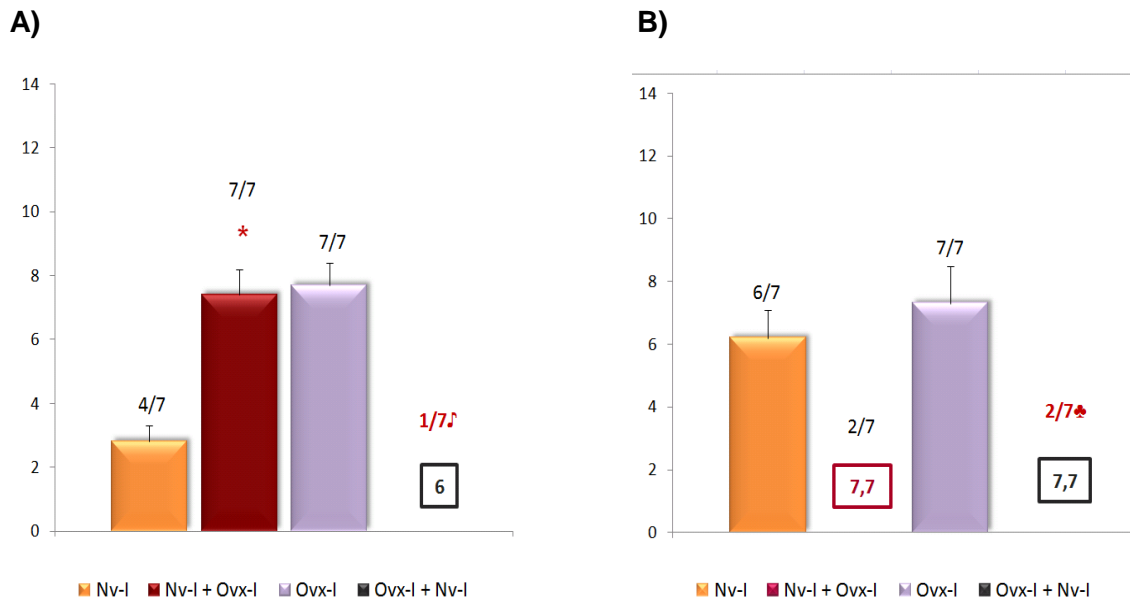
La sección del Nervio vago izquierdo seguida de la ovariectomía izquierda (Nv-I+Ovx-I) en el día del Diestro-1 resulta en mayor número de ovocitos liberados por el ovario derecho *in situ* respecto a lo registrado en animales que solo tenían la sección del Nervio vago izquierdo. En cambio, la operación inversa, es decir ovariectomía izquierda seguida de la sección del nervio vago ipsilateral a la sección resulta en bloqueo de la ovulación en 1/7 animales que fueron sometidos a dicha cirugía, y el animal que ovuló solo liberó seis ovocitos, respecto a lo observado en animales con ovariectomía izquierda (Gráfica 5 A).

Ambos tratamientos experimentales en la etapa del Diestro-2 resultaron en disminución de la TAO, aunque esta disminución solo fue significativa en animales con ovariectomía izquierda seguida de la sección del nervio vago ipsilateral a la sección (Gráfica 5 B).

La Ovariectomía izquierda seguida de la sección del Nervio vago izquierdo (Ovx-I+Nv-I) realizada en Diestro-1 resulta en aumento de la masa de la adrenal izquierda y consecuentemente de la suma de la masa de ambas adrenales, respecto a lo observado en animales con ovariectomía izquierda (Cuadros 7 y 8).

La Ovx-I+Nv-I en Diestro-2 se observa menor masa corporal en comparación con la de los animales que únicamente carecen del ovario izquierdo (Ovx-I) (Cuadros 7 y 8).

Los tratamientos no resultaron en cambios en la masa del útero respecto a la de los animales control (Cuadros 7 y 8).



Gráfica 5: Tasa de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados en ratas con sección del Nervio vago izquierdo y ovariectomía ipsilateral, o con ovariectomía izquierda y sección de Nervio vago ipsilateral a las 9:00 h en los días del Diestro-1 (A) y Diestro-2 (B) y que fueron sacrificados a las 9:00 h en el estro vaginal. * $p < 0.05$ vs grupo con Nv-I en Diestro-1 (Kruskall Wallis seguida de la prueba “U” de Mann-Whitney), ♯ $p < 0.05$ vs grupo con Ovx-I en Diestro-1 (prueba exacta de Fisher “F”), ♣ $p < 0.05$ vs grupo con Ovx-I en Diestro-2 (prueba exacta de Fisher “F”). OD=ovario derecho, Nv-I=sección del Nervio vago izquierdo, Nv-I+Ovx-I= sección del Nervio vago izquierdo seguida de ovariectomía izquierda, Ovx-I=ovariectomía izquierda, Ovx-I+Nv-I= ovariectomía izquierda seguida de sección de Nervio vago izquierdo.

Cuadro 7: Media \pm e.e.m. de la masa corporal y de los órganos de animales con sección del Nervio vago izquierdo, Sección del Nervio vago izquierdo seguida de ovariectomía izquierda, ovariectomía izquierda o con Ovariectomía izquierda seguida de sección de Nervio vago izquierdo a las 09:00 h en los días del diestro.

Etapa del ciclo estral	Grupo	n	Masa Corporal (g)	Útero (mg/100 g M.C.)	Masa Adrenal (mg/100 g M.C.)
Diestro-1	Nv-I	7	252.0 \pm 5.9	153.2 \pm 8.3	23.4 \pm 3.4
	Nv-I+Ovx-I	7	241.3 \pm 4.9	140.7 \pm 11.6	21.5 \pm 3.1
	Ovx-I	7	253.6 \pm 8.8	148.1 \pm 5.7	18.0 \pm 1.0
	Ovx-I+Nv-I	7	240.3 \pm 5.8	148.5 \pm 14.1	25.0 \pm 1.7*
Diestro-2	Nv-I	7	239.0 \pm 6.3	125.1 \pm 8.1	22.1 \pm 1.1
	Nv-I+Ovx-I	7	250.4 \pm 8.2	139.2 \pm 9.0	19.7 \pm 1.1
	Ovx-I	7	263.4 \pm 11.0	155.8 \pm 13.6	23.2 \pm 1.7
	Ovx-I+Nv-I	7	225.0 \pm 9.0 \blacklozenge	136.9 \pm 12.9	24.0 \pm 1.2

* $p < 0.05$ vs grupo con Oxv-I en Diestro-1, $\blacklozenge p < 0.05$ vs grupo con Oxv-I en Diestro-2 (Prueba de "t" de Student). M.C.=Masa corporal, Nv-I= Sección del Nervio vago izquierdo, Nv-I +Ovx-I=Sección del Nervio vago izquierdo seguida de ovariectomía izquierda, Oxv-I=ovariectomía izquierda, Oxv-I+Nv-I=ovariectomía izquierda seguida de sección de Nervio vago izquierdo.

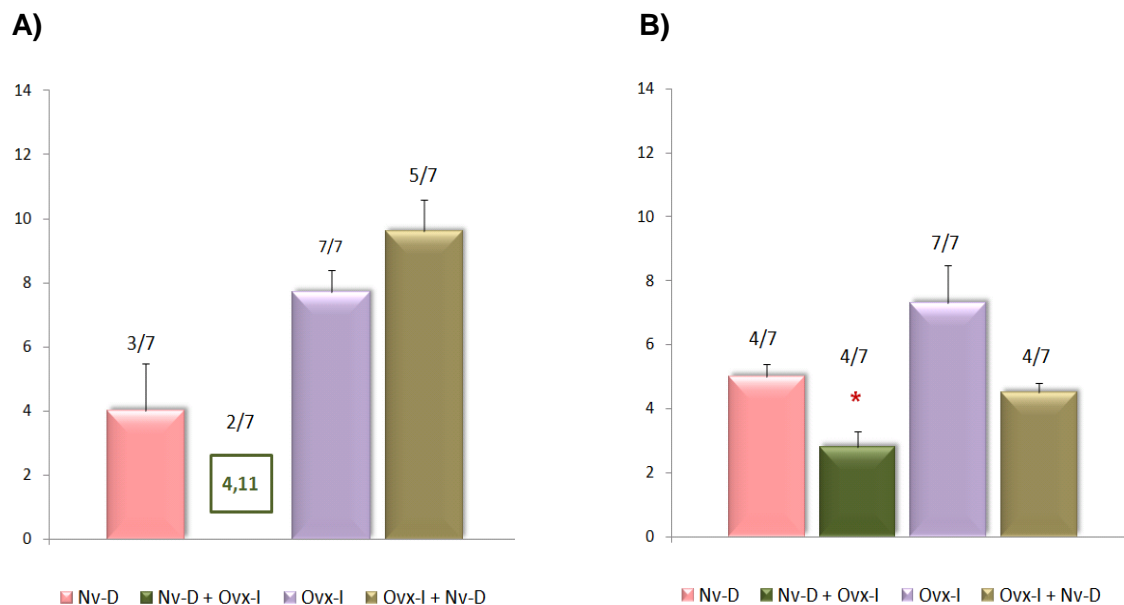
Cuadro 8: Media \pm e.e.m. de la masa del ovario derecho *in situ* y adrenal de animales con sección del Nervio vago izquierdo, Sección del Nervio vago izquierdo seguida de ovariectomía izquierda, ovariectomía izquierda o con Ovariectomía izquierda seguida de sección de Nervio vago izquierdo a las 09:00 h en los días del diestro.

Etapa del ciclo estral	Grupo	n	Ovario derecho (mg/100 g M.C.)	Adrenal izquierda (mg/100 g M.C.)	Adrenal derecha (mg/100 g M.C.)
Diestro-1	Nv-I	7	12.5 \pm 0.7	13.7 \pm 2.9	9.7 \pm 1.1
	Nv-I+Ovx-I	7	11.9 \pm 0.8	12.7 \pm 3.1	8.8 \pm 1.0
	Ovx-I	7	13.5 \pm 1.1	9.4 \pm 0.7	8.6 \pm 1.0
	Ovx-I+Nv-I	7	12.6 \pm 1.1	13.4 \pm 0.9*	11.6 \pm 1.1
Diestro-2	Nv-I	7	10.0 \pm 0.6	11.5 \pm 0.5	10.5 \pm 0.7
	Nv-I+Ovx-I	7	10.9 \pm 1.0	10.4 \pm 0.5	9.3 \pm 0.8
	Ovx-I	7	13.2 \pm 1.1	12.7 \pm 1.0	10.5 \pm 0.7
	Ovx-I+Nv-I	7	14.2 \pm 1.0	12.9 \pm 0.5	11.1 \pm 0.9

* $p < 0.05$ vs grupo con Oxv-I en Diestro-1 (prueba de "t" de Student). Nv-I=sección del Nervio vago izquierdo, Nv-I+Ovx-I= sección del Nervio vago izquierdo seguida de ovariectomía izquierda, Oxv-I= ovariectomía izquierda, Oxv-I+Nv-I= ovariectomía izquierda seguida de sección de Nervio vago izquierdo.

RESPUESTA OVULATORIA Y MASA DE LOS ÓRGANOS DE LOS ANIMALES CON OVARIO DERECHO DENERVADO

En la Gráfica 6 B se observa que únicamente la sección del Nervio vago derecho seguida de la Ovariectomía izquierda (Nv-D+Ovx-I) en el día del Diestro-2 resultó en menor número de ovocitos liberados por el ovario derecho *in situ*. En contraste, el tratamiento inverso (Ovx-I+Nv-D), realizado en ambos días del diestro, no produjo alteraciones en la tasa de animales ovulantes o en el número de ovocitos liberados (Gráfica 6 A y B).



Gráfica 6: Tasa de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados en animales con sección del Nervio vago derecho, sección del Nervio vago derecho seguida de ovariectomía izquierda, ovariectomía izquierda o con ovariectomía izquierda seguida de sección de Nervio vago derecho a las 9:00 h en los días del Diestro-1 (A) y Diestro-2 (B). *p<0.05 vs grupo con Nv-D en Diestro-2 (Kruskall Wallis seguida de la prueba "U" de Mann-Whitney). OD=Ovario derecho, Nv-D=sección del Nervio vago derecho, Nv-D+Ovx-I=sección del Nervio vago derecho seguida de ovariectomía izquierda, Ovx-I=ovariectomía izquierda, Ovx-I+Nv-D=ovariectomía izquierda seguida de sección de Nervio vago derecho.

La masa de la adrenal izquierda y consecuentemente de la masa de ambas adrenales es mayor en los animales con Ovariectomía izquierda seguida de sección del Nervio vago derecho (Ovx-I+Nv-D) en el día del Diestro-1 (Cuadros 9 y 10).

En los animales con sección del Nervio vago derecho seguido de ovariectomía contralateral a la sección (Nv-D+Ovx-I) en el Diestro-2, solo se registró menor masa corporal (Cuadro 9).

Cuadro 9: Media \pm e.e.m. de la masa corporal y de los órganos de animales con sección del Nervio vago derecho, sección del Nervio vago derecho seguida de ovariectomía izquierda, ovariectomía izquierda o con ovariectomía izquierda seguida de sección de Nervio vago derecho a las 09:00 h en los días del diestro.

Etapa del ciclo estral	Grupo	n	M.C. (g)	Útero (mg/100 g M.C.)	Masa Adrenal (mg/100 g M.C.)
Diestro-1	Nv-D	7	238.6 \pm 5.5	149.2 \pm 9.0	22.5 \pm 0.9
	Nv-D+Ovx-I	7	229.7 \pm 8.3	137.5 \pm 12.8	21.1 \pm 1.7
	Ovx-I	7	253.6 \pm 8.8	148.1 \pm 5.7	18.0 \pm 1.0
	Ovx-I+Nv-D	7	244.7 \pm 6.6	134.2 \pm 5.5	23.5 \pm 1.4*
Diestro-2	Nv-D	7	232.1 \pm 5.9	143.0 \pm 6.9	22.3 \pm 2.2
	Nv-D+Ovx-I	7	251.3 \pm 4.5 [♠]	167.3 \pm 12.5	24.6 \pm 1.2
	Ovx-I	7	263.4 \pm 11.0	155.8 \pm 13.6	23.2 \pm 1.7
	Ovx-I+Nv-D	7	242.9 \pm 5.5	140.0 \pm 3.9	22.6 \pm 0.4

*p<0.05 vs grupo con Ovx-I en Diestro-1, [♠]p<0.05 vs grupo con Nv-D en Diestro-2 (prueba de "t" de Student). M.C.=Masa corporal, Nv-D=sección del Nervio vago derecho, Nv-D+Ovx-I=sección del Nervio vago derecho seguida de ovariectomía izquierda, Ovx-I=ovariectomía izquierda, Ovx-I+Nv-D=ovariectomía izquierda seguida de sección de Nervio vago derecho.

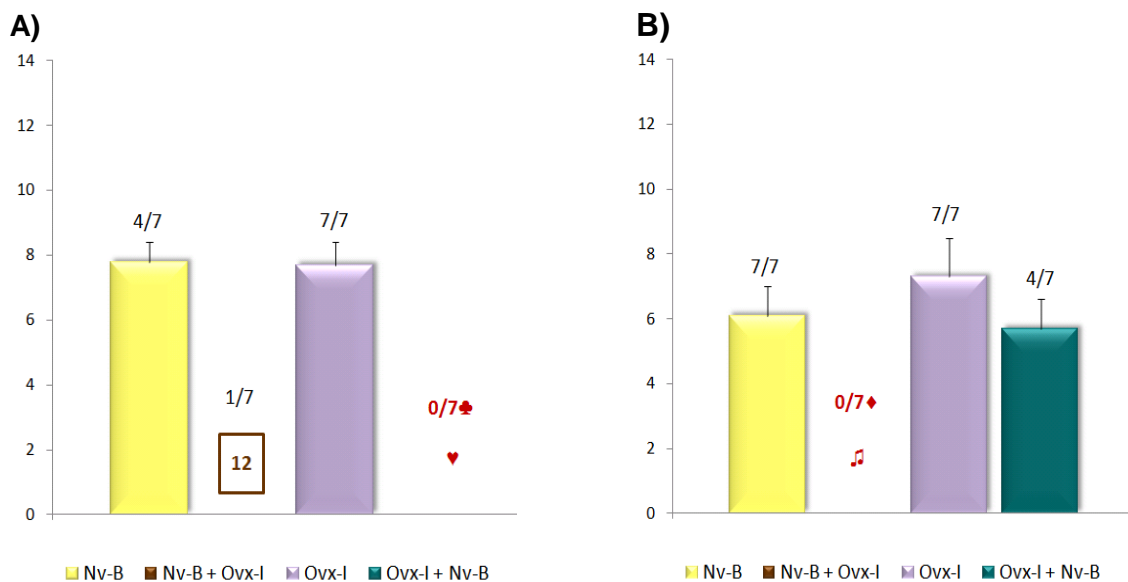
Cuadro 10: Media \pm e.e.m. de la masa del ovario derecho *in situ* y adrenal de animales con sección del Nervio vago derecho, sección del Nervio vago derecho seguida de ovariectomía izquierda, ovariectomía izquierda o con ovariectomía izquierda seguida de sección de Nervio vago derecho a las 09:00 h en los días del diestro.

Etapa del ciclo estral	Grupo	n	Ovario derecho (mg/100 g M.C.)	Adrenal izquierda (mg/100 g M.C.)	Adrenal derecha (mg/100 g M.C.)
Diestro-1	Nv-D	7	11.2 \pm 0.5	12.5 \pm 0.8	10.1 \pm 0.3
	Nv-D+Ovx-I	7	13.1 \pm 0.8	11.5 \pm 0.7	11.5 \pm 0.7
	Ovx-I	7	13.5 \pm 1.1	9.4 \pm 0.7	8.6 \pm 1.0
	Ovx-I+Nv-D	7	13.9 \pm 0.7	12.5 \pm 0.6*	10.9 \pm 0.9
Diestro-2	Nv-D	7	11.2 \pm 1.2	11.5 \pm 1.0	10.8 \pm 1.3
	Nv-D+Ovx-I	7	12.5 \pm 0.7	12.7 \pm 1.2	11.9 \pm 0.6
	Ovx-I	7	13.2 \pm 1.1	12.7 \pm 1.0	10.5 \pm 0.7
	Ovx-I+Nv-D	7	12.1 \pm 0.5	13.7 \pm 0.7	8.9 \pm 1.0

* $p < 0.05$ vs grupo con Ovx-I en Diestro-1 (prueba de "t" de Student). Nv-D=sección del Nervio vago derecho, Nv-D+Ovx-I=sección del Nervio vago derecho seguida de ovariectomía izquierda, Ovx-I=ovariectomía izquierda, Ovx-I+Nv-D=ovariectomía izquierda seguida de sección de Nervio vago derecho.

RESPUESTA OVULATORIA Y MASA DE LOS ÓRGANOS DE LOS ANIMALES CON OVARIO DERECHO Y DENERVACIÓN VAGAL BILATERAL

En los animales con sección de ambos Nervios vago y ovariectomía izquierda (Nv-B+Ovx-I) en el Diestro-1 se presentó menor número de animales ovulantes, aunque sin ser estadísticamente significativo respecto al de los animales con sección de ambos nervios vago (Nv-B). En contraste, cuando primero se extirpa el ovario izquierdo y enseguida se elimina el aporte neural (Ovx-I+Nv-B) se presentó un bloqueo total de la ovulación (Gráfica 7 A). Esta respuesta es la misma en la etapa del Diestro-2, pero donde primero se elimina el aporte neural y luego el hormonal (Gráfica 7 B).



Gráfica 7: Tasa de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados en animales con sección bilateral del Nervio vago, sección bilateral del Nervio vago y ovariectomía izquierda, ovariectomía izquierda u ovariectomía izquierda y sección bilateral del Nervio vago a las 9:00 h en los días del Diestro-1 (A) y Diestro-2 (B). ♠ $p < 0.05$ vs grupo con Oxv-I en Diestro-1; ♦ $p < 0.05$ vs grupo con Nv-B en Diestro-2 (prueba exacta de Fisher "F"), ♥ $p < 0.05$ vs grupo con Oxv-I en Diestro-1; ♫ $p < 0.05$ vs grupo con Nv-B en Diestro-2 (Kruskall Wallis seguida de la prueba "U" de Mann-Whitney), OD=ovario derecho, Nv-B=sección bilateral del Nervio vago, Nv-B+Ovx-I=sección bilateral del Nervio vago y ovariectomía izquierda, Oxv-I=ovariectomía izquierda, Oxv-I+Nv-B=ovariectomía izquierda y sección bilateral del Nervio vago.

Los animales con sección bilateral del Nervio vago seguida de la ovariectomía izquierda (Nv-B+Ovx-I) en el Diestro-1 mostraron menor masa corporal y mayor masa del ovario derecho *in situ*, en comparación con la de su grupo control (Cuadros 11 y 12). La misma cirugía en el Diestro-2 resultó en menor masa de la adrenal izquierda y como consecuencia de la suma de la masa de ambas adrenales (Cuadros 11 y 12).

La ovariectomía izquierda seguida de sección bilateral de Nervio vago (Ovx-I+Nv-B) en el Diestro-2 trajo consigo menor masa del útero, de la adrenal derecha y en la suma de la masa de ambas adrenales respecto a la de sus grupo control (Cuadros 11 y 12).

Cuadro 11: Media \pm e.e.m. de la masa corporal y de los órganos de animales con sección bilateral del Nervio vago, sección bilateral del Nervio vago seguida de ovariectomía izquierda, ovariectomía izquierda o con ovariectomía izquierda seguida de sección bilateral de Nervio vago a las 09:00 h en los días del diestro.

Etapa del ciclo estral	Grupo	n	M.C. (g)	Útero (mg/100 g M.C.)	Masa Adrenal (mg/100 g M.C.)
Diestro-1	Nv-B	7	262.9 \pm 10.5	130.9 \pm 7.7	20.6 \pm 1.8
	Nv-B+Ovx-I	7	232.6 \pm 7.3*	168.3 \pm 19.8	19.9 \pm 1.0
	Ovx-I	7	253.6 \pm 8.8	148.1 \pm 5.7	18.0 \pm 1.0
	Ovx-I+Nv-B	7	243.9 \pm 6.8	166.0 \pm 18.4	19.3 \pm 1.5
Diestro-2	Nv-B	7	219.9 \pm 11.3	146.1 \pm 4.8	26.1 \pm 1.6
	Nv-B+Ovx-I	7	246.3 \pm 6.6	137.7 \pm 16.8	19.7 \pm 1.9♥
	Ovx-I	7	263.4 \pm 11.0	155.8 \pm 13.6	23.2 \pm 1.7
	Ovx-I+Nv-B	7	214.7 \pm 8.0♠	116.9 \pm 5.2♣	17.8 \pm 1.1♦

*p<0.05 vs grupo con Nv-B en Diestro-1, ♥p<0.05 vs grupo con Nv-B en Diestro-2, ♠p<0.05 vs grupo con Ovx-I en Diestro-2, ♣p<0.05 vs grupo con Ovx-I en Diestro-2, ♦p<0.05 vs grupo con Ovx-I en Diestro-2 (prueba de "t" de Student). M.C.=Masa corporal, Nv-B=sección bilateral del Nervio vago, Nv-B+Ovx-I=sección bilateral del Nervio vago y ovariectomía izquierda, Ovx-I=ovariectomía izquierda, Ovx-I+Nv-B=ovariectomía izquierda y sección bilateral del Nervio vago.

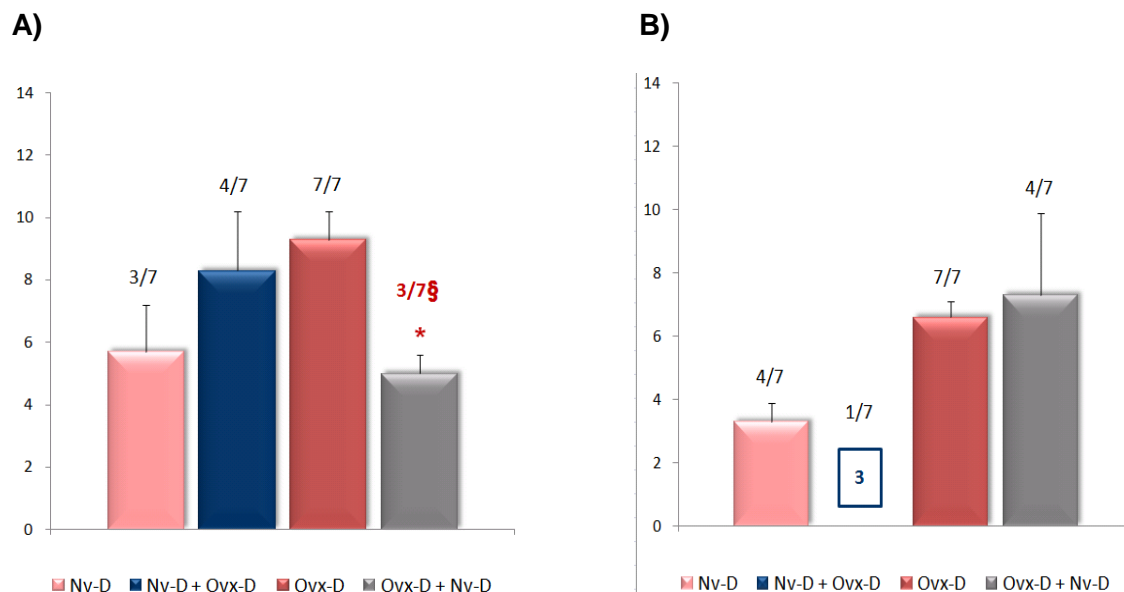
Cuadro 12: Media \pm e.e.m. de la masa del ovario derecho *in situ* y adrenal de animales con sección bilateral del Nervio vago, sección bilateral del Nervio vago seguida de ovariectomía izquierda, ovariectomía izquierda o con ovariectomía izquierda seguida de sección bilateral del Nervio vago a las 09:00 h en los días del diestro.

Etapa del ciclo estral	Grupo	n	Ovario derecho (mg/100 g M.C.)	Adrenal izquierda (mg/100 g M.C.)	Adrenal derecha (mg/100 g M.C.)
Diestro-1	Nv-B	7	9.6 \pm 1.0	11.2 \pm 1.5	9.4 \pm 0.8
	Nv-B+Ovx-I	7	13.0 \pm 0.7 \blacklozenge	10.1 \pm 0.8	9.8 \pm 0.7
	Ovx-I	7	13.5 \pm 1.1	9.4 \pm 0.7	8.6 \pm 1.0
	Ovx-I+Nv-B	7	11.2 \pm 1.0	9.4 \pm 1.2	9.9 \pm 0.8
Diestro-2	Nv-B	7	11.9 \pm 1.0	13.6 \pm 0.9	12.5 \pm 0.8
	Nv-B+Ovx-I	7	10.6 \pm 1.1	10.2 \pm 0.9*	9.5 \pm 1.3
	Ovx-I	7	13.2 \pm 1.1	12.7 \pm 1.0	10.5 \pm 0.7
	Ovx-I+Nv-B	7	12.8 \pm 1.5	10.2 \pm 0.7	7.5 \pm 1.0 \clubsuit

\blacklozenge p<0.05 vs grupo con Nv-B en Diestro-1, *p<0.05 vs grupo con Nv-B en Diestro-2, \clubsuit p<0.05 vs grupo con Ovx-I en Diestro-2 (prueba de "t" de Student). Nv-B=sección bilateral del Nervio vago, Nv-B+Ovx-I=sección bilateral del Nervio vago seguida de ovariectomía izquierda, Ovx-I=ovariectomía izquierda, Ovx-I+Nv-B=ovariectomía izquierda seguida de sección bilateral del Nervio vago.

RESPUESTA OVULATORIA Y DE LA MASA DE LOS ÓRGANOS DE LOS ANIMALES CON OVARIO IZQUIERDO INERVADO

La ovariectomía derecha y sección de Nervio vago derecho (Ovx-D+Nv-D) en el Diestro-1 resultó en menor TAO y número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo *in situ*, lo que se acompañó del aumento de la masa del ovario, del útero y de las adrenales en relación a lo registrado en su grupo control (Gráfica 8 A y Cuadros 13 y 14). En los animales con Nv-D+Ovx-D, no se presentaron alteraciones respecto a su grupo control (Gráfica 8 A y B y, Cuadro 13 y 14). Ambas cirugías en el Diestro-2 no resultaron en cambios en los parámetros evaluados (Cuadros 13 y 14).



Gráfica 8: Tasa de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados en animales con sección del Nervio vago derecho, Sección del Nervio vago derecho y ovariectomía derecha, ovariectomía derecha u Ovariectomía derecha y sección de Nervio vago derecho a las 9:00 h en los días del Diestro-1 y Diestro-2 y que fueron sacrificados a las 09:00 h en el día del estro vaginal. * $p < 0.05$ vs grupo con Ovx-D en Diestro-1 (Kruskall Wallis seguida de la prueba "U" de Mann-Whitney), § $p < 0.05$ vs grupo con Ovx-D en Diestro-1 (prueba exacta de Fisher). Ol=ovario izquierdo, Nv-D=sección del Nervio vago derecho, Nv-D+Ovx-D=sección del Nervio vago derecho y ovariectomía derecha, Ovx-D=ovariectomía derecha, Ovx-D+Nv-D=ovariectomía derecha y sección de Nervio vago derecho.

Cuadro 13: Media \pm e.e.m. de la masa corporal y de los órganos de animales con sección del Nervio vago derecho, sección del Nervio vago derecho seguida de ovariectomía derecha, ovariectomía derecha o con ovariectomía derecha seguida de sección de Nervio vago derecho a las 09:00 h en los días del diestro.

Etapa del ciclo estral	Grupo	n	M.C. (g)	Útero (mg/100 g M.C.)	Masa Adrenal (mg/100 g M.C.)
Diestro-1	Nv-D	7	238.6 \pm 5.6	149.2 \pm 9.0	22.5 \pm 0.9
	Nv-D+Ovx-D	7	246.0 \pm 6.2	142.9 \pm 10.8	25.6 \pm 1.7
	Ovx-D	7	239.7 \pm 5.2	120.8 \pm 6.2	18.3 \pm 1.0
	Ovx-D+Nv-D	7	238.4 \pm 9.5	161.0 \pm 15.2 [♠]	23.2 \pm 1.8 [♯]
Diestro-2	Nv-D	7	232.1 \pm 5.9	143.0 \pm 6.9	22.3 \pm 2.2
	Nv-D+Ovx-D	7	225.0 \pm 5.5	131.0 \pm 5.8	23.7 \pm 2.5
	Ovx-D	7	239.6 \pm 6.1	137.4 \pm 7.5	22.8 \pm 0.9
	Ovx-D+Nv-D	7	226.6 \pm 8.4	131.3 \pm 5.1	24.4 \pm 1.5

[♠]p<0.05 vs grupo con Ovx-D en Diestro-1, [♯]p<0.05 vs grupo con Ovx-D en Diestro-1 (prueba de "t" de Student). M.C.=Masa corporal, Nv-D=sección del Nervio vago derecho, Nv-D+Ovx-D= sección del Nervio vago derecho seguida de ovariectomía derecha, Ovx-D=ovariectomía derecha, Ovx-D+Nv-D=ovariectomía derecha seguida de sección de Nervio vago derecho.

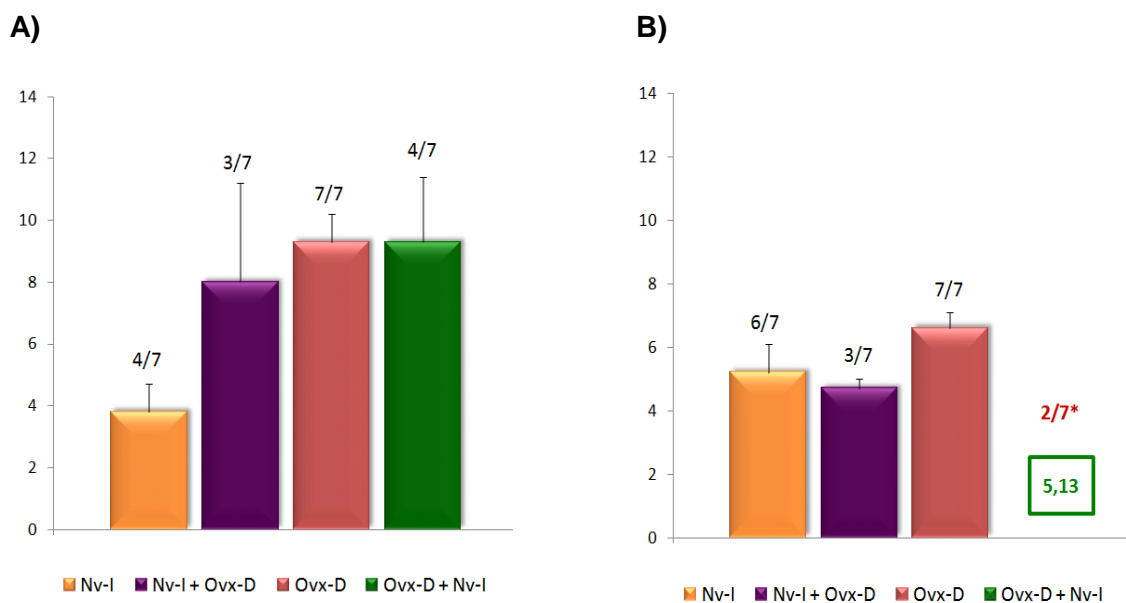
Cuadro 14: Media \pm e.e.m. de la masa del ovario izquierdo *in situ* y adrenal de animales con sección del Nervio vago derecho, sección del Nervio vago derecho seguida de ovariectomía derecha, ovariectomía derecha o con ovariectomía derecha seguida de sección de Nervio vago derecho a las 09:00 h en los días del diestro.

Etapa del ciclo estral	Grupo	n	Ovario izquierdo (mg/100 g M.C.)	Adrenal izquierda (mg/100 g M.C.)	Adrenal derecha (mg/100 g M.C.)
Diestro-1	Nv-D	7	12.7 \pm 0.8	12.5 \pm 0.8	10.1 \pm 0.3
	Nv-D+Ovx-D	7	11.9 \pm 1.3	14.0 \pm 0.9	11.7 \pm 0.9
	Ovx-D	7	12.8 \pm 0.5	9.5 \pm 0.5	8.8 \pm 0.7
	Ovx-D+Nv-D	7	15.5 \pm 0.8♥	11.2 \pm 1.3	12.0 \pm 0.8♠
Diestro-2	Nv-D	7	11.8 \pm 0.7	11.5 \pm 1.0	10.8 \pm 1.3
	Nv-D+Ovx-D	7	13.8 \pm 1.1	12.5 \pm 1.8	11.2 \pm 1.0
	Ovx-D	7	12.9 \pm 0.8	11.9 \pm 0.7	10.9 \pm 0.6
	Ovx-D+Nv-D	7	13.7 \pm 1.0	12.7 \pm 0.4	11.7 \pm 1.2

♥ p <0.05 vs grupo con Oxv-D en Diestro-1, ♠ p <0.05 vs grupo con Oxv-D en Diestro-1 (prueba de "t" de Student). Nv-D=sección del Nervio vago derecho, Nv-D+Ovx-D=sección del Nervio vago derecho seguida de ovariectomía derecha, Oxv-D=ovariectomía derecha, Oxv-D+Nv-D=ovariectomía derecha seguida de sección de Nervio vago derecho.

RESPUESTA OVULATORIA Y MASA DE LOS ÓRGANOS DE LOS ANIMALES CON OVARIO IZQUIERDO DENERVADO

En el Gráfica 9 A y B se observa que ningún tratamiento donde el ovario izquierdo queda inervado, realizado en el Diestro-1, originó alteraciones en los parámetros evaluados. Sin embargo, al realizar la ovariectomía derecha seguida de sección de Nervio vago izquierdo (Ovx-D+Nv-I) en el Diestro-2, se presentó menor tasa de animales ovulantes respecto a la de su grupo control.



Gráfica 9: Tasa de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados en animales con sección del Nervio vago izquierdo, sección del Nervio vago izquierdo seguida de ovariectomía derecha, ovariectomía izquierda o con ovariectomía derecha seguida de sección de Nervio vago izquierdo a las 9:00 h en los días del Diestro-1 (A) Y Diestro-2 (B) y que fueron sacrificados a las 9:00 h en el día del Estro vaginal. * $p < 0.05$ vs grupo con OvX-D en Diestro-2 (prueba exacta de Fisher "F"). OI=ovario izquierdo, Nv-I=sección del Nervio vago izquierdo, Nv-I+OvX-D=sección del Nervio vago izquierdo seguida de ovariectomía derecha, OvX-D=ovariectomía derecha, OvX-D+Nv-I=ovariectomía derecha seguida de sección de Nervio vago izquierdo.

Por otro lado, tanto la masa del útero (Cuadro 15) como de la adrenal izquierda (Cuadro 16) aumentaron en animales a los que se les extirpó el ovario derecho y posteriormente se seccionó el Nervio vago izquierdo (Ovx-D+Nv-I), esto únicamente cuando dicho tratamiento se llevó a cabo en el día del Diestro-1. Los tratamientos en el Diestro-2 no resultaron en alteraciones respecto a sus grupos control (Cuadros 15 y 16).

Cuadro 15: Media \pm e.e.m. de la masa corporal y de los órganos de animales con sección del Nervio vago izquierdo, sección del Nervio vago izquierdo seguida de ovariectomía derecha, ovariectomía derecha o con ovariectomía derecha seguida de sección de Nervio vago izquierdo a las 09:00 h en los días del diestro.

Etapa del ciclo estral	Grupo	n	M.C. (g)	Útero (mg/100g M.C.)	Masa Adrenal (mg/100g M.C.)
Diestro-1	Nv-I	7	252.0 \pm 5.9	153.2 \pm 8.3	23.4 \pm 3.4
	Nv-I+Ovx-D	7	240.4 \pm 8.7	137.5 \pm 5.3	21.8 \pm 0.9
	Ovx-D	7	239.7 \pm 5.2	120.8 \pm 6.2	18.3 \pm 1.0
	Ovx-D+Nv-I	7	237.0 \pm 6.4	165.8 \pm 16.8♣	21.8 \pm 1.5
Diestro-2	Nv-I	7	239.0 \pm 6.3	125.1 \pm 8.0	22.1 \pm 1.1
	Nv-I+Ovx-D	7	227.1 \pm 7.2	142.7 \pm 9.6	20.8 \pm 1.8
	Ovx-D	7	239.6 \pm 6.1	137.4 \pm 7.5	22.8 \pm 0.9
	Ovx-D+Nv-I	7	239.1 \pm 8.6	121.9 \pm 13.0	22.2 \pm 2.9

♣p<0.05 vs grupo con Oxv-D en Diestro-1 (prueba de "t" de Student). M.C.=Masa corporal, Nv-I=sección del Nervio vago izquierdo, Nv-I+Ovx-D=sección del Nervio vago izquierdo seguida de ovariectomía derecha, Oxv-D=ovariectomía derecha, Oxv-D+Nv-I=ovariectomía derecha seguida de sección de Nervio vago izquierdo.

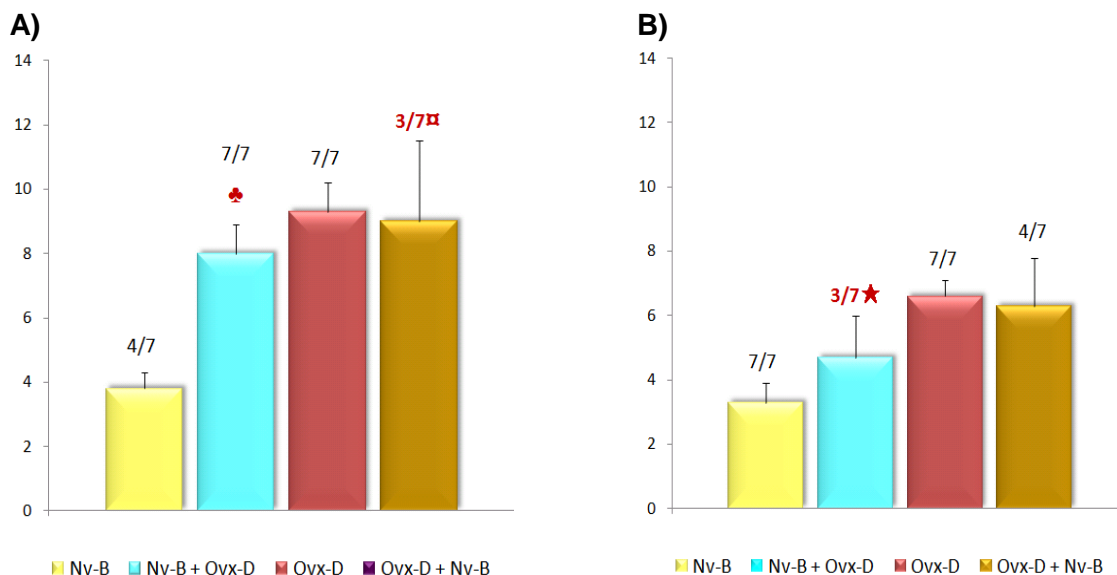
Cuadro 16: Media \pm e.e.m. de la masa del ovario izquierdo *in situ* y cada adrenal de animales con sección del Nervio vago izquierdo, Sección del Nervio vago izquierdo seguida de ovariectomía derecha, ovariectomía derecha o con Ovariectomía derecha seguida de sección de Nervio vago izquierdo a las 09:00 h en los días del diestro.

Etapa del ciclo estral	Grupo	n	Ovario izquierdo (mg/100 g M.C.)	Adrenal izquierda (mg/100 g M.C.)	Adrenal derecha (mg/100 g M.C.)
Diestro-1	Nv-I	7	11.3 \pm 0.9	13.7 \pm 2.9	9.7 \pm 1.1
	Nv-I+Ovx-D	7	12.8 \pm 0.4	11.3 \pm 0.6	10.6 \pm 0.5
	Ovx-D	7	12.8 \pm 0.5	9.5 \pm 0.5	8.8 \pm 0.7
	Ovx-D+Nv-I	7	13.2 \pm 0.7	11.5 \pm 0.7 \blacklozenge	10.3 \pm 1.0
Diestro-2	Nv-I	7	9.7 \pm 0.5	11.5 \pm 0.5	10.5 \pm 0.7
	Nv-I+Ovx-D	7	10.6 \pm 1.0	12.1 \pm 1.0	8.7 \pm 1.3
	Ovx-D	7	12.9 \pm 0.8	11.9 \pm 0.7	10.9 \pm 0.6
	Ovx-D+Nv-I	7	13.2 \pm 1.1	11.5 \pm 1.6	10.6 \pm 1.5

\blacklozenge p<0.05 vs grupo con Oxv-D en Diestro-1 (prueba de "t" de Student). Nv-I=sección del Nervio vago izquierdo, Nv-I+Ovx-D=sección del Nervio vago izquierdo seguida de ovariectomía derecha, Oxv-D= ovariectomía derecha, Oxv-D+Nv-I=ovariectomía derecha seguida de sección de Nervio vago izquierdo.

RESPUESTA OVULATORIA Y MASA DE LOS ÓRGANOS DE LOS ANIMALES CON OVARIO IZQUIERDO Y DENERVACIÓN VAGAL BILATERAL

La sección de ambos Nervios vago seguida de la ovariectomía derecha (Nv-B+Ovx-D) en el Diestro-1 resultó en aumento en el número de ovocitos liberados (Gráfica 10 A) y de la masa del útero en relación a su grupo control (Cuadros 17 y 18), mientras que en Diestro-2 trajo consigo disminución de la TAO (Gráfica 10 B) y de la masa corporal (Cuadros 17 y 18). La operación inversa (Ovx-D+Nv-B) en Diestro-1 trajo consigo disminución en la TAO (Gráfica 10 A) y aumento de la masa de la adrenal izquierda (Cuadros 17 y 18).



Gráfica 10: Tasa de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados en animales con sección bilateral del Nervio vago, sección bilateral del Nervio vago y ovariectomía derecha, ovariectomía derecha, u ovariectomía derecha y sección bilateral del Nervio vago a las 9:00 h en los días del Diestro-1 (A) y Diestro-2 (B). ♣ p <0.05 vs grupo con Nv-B en Diestro-1 (Kruskall Wallis seguida de la prueba "U" de Mann-Whitney), ✕ p <0.05 vs grupo con Oxv-D en Diestro-1, ★ p <0.05 vs grupo con Nv-B en Diestro-2 (prueba exacta de Fisher "F"). Nv-B=sección bilateral del Nervio vago, Nv-B+Ovx-D=sección bilateral del Nervio vago y ovariectomía derecha, Oxv-D=ovariectomía derecha, Oxv-D+Nv-B=ovariectomía derecha y sección bilateral del Nervio vago.

Cuadro 17: Media \pm e.e.m. de la masa corporal y de los órganos de animales con sección bilateral del Nervio vago, sección bilateral del Nervio vago seguida de ovariectomía derecha, ovariectomía derecha o con ovariectomía derecha seguida de sección bilateral de Nervio vago a las 09:00 h en los días del diestro.

Etapa del ciclo estral	Grupo	n	M.C. (g)	Útero (mg/100 g M.C.)	Masa Adrenal (mg/100 g M.C.)
Diestro-1	Nv-B	7	262.9 \pm 10.5	130.9 \pm 7.7	20.6 \pm 1.8
	Nv-B+Ovx-D	7	250.7 \pm 7.9	164.5 \pm 9.4 \blacklozenge	20.5 \pm 0.9
	Ovx-D	7	239.7 \pm 5.2	120.8 \pm 6.2	18.3 \pm 1.0
	Ovx-D+Nv-B	7	230.9 \pm 8.2	125.5 \pm 7.7	21.2 \pm 2.1
Diestro-2	Nv-B	7	219.9 \pm 11.3	146.1 \pm 4.8	26.1 \pm 1.6
	Nv-B+Ovx-D	7	230.7 \pm 3.4	136.4 \pm 5.5	20.0 \pm 3.2
	Ovx-D	7	239.6 \pm 6.1	137.4 \pm 7.5	22.8 \pm 0.9
	Ovx-D+Nv-B	7	223.6 \pm 3.4 \clubsuit	134.9 \pm 7.3	25.4 \pm 1.1

\blacklozenge p<0.05 vs grupo con Nv-B en Diestro-1, \clubsuit p<0.05 vs grupo con Oxv-D en Diestro-2 (prueba de "t" de Student). Nv-B=sección bilateral del Nervio vago, Nv-B+Ovx-D=sección bilateral del Nervio vago seguida de ovariectomía derecha, Oxv-D=ovariectomía derecha, Oxv-D+Nv-B=ovariectomía derecha seguida de sección bilateral del Nervio vago.

Cuadro 18: Media \pm e.e.m. de la masa del ovario izquierdo *in situ*, adrenal de animales con sección bilateral del Nervio vago, sección bilateral del Nervio vago seguida de ovariectomía derecha, ovariectomía derecha con ovariectomía derecha seguida de sección bilateral del Nervio vago a las 09:00 h en los días del diestro.

Etapa del ciclo estral	Grupo	n	Ovario izquierdo (mg/100 g M.C.)	Adrenal izquierda (mg/100 g M.C.)	Adrenal derecha (mg/100 g M.C.)
Diestro-1	Nv-B	7	9.9 \pm 0.8	11.2 \pm 1.5	9.4 \pm 0.8
	Nv-B+Ovx-D	7	12.2 \pm 0.8	10.5 \pm 0.5	9.9 \pm 0.6
	Ovx-D	7	12.8 \pm 0.5	9.5 \pm 0.5	8.8 \pm 0.7
	Ovx-D+Nv-B	7	12.5 \pm 0.7	12.5 \pm 0.8 [♣]	8.8 \pm 1.5
Diestro-2	Nv-B	7	12.4 \pm 0.7	13.6 \pm 0.9	12.5 \pm 0.8
	Nv-B+Ovx-D	7	12.3 \pm 1.2	10.5 \pm 1.8	9.5 \pm 1.5
	Ovx-D	7	12.9 \pm 0.8	11.9 \pm 0.7	10.9 \pm 0.6
	Ovx-D+Nv-B	7	13.2 \pm 1.2	12.9 \pm 0.5	12.5 \pm 0.7

♣p<0.05 vs grupo con Oxv-D en Diestro-1(prueba de "t" de Student). Nv-B=sección bilateral del Nervio vago, Nv-B+Ovx-D=sección bilateral del Nervio vago seguida de ovariectomía derecha, Oxv-D=ovariectomía derecha, Oxv-D+Nv-B=ovariectomía derecha seguida de sección bilateral del Nervio vago.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Los resultados del presente estudio muestran que los Nervios vago en los días del Diestro-1 y Diestro-2 participan de manera asimétrica en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación, con lo cual se apoya la hipótesis de que la inervación vagal que reciben los ovarios en los días del diestro del ciclo estral modula de manera diferencial la acción de las gonadotropinas sobre el compartimiento folicular y, que los Nervios vago envían y reciben información de ambos ovarios hacia el SNC, la cual varía en función del día del ciclo estral, del Nervio y del ovario *in situ*, y de la forma en que se realizan las cirugías.

La disminución en el número de ovocitos liberados por el ovario derecho de los animales sometidos a laparotomía ventral en Diestro-1, muestra claramente que dicho tratamiento fue un “factor estresante” que alteró la función del eje hipotálamo-hipófisis-ovario a través del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal.

Es conocido que el estrés interrumpe la correcta función del sistema endócrino y se origina a partir de diversas causas, por ejemplo: el manejo, transporte, condiciones climáticas, etc. al que son sometidos los animales en tratamiento. Uno de los principales controladores del estrés es la CRH que al ser liberada en la eminencia media llega a los corticotropos de la adenohipófisis y estimula la secreción de ACTH. Esta hormona es liberada al torrente sanguíneo y estimula en la zona fasciculada de la corteza adrenal la secreción de progesterona y glucocorticoides (corticosterona), que al incrementar su secreción suprime la liberación de GnRH (Armstrong, 1986; Stratakis y Chrousos, 1995; Kalantaridou *et al.*, 2004) y por ende, altera la secreción de las gonadotropinas que se traduce en alteraciones de la ovulación.

Es posible sugerir que la anestesia seguido de la laparotomía son factores estresantes que alteran los ejes hipotálamo-hipófisis-adrenal e hipotálamo-hipófisis-ovario que ocasiona disminución en la concentración sérica de estradiol y sus

receptores citoplasmáticos en hipotálamo e hipófisis que son importantes para la liberación de gonadotropinas (Arata *et al.*, 1982; Findlay *et al.*, 2001).

En apoyo a esta idea, están los resultados obtenidos por Engeland y colaboradores, 1977, quienes mostraron que el estrés inducido por la cirugía resultó en aumento de las concentraciones plasmáticas ACTH y de glucocorticoides.

Se ha mostrado que en animales sometidos a la anestesia con éter las células del núcleo paraventricular incrementan el contenido de ARNm que codifica para la síntesis y liberación de neurotensina, un neuropéptido relacionado con la secreción de CRH (Watts, 1991).

En los animales con laparotomía ventral en Diestro-1 también se registró mayor masa de las adrenales, lo que podría sugerir su mayor actividad al ser estimuladas por la ACTH liberada de la adenohipófisis.

Cabe mencionar que la sensibilidad de ambos ovarios a la laparotomía en el Diestro-1 es diferente, y aunque no es estadísticamente significativo, el ovario izquierdo libera un mayor número de ovocitos que su grupo control. Esta respuesta asimétrica ante el mismo estímulo se ha explicado a través de la inervación que reciben los ovarios, ya que se ha mostrado que el ovario derecho recibe más inervación que el ovario izquierdo (Klein y Burden, 1980).

Otra posible explicación de los efectos de la laparotomía, es que al realizar dicha cirugía estamos activando las fibras que inervan al peritoneo, el cual llevaría información al SNC y tendría como respuesta la alteración del eje hipotálamo-hipófisis-ovario que resulta en la disminución del número de ovocitos liberados por el ovario derecho. Se ha mostrado que la estimulación química del peritoneo suprime la motilidad gástrica a través de mecanismos vagales (compuestos por fibras aferentes del nervio vago originadas en el ganglio nodoso) y espino-vagales reflejos (compuestos de fibras aferentes de los nervios simpáticos y axones eferentes

vagales) (Glise y Abrahamsson, 1980). Con base en esta evidencia y siguiendo la misma línea de investigación, años más tarde se mostró que la mayor parte del peritoneo parietal recibe inervación sensorial proveniente del ganglio de la raíz dorsal, mientras que el peritoneo visceral recibe inervación por parte de los nervios espinales y del nervio vago (Tanaka *et al.*, 2002).

Además de la estimulación en la síntesis y liberación de CRH, diversos reportes experimentales sugieren que el estrés produce dos procesos fisiológicos generales. Por una parte, puede inducir reducción en la ingesta de alimento y disminución de la masa corporal (Harris *et al.*, 1998; Rybkyn *et al.*, 1997; Valles *et al.*, 2000) y, por la otra, puede propiciar obesidad a partir de la sobre-ingesta alimenticia (Boggiano *et al.*, 2005; Corwin y Buda-Levin, 2004; Hagan *et al.*, 2003; Pecoraro *et al.*, 2004).

El equipo de Newsome (1973) publicó que el estrés originado a partir de un procedimiento quirúrgico generalmente se traduce en anorexia prolongada y pérdida de masa corporal que es proporcional a la gravedad de la lesión. En ese sentido, se ha propuesto que los mecanismos neuronales adaptativos al aumento de CRH podrían estar modulando las alteraciones endócrinas así como la conducta a lo largo de este padecimiento, ya que en ratas tratadas con la hormona a intervalos de tiempo largos y contantes se observa una progresiva disminución en la ingesta alimenticia y en la masa corporal (Shibasaki *et al.*, 1988; Khran *et al.*, 1990).

En el hígado las hormonas del estrés promueven la formación de glucosa a partir de la degradación de lípidos, proteínas y glucógeno con lo cual la concentración de glucosa en la sangre aumenta y si no hay correcta captación de glucosa por falta de receptores a insulina, éste tendrá que descomponer las reservas almacenadas en músculo y tejido adiposo en un intento de proporcionar energía a las células necesitadas (Grasa, 2004; Joseph y Gortari, 2007).

Se ha evidenciado que la inervación que llega al sistema reproductor de la rata hembra establece una conexión neural entre éste y el SNC, por lo que la información que transita mediante el Nervio vago juega un papel de gran importancia ya que modula la acción de las gonadotropinas en el ovario (Allen *et al.*, 1985; Chávez *et al.*, 1987; Collins *et al.*, 1999; Gerendai *et al.*, 2000, 2002; Nance *et al.*, 1988; Ortega *et al.*, 1990).

El alargamiento del ciclo estral por 24 horas que se observó en los animales con ambos ovarios y sección de ambos Nervios vago nos sugiere que en este día del ciclo la integridad de ambos Nervios vago es fundamental para mantener la periodicidad del mismo, quizá porque dicha inervación participa en el control del desarrollo y actividad del cuerpo lúteo, de tal forma que la falta de información vagal disminuye la liberación de LH, la esteroidogénesis lútea (cuyo producto principal es la progesterona) y la actividad de la enzima 3β -HSD (Allen, 1985; Lawrence *et al.*, 1978), al inhibir el proceso de luteólisis (por la inhibición de la enzima 20α -HSD), lo que resulta en menor actividad del cuerpo lúteo (Uchida *et al.*, 1970; Waddel *et al.*, 1989).

En los animales que tienen ambas gónadas, el Nervio vago derecho en Diestro-1 modula en forma estimulante la acción de las gonadotropinas sobre la tasa de animales ovulantes por el ovario izquierdo y el ovario derecho. En contraste, el Nervio vago izquierdo parecería no participar en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación en el Diestro-1.

Los resultados observados en los animales con sección unilateral del Nervio vago en cada día del diestro nos hace sugerir que la actividad de los nervios puede variar con base en la etapa del ciclo estral y de la hora en que se realiza el estudio. La actividad del Nervio vago izquierdo en el Diestro-1 en este estudio está en periodo de reposo o de quiescencia, pero el Nervio vago derecho muestra actividad. En la etapa del Diestro-2 ambos nervios están en periodo de quiescencias, y se sugiere realizar estos estudios en la etapa del Proestro y Estro para analizar su actividad.

Zárate *et al.* (2011), realizaron vagotomía unilateral y bilateral a las 09:00 h en la etapa del Proestro y sacrificaron al Estro vaginal y no reportaron alargamiento del ciclo estral, pero sí una inhibición de la ovulación cuando se llevó a cabo solo la vagotomía izquierda. Everardo y colaboradores (2011a, b) también mostraron que la sección del Nervio vago a las 7:00 h o a las 19:00 h resultaba en alteraciones en el proceso ovulatorio que dependió de la hora y la etapa del ciclo estral.

El equipo de Burden y colaboradores (1981), al realizar vagotomías a ratas adultas observó alteración en el ciclo estral ocasionada por la prolongación de la etapa del diestro que perduró entre 10-12 días, efecto que ocurrió solamente cuando las cirugías se realizaron en las etapas de Proestro y Estro.

También se ha mostrado que realizar contusiones espinales a nivel medio-torácico (T8 en adelante) en ratas con ciclos de 4 días consecutivos ocasiona interrupción en la continuidad del ciclo estral, extendiendo la etapa de Diestro-1 aproximadamente 9.4 días, después de los cuales el ciclo vuelve a regularizarse (Hubscher *et al.*, 2006).

Estos resultados ponen en evidencia que la participación de los Nervios vago en el proceso de la ovulación depende de la etapa del ciclo estral, del Nervio vago *in situ* y la hora en que se está realizando el análisis.

El Nervio vago debe su nombre a que inerva muchas regiones del cuerpo; además de los ovarios, adrenales, corazón y pulmones envía fibras motoras colinérgicas a diferentes órganos de la cavidad abdominal dependiendo de la rama vagal que se trate. Así, el Nervio vago derecho inerva el estómago, duodeno, hígado, riñones, intestino delgado e intestino grueso, mientras que el Nervio vago izquierdo proyecta sus fibras hacia el estómago, hígado, parte superior del duodeno y cabeza del páncreas (Guyton, 2000; Snell, 2007).

La vagotomía abdominal resulta en hiper-secreción de jugos gástricos (provenientes de la excesiva liberación de gastrina en el antro del estómago) que producen distensión estomacal, ulceración gástrica, distensión de la parte baja del esófago y aumento de la masa corporal (Hellis y Pryse, 1967). En este estudio se observó que la ausencia de ambos Nervios vago resultó en aumento de la masa corporal lo que podría ser explicado por una posible disfunción del proceso digestivo así como por el probable aumento de la ingesta alimenticia.

Previamente se ha demostrado que la vagotomía abdominal reduce el tamaño de la ingesta alimenticia en dietas que contienen altas cantidades de grasa (Davis, 1974) y disminuye la ganancia de la masa corporal debido a que el Nervio vago podría modular el proceso metabólico de los alimentos en el hígado dando como resultado una falsa sensación de saciedad (Mordes *et al.*, 1977). Al respecto, González y Deutsch (1981) evidenciaron que de las 2 vías de señalización de saciedad existentes (una concerniente al contenido de nutrientes del estómago y otra relacionada con la distensión estomacal después de un alto consumo de alimentos), el Nervio vago modula principalmente la relacionada con los nutrientes y según lo observado por Schwartz y colaboradores (1993), la inervación parasimpática aferente y eferente, mediante la producción de colecistoquinina (hormona sintetizada en el intestino delgado que favorece el proceso digestivo y la absorción de nutrientes), modula el vaciado gástrico. Con base en estas evidencias, sugerimos que el Nervio vago participa en la regulación de la masa corporal a través de su influencia en órganos especializados en el metabolismo de los alimentos.

La ovariectomía unilateral solo en el Diestro-1 resulta en una ovulación compensadora por parte de cada ovario *in situ*. El hecho de que en la etapa del Diestro-2 no se haya registrado la misma respuesta, puede deberse a que los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación requieren de al menos 72 horas para ajustarse o llegar a una homeostasis, que involucra mayor sensibilidad a las gonadotropinas circulantes, mayor cantidad de receptores a ellas, a una menor

casntidad de folículos atrésicos o a todos los procesos fisiológicos en conjunto (Carnicero, 1977; Flores *et al.*, 1990; Peppler y Greenwald, 1970).

Peppler y Greenwald, en 1970, observaron que la ovariectomía unilateral resultó en doble cantidad de ovocitos liberados por el ovario remanente, debido al incremento en la proliferación de folículos pequeños que culminan su madurez hacia el final del ciclo y disminución en la población de folículos atrésicos. Más tarde, al combinar la ovariectomía unilateral con hipofisectomía en la rata adulta se comprobó la hipótesis de que los cambios en las concentraciones de gonadotropinas son necesarios para que ocurra el mecanismo de respuesta compensadora en el ovario remanente (Welschen, 1972).

Carnicero (1977) ostentó resultados similares al observar que dicho tratamiento realizado en el Diestro-1 resultó en aumento en la concentración de FSH; el cual dura de 6 a 8 horas posteriores a la cirugía. Además, evaluó que en el día del Estro, posterior a 3 ciclos subsecuentes, la secreción preovulatoria de FSH se hace más prolongada, por lo que sugirió que el aumento inmediato de FSH es responsable de la HCO del siguiente ciclo, mientras que, la prolongación de la oleada de FSH perovulatoria mantiene la continua respuesta de compensación.

El equipo de Rosen, en 1988, utilizando ratas adultas cíclicas tratadas previamente con estradiol y ovariectomizadas en cada etapa del ciclo estral, afirmaron que en el momento de la ovariectomía, las diferentes concentraciones de estradiol son determinantes en la respuesta del incremento en los receptores a GnRH y en las concentraciones de gonadotropinas. Así, las concentraciones de progesterona y estradiol secretados durante el Diestro-1 y Diestro-2 son capaces de interrumpir el eje hipotálamo-hipófisis causando concentraciones basales de FSH y LH (Freeman, 2006). No obstante, con base en nuestros resultados, al extirpar un ovario y eliminar su respectivo aporte hormonal es posible sugerir que el eje hipotálamo-hipófisis-ovario no se ve obstaculizado, por lo que las altas

concentraciones de FSH ejercen un efecto sobre-estimulante en el compartimiento folicular aumentando la población de folículos maduros que son ovulados al Estro.

Flores *et al.* (1990), evidenciaron que cuando se realizaba la ovariectomía izquierda en cada etapa del ciclo estral, los perfiles de secreción de FSH y LH no eran paralelos y que dependían de la etapa del ciclo en que se realizó la cirugía y el tiempo que transcurría entre la cirugía y la evaluación de las hormonas.

Los resultados obtenidos en animales con el ovario derecho inervado por el Nervio vago derecho (Gráfica 5), nos permite registrar que los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación son altamente alterados cuando primero se elimina el aporte hormonal (ovariectomía) y luego el neural (vagotomía), ya que en ambas etapas del diestro existe un bloqueo casi total del número de animales que ovulan. Los resultados en Diestro-1, posiblemente se deban a que al extirpar primero el ovario izquierdo, los Nervios vago sean la vía de comunicación que “avisa” al ovario derecho y al SNC, de lo que está sucediendo. Esta comunicación se ve interrumpida cuando primero se elimina el nervio.

Los datos de los animales con denervación vagal izquierda seguida de ovariectomía izquierda en el Diestro-1, nos sugiere que el Nervio vago derecho modula en forma inhibitoria la acción de las gonadotropinas sobre la liberación de los ovocitos del ovario derecho. Esta respuesta es diferente a lo que se observa en el Diestro-2, donde disminuyó la tasa de animales ovulantes, aunque no de manera significativa.

La respuesta que se observa en la etapa del Diestro-2 es similar al quitar primero el ovario y luego el nervio y viceversa. Este resultado, apoya la idea de que el ambiente neuroendócrino del animal en la etapa del Diestro-2 regula de manera estimulante la tasa de animales ovulantes y tienen la misma importancia el ovario como el nervio.

En todos los tratamientos donde el ovario derecho se encuentra sin inervación por parte del Nervio vago derecho (Gráfica 6) se observa que presenta una respuesta ovulatoria semejante a su grupo control, excepto en el Diestro-2 donde se manifiesta que el Nervio vago derecho modula en forma estimulante la acción de las gonadotropinas sobre la liberación de ovocitos por parte del ovario derecho *in situ*.

En los animales con el ovario derecho *in situ* sin inervación vagal (Gráfica 7), donde primero se seccionan los nervios y luego se extirpa el ovario izquierdo, los Nervios vago en los días del diestro modulan en forma estimulante la función de la FSH y la LH sobre la tasa de animales ovulantes. En aquellos con el ovario derecho *in situ* sin inervación vagal, donde primero se extirpa el ovario izquierdo y luego se seccionan ambos Nervios vago en el día del Diestro-1, estos modulan en forma estimulante el papel de las gonadotropinas sobre la tasa de animales ovulantes. Estos nos sugiere, al igual que en los grupos de animales con un ovario y un nervio, que la etapa del Diestro-1 es la más susceptible a la falta de información nerviosa u hormonal, que trae como consecuencia la alteración en la secreción preovulatoria de las gonadotropinas.

Los resultados observados en los animales con el ovario izquierdo *in situ* inervado, en los que se extirpa el ovario derecho y luego se secciona el Nervio vago ipsilateral en el Diestro-1, el Nervio vago derecho modula en forma estimulante la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados por dicho ovario (Gráfica 8) en los que el aumento de la masa del ovario y del útero nos sugiere que se llevó a cabo el crecimiento folicular, con la consecuente liberación de hormonas esteroides que estimuló la masa del útero, pero que sin la información del Nervio vago no se puede llevar de manera exitosa el proceso de la ovulación en el 57.14% de los animales. La masa de las adrenales nos sugiere una posible activación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal que quizás haya alterado la secreción preovulatoria de las gonadotropinas en los animales que no ovularon. En contraste, en aquellos con la operación inversa, el Nervio vago derecho en el Diestro-2 modula en forma estimulante la tasa de animales ovulantes.

Los datos registrados en animales con el ovario izquierdo denervado en el Diestro-2 muestran claramente que el Nervio vago izquierdo tiene la función de modular de manera estimulante el papel de las gonadotropinas sobre la TAO en aquellos animales con previa ovariectomía derecha (Gráfica 9).

En los animales con el ovario izquierdo *in situ* sin inervación vagal, en los que primero se seccionan ambos Nervios vago y enseguida se extirpa el ovario derecho, dichos nervios en Diestro-1 modulan en forma inhibitoria el número de ovocitos liberados, pero en el Diestro-2 la tasa de animales ovulantes. En aquellos con la operación inversa en Diestro-1, los Nervios vago modulan en forma estimulante la tasa de animales ovulantes.

El hecho de que no se bloqueó la ovulación en todos los animales al realizar los diferentes tratamientos, hace pensar que hay otros mecanismos neuroendocrinos que participan en la regulación del proceso ovulatorio (por ejemplo, Nervio Ovárico Superior, el nervio del Plexo ovárico, adrenales, etc) (Alanís, 2010; Chávez y Domínguez, 1994; López, 2010; Velasco, 2007; Xiaoxin *et al.*, 2010).

Con base en los resultados obtenidos en este estudio, y los estudios previos realizados por nuestro equipo de trabajo (Alanís, 2010; Cruz *et al.*, 1986; Guzmán, 2011; López, 2010; Zárate, 2011) se puede sugerir que la modulación que ejerce el Nervio vago en las funciones ováricas depende del Nervio Vago remante, el ovario que quede *in situ*, la etapa del ciclo estral y la hora del día en la que se esté analizando.

CONCLUSIONES

- ❖ La laparotomía ventral en Diestro-1 es un factor estresante que altera de forma inhibitoria los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación.

- ❖ Los animales requieren la presencia de ambos Nervios vago para que no se altere el ciclo estral.

- ❖ En los animales que tienen ambas gónadas, el Nervio vago derecho en Diestro-1 modula en forma estimulante la acción de las gonadotropinas sobre la tasa de animales ovulantes por el ovario izquierdo y el ovario derecho.

- ❖ La ovariectomía unilateral en el Diestro-1 se traduce en aumento en el número de ovocitos liberados por la gónada remanente, lo que implica que se requiere de al menos 72 horas entre la cirugía y la evaluación del resultado para que se presente este proceso.

- ❖ En animales con el ovario derecho *in situ* inervado, donde se secciona primero el Nervio vago izquierdo y luego se extirpa el ovario izquierdo, el Nervio vago izquierdo en Diestro-1 modula en forma inhibitoria la acción de las gonadotropinas sobre el número de ovocitos liberados y en el Diestro-2 modula de manera estimulante dicho proceso fisiológico.

- ❖ En animales con el ovario derecho *in situ* inervado, donde se extirpa primero el ovario izquierdo y luego se secciona el Nervio vago izquierdo, el Nervio

vago izquierdo en ambos días del diestro modula en forma estimulante la acción de las gonadotropinas sobre el número de ovocitos liberados.

- ❖ En las ratas con el ovario derecho *in situ* denervado, donde primero se secciona el Nervio vago derecho y luego se extirpa el ovario izquierdo, el Nervio vago derecho en el Diestro-2 modula en forma estimulante el número de ovocitos liberados.

- ❖ En los animales con el ovario derecho *in situ* sin inervación vagal, donde primero se seccionan los nervios y luego se extirpa el ovario izquierdo, los Nervios vago en los días del diestro modulan en forma estimulante la función de la FSH y la LH sobre la tasa de animales ovulantes.


- ❖ En los animales con el ovario derecho *in situ* sin inervación vagal, donde primero se extirpa el ovario izquierdo y luego se seccionan ambos Nervios vago en el día del Diestro-1, estos modulan en forma estimulante el papel de las gonadotropinas sobre la tasa de animales ovulantes.

- ❖ En los animales con el ovario izquierdo *in situ* inervado, en los que se extirpa el ovario derecho y luego se secciona el Nervio vago ipsilateral en el Diestro-1, el Nervio vago derecho modula en forma estimulante la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados, mientras que en aquellos con la operación inversa, el Nervio vago derecho en el Diestro-2 modula en forma estimulante la tasa de animales ovulantes.


- ❖ En los animales con el ovario izquierdo *in situ* denervado, en el que se extirpa el ovario derecho y luego se secciona el Nervio vago contralateral en el Diestro-2, el Nervio vago izquierdo modula en forma estimulante la tasa de animales ovulantes.

- ❖ En los animales con el ovario izquierdo *in situ* sin inervación vagal, en los que primero se seccionan ambos Nervios vago y enseguida se extirpa el ovario derecho, dichos nervios en Diestro-1 modulan en forma inhibitoria el número de ovocitos liberados, pero en el Diestro-2 la tasa de animales ovulantes. En aquellos con la operación inversa en Diestro-1, los Nervios vago modulan en forma estimulante la tasa de animales ovulantes.

PARTICIPACIÓN EN FOROS Y CONGRESOS



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA



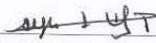
CONSTANCIA

Que se otorga a:

BONILLA RAMÍREZ ELIZABETH, RAMÍREZ TÉLLEZ JÉSSICA, FLORES RAMÍREZ ANGÉLICA, DOMÍNGUEZ CASALÁ ROBERTO

POR SU PARTICIPACIÓN CON LA PRESENTACIÓN DEL TRABAJO LIBRE: **ESTUDIO DE LA PARTICIPACIÓN DEL NERVIIO VAGO EN EL DÍA DEL DIESTRO-2 DE LA RATA ADULTA SOBRE LA OVULACIÓN. EN EL MARCO DEL VI CONGRESO DE INVESTIGACIÓN EN LA FES ZARAGOZA.**

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
México, D.F. a 7 de Septiembre de 2010



CD. Alfredo S. Sánchez Figueroa
Director



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

**BONILLA-RAMÍREZ E., FLORES-RAMÍREZ A.,
CRUZ-BELTRÁN M. E., DOMÍNGUEZ-CASALÁ R.**

Por la presentación del trabajo:
**ESTUDIO DE LA PARTICIPACIÓN DEL NERVIIO VAGO EL DÍA DEL DIESTRO-1
SOBRE LA OVULACIÓN DE LA RATA.**

**En el marco del LIII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas
26-30 de Septiembre, 2010. Villahermosa, Tabasco México**





Dra. Carolina Escobar Briones
Presidenta

Dr. David Centurión Pacheco
Secretario



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



Borilla-Ramírez E, Ramírez-Téllez J, Guzmán-Bárceñas MG, Pimentel-Martínez KA,
Cruz-Beltrán ME, Flores-Ramírez A, Domínguez-Casalá R

Por la presentación del trabajo:

EFFECTOS DE LA SECCIÓN DEL NERVIO VAGO EN LOS DÍAS DEL DIESTRO A LAS
09:00 H O A LAS 13:00 H SOBRE LA OVULACIÓN DE LA RATA ADULTA CON O SIN
OVARIECTOMÍA UNILATERAL

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

Dra. Carolina Escobar Briones
Presidenta

Dr. David Centurión Pacheco
Secretario

BIBLIOGRAFÍA

Adashi E, Hsueh, A. (1981). Stimulation of β -2 adrenergic responsiveness by follicle-stimulating hormone in rat granulosa cells *in vitro* e *in vivo*. *Endocrinology* 108(6): 2170-2178.

Agostoni E, Chinnock J, De Burgh Daly M, Murray J. (1957). Functional and histological studies of the vagus nerve and its branches to the heart, lungs and abdominal viscera in the cat. *The Journal of Physiology* 135: 182-205.

Ahmed C, Dees W, Ojeda S. (1986). The immature rat ovary is innervated by vasoactive intestinal peptide (VIP) containing fibers and responds to VIP with steroid secretion. *Endocrinology* 118: 1682-1689.

Alanis EC. (2010). Participación de la Inervación vagal en la regulación de la secreción de progesterona por los ovarios y adrenales. Tesis para obtener el título de Bióloga. Carrera de Biología. FES Zaragoza, UNAM.

Allen I, Lawrence I, Burden H, Hodson C. (1985). Effects of abdominal vagotomy on serum LH concentrations in female rats. *Journals of Reproduction and Fertility* 74: 87-94.

Alonso I, Rosales A, Ávalos A, Vergara M, Rosado A. (2003). Mechanism of granulosa cell death during follicular atresia depends on follicular size. *Theriogenology* 60: 1071-1081.

Arata G, Rojas F, Moretti I, Bishop W. (1982). Contenido de receptores citoplasmáticos al estradiol en hipotálamo y adenohipófisis de rata y su relación con los niveles plasmáticos de gonadotrofinas y esteroides sexuales. *Acta científica venezolana* 33: 241-248.

Arce V, Catalina P, Mallo F. (2006). Endocrinología. Universidad Santiago de Compostela. pp: 74.

Arimura A. (2000). Hypothalamic hormones. *In: Neuroendocrinology in Physiology and Medicine.* Humana Press Inc. Totowa, N.J. pp. 41-58.

Armstrong D. (1986). Environmental stress and ovarian function. *Biology of Reproduction* 34: 29-39.

Asselin E, Xiao C, Wang Y, Tsang B. (2000). Mammalian follicular development and atresia: role of apoptosis. *Biological Signals and Receptors* 9(2): 887-895.

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

Baulieu E. (1972). Glándulas endocrinas. Editorial. Espaxs. Barcelona España.

Beck W. (1977). Fisiología Molecular, Celular y Sistemática. Publicaciones Culturales. México. pp: 522-603.

Bellver J, Requena A. (2009). Manual práctico sobre el uso de la LH en reproducción asistida. Médica Panamericana. España. pp: 52

Billing H, Furuta I, Hsueh A. (1994). Gonadotropin-releasing hormone directly induces apoptotic cell death in the rat ovary: biochemical and *in situ* detection of deoxyribonucleic acid fragmentation in granulosa cells. *Endocrinology* 134: 245-252.

Boggiano M, Chandler P, Viana J, Oswald K, Maldonado C, Wauford P. (2005). Combined dieting and stress evoke exaggerated responses to opioids in binge-eating rats. *Behavioral Neuroscience* 119(5):1207–1214.

Botella J. (1995). El ovario: fisiología y patología. Ediciones Díaz de Santos. España. pp:137.

Brown R. (1994). Neurotransmitters. *In: Introduction to Neuroendocrinology.* Cambridge University Great Britain Press. pp: 19-55.

Bruce N, Hisheh S, Dharmarajan A. (2001). Patterns of apoptosis in the corpora lutea of the rat during the oestrous cycle, pregnancy and *in vitro* culture. *Reproduction, Fertility and Development* 13(3): 105–109.

Burden H, Lawrence I, Louis T, Hodson C. (1981). Effects of abdominal vagotomy on the estrous cycle of the rat and the induction of pseudopregnancy. *Neuroendocrinology* 33(4): 218-222.

Burden H, Lawrence I, Smith C, Hoffman J, Leonard M, Fletcher D, Hodson C. (1986). The effects of vagotomy on compensatory ovarian hypertrophy and follicular activation after unilateral ovariectomy. *The anatomical record* 214: 61-66.

Burden H, Leonard M, Smith C, Lawrence I. (1983). The sensory innervation of the ovary: a horseradish peroxidase study in the rat. *The Anatomical Record* 207(4): 623–627.

Burden H. (1978). Ovarian innervation. En: *The vertebrate ovary. Comparative biology.* Jones RE. Plenum press, Nueva York, pp: 615.

Cabero L, Saldívar D, Cabrillo E. (2010). Obstetricia y medicina materno-fetal. Médica-Panamericana. España. pp:136.

Campbell P, Smith A. Peters T. (2006). Bioquímica ilustrada. Bioquímica y biología molecular en la era posgenómica. Elsevier. 5ª edición. España. pp: 836.

Caravaca F, Castel J, Guzmán J, Delgado M, Mena Y, Alcalde M, González P. (2003). Bases de la producción animal. Publicaciones Universidad de Córdoba. España. pp: 65-66.

Carlson J, Sawada M, Boone D, Stauffer J. (1995). Stimulation of progesterone secretion in dispersed cells of rat corpora lutea by antioxidants. *Steroids* 60(3): 272-276.

Carnicero R. (1977). Changes in gonadotropins and steroids associated with unilateral ovariectomy of the rat. *Endocrinology* 101(3): 830-840.

Carson R, Smith J. (1986). Development and steroidogenic activity of preantral follicles in the neonatal at ovary. *Journal of Endocrinology* 110: 87-92.

Chávez R, Cruz M, Domínguez R. (1987). 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. *Endocrinology* 113: 397-401.

Chavez R, Domínguez R. (1994). Participation of the superior ovarian nerve in the regulation of compensatory ovarian hypertrophy: the effects of its section performed on each day of the oestrous cycle. *Journal of Endocrinology* 140 (2): 197-201.

Chung S, Billing H, Tilly J, Furuta I, Tsafri A, Hsueh A. (1994). Gonadotropin suppression of apoptosis in cultured preovulatory follicles: mediatory role of endogenous insulin-like growth factor I. *Endocrinology* 135(5): 1845-1853.

Collins J, Lin C, Berthoud H, Papka R. (1999). Vagal afferents from the uterus and cervix provide direct connections to the brainstem. *Cell and tissue research* 295: 43-54.

Collins M, Lopez A. (1993). The control of apoptosis in mammalian cells. *Trends in Biochemical Sciences* 18(8): 307-309.

Corwin R, Buda-Levin A. (2004). Behavioral models of binge-type eating. *Physiology and Behavior* 82: 123-130.

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

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.

Cruz ME, Sánchez MA Domínguez R. (2001). Asimetrías funcionales del sistema reproductor. En: *Biología de la Reproducción II*. Editor: Velásquez Moctezuma J. UAM-PUIS. México, pp: 75-91.

D'Albora H, Anesetti G, Lombide P, Dess L, Ojeda S. (2002). Intrinsic neurons in the mammalian ovary. *Microscopy Research and Technique* 59(6): 484-489.

Daniel S, Armstrong D, Gore-Langton R. (1989). Growth and development of rat oocytes *in vitro*. *Gamete Research* 24: 109-12.

Davis J. (1974). Vagotomy in the rat reduces meal size of diets containing fat. *Physiology & Behavior* 12(4): 685-688.

Davoren J, Hsueh A. (1985). Vasoactive Intestinal Peptide: a novel stimulator of steroidogenesis by cultured rat granulosa cells. *Biology of reproduction* 33: 37-52.

Dees W, Kozlowski G, Dey R, Ojeda S. (1985). Evidence for the existence of substance P in the prepubertal rat ovary. II. Immunocytochemical localization. *Biology of reproduction* 33(2): 471-476.

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

Domínguez R Cruz ME, Chávez R. (1988). Differences in the ovulatory ability between the right and left ovary are related to ovarian innervation. *In: Growth Factors and the Ovary.* Editor: Hirshfield AN. Plenum Press. New York, 39: 321-325.

Domínguez R, Cruz M, Chávez R. (1991). La regulación del crecimiento y del desarrollo del folículo ovárico. En: *Tópicos selectos en Biología de la Reproducción.* Ed. Miguel ángel Porrúa. Cap. VII pp: 161-182.

Domínguez R. (1997). Endocrinología de las gónadas, En: *actualización en fisiología, curso internacional precongreso. XL Congreso Nacional en Ciencias Fisiológicas de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C. (Ed.).* Morelia, Mich.

Dupon C, Kim M. (1973). Peripheral plasma levels of testosterone, androstenedione, and oestradiol during the rat oestrous cycle. *Journal Endocrinology* 59: 653.654.

Dvorkin M, Cardinali D, Lermoli R. (2003). *Bases Fisiológicas de la Práctica Médica.* Médica Panamericana. 13^a edición. Argentina.

Ellis H, Pryse D. (1967). Vagotomy in the rat a study of its effects on stomach and small intestine. *Experimental pathology* 48(2): 135-141.

Engeland W, Shinsako J, Winget C. (1977). Circadian patterns of stress-induced ACTH secretion are modified by corticosterone responses. *Endocrinology* 100: 138-147.

Everardo P, Flores A, García C, Cruz ME, Domínguez R. (2011a). La participación del Nervio vago en la regulación neuroendocrina de la ovulación varía en función de la hora del día y del ciclo estral. Estudio comparativo en animales con y sin ovariectomía bilateral.

Everardo P, Guzmán MG, García C, Flores A, Cruz ME, Domínguez R. (2011b). The participation of the vagus nerve in the regulation of ovarian functions depends on day the estrous cycle and time of the day. Third World Congress of Chronobiology, Puebla, México.

Fawcett W. (1995). *Tratado de Histología*. McGraw-Hill Interamericana. 12^a edición. España. pp: 723-727, 740,744.

Findlay J, Britt K, Kerr J, O'Donnell L, Jones M, Drummond A, Simpson E. (2001). The road to ovulation: the role of oestrogens. *Reproduction, fertility and development* 13(7-8): 543-547.

Flores A, Gallegos AI, Velasco J, Mendoza FD, Montiel C, Everardo PM, Cruz ME, Domínguez R. (2008). The acute effects of bilateral ovariectomy or adrenalectomy on progesterone, testosterone and estradiol serum levels depend on the surgical approach and the day of the estrous cycle when they are performed. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 6; 48.

Flores A, Morales L, Ulloa-Aguirre A, Domínguez R. (1990). Acute changes in serum levels of luteinizing hormone and follicle stimulating hormone, ovulation and follicular growth induced by stress, unilateral ovariectomy or mechanical stimulating of the ovarian pedicle at different stages of the oestrous cycle of the rat. *Medical Science Research* 18: 819-821.

Flores F, Rosas C, Romano M, Pérez M. (2005). Apoptosis y atresia folicular: un binomio esencial en el desarrollo ovárico. *Veterinaria México* 36: 87-103.

Fox I. (2003). *Fisiología Humana*. McGraw-Hill Interamericana. España. pp: 16, 292, 323-324, 678-687.

Frazer J. (1969). *Los ciclos sexuales de los vertebrados*. Editorial Labor. España. pp: 77-79.

Freeman M. (2006). Neuroendocrine control of the ovarian cycle in the rat. En: *Physiology of Reproduction*. Editores: Knobil E, Neill JD. Academic Press. 3a ed. USA. Cáp. 43: 2347-2388.

Fritz S, Wessler I, Breitling R, Rossmannith W, Ojeda S, Dissen G, Amsterdam A, Mayerhofer A. (2001). Expression of muscarinic receptor types in the primate ovary and evidence for nonneuronal acetylcholine synthesis. *The journal of clinical endocrinology and metabolism* 86: 349-354.

Funkenstein B, Nimrod A, Linder H. (1980). The development of steroidogenic capability and responsiveness to gonadotropins in cultured neonatal rat ovary. *Endocrinology* 106: 98-106.

Garverick H, Zollers W, Smith M. (1992). Mechanisms associated with corpus luteum lifespan in animals having normal or subnormal luteal function. *Animal Reproduction Science* 28(1-4): 111-124.

Gay V, Tomacari R. (1974). Follicle-Stimulating hormone secretion in the female rat: cyclic release is dependent on circulating androgen. *Science* 184(4132): 75-76.

Gerendai I, Banczerowski P, Hálász B. (2005). Functional significance of the innervation of the gonads. *Endocrine* 28(3): 309-318.

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

Gerendai I, Hálász B. (2001). Asymmetry of the Neuroendocrine System. *News in Physiological Sciences* 16(2): 92-95.

Gerendai I, Kocsis K, Halasz B. (2002). Supraspinal Connections of the Ovary: Structural and Functional Aspects. *Microscopy Research and Technique* 59(6): 474-483.

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

Gilbert R, Emson P, Fahrenkrug J, Lee C, Penmant E, Wass J. (1980). Axonal transport of neuropeptides in the cervical vagus nerve of the rat. *Journal of neurochemistry* 34: 108-113.

Glise H, Abrahamsson H. (1980). Reflex vagal inhibition of gastric motility by intestinal nociceptive stimulation in the cat. *Scandinavian journal of gastroenterology* 15(7): 769-774.

Gonzalez M, Deutsch J. (1981). Vagotomy abolishes cues of satiety produced by gastric distension. *Science* 212(12):1283-1284.

Grasa M. (2004). Glucocorticoides y obesidad. *Revista española de obesidad* 2: 13-30.

Guyton C. (2000). *Tratado de Fisiología Médica*. Interamericana. 9ª edición. México. pp: 512-513.

Guzmán M, Pimentel K, Bonilla E, Flores A, Domínguez R. (2011). La inervación vagal participa en las modificaciones de la ovulación espontánea en respuesta a la adrenalectomía unilateral realizada en el día del Diestro-2. LIV Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas A.C. Número de control C-150.

Hagan M, Chandler P, Waufordd P, Rybak R, Oswald K. (2003). The role of palatable food and hunger as trigger factors in an animal model of stress induced binge eating. *International Journal of Eating Disorders* 34(2):183–197.

Halász B. (2000). The hypothalamus as an endocrine organ. En: *Neuroendocrinology in Physiology and Medicine*. Editorial: Human Press Inc. Totowa, New Jersey. USA, pp: 3-21.

Harris R, Zhou J, Youngblood B, Rybkin I, Smagin G, Ryan D. (1998). Effect of repeated stress on body weight and body composition of rats fed low- and high-fat diets. *Regulatory, integrative and comparative physiology* 275(6): R1928-R1938.

Helke C, O'Donohue, Jacobowitz D. (1980). Substance P as a baro- and chemoreceptor afferent neurotransmitter: immunocytochemical and neurochemical evidence in the rat. *Peptides* 1: 1-9.

Hicks J. (2006). Bioquímica. McGraw-Hill Interamericana. 2ª edición. México. pp: 586, 587.

Hinshelwood M. (1999). Steroidogenesis, overview. *In: Encyclopedia of Reproduction.* Editores: Knobil E, Neill JD. Academic Press. USA. pp:644-653.

Hirshfield A, Midgley A. (1978). Morphometric analysis of follicular development in the rat. *Biology of reproduction* 19(3): 597-605.

Hirshfield A. (1991). Theca cell may be present at the outset of follicular growth. *Biology of reproduction* 44(6): 1157-1162.

Hoar W. (1978). Manual de Laboratorio para Fisiología General y Comparada. Omega. Barcelona. pp: 150-152.

Hsueh A, Billing H, Tsafri A. (1994). Ovarian follicle atresia: a hormonally controlled apoptotic process. *Endocrine Reviews* 15(6): 707-724.

Hubscher C, Armstrong J, Johnson J. (2006). Effects of spinal cord injury on the rat estrous cycle. *Brain research* 1100: 118-124.

Jacobs JJ, Pepler RD. (1980). Adrenalectomy has a differential effect on the ovarian response of the two strains of rat. *J Endocr.* 87:241-246.

Joseph P, Gortari P. (2007). El estrés y sus efectos en el metabolismo y el aprendizaje. *Biotecnología* 14: 65-76.

Kalantaridou S, Makrigiannakis A, Zoumakis E, Chrousos G. (2004). Stress and female reproductive system. *Journal of Reproductive Immunology* 62(1-2): 61-68.

Kierszenbaum A. (2008). *Histología y Biología Celular: Introducción a la Anatomía Patológica*. Elsevier. España. pp: 633

Kilen S, Schwartz N. (1999). Oestrous cycle. *In: Encyclopedia Reproduction*, Editores: Knobil E, Neill JD. Academic Press, USA, vol.2: 127-135.

Klein CM, Burden HW. (1980). Anatomical localization of the afferent and postganglionic sympathetic neurons innervating the rat ovary. *Neuroscience Letters* 85 (2): 217-222.

Krahn D, Gosnell B, Majchrzak M. (1990). The anorectic effects of CRH and restraint stress decrease with repeated exposures. *Biological psychiatry* 27(10): 1094-1102.

Kronenberg H, Melmed S, Polonsky K, Reed P. (2009). *Williams Tratado de Endocrinología*. Elsevier. 11ª edición. España. pp: 809.

Lamprecht S, Zor U, Tsafri A, Lindner H. (1973). Action of prostaglandin E_2 and of luteinizing hormone on ovarian adenylate cyclase, protein kinase and ornithine decarboxylase activity during postnatal development and maturity in the rat. *Journal of endocrinology* 57: 217-233.

Latini S, Chiarpotto M, Muciaccia B, Vaccari S, Barbieri M, Guglielmo M, Stefanini M, Cecconi S, Canipari R. (2010). Inhibitory effect of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide on the initial stages of rat follicle development. *Molecular and Cellular Endocrinology* 320(1-2): 34-44.

Lawrence I, Burden H, Louis T. (1978). Effect of abdominal vagotomy of the pregnant rat on LH and progesterone concentrations and fetal resorption. *Journal of reproduction and fertility* 53: 131-136.

Levin M. (2005). Left-right asymmetry in embryonic development: a comprehensive review. *Mechanisms of development* 122: 3-25.

López TN. (2009). Participación del Nervio Vago en la regulación de la secreción de las gonadotropinas y 17 β -estradiol durante el ciclo estral de la rata. Tesis para obtener el título de Bióloga. Carre de Biología. FES Zaragoza, UNAM.

Malamed S, Gibney J, Ojeda S. (1992). Ovarian innervation develops before initiation folliculogenesis in the rat. *Cell and Tissue Research* 270: 87-93.

Mattukrishna S, Jauniaux E, McGarrigle H, Groome N, Rodeck CH. (2004). *In vivo* concentrations of inhibins, activin A and follistatin in human early pregnancy. *Reproductive biomedicine online* 8(6): 712-719.

Mayerhofer A, Dissen G, Costa M, Ojeda S. (1997). A role for neurotransmitters in early follicular development: induction of functional follicle-stimulating hormone receptors in newly formed follicles of the rat ovary. *Endocrinology* 138(8): 3320-3329.

Mayerhofer A, Smith GD, Danilchik M, Levine J, Wolf D, Dissen G, Ojeda S. (1998). Oocytes are a source of catecholamines in the primate ovary: evidence for a cell-cell regulatory loop. *Proceedings of the National Academy Sciences of USA* 95:10990-10995.

Melendez RG. (2005). Papel de las glándulas suprarrenales y los ovarios en la secreción de progesterona durante el ciclo estral de la rata. Tesis para obtener el título de Bióloga. Carrera de Biología. FES Zaragoza, UNAM.

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(4): 279–283.

Morán C, Franco A, Morán J, Handal A, Morales L, Domínguez R. (2005). Neural activity between ovaries and the prevertebral celiac-superior mesenteric ganglia varies during the estrous cycle of the rat. *Endocrine* 26(2): 147-152.

Mordes J, Herrera M, Silen W. (1977). Decreased weight gain and food intake in vagotomized rats. *Proceedings of the society for experimental biology and medicine* 156(2): 257-260.

Murray R. (1994). *Bioquímica de Harper. El Manual Moderno.* 13ª edición. México. pp: 590-595, 651,652.

Nance D, Bhargava M, Myatt G. (1984). Further evidence for hypothalamic asymmetry in endocrine control of the ovary. *Brain Research Bulletin* 13(5): 651-655.

Nance D, Burns J, Klein C, Burden H. (1988). Afferent fibers in the reproductive system and pelvic viscera of female rats: anterograde tracing and immunocytochemical studies. *Brain Research Bulletin* 21(4): 701-709.

Nestorovic N, Lovren M, Sekulic M, Negic N, Sosic-Jurjevic B, Filipovic B, Milosevic V. (2004). Chronic somatostatin treatment affects pituitary gonadotrophs ovaries and onset of puberty in rats. *Life Sciences* 74(11): 1359-1373.

Newsome T, Mason A, Pruitt B. (1973). Weight loss following thermal injury. *Annals of surgery* 178(2): 215-217.

Neyro JL. (2007). Bases fisiológicas del ciclo menstrual. En: Ponencias triatlón mujer 2007. Universidad del País Vasco UPV – EHU, Hospital de Cruces. Baracaldo. Bizkaia.

O'Malley BW, Strott CA. (2001). Hormonas esteroides metabolismo y mecanismos de acción. En: Endocrinología de la reproducción. Fisiología, fisiopatología y manejo clínico. Editores: Yen S, Jaffe R, Barbieri R. Médica panamericana 4ª edición. Argentina. Cáp. 4: 122.

Ortega M, García M, Solano P, Ninomiya G, Guevara R, Wayner J. (1990). Vagus nerve afferent and efferent innervation of the rat uterus: an electrophysiological and HRP study. Brain Research Bulletin 25(3): 365-371.

Palafox M. (2007). Un estudio de las interacciones funcionales de las adrenales y secreción de estrógenos por parte de los ovarios. Tesis para obtener el título de Bióloga. Carrera de Biología. FES Zaragoza, UNAM. México.

Palma G. (2001). Biotecnología de la Reproducción. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Argentina. pp: 37-38.

Palumbo A, Yeh J. (1994). *In situ* localization of apoptosis in the rat ovary during follicular atresia. Biology of Reproduction 51(5):888-895.

Pecoraro N, Reye F, Gomez F, Bhargava A and Dallman M. (2004). Chronic stress promotes palatable feeding, which reduces signs of stress: feed forward and feedback effects of chronic stress. Endocrinology 145(8): 3754-3762.

Pedernera E. (1993). Cooperación celular en la biosíntesis de hormonas esteroides En: Comunicación Neuroendocrina. Bases celulares y moleculares. Domínguez R. (Ed.) Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C. México. pp: 33-46.

Peluffo M. (2002). Efectos de gonadotrofinas y un análogo de la hormona liberadora. Tesina de licenciatura en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Belgrano, Buenos Aires.

Peppler R, Greenwald G. (1970). Influence of unilateral ovariectomy on follicular development in cycling rats. *American journal of anatomy* 127: 9-14.

Prieto B, Velázquez M. (2002). Fisiología de la reproducción: hormona liberadora de gonadotrofinas. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM.* 45(6): 252-257.

Rajah R, Glaser E, Hirshfield A. (1992). The changing architecture of the neonatal rat ovary during histogenesis. *Developmental Dynamics* 194(3): 177-192.

Rajah R, Hirshfield A. (1991). The changing architecture of the rat ovary during the immediate postpartum period: a three dimensional (3D) reconstruction. *Biology Reproduction* 144-152.

Rojas F. (1992). Factores no esteroideos en el control de la función gonadal. En: *Avances en reproducción humana.* Editores: Asch R y Acosta A. Médica Panamericana. Argentina. pp: 58-60.

Rosado A, Rosales A. (1991). Maduración folicular en el mamífero. *Ciencia* 42:81-97.

Ross MH, Kate GI, Paulina W. (2004). *Histología. Texto y Atlas de color con Biología Celular y Molecular.* 4ª. ed. Ed. Médica Panamericana. Argentina. pp: 644-655.

Rosen H, Jameel M, Dee C, Barkan A. (1989). Regulation by oestradiol of serum levels of LH and FSH and pituitary levels of gonadotrophin-releasing hormone receptors after ovariectomy in the rat. *The Journal of Endocrinology* 123(2): 249-256.

Ross M. (2007). *Histología: texto y atlas color con Biología Celular y Molecular.* Médica Panamericana. 5ª edición. Argentina. pp: 830-835, 843.

Ruíz F. (1988). Fundamentos de embriología y fisiología de la reproducción. UNAM. México. pp: 100-130, 304-355.

Russell F. (2008). The female rat reproductive cycle: a practical histological guide to staging. *Toxicologic Pathology* 36(3):375-384.

Ryan R. (1981). Follicular atresia: Some speculations of biochemical markers and mechanisms. *In: Dynamics of ovarian function.* NB Schwartz y M Hunzicker- Dunn (Eds). Raven Press, New York. pp: 1-11.

Rybkin I, Zhou Y, Volaufova J, Smagin G, Ryan D, Harris R. (1997). Effect of restraint stress on food intake and body weight is determined by time of day. *Regulatory, integrative and comparative physiology* 273(5): R1612-R1622.

Schwartz G, Berkow G, McHugh P, Moran T. (1993). Gastric branch vagotomy blocks nutrient and cholecystokinin-induced suppression of gastric emptying. *Regulatory, integrative and comparative physiology* 264(3): R630-R637.

Schwartz N. (2000) Neuroendocrine regulation of reproductive cyclicity. *In: Neuroendocrinology in physiology and medicine.* Editores: M. Conn y M. Freeman. Humana Press. USA. pp: 135-145.

Sharma R. (2000). Follicular atresia in goat: A review. *Indian Journal of Animal Sciences* 70(10): 1035-1046.

Shibasaki T, Yamauchi N, Kato Y, Masuda A, Imaki T, Hotta M, Demura H, Oono H, Ling N, Shizume K. (1988). Involvement of corticotropin-releasing factor in restraint stress-induced anorexia and reversion of the anorexia by somatostatin in the rat. *Life sciences* 43(14): 1103-1110.

Silverthorn U. (2008). Fisiología humana: un enfoque integrado. Médica Panamericana. 4ª edición. Argentina. pp: 229.

Snell R. (2007). Neuroanatomía clínica. Médica Panamericana. 5ª edición. España. pp: 382.

Sokka T, Huhtaniemi I. (1990). Ontogeny of gonadotrophin receptor and gonadotrophin-stimulated cyclic AMP production in the neonatal rat ovary. *Journal of Endocrinology* 127(2): 297-303.

Stratakis C, Chrousos G. (1995). Neuroendocrinology and Pathophysiology of the stress system. *Annals of the New York Acadademy of Sciences* 771: 1-18.

Tanaka K, Matsugami T, Chiba T. (2002). The origin of sensory innervation of the peritoneum in the rat. *Anatomy and Embryology* 205(4):307-313.

Thornton JE, Finn PD. (1999). Estrus. *In: Encyclopedia of Reproduction.* Academic Press. New York. Volume 2. 136 - 141.

Tóth IE, Vizi ES, Hinson JP, Vinson GP. (1997). Innervation of the adrenal cortex, its physiological relevance, with primary focus on the noradrenergic transmission. *Micros Res Tech.* 36: 534-545.

Tresguerres J. (2003). Fisiología humana. Mc-Graw Hill Interamericana. 2ª edición. Madrid.

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

Tsafriri A, Kraicer P. (1972). The time sequence of ovum maturation in the rat. *Journal of Reproduction and Fertility* 29(3): 387-393.

Uchida K, Kadowaki M, Nomura Y, Miyata K, Miyake T. (1970). Relationship between ovarian progesterin secretion and corpora lútea function in pregnant rats. *Endocrinología Japonica* 17(6): 499–507.

Valles A, Martí O, García A, Armario A. (2000). Single exposure to stressors causes long-lasting, stress-dependent reduction of food intake in rats. *Regulatory, integrative and comparative physiology* 279(3): R1138-R1144.

Velasco J. (2007). Efectos agudos de la sección del nervio ovárico superior en el día del proestro de ratas con ovariectomía, adrenalectomía o ambas, sobre la ovulación y secreción de progesterona y 17 beta-estradiol. TESIS de Licenciatura. FES Zaragoza, UNAM.

Villavicencio J. (1991). Un estudio de los mecanismos que regulan el crecimiento y la diferenciación folicular en la rata prepúber: el papel de la hormona estimulante del folículo y sus isohormonas. Tesis para obtener el grado de Maestra en Biología de la Reproducción Animal. Universidad Autónoma Metropolitana. México.

Vitt U, McGree E, Hayashi M, Hsueh A. (2000). *In vivo* treatment with GDF-9 stimulates primordial and primary follicle progression and theca cell marker CYP17 in ovaries of immature rats. *Endocrinology* 141(10): 3814-3820.

Waddell B, Bruce N, Dharmarajan A. (1989). Changes in ovarian blood flow and secretion of progesterone and 20 alpha-hydroxypregn-4-en-3-one on day 16 and the morning and afternoon of day 22 of pregnancy in the rat. *Biology of Reproduction* 41(6): 990–996.

Watts A. (1991). Ether anesthesia differentially affects the content of prepro-corticotropin-releasing hormone, prepro-neurotensin/neuromedin N and prepro-enkephalin m RNAs in the hypothalamic paraventricular nucleus of the rat. *Brain Research* 544 (2): 353-357.

Welschen R. (1972). Effect of unilateral ovariectomy on follicular growth in hypophysectomized rats treated with pregnant mare serum gonadotrophin. *The journal of endocrinology* 55: 227-228.

Wiltbank M, Niswender G. (1992). Functional aspects of differentiation and degeneration of the steroidogenic cells of the corpus luteum in domestic ruminants. *Animal Reproduction Science* 28(1-4): 103-110.

Xiaoxin Z, Zhang L, Huo S, Wang J, Cui S. (2010). Neonatal superior ovarian nerve transection inhibits follicle development by enhancing follicular atresia and suppressing granulosa cell proliferation in rats. *Reproduction, fertility and development*, 22: 1148-1158.

Yao H, Bahr J. (1999). Ovary, overview. *In: Encyclopedia of Reproduction.* Editores: Knobil E, Neill JD. Academic Press, USA, 3:590-597.

Yen S, Jaffe R, Barbieri R. (2001). Neuroendocrinología de la reproducción. En: *Endocrinología de la reproducción. Médica-Panamericana.* Argentina. pp: 31-85.

Zárate A, Santiago M, González L, Silva C, Everardo P, Cruz M, Flores A, Domínguez R. (2011). La participación del Nervio vago en la regulación de la ovulación es asimétrica y varía durante el día del proestro. LIV Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas A.C. Número de control: *ffe6df*.