



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de Estudios Superiores Zaragoza
Carrera de Biología

Respuesta ovulatoria a la sección del Nervio Ovárico
Superior a las 9:00 h durante el ciclo estral de la rata
adulta con o sin ovariectomía unilateral

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

B I Ó L O G O

P R E S E N T A

JULIO CÉSAR MUÑOZ CANALES

DIRECTORA DE TESIS

M. en IBSH. Angélica Flores Ramírez



México D. F., octubre 2014

Investigación realizada gracias al programa UNAM-DGAPA-PAPIIT IN215513



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**Facultad de Estudios Superiores Zaragoza
Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción
Laboratorio de Biología del Desarrollo**

**Respuesta ovulatoria a la sección del Nervio Ovárico
Superior a las 9:00 h durante el ciclo estral de la rata
adulta con o sin ovariectomía unilateral**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

B I Ó L O G O

P R E S E N T A

JULIO CÉSAR MUÑOZ CANALES

DIRECTORA DE TESIS

M. en IBSH. Angélica Flores Ramírez

México D. F., 2014

Investigación realizada gracias al programa UNAM-DGAPA-PAPIIT IN215513



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

"ZARAGOZA"

DIRECCIÓN

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

Comunico a usted que el alumno **MUÑOZ CANALES JULIO CÉSAR**, con número de cuenta **304321366**, de la carrera de Biología, se le ha fijado el día **29 de octubre de 2014** a las **10:00 hrs.**, para presentar examen profesional, el cual tendrá lugar en esta Facultad con el siguiente jurado:

PRESIDENTE Dra. MARÍA ESTHER CRUZ BELTRÁN

VOCAL M. en IBSH. ANGÉLICA FLORES RAMÍREZ

SECRETARIO Dra. PATRICIA ROSAS SAUCEDO

SUPLENTE Dra. MARÍA ELENA AYALA ESCOBAR

SUPLENTE Dra. JUANA MONROY MORENO

El título de la tesis que presenta es: **Respuesta ovulatoria a la sección del Nervio Ovárico Superior a las 9:00 h durante el ciclo estral de la rata adulta con o sin ovariectomía unilateral.**

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 30 de septiembre de 2014.

DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ

**DIRECTOR
DIRECCIÓN**

RECIBI
OFICINA DE EXÁMENES
PROFESIONALES Y DE GRADO

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

A MI FAMILIA

A ti **mamá** por toda una vida de dedicación, cariño, desvelos y atenciones, porque para ti no hay límites, porque siempre tendrás la fuerza y la valentía de dar la cara por mí y por la familia. Eternamente gracias.

A ti **papá** por todo tu esfuerzo con el único objetivo de que cumpla mis metas, por ser mi ejemplo de sensibilidad hacia el entorno político y social, de humanidad, de gusto por la historia y los seres vivos, gracias.

A ti **Nallely**, por ser una guía desde mis primeros pasos, por preocuparte por mí y por Juan, por cuidarnos desde pequeños y por seguir haciéndolo.

A ti **Juan**, por ser mi primer amigo y mi compañero en media vida académica, por todos los momentos que hemos pasado y por las cosas que nos hemos confiado.

A ti **Diego** por haber traído a la familia alegría, porque heredaste el carácter y la inteligencia de esta familia que te verá llegar muy lejos.

A MIS AMIGOS

A veces cerca, a veces lejos, porque formaron parte de momentos específicos de mi existencia, porque compartimos durante mucho tiempo nuestro gusto por la música, por vivir la vida, los llevo a donde voy, gracias por toda su amistad; **Marco, Limny, Benjamín y Yukio**.

A ti **Oscar** que entre café y la Cineteca Nacional inició nuestra amistad, por tus consejos, por enriquecer con las humanidades mi discurso político y científico, por ser un ente creativo que diversifica la monotonía.

AGRADECIMIENTOS

A la **M. en IBSH Angélica Flores Ramírez** por todas sus enseñanzas dentro y fuera del laboratorio, por los ratos de convivencia, por toda la confianza vertida desde que ingrese al equipo de trabajo, por acercarme a la línea de investigación y por ser un ejemplo del sentido humano en la ciencia.

A la **Dra. María Esther Cruz Beltrán, Dra. Patricia Rosas Saucedo, Dra. María Elena Ayala Escobar y Dra. Juana Monroy Moreno**, por haber enriquecido con su experiencia y conocimiento a este estudio, por el tiempo y atención invertidos en la tesis.

A mi "team" **Camilo, Gina, Pamela y Angélica**, por hacer más ameno el trabajo de laboratorio, por su amistad dentro y fuera de mismo, por hacer de los congresos momentos muy agradables, por sus consejos en lo personal. A **Camilo** por su invaluable apoyo en los momentos de confusión durante el transcurso del proyecto.

Al personal del bioterio por todo su apoyo ofrecido, por el cuidado y mantenimiento de los animales del presente estudio.

ÍNDICE

RESUMEN..... 1

MARCO TEÓRICO 3

 CONTROL NEUROENDÓCRINO DE LAS FUNCIONES OVÁRICAS..... 3

 El hipotálamo..... 5

 __ Hormona liberadora de las gonadotropinas..... 5

 Hipófisis..... 8

 __ Gonadotropinas..... 10

 Ovario..... 11

 __ Hormonas Ováricas..... 11

 __ Desarrollo Folicular..... 15

 ___ Factores que regulan el desarrollo folicular 20

 __ La ovulación..... 22

 Ciclo estral..... 24

 __ Regulación hormonal del ciclo estral de la rata 25

 CONTROL NEURAL DE LAS FUNCIONES OVÁRICAS.....27

Conexiones del Sistema Nervioso Central con el ovario..... 27

Inervación ovárica 30

 __ *Nervio Ovárico Superior*..... 31

 ASIMETRÍA OVÁRICA.....36

 MODELO DE RATA HEMICASTRADA E HIPERTROFIA COMPENSATORIA37

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 38

HIPÓTESIS 39

OBJETIVOS..... 40

MATERIALES Y MÉTODOS..... 41

RESULTADOS 45

DISCUSIÓN DE RESULTADOS 58

CONCLUSIONES..... 73

REFERENCIAS 74

RESULTADOS PRESENTADOS EN CONGRESOS..... 83

RESUMEN

La ovulación es regulada por señales neuroendocrinas provenientes del hipotálamo, endócrinas de la hipófisis y señales nerviosas multisinápticas que modulan la receptividad de los compartimientos del ovario a los efectos de las hormonas. En este estudio se analizó la participación de la inervación simpática (que llega a las gónadas por medio del nervio ovárico superior izquierdo [NOS-I] y derecho [NOS-D]), en la mañana de cada etapa del ciclo estral sobre la ovulación en la rata entera o con ovariectomía izquierda (Ovx-I) o derecha (Ovx-D). Para ello, ratas adultas a las 9:00 h se les realizó laparotomía ventral (L) bajo anestesia con éter y enseguida se seccionó el NOS-I o el NOS-D; como grupos de comparación se utilizaron animales intactos o con L. A otro grupo se les seccionó el NOS-I o el NOS-D y enseguida se realizó una ovariectomía contralateral a la sección; los resultados fueron comparados con aquellos obtenidos en las ratas con ovariectomía unilateral o con sección unilateral del NOS. Se sacrificaron al estro vaginal para cuantificar el porcentaje de animales ovulantes (PAO) y el número de ovocitos liberados. Los resultados de la masa de los órganos fueron expresados en mg/100 g de masa corporal.

En comparación con el grupo intacto, los animales con L en Diestro-2 presentaron menor número de ovocitos liberados por el ovario derecho (4.3 ± 0.6 vs. 7.1 ± 0.7) y aumento en la masa del útero cuando la cirugía se realizó en las etapas del Proestro (167.4 ± 2.0 vs. 134.8 ± 4.1) o Estro (164.8 ± 8.9 vs. 134.8 ± 4.1).

La sección del NOS-I en Proestro provocó disminución en el número de ovocitos liberados por la gónada ipsilateral a la sección (ovario izquierdo: 3.8 ± 0.9 vs. 6.3 ± 0.4), y de la masa del útero (137.0 ± 6.3 vs. 167.4 ± 19.0), respecto a la del grupo con L, mientras que, la sección del nervio en Estro resultó en aumento en la masa del ovario denervado (20.0 ± 1.2 vs. 14.5 ± 0.7). En contraste, la sección del NOS-D trajo consigo disminución del PAO por la gónada denervada (Estro: 29 vs. 100%, Diestro-1: 43 vs. 100%, Diestro-2: 43 vs. 100%, Proestro: 29 vs. 100%), y aumento de la masa del ovario cuando la sección se realizó en Estro (17.6 ± 0.7 vs. 14.5 ± 0.7). En los animales con Ovx-I en Diestro-1 o Proestro se registró mayor número de ovocitos liberados por la gónada *in situ* (12.1 ± 0.9 vs. 5.0 ± 0.8 ; 8.3 ± 0.5 vs. 5.1 ± 0.8 ,

respectivamente), y en Estro aumento de la masa del ovario *in situ* (16.3 ± 0.7 vs. 14.5 ± 0.7) en relación a lo registrado en aquellos con L.

La Ovx-D en Estro o Diestro-1 resultó en aumento en la cuota de ovocitos liberados (12.8 ± 0.6 vs. 4.6 ± 0.9 ; 12.4 ± 0.5 vs. 6.7 ± 1.0 , respectivamente), y disminución de la masa del útero cuando la cirugía se realizó en Estro (133.9 ± 5.7 vs. 164.8 ± 8.9). La cirugía en el Diestro-2 resultó en menor PAO (43% vs. 100%), en comparación a la de los animales con L.

Los animales con sección del NOS izquierdo y ovariectomía contralateral (NOS-I+Ovx-D) en Estro o Diestro-1 presentaron mayor número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo *in situ* respecto a la de los animales con sección del NOS-I (12.6 ± 0.4 vs. 3.2 ± 0.9 ; 11.4 ± 1.3 vs. 5.0 ± 0.6 , respectivamente). Dicha intervención en Estro resultó en menor masa del ovario izquierdo *in situ* (15.5 ± 0.7 vs. 20.0 ± 1.2). Con respecto a la ovariectomía izquierda, la sección del NOS derecho previa a la ovariectomía contralateral (NOS-D+Ovx-I) en Diestro-2 bloqueó la ovulación en el ovario remanente y cuando se realizó en el Proestro ocasionó un descenso en la cuota de ovocitos que se liberaron (4.9 ± 0.9 vs. 8.3 ± 0.5). La cirugía en Estro resultó en aumento en la masa del ovario remanente (21.7 ± 1.7 vs. 16.3 ± 0.7).

En los animales con NOS-D+Ovx-I en las etapas del Diestro-1 o Proestro se presentó aumento en el PAO por el ovario remanente en comparación con el de aquellos con sección del NOS derecho (100% vs. 43%; 100% vs. 29%, respectivamente), y aumento en el número de ovocitos liberados cuando los animales fueron operados en Diestro-1 (13.1 ± 0.4 vs. 5.0 ± 0.6). La cirugía en Estro ocasionó aumento de la masa del ovario remanente (21.9 ± 1.7 vs. 15.9 ± 0.8) y disminución de la del útero (137.3 ± 11.3 vs. 161.0 ± 8.5).

Con base en los resultados obtenidos en el presente estudio se sugiere que la información neural que recibe el ovario por medio del NOS juega un papel asimétrico en la modulación de la respuesta de los ovarios a las gonadotropinas y que se modifica en función de la etapa del ciclo, el momento del día, el nervio y el ovario analizado.

MARCO TEÓRICO

La reproducción es un proceso biológico que permite la generación de nuevos organismos. Las estrategias y estructuras que emplean los seres vivos para cumplir con esta función son diversas y se engloban en dos tipos reproducción; la asexual y la sexual. En la asexual existe un progenitor que puede producir copias genéticamente idénticas a sí mismas tan pronto llega al estado adulto, y no hay órganos reproductores (Hickman y col., 2009). En la reproducción sexual, la información genética de los descendientes está conformada por el aporte genético de ambos progenitores mediante la fusión de las células sexuales conocidas como gametos (Galina, 2008; Pages y col., 2005).

En los vertebrados, el ovario genera, almacena y libera las células germinativas o gametos femeninos imprescindibles para la reproducción (óvulos). Además, es un órgano de secreción de múltiples mensajeros químicos que funcionan de manera endocrina y paracrina sobre la función de otras estructuras encargadas de mantener los caracteres secundarios femeninos y el trofismo de los órganos del tracto reproductor femenino (Galina, 2008).

CONTROL NEUROENDÓCRINO DE LAS FUNCIONES OVÁRICAS

La regulación neuroendocrina de las funciones ováricas, la ovulación y producción de hormonas esteroides y proteicas, engloba la interacción de distintos mensajeros químicos provenientes del hipotálamo, la hipófisis, las adrenales, la tiroides, y por el mismo ovario (Domínguez y Cruz, 2011). En la hipófisis se originan los principales mensajeros que regulan sus funciones: la hormona luteinizante (LH) y la hormona estimulante del folículo (FSH) cuya secreción es regulada por la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH), sintetizada por neuronas localizadas en el hipotálamo, que además reciben diversas señales extrahipotalámicas que modulan su secreción (Figura 1) (Chen y Fernald, 2008; Domínguez y Cruz, 2011; Ishikawa, 1992).

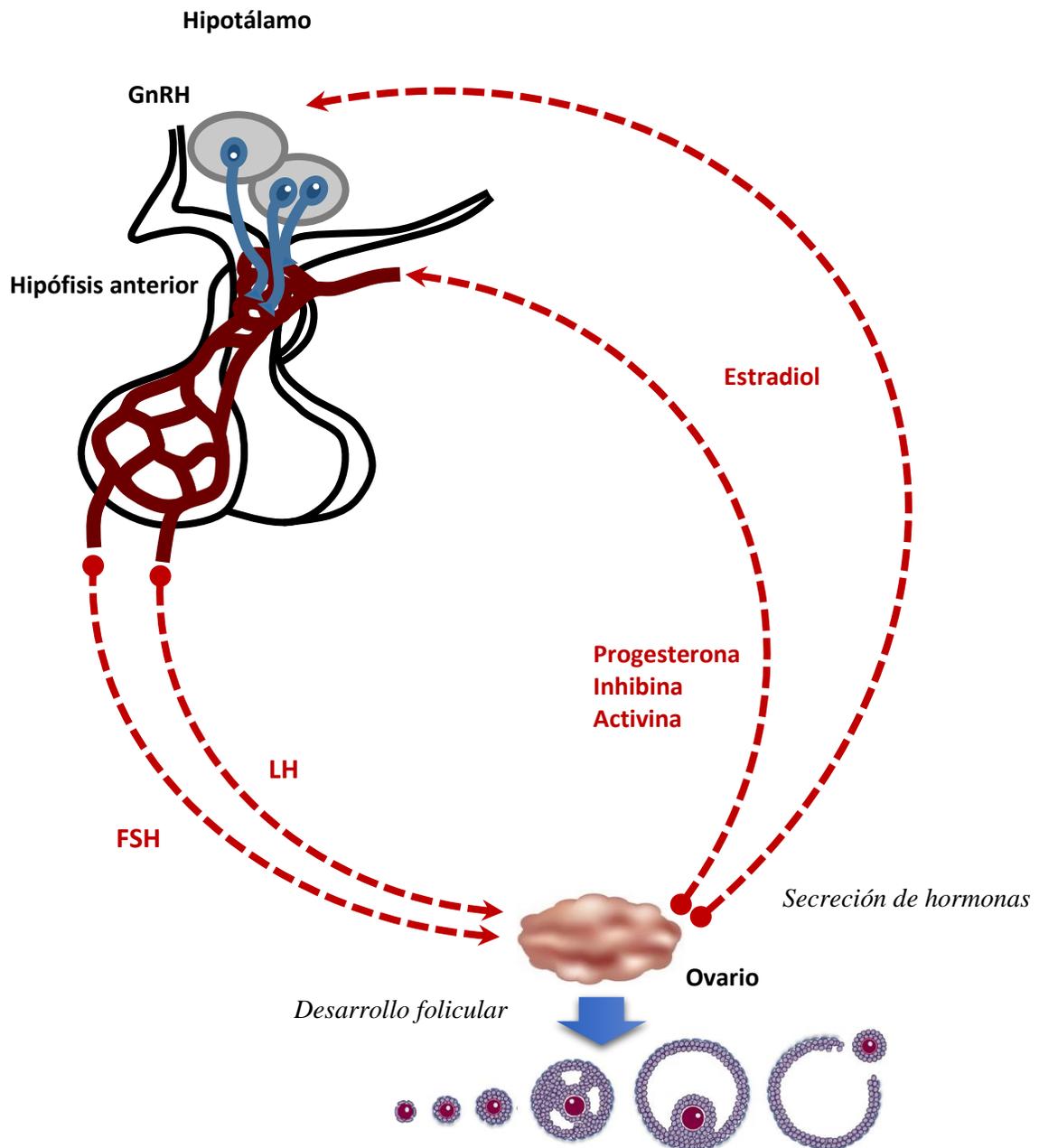


Figura 1.- Esquematación de los mensajeros químicos involucrados en la regulación neuroendócrina de las funciones ováricas. GnRH: Hormona liberadora de las gonadotropinas, FSH: hormona estimulante del folículo, LH: hormona luteinizante (Tomada y modificada de Hill y col., 2004).

El hipotálamo

Esta estructura representa la unión entre el sistema nervioso y el sistema endocrino (Pagés, 2005). Se localiza en torno a la base del tercer ventrículo, por debajo del tálamo y por encima de la hipófisis y está dividido en varios núcleos y áreas que son agregados de cuerpos neuronales (Figura 2). Algunas de esas áreas y núcleos hipotalámicos secretan neurohormonas que regulan la síntesis y liberación de las hormonas de la adenohipófisis, tales como la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) (Geneser, 2000).

Hormona liberadora de las gonadotropinas

La GnRH es un péptido de 10 aminoácidos (*Glu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂*) (Figura 3) (Amoss y col., 1971; Moenter, 2010), que fue aislada en un inicio del hipotálamo de los mamíferos (Chen y Fernald, 2008). Múltiples señales internas (hormonas esteroides, balance energético, etc.) y externas (fotoperiodo, feromonas, estrés, etc.) pueden alterar las funciones del ovario a través de mecanismos que finalmente interrumpen la secreción de esta neurohormona (Moenter, 2010).

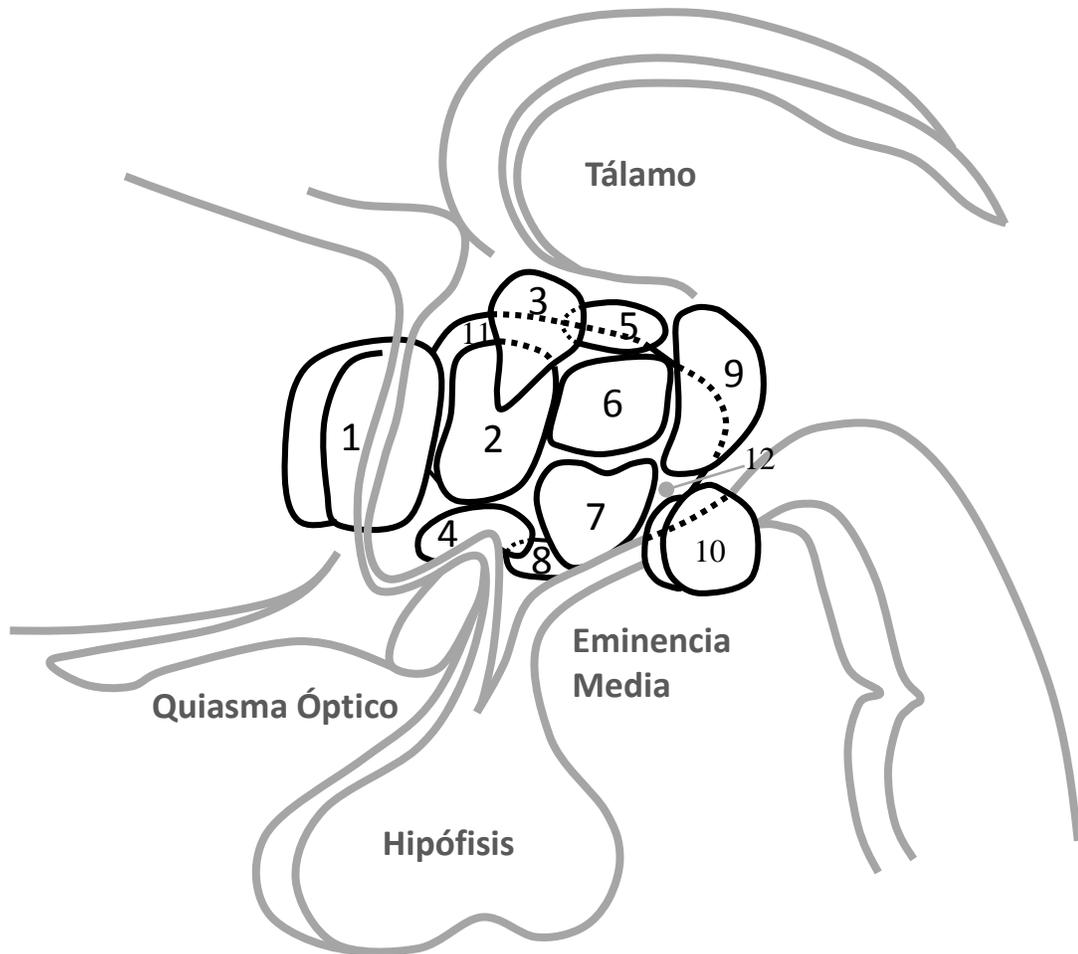


Figura 2.- Esquematación de las distintas áreas que componen al hipotálamo: 1.- área preóptica, 2.- área hipotalámica anterior, 3.- núcleo paraventricular, 4.- núcleo supraóptico, 5.- área hipotalámica, 6.- núcleo dorso-medial, 7.- núcleo ventromedial, 8.- núcleo arcuato, 9.- área hipotalámica posterior, 10.- cuerpos mamilares, 11.- área hipotalámica lateral, 12.- tercer ventrículo (Tomada y modificada de Galina, 2008).

El sistema GnRH-érgico está asociado con otros sistemas neuronales que se comunican con él y que están implicados en la regulación de la síntesis y liberación del decapeptido, tales como el sistema GABA-érgico, glutamatérgico, dopaminérgico, noradrenérgico, serotoninérgico así como por factores de crecimiento, cannabioides, galanina, somatostatina, neuropéptido Y, opioides,

hormonas esteroides y tiroideas, y de manera paracrina por la misma GnRH (Bliss y col., 2010; Clarke, 2011; Herbison, 1997).

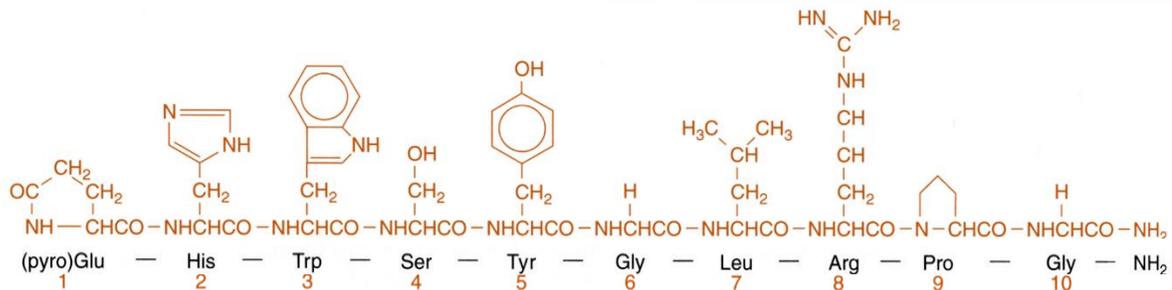


Figura 3.- Esquematación de la estructura primaria de la GnRH en mamíferos (Tomada y modificada de <http://goo.gl/C9Saeq>. Consultada el 25 de agosto de 2014).

En la rata, las neuronas que sintetizan GnRH se localizan principalmente en el área preóptica y ventromedial del hipotálamo. Sus axones proyectan hacia el tercer ventrículo y un 50% hacia la eminencia media en donde las terminales nerviosas liberan por exocitosis a la neurohormona (McCann y col., 2002; Merchenthaler y col.; 1986; Sakuma, 2002).

La secreción de GnRH es pulsátil, la diferencia en la frecuencia del estímulo de la GnRH sobre los gonadotropos de la adenohipófisis afecta la cinética de secreción de la LH y la FSH; una frecuencia mayor en el pulso de secreción está asociada con la liberación de LH, mientras que una frecuencia baja estimula la liberación tónica de FSH (Tsutsumi y Webster, 2009). Además se ha observado que la amplitud y la frecuencia de la secreción de GnRH varían durante el ciclo reproductivo de la hembra (Dalkin y col., 1989).

La secreción de la GnRH también cambia a lo largo del día. La luz es el principal promotor de estas variaciones mediante la estimulación de la síntesis de melatonina, ya que ésta juega un papel importante en la reproducción de los

animales al ejercer un efecto antigonadotrópico porque altera la secreción pulsátil de GnRH (Belsham y Lovejoy, 2005). En diversos estudios se muestra que la melatonina modula la secreción diurna de GnRH al disminuir la sensibilidad de la adenohipófisis a esta neurohormona y que este efecto es dependiente de la edad (Malpaux y col., 1999; Vanecek, 1999; Vanecek y Klein, 1993).

La eminencia media es una delgada banda de tejidos nerviosos donde se origina el sistema portal hipotalámico-hipofisario. Este último consiste en una red de capilares que permite que las neurohormonas liberadas en la eminencia media lleguen a la adenohipófisis; sin pasar por la circulación general. Además, permite el flujo retrógrado de sustancias adenohipofisarias, estableciendo así la retroalimentación de onda corta hacia el hipotálamo (Galina, 2008; Ganong, 2010).

Hipófisis

En el ser humano, la hipófisis está situada en una depresión de la cara superior del esfenoides denominada "silla turca" y se comunica directamente con el hipotálamo por medio de un pedúnculo denominado "hipofisario". Las hormonas que secreta esta glándula: LH, FSH, hormona del crecimiento (GH), hormona estimulante de la tiroides (TSH), hormona adrenocorticotrópica (ACTH), prolactina (PRL), oxitocina y la hormona antidiurética (ADH), regulan de manera directa o indirecta varios procesos fisiológicos y la homeostasis del organismo (Bilezikjian y col., 2012).

La hipófisis se divide en dos porciones: una porción neural o neurohipófisis y una porción glandular o adenohipófisis (Geneser, 2000). La neurohipófisis es un tejido neurohemal donde se almacenan las secreciones neurohormonales sintetizadas en los núcleos supraóptico y paraventricular hipotalámicos: oxitocina y ADH. Emerge de la porción inferior del cerebro y está constituida por tres porciones: la eminencia media que constituye parte del piso del hipotálamo y que

es el punto de unión entre el hipotálamo y la hipófisis, el tallo infundibular y la *pars nervosa* o lóbulo posterior (Figura 4) (Pagés, 2005).

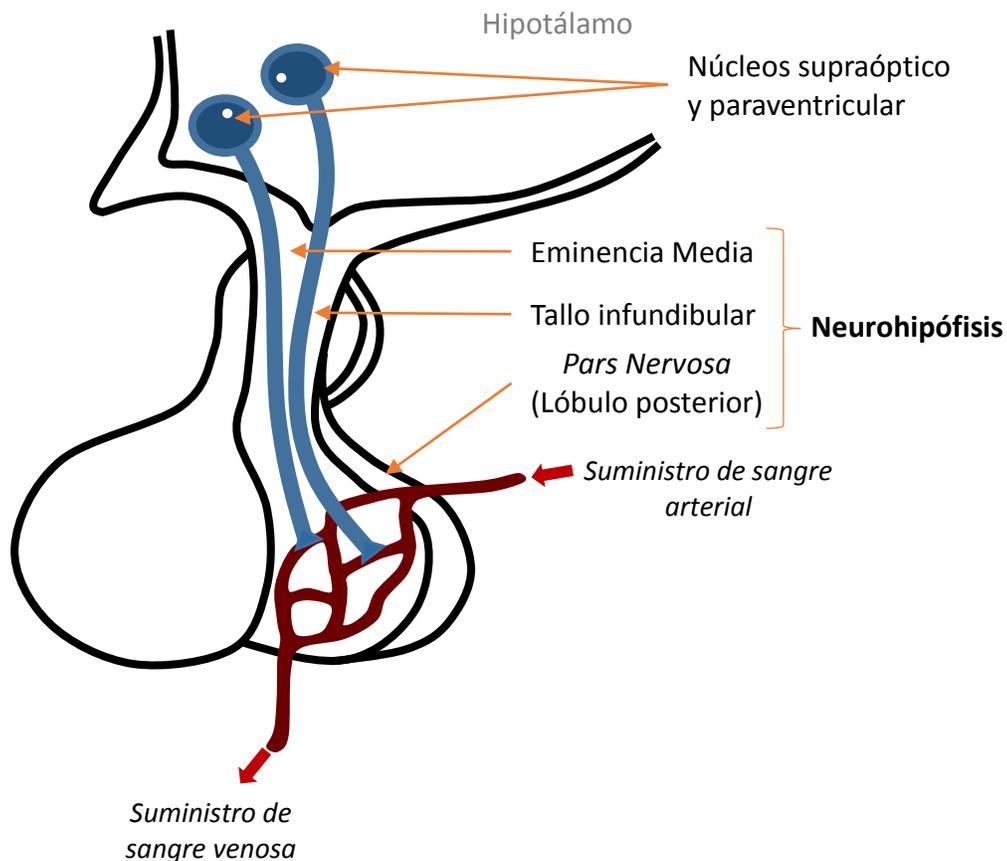


Figura 4.- Esquema que muestra las estructuras que conforman a la neurohipófisis (Tomada y modificada de Hill y col., 2004).

La adenohipófisis constituye, aproximadamente, el 80% del total de la glándula y se divide a su vez en dos partes *pars tuberalis* y *pars distalis*. El conjunto del infundíbulo y la porción superior de la *pars tuberalis* conforma el tallo hipofisiario. En algunos vertebrados poiquilotermos (anfibios, reptiles y peces) se puede distinguir una tercera porción dentro de la adenohipófisis, denominada *pars intermedia* o lóbulo intermedio, encargada de la secreción de la hormona estimulante de los melanocitos, hormona encargada de dispersión de los

gránulos pigmentarios de los melanocitos en la piel. Sin embargo, en mamíferos aún se desconoce su participación precisa (Figura 5) (Ganong, 2010).

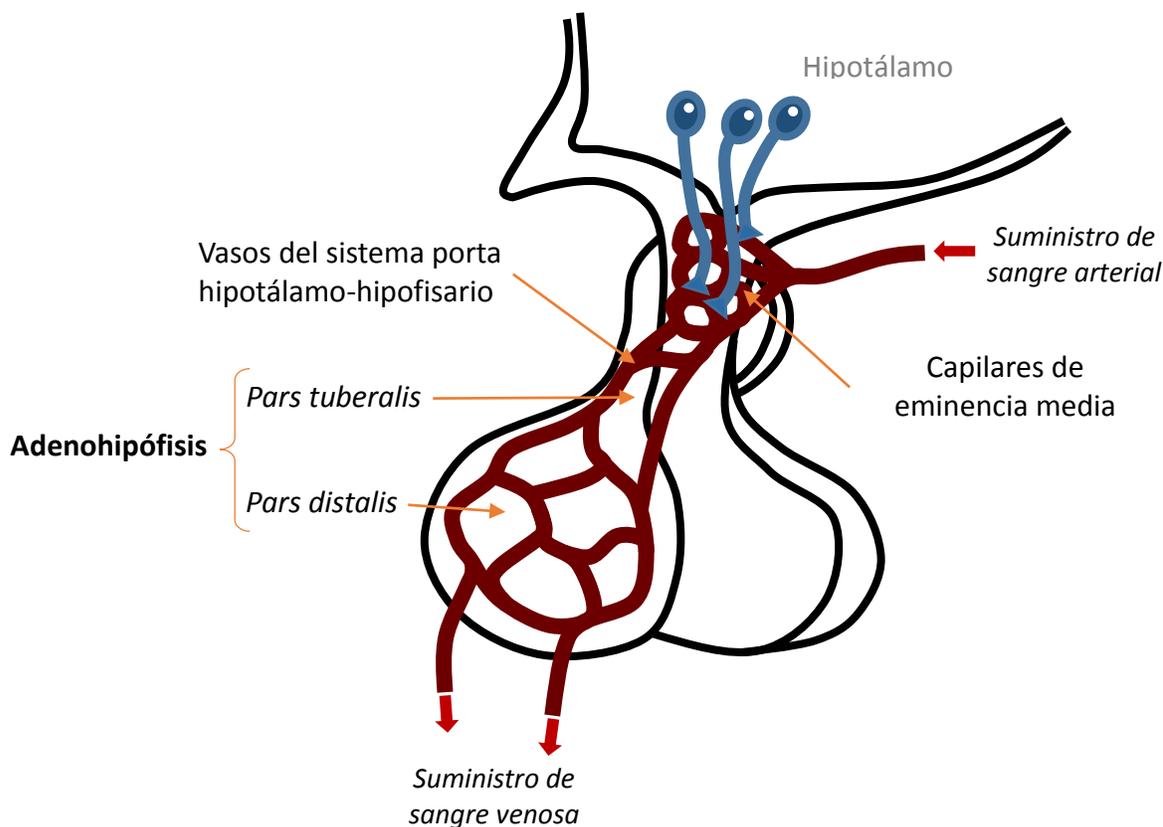


Figura 5.- Esquema que muestra las estructuras que conforman a la adenohipófisis (Tomada y modificada de Hill y col., 2004).

Gonadotropinas

Las gonadotropinas son sintetizadas y liberadas por los gonadotropos que se localizan en la parte distal de la adenohipófisis (Dalkin y col., 1989). Cada hormona contiene dos subunidades, α y β . La subunidad α es idéntica en ambas, con un peso molecular de 14,600 Da y está compuesta por 92 residuos de aminoácidos en la misma secuencia. La subunidad β es específica para cada gonadotropina y determina la función de cada hormona. La estructura de cada subunidad se mantiene por enlaces internos entrecruzados disulfuro (Palermo, 2007).

Las gonadotropinas son glucoproteínas con un peso molecular de aproximadamente 30,000 Da y contienen fructosa, manosa, galactosa, acetilglucosamina y N-acetilglucosamina en fracciones de carbohidratos. Su contenido de ácido salicílico varía extensamente entre las hormonas glucoproteicas, lo que determina la variabilidad en las propiedades bioquímicas y actividades biológicas entre estas hormonas (Palermo, 2007).

La FSH contiene seis enlaces disulfuro y su subunidad β (FSH β) está compuesta por 111 aminoácidos con un peso molecular de 15,400 Da (Palermo, 2007). El gen que codifica a la FSH β está regulado por la folistatina, por la GnRH y por dos proteínas diméricas: inhibina y activina (Bilezikjian y col., 2012). Una vez liberada, la vida media de la FSH de la rata es de 149 min (Bogdanove y Gay, 1969), y es en el hígado donde se metaboliza la mayor parte (Palermo, 2007).

La LH es un heterodímero con un peso molecular de aproximadamente 29,400 Da, cuyas subunidades α y β están unidas de manera no covalente. La subunidad β consta de 114 aminoácidos y un peso molecular de 14,000 Da (Palermo, 2007).

Las gonadotropinas son liberadas al torrente sanguíneo y al llegar al ovario estimulan sus funciones al acoplarse a sus receptores en las células de la teca y de la granulosa (Palermo, 2007).

Ovario

Hormonas Ováricas

Las hormonas esteroides sexuales producidas por el ovario son fundamentalmente progesterona (P₄) y 17 β -estradiol (E₂), aunque también producen pequeñas cantidades de 17 α -hidroxiprogesterona, androstendiona, testosterona, estrona y varias hormonas proteicas como la inhibina, activina, folistatina y relaxina (Domínguez y col., 1991).

Las hormonas esteroideas ováricas, al igual que las producidas en las glándulas adrenales o en la placenta, derivan del colesterol proveniente de tres fuentes: las pozas intracelulares de ésteres de colesterol, las lipoproteínas y las sintetizadas de *novo* en las propias células de la teca (Domínguez y col., 1991).

Las células de la granulosa del ovario pueden sintetizar colesterol de *novo* a partir del acetato, pero la mayor parte de la esteroidogénesis en el ovario deriva del colesterol incorporado desde las lipoproteínas de alta y baja densidad circulantes a través de la endocitosis mediada por receptores. El colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad representa la fuente aislada más importante de sustrato para la esteroidogénesis ovárica (Yen y col., 2001).

Existen tres enzimas P450 involucradas en la esteroidogénesis ovárica: la primera enzima esteroidogénica es la enzima de escisión de la cadena lateral del colesterol o **P450_{scc}**. Se localiza en la membrana mitocondrial externa de las células de la granulosa y de la teca y cataliza las conversiones secuenciales de 20 α -hidroxilación, 22-hidroxilación y escisión de la cadena lateral del colesterol para formar pregnenolona (Yen y col., 2001).

A partir de la pregnenolona se pueden seguir dos vías enzimáticas: Δ^4 y Δ^5 . En estas vías, la pregnenolona puede experimentar una 17 α -hidroxilación por la enzima **P450_{c17}** presente en el retículo endoplasmático de las células de la teca, para formar 17-hidroxi-pregnenolona (Δ^5) o puede ser convertida en P₄ por la enzima 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (Δ^4) (Yen y col., 2001).

La P₄ a su vez presenta una 17 α -hidroxilación por P450_{c17} para pasar a 17-hidroxi-progesterona (Δ^4), estos esteroides 17 α -hidroxilados (17-hidroxi-pregnenolona y 17-hidroxi-progesterona) pueden sufrir una escisión de la ligadura C17-20 para formar DHEA (Δ^5) y androstenodiona (Δ^4), respectivamente. Estas cuatro reacciones son mediadas únicamente por P450_{c17}, cuya enzima se

expresa en las células de la teca, donde es necesaria para producir los andrógenos que sirven como sustrato para la aromatización a estrógenos (Yen y col., 2001).

La conversión de DHEA a androstenodiona y de androstenodiona a testosterona es catalizada por un grupo de enzimas denominadas 17β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (17β HSD) (Yen y col., 2001).

La aromatización del anillo esteroide-A catalizada por la enzima **P450arom** presente en el retículo endoplasmático de las células de la granulosa convierte a la androstenodiona en estrona y a la testosterona en E_2 (Figura 6). La estrona resultante de la primera reacción a su vez puede ser catalizada a E_2 por 17β HSD (Yen y col., 2001).

El folículo ovárico es el encargado de sintetizar las hormonas esteroideas y a medida que se desarrolla, despliega una actividad esteroideogénica cada vez mayor en respuesta a la estimulación de las gonadotropinas. Las células tecales, con suficiente vascularización y receptores a lipoproteínas de baja densidad (LDL), disponen de los sistemas enzimáticos capaces de transformar la pregnenolona en andrógenos, pero no tienen las enzimas aromatizantes para llegar a la biosíntesis de E_2 . En respuesta al estímulo de la LH, las células de la teca interna sintetizan andrógenos que se difunden hacia las células de la granulosa donde son aromatizados. La capacidad de transformar andrógenos en estrógenos a través de la aromatización es estimulada por la FSH (teoría de la doble célula – doble hormona) (Figura 6) (Yen y col., 2001).

Ambas gonadotropinas al unirse a sus receptores de membrana forman un complejo hormona-receptor que activa la interacción del dominio α de la proteína G de la membrana, a través de la proteína *adenilato ciclasa* que cataliza la conversión de adenosín trifosfato (ATP) en adenosín monofosfato cíclico

(AMPc) intracelular para activar genes de proliferación y diferenciación (Erickson y Shimakasi, 2001; Hillier, 2001; Palermo, 2007).

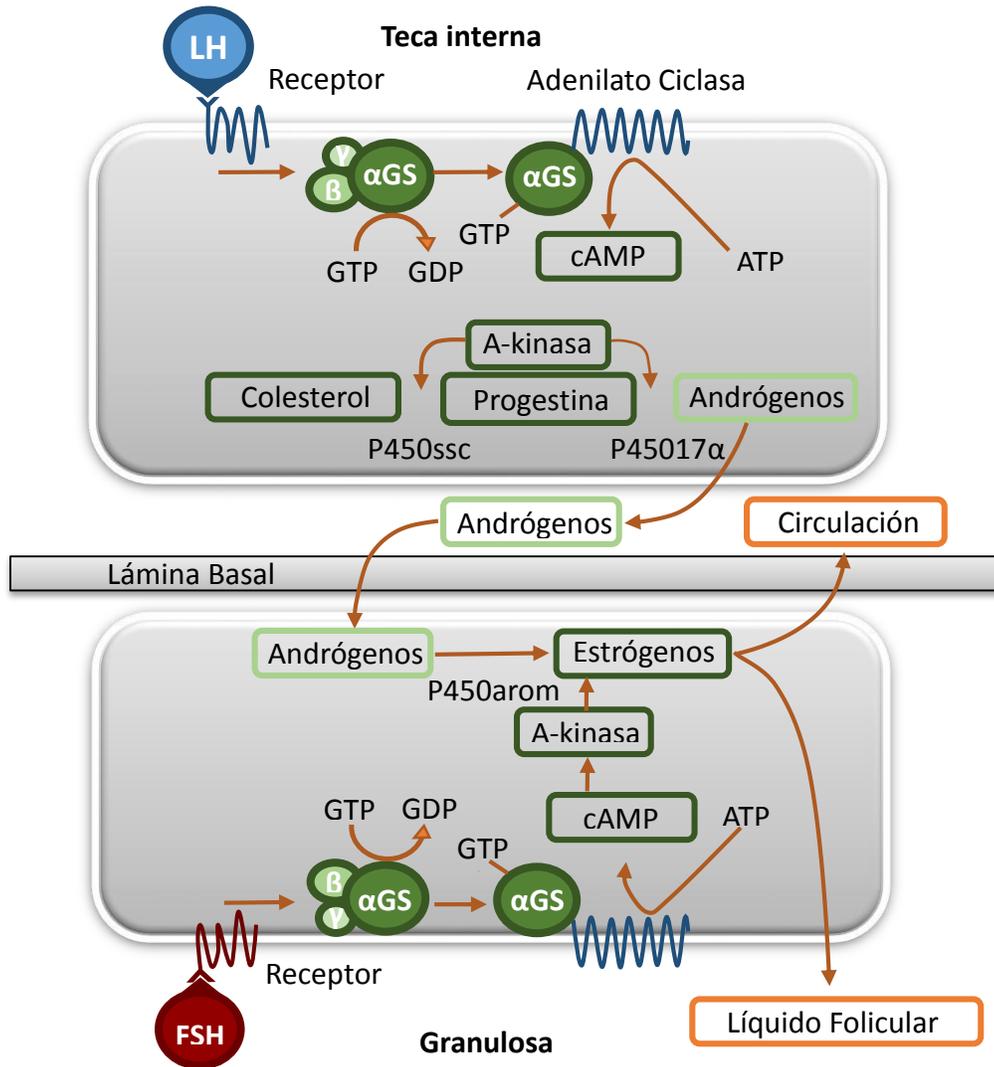


Figura 6.- Teoría de la doble célula - doble hormona (Tomada y modificada de Palermo, 2007).

La activina aumenta la biosíntesis y secreción de FSH, la proliferación celular, la diferenciación y la apoptosis (Pangas, 2000; Woodruff, 1998; Woodruff y col., 1996). Por el contrario, la inhibina disminuye la síntesis de FSH e inhibe su secreción (Woodruff, 1998).

La inhibina es una glucoproteína dimérica producidas de manera predominante en las células de la granulosa de los folículos ováricos (Robertson y col., 1988). Los subtipos de inhibinas, A y B, están implicados de forma autocrina y paracrina en la regulación del desarrollo y supervivencia de los folículos (Bilezikjian y col., 2012). La folistatina actúa de manera indirecta en la modulación de la secreción de las gonadotropinas, mediante el ensamble y neutralización de la activina y sus efectos sobre FSH (Bilezikjian y col., 2012; Winters y col., 1997).

Desarrollo Folicular

El folículo es la unidad anatómica y funcional del ovario, a partir del cual se forman los tres compartimentos funcionales del órgano: el folicular, el luteal y el intersticial. El folículo está conformado por el ovocito, una membrana basal que aísla a las células de la granulosa del resto de los componentes del ovario y las células tecales; éstas últimas conforman la denominada teca interna. Además el folículo está rodeado por un complejo sistema de fibras colágenas, tejido conectivo, sustancia fundamental y fibras musculares lisas, todo lo cual recibe el nombre de la teca externa. Todos los elementos forman una vaina fibrosa, la que al disgregarse en un punto cercano a la superficie del ovario forma un orificio por el cual saldrá el ovocito (Domínguez y col., 1991; Erickson y Shimakasi, 2001; Palermo, 2007).

Después del desarrollo del ovocito, se le considera folículo cuando células específicas ordenadas alrededor del ovocito comienzan a formar el epitelio folicular, lo que ocurre durante el desarrollo embrionario. Una vez conformado el epitelio folicular, que forma una cápsula uniforme, es cuando se les denomina

folículos primordiales, los que representan el repertorio total de ovocitos durante la vida fértil de la hembra. Estos folículos se caracterizan por la presencia de ovocitos rodeados de células planas (pre-células de la granulosa) en una sola capa (Figura 7) (Freeman, 2006; Sánchez y Smitz, 2012).

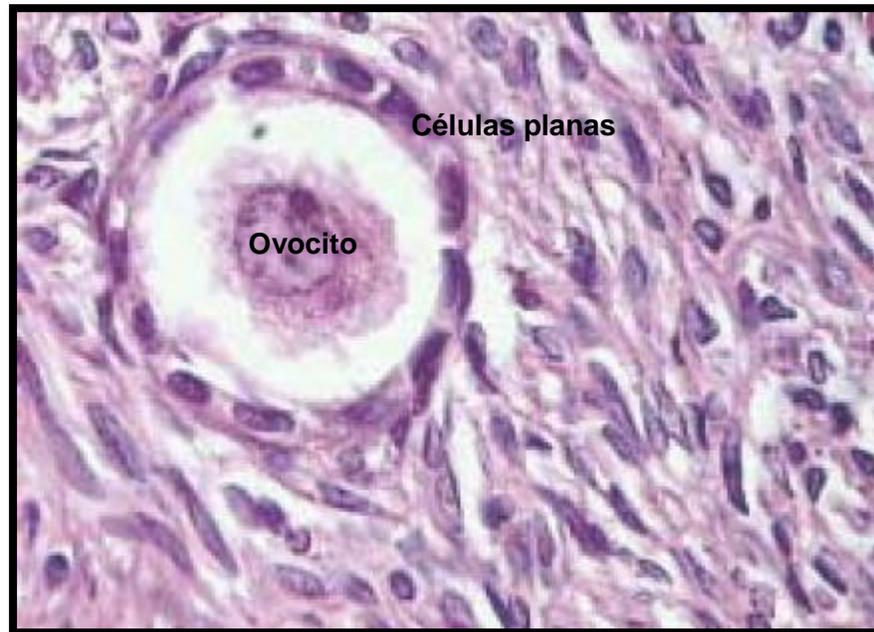


Figura 7.- Corte histológico de ovario donde se observa un folículo primordial. H/E x 1000 (Tomada de <http://is.gd/1hjMcT>. Consultada el 12 de octubre de 2014).

La activación de los folículos primordiales es constante y se reclutan en cohortes para iniciar el desarrollo folicular. Durante el reclutamiento inicial, varios factores intraováricos participan en la activación del crecimiento y diferenciación de los folículos primordiales a folículos primarios. La vía de fosfoinositol 3-quinasa es un factor crucial para la activación de dichos folículos (Erickson y Shimasaki, 2001; Palermo, 2007; Sánchez y Smitz, 2012).

Así, la capa de células epiteliales planas se amplía para formar un epitelio cilíndrico y el ovocito crece. Estas células cuboides reciben el nombre de células

de la granulosa y el folículo se denomina como primario (Figura 8) (Freeman, 2006).



Figura 8.- Detalle, con el objetivo de 100x, del folículo primario, en torno al cual es visible el estroma conjuntivo del ovario y algunos folículos primordiales, con los núcleos aplanados de sus células foliculares. O: ovocito, G: células de la granulosa (Tomada de <http://is.gd/2benMn>. Consultada el 12 de octubre de 2014).

La transición de folículos primarios a secundarios está impulsado por factores paracrinos locales producidos por el ovocito. Difieren de los folículos primarios, debido a que tienen más de una capa de células de la granulosa y porque han adquirido una capa celular adicional: la teca. Además, en este estadio aparece la membrana basal, la cual separará a las células de la granulosa y de la teca, asimismo es posible observar la zona pelúcida, que rodea al ovocito, así como el desarrollo de numerosos vasos sanguíneos pequeños (Figura 9) (Sánchez y Smitz, 2012).



Figura 9.- Corte histológico de un ovario donde se muestra un folículo secundario. O: ovocito, G: células de la granulosa, T: células de la teca, ZP: zona pelúcida (Tomada de <http://is.gd/yspkv3>. Consultada el 25 de Agosto del 2014).

Durante el desarrollo folicular la mayoría de los folículos se vuelven atrésicos y solo unos pocos llegan a estadios preantrales. Durante el estadio preantral temprano, los folículos se vuelven más susceptibles a entrar en atresia y la FSH se convierte en el máximo factor de supervivencia (Chun y col., 1996). Los folículos preantrales están rodeados por varias capas de células de la granulosa que contienen áreas dispersas de fluido intersticial (Figura 10) (Sánchez y Smitz, 2012).

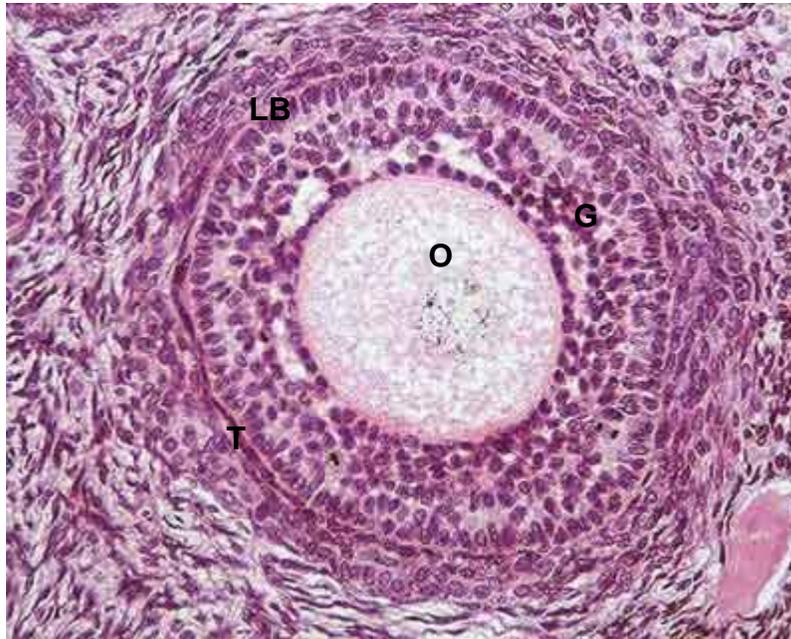


Figura 10.- Corte histológico de un ovario donde se observa un folículo preantral (H/E Objetivo 40x) O: ovocito, G: células de la granulosa, T: células de la teca, LB: lámina basal (Tomada de <http://is.gd/DWy3SR>. Consultada el 25 de Agosto del 2014).

Eventualmente, estas áreas dispersas de fluido se unen para formar la cavidad antral, es entonces cuando se le conoce como folículos antrales o preovulatorios. (Figura 11) (Sánchez y Smitz, 2012).

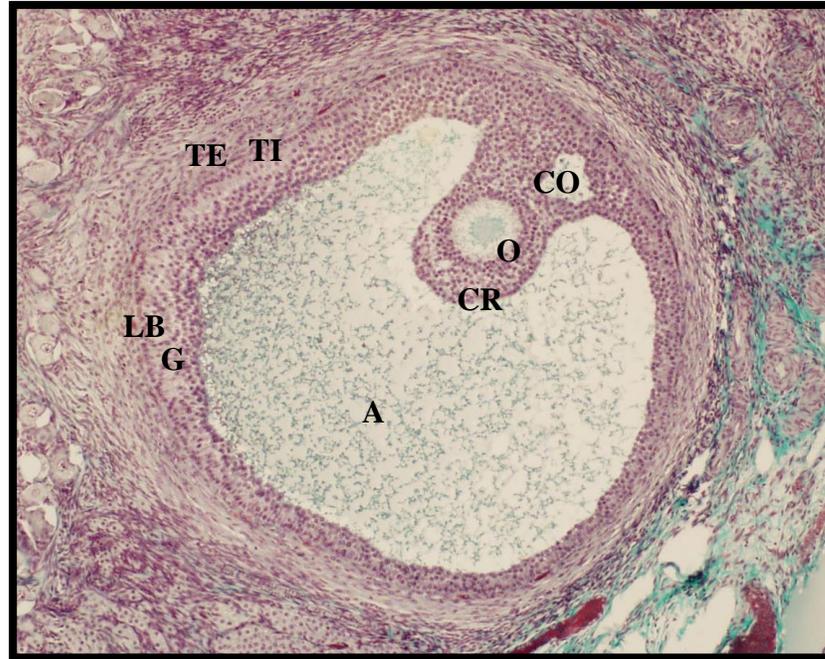


Figura 11.- Corte histológico de un ovario donde se muestra un folículo preovulatorio. TI: teca interna, TE: teca externa, LB: lámina basal, G: células de la granulosa, CO: cúmulus oophorus, A: antro, CR: corona radiata, O: ovocito (Tomada de <http://is.gd/vV50t1>. Consultada el 25 de agosto de 2014).

En cada etapa del ciclo estral se puede observar la distribución de los folículos antrales del ovario. A finales del Proestro, los folículos preovulatorios miden entre 500 y 700 μm justo antes de la ruptura folicular. Después de la ovulación, en el Estro, y durante el Diestro-1 sólo se presentan folículos de 390 a 500 μm , mientras que en Diestro-2 se observan folículos de 500 μm . La ausencia de los folículos de 390 a 500 μm sugiere que los folículos de este tamaño a finales del Estro son seleccionados para crecer durante el Diestro-2 y Proestro temprano (Andreone y col., 2009; Hsue y col., 2000).

Factores que regulan el desarrollo folicular

El proceso cíclico de la foliculogénesis ovárica se caracteriza por una notable proliferación y diferenciación de los componentes del folículo en maduración. La

secreción de estradiol está vinculada al crecimiento de los folículos ováricos, por estímulo de la FSH. El periodo que antecede a la ovulación se caracteriza por un crecimiento de los folículos ováricos y un aumento en la secreción de estrógenos (Domínguez y col., 1991; Sánchez y Smitz, 2012).

Aunque el papel de las gonadotropinas y esteroides gonadales es indiscutible, los diferentes destinos de los folículos sugieren la existencia de sistemas moduladores intraováricos adicionales. Se ha demostrado que el ovario secreta varias hormonas de naturaleza polipéptica que regulan directa o indirectamente las funciones del folículo (Domínguez y col., 1991; Sánchez y Smitz, 2012).

Entre los reguladores intraováricos potenciales que han sido intensamente estudiados se encuentran los factores de crecimiento, las citosinas y los polipéptidos, los cuales pueden participar en la modulación *in situ* del crecimiento y la función de los compartimientos celulares ováricos, incluso previo a la adquisición de receptores a gonadotropinas, y que controlarían la activación de los folículos primordiales a primarios (Figura 12). Estas sustancias pueden regular la proliferación o la diferenciación de los folículos por sí mismos o como amplificadores o atenuantes de la acción gonadotrópica (Sánchez y Smitz, 2012).

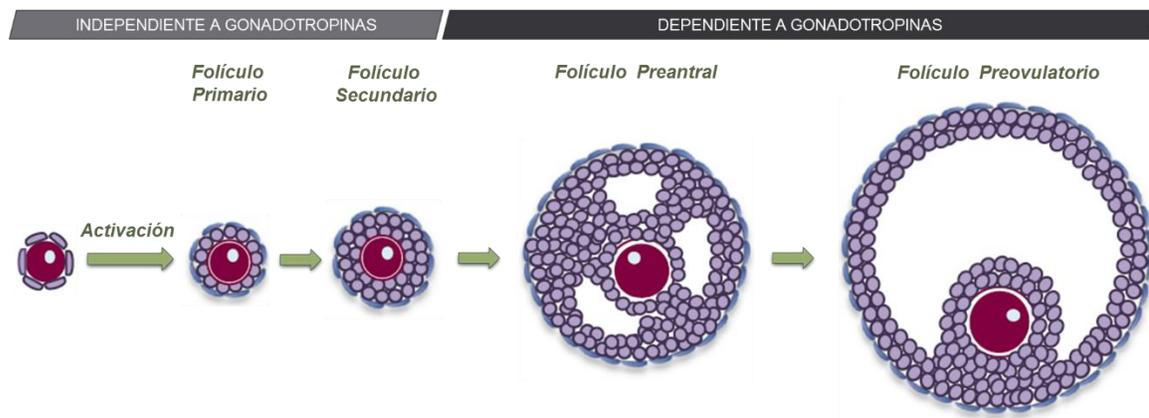


Figura 12.- Representación esquemática del crecimiento y desarrollo folicular (Modificada de Sánchez y Smitz, 2012).

La ovulación

La ovulación es un proceso que involucra la liberación de los ovocitos desde el ovario hacia el oviducto (Lawrence y JoAnne, 2006). En la rata, el folículo alcanza su madurez en 19 días desde que pasa del estado de reposo hasta que culmina con la ovulación. Este tiempo de maduración implica que el folículo en crecimiento estará expuesto al menos a cuatro aumentos en las concentraciones plasmáticas de las gonadotropinas, y por lo tanto a cuatro picos preovulatorios de LH (Domínguez y col., 1991).

Aunque ya se ha descrito el proceso ovulatorio, aún no se conocen muchos detalles. Los folículos antrales aumentan la superficie del ovario haciéndola bulbosa y altamente vascularizada. Pocos minutos después de la estimulación por la LH, la zona pelúcida o estigma se forma en el ápice del folículo preovulatorio. Esta es la primera señal que indica que ha comenzado el proceso ovulatorio. Más allá de la periferia del estigma se forma un anillo de vasos sanguíneos dilatados. Cuando se aproxima la ruptura folicular, las células superficiales germinales epiteliales que rodean el estigma se rompen en pequeñas vesículas (Lawrence y JoAnne, 2006).

Lawrence y JoAnne (2006), documentaron que en la salida del óvulo tras la ruptura del estigma, en primer lugar salen las células de la granulosa a través del orificio, seguido rápidamente del resto de la masa del óvulo y del líquido folicular. En la mayoría de los casos, el cúmulus y el óvulo no se encuentran junto a la ruptura del estigma (Lawrence y JoAnne, 2006).

Una hora después de la ovulación, los óvulos rodeados por células del cúmulus pueden reconocerse en el tercio superior del oviducto. El proceso de ovulación se completa en 1.5 h (Freeman, 2006; Lawrence y JoAnne, 2006).

Durante la última etapa del crecimiento y la diferenciación folicular, se produce la desaparición de los desmosomas que presentan las células de la

granulosa y de la teca, así como la degradación de las fibras colágenas, provocada por la fibrinolisis que es sintetizada por las células de la granulosa. Esta enzima es activada por el plasminógeno producto de las células de la granulosa. La desaparición de los desmosomas y los nexos entre las células de la granulosa sería consecuencia de la disminución de la concentración de estrógenos en el licor folicular, ya que después del pico de LH disminuye rápidamente la capacidad de síntesis de estrógenos por las células de la granulosa, mientras que aumenta la de P_4 . La síntesis y la liberación del plasminógeno es estimulada por la FSH, la LH y la GnRH, las que también regulan la síntesis de un antiactivador de la fibrinolisis sintetizado por las mismas células (Domínguez y col., 1991).

El proceso normal por el cual se eliminan del ovario todos aquellos folículos que, habiendo iniciado el proceso de crecimiento y diferenciación no ovulan, se le conoce como *atresia folicular*. El inicio de la atresia parece estar determinado por alteraciones del ovocito, el cual pierde su capacidad para mantener el control metabólico del folículo. Estas alteraciones van acompañadas de la pérdida gradual de los receptores a FSH y LH; lo que se traduce en la disminución de la capacidad de aromatización de los andrógenos, y por tanto el aumento de su concentración. Dicho proceso es uno de los pasos fundamentales en el desarrollo de la atresia dado que la capacidad del folículo para mantener la síntesis de estrógenos es primordial para evitarla (Domínguez y col., 1991).

Posterior a la ovulación, el folículo se reorganiza para convertirse en un cuerpo lúteo. Las células de la teca y de la granulosa se diferencian en células luteales grandes y pequeñas. Las primeras derivan de la granulosa y contienen todos los elementos de las células secretoras de esteroides como numerosas mitocondrias y abundante retículo endoplasmático liso, mientras que las células pequeñas provienen de la teca y tiene moderada cantidad de mitocondrias pero abundante retículo endoplasmático liso. Estos cambios que determinan el proceso de luteinización se producen como consecuencia del incremento en las

concentraciones de LH en suero, asociado a la concentración preovulatoria de esta hormona (Stouffer, 2006).

Ambos tipos celulares constituyen el 50 % del cuerpo lúteo, que también contiene tejido conectivo y fibroblastos. En la rata, la diferencia entre células luteales grandes y pequeñas podría residir, no sólo en el origen celular diferente, sino también en la capacidad de responder diferencialmente a determinados estímulos del ambiente folicular, como los factores de crecimiento (Stouffer, 2006).

La secreción de P_4 en la rata es regulada por la LH y la PRL (ambas luteotróficas) y la sustancia luteolítica, prostaglandina $F2\alpha$ ($PGF\ 2\alpha$). La acumulación de receptores de LH y la adecuada producción de esteroides y otros factores durante la fase folicular, predetermina el grado de luteinización y la capacidad funcional del cuerpo lúteo en crecimiento (Stouffer, 2006).

Ciclo estral

El ciclo estral en la hembra se caracteriza por periodos de receptividad sexual y periodos de reposo. Se define como el intervalo de tiempo existente desde el comienzo de un periodo de celo hasta el siguiente. Su duración difiere entre las especies: en la rata es de 4 a 5 días. El ciclo estral puede dividirse en fases, una *fase folicular* o *estrogénica* y una *fase luteínica*. A su vez, éstas se dividen en etapas; la fase folicular en **Proestro** y **Estro** y la luteínica en **Diestro-1** o metaestro y en **Diestro-2** o diestro (Caravaca y col., 2003).

El Estro tiene una duración aproximada de 25-27 horas. Durante esta etapa en el epitelio vaginal dominan las células epiteliales cornificadas, sin núcleo, tienen forma irregular y aparecen en grandes grupos (Freeman, 2006).

El Diestro-1 (con duración aproximada de 24 h), presenta leucocitos como forma celular dominante en el epitelio vaginal, que en ocasiones están acompañadas por un número significativo de células epiteliales nucleadas, por células epiteliales cornificadas o por ambas (Freeman, 2006).

En Diestro-2 (24 horas), también se observan leucocitos en el epitelio vaginal, los cuales pueden estar solos o presentarse en conjunto con células cornificadas, nucleadas o ambas (Freeman, 2006).

El Proestro tiene una duración de 12-14 horas. Durante esta etapa existe predominio de células epiteliales nucleadas, redondas y con núcleo visible. Éstas pueden aparecer en grupos o individualmente (Freeman, 2006).

Regulación hormonal del ciclo estral de la rata

El ciclo estral de la rata está estrechamente vinculado con el estímulo de las gonadotropinas sobre los compartimentos ováricos, quienes desencadenan el desarrollo y maduración de los folículos y a su vez la síntesis y liberación de las hormonas ováricas.

En la etapa de Estro, el E_2 se secreta en concentraciones basales. En el Diestro-1 tardío y a principios del Diestro-2, las concentraciones plasmáticas comienzan a subir y continúan en aumento durante el Diestro-2 y Proestro temprano, momento en el que se alcanzan los valores máximos. Durante la tarde del Proestro, poco antes del intervalo de oscuridad, las concentraciones de E_2 disminuyen rápidamente hasta valores basales en la madrugada del Estro (Figura 13) (Freeman, 2006).

Ese comportamiento está ligado estrechamente con el crecimiento continuo de los folículos ováricos durante el ciclo estral, quienes sintetizan mayor

cantidad de E_2 a medida que se va desarrollando la capa de las células de la granulosa por estímulo de la FSH. Las altas concentraciones de E_2 ejercen una señal de retroalimentación negativa en el hipotálamo y la hipófisis y son la señal que antecede al pico preovulatorio de LH (Freeman, 2006).

La secreción de P_4 es más regular. Un aumento de origen folicular tiene lugar durante la tarde y noche del Proestro. El que se observa en la tarde se produce casi simultáneamente con la inducción de la ovulación por la LH y regresa a concentraciones basales por la mañana del Estro. Un segundo pico importante de origen luteal comienza en el mediodía de Diestro-1, se prolonga hasta la madrugada de Diestro-2 y disminuye a concentraciones basales poco después del inicio de la fotofase del día en el Diestro-2 (Figura 13) (Freeman, 2006).

Por otra parte, la concentración sérica de LH tiene su concentración más baja durante la mañana del Estro (justo después de la ovulación), y mantiene concentraciones basales durante el Diestro-1, Diestro-2 y hasta el mediodía del Proestro. Aunque la mayoría de los estudios indican concentraciones basales, un estudio reporta una ligera, pero significativa variación diurna durante todo el ciclo. Este patrón circádico durante las etapas de Estro, Diestro-1 y Diestro-2 consiste en un ligero aumento en la concentración de LH a mediodía y una disminución de su concentración durante la media noche de cada día del ciclo. Durante la tarde del Proestro, cerca de las 14:00 – 15:00 h las concentraciones circulantes de LH comienzan a incrementarse rápidamente y alcanza concentraciones máximas entre las 17:00 -19:00 h de la misma tarde. Este incremento induce la ruptura folicular, y por consiguiente, la ovulación. Poco después, su concentración disminuye y alcanza valores basales durante la mañana de Estro (Figura 13) (Freeman, 2006).

El patrón de secreción de FSH a lo largo del ciclo estral es similar al de LH. Específicamente, concentraciones basales de FSH son secretadas durante la noche del Estro, Diestro-1, Diestro-2 y el medio día del Proestro. Durante la

tarde del Proestro, existe un incremento en la secreción de FSH simultáneo con LH: las concentraciones circulantes de FSH comienzan a incrementarse rápidamente de las 14:00-15:00 h y alcanzan su valor máximo alrededor de las 17:00-19:00 h. Horas más tarde y posterior al pico preovulatorio de LH, la FSH tiene un segundo pico por la mañana del Estro. Las concentraciones circulantes de FSH presentan concentraciones basales durante la mañana- tarde del Estro (Figura 13) (Freeman, 2006).

CONTROL NEURAL DE LAS FUNCIONES OVÁRICAS

Conexiones del Sistema Nervioso Central con el ovario

Además del control de las funciones ováricas por diversos mensajeros químicos que conforman la regulación neuroendocrina del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, hoy en día existen antecedentes que demuestran una vía neural que deriva del Sistema Nervioso Central (SNC), y que modula las funciones del ovario de forma coordinada con el complejo neuroendocrino vía las fibras que inervan directamente a la gónada por medio de los neurotransmisores que éstas le proveen (Kawakami y col., 1979).

Estas vías neurales se comenzaron a describir a partir de diversos estudios que mostraban un factor modulador de la esteroidogénesis independiente a las vías endocrinas ya conocidas (Kawakami y col., 1979). De Bortoli y colaboradores (1998) observaron una relación entre los centros noradrenérgicos del SNC y el ovario de la rata, al estimular eléctricamente el área intracerebroventricular y el efecto que esto tenía sobre la esteroidogénesis ovárica. Posteriormente, Gerendai y su equipo (2009), aportaron evidencia morfológica que muestra la existencia de una conexión multisináptica que une al ovario con el SNC.

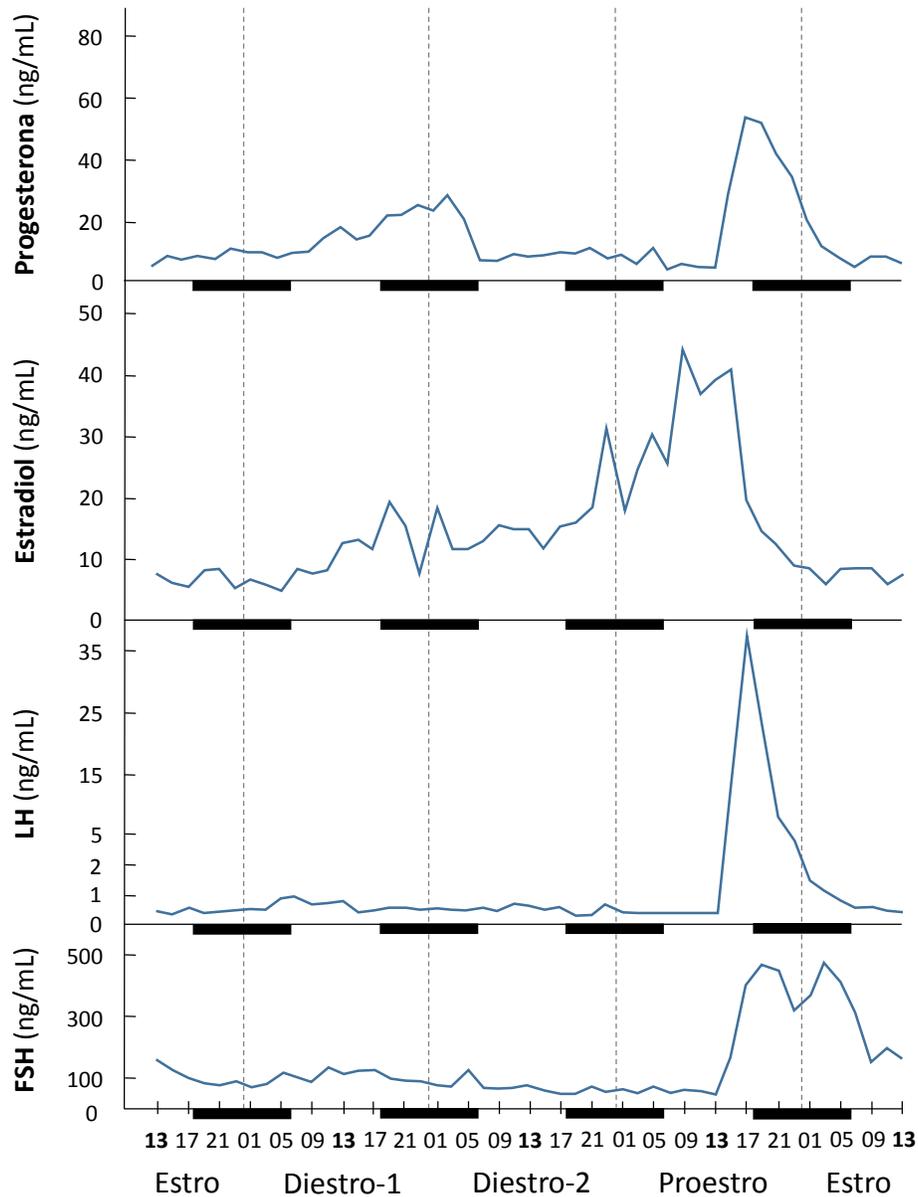


Figura 13.- Concentraciones de progesterona (P_4), 17β - estradiol (E_2), hormona luteinizante (LH) y hormona estimulante del folículo (FSH) en plasma periférico obtenido a intervalos de 2 horas durante cada etapa del ciclo estral de la rata. Las barras negras representan el intervalo de oscuridad (Tomado de Freeman, 2006).

More y Bloom (1979) describieron las vías noradrenérgicas en el cerebro de la rata y observaron que la mayor parte estas fibras se originan en dos sistemas neuronales principales: el locus coeruleus que representa el principal grupo noradrenérgico (cuyas neuronas proyectan a diferentes zonas tales como el hipotálamo y la médula espinal), y el sistema neural noradrenérgico tegmental lateral (que está compuesto por los grupos celulares A1, A3, A5 y A7 y envían información al hipotálamo principalmente) (Figura 14).

Gerendai y su equipo en 1998, al utilizar trazadores virales, localizaron áreas del sistema noradrenérgico que están relacionadas con las fibras simpáticas que recibe el ovario. Estas áreas fueron el locus coeruleus, el núcleo caudal del rafé, y los grupos celulares del sistema noradrenérgico tegmental lateral A1, A5, principalmente (Figura 14).

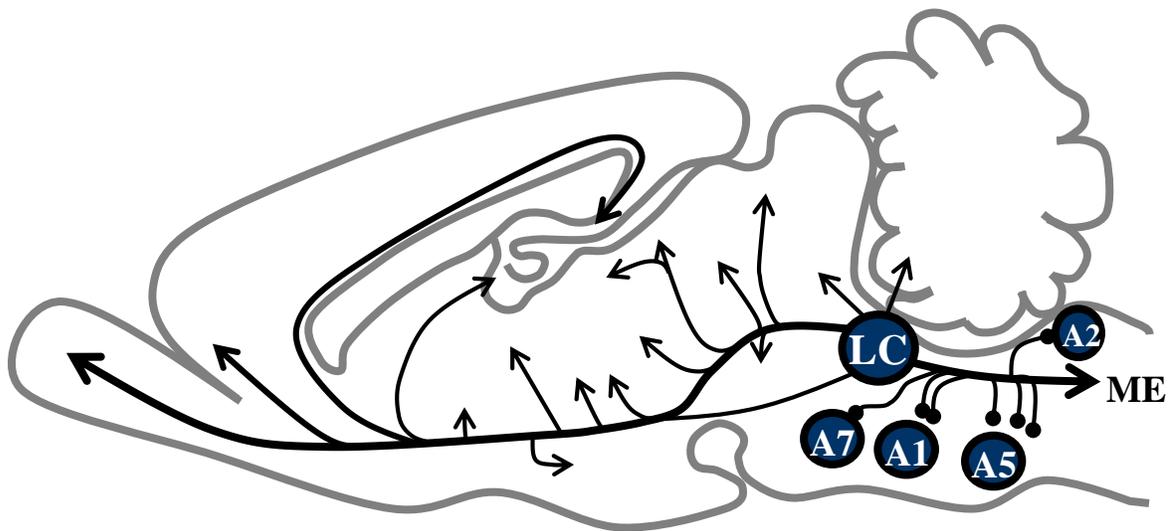


Figura 14.- Esquemática del sistema noradrenérgico; el núcleo del locus coeruleus y el sistema noradrenérgico tegmental lateral (A1, A2, A5 y A7) que proyecta fibras hacia la médula espinal. LC: locus coeruleus, ME: médula espinal (Modificada de Moore y Bloom, 1979).

Después de la inyección del virus de la pseudorabia en el ovario, las primeras neuronas que exhibieron el antígeno neural fueron encontradas en la columna intermediolateral de la espina dorsal. El mayor número de neuronas marcadas estuvieron en los segmentos torácicos T9 - T10. En una etapa temprana a la infección, el marcaje con virus fue observado ipsilateral al ovario, posteriormente, el marcaje se vuelve bilateral. Estos estudios indican que existe una conexión interneural preganglionar que comunica las fibras que derivan en ambos ovarios (Gerendai y col., 2005).

La mayor parte de fibras simpáticas que conectan al SNC con el ovario es de naturaleza noradrenérgica. Estas fibras siguen una trayectoria que puede observarse desde fibras preganglionares que pasan por los segmentos torácico inferior y lumbar superior de la médula espinal. El componente parasimpático lo hace por la vía del nervio vago (Gerendai y col., 2005).

Inervación ovárica

En 1992 Malamed observó que el desarrollo de la inervación simpática del ovario antecedía al inicio de la foliculogénesis, esto sumado a los antecedentes que mostraron la presencia de neurotransmisores en el ovario de la rata recién nacida antes de que el ovario sea sensible a las gonadotropinas. La inervación simpática observada por Malamed está asociada con los vasos sanguíneos y con las células primordiales ováricas lo que permitía sugerir la participación de la inervación sobre procesos no-vasculares e independientes a la regulación hormonal de la hipófisis. Este estudio permite sugerir la posibilidad de que la formación inicial de los folículos ováricos está regulada por factores neuronales y que además contribuye en el proceso de foliculogénesis (por activación de cAMP) y la adquisición de la respuesta temprana del ovario a las gonadotropinas (por el ensamble de receptores a éstas).

En el ovario de la rata Wistar también se han observado fibras que juegan un papel importante en la regulación de las funciones de la gónada. En diversos estudios se han observado fibras nerviosas intraováricas que forman parte del complejo de neuronas intrínsecas organizadas en ganglios hilares y medulares que derivan hacia los vasos sanguíneos e inervan al estroma ovárico, al tejido intersticial y a la teca folicular. Se ha mostrado que estas fibras pueden mediar el aumento del flujo sanguíneo que se produce durante el desarrollo folicular preovulatorio (D'Albora y col., 2002).

La *inervación extrínseca* del ovario de la rata está compuesta en su mayoría por fibras simpáticas y sensoriales con un componente menor de fibras parasimpáticas (Lawrence y Burden, 1980).

La *inervación simpática* que recibe el ovario proviene de dos rutas: el Nervio del Plexo Ovárico (NPO) que acompaña a la arteria ovárica e inerva principalmente la vasculatura, y el Nervio Ovárico Superior (NOS) que representa el principal aporte de fibras noradrenérgicas que transcurren junto con el ligamento suspensorio, y que ingresa a la gónada a través del hilio (Lawrence y Burden, 1980).

Nervio Ovárico Superior

La mayoría de los somas de las neuronas que dan lugar a las fibras que llegan al ovario a través del NOS se localizan en el ganglio celiaco mesentérico superior (GCMS), con un menor número de fibras que llegan desde el ganglio paravertebral y que atraviesan el ganglio celiaco sin tener contacto con las neuronas ganglionares de esta región (Figura 15) (Disen y Ojeda, 1999). Estos a su vez reciben proyecciones de neuronas localizadas en las células columnares intermediolaterales de la médula espinal de los segmentos T-11 al L-4, quienes

se conectan a neuronas del núcleo paraventricular del hipotálamo (Figura 15) (Dissen y Ojeda, 1999).

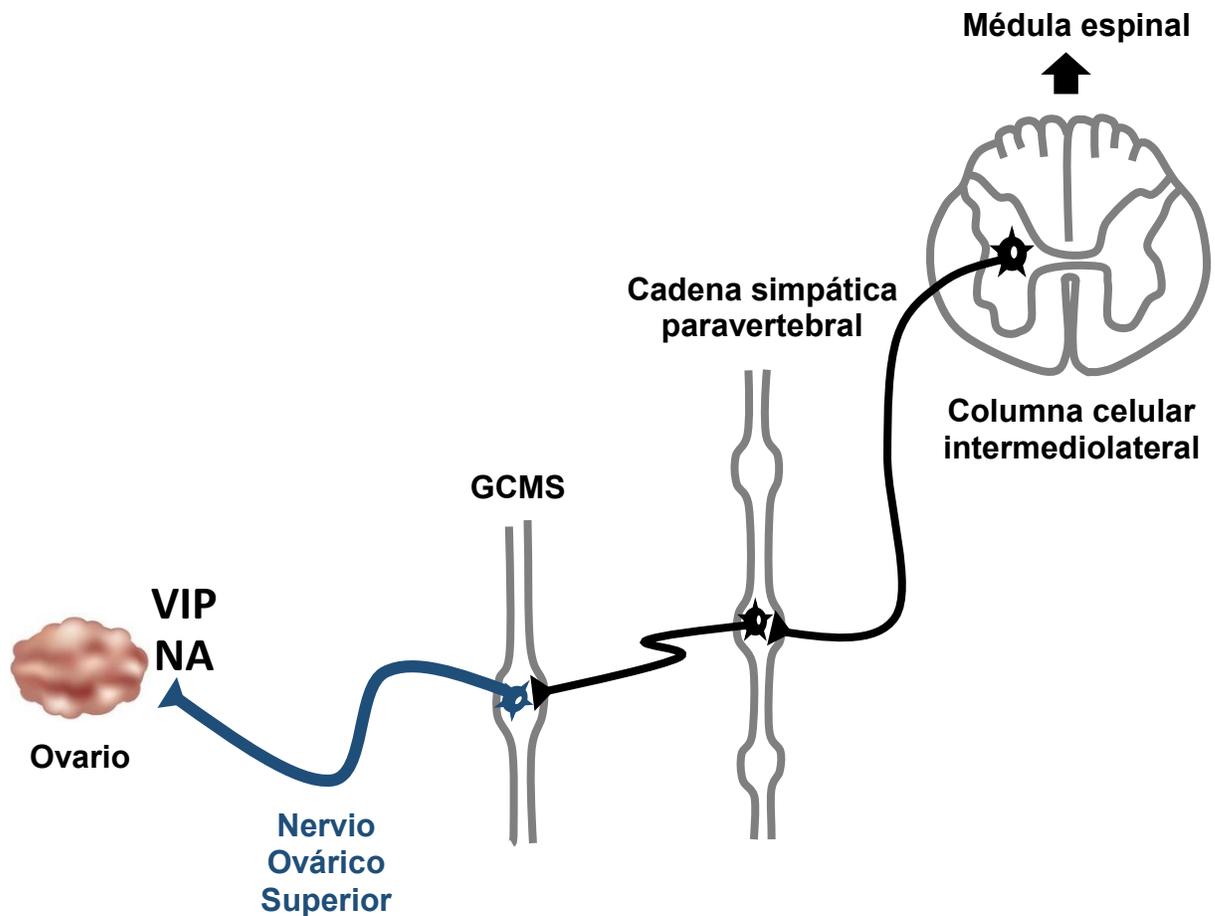


Figura 15.- Esquematación de la vía que siguen las fibras que dan origen al NOS. GCMS: Ganglio Celiaco Mesentérico Superior, VIP: Péptido Intestinal Vasoactivo, NA: Noradrenalina (Modificada de Dissen y Ojeda, 1999).

Los axones del NOS se localizan en el borde libre del ligamento suspensorio que desciende por el límite inferior de la caja torácica hasta el ovario. Entra por el hilio, asociado con los vasos sanguíneos, formando una red estrechamente relacionada con los folículos primordiales y en desarrollo, termina en las células de la teca interna, sin tener contacto con células de la granulosa o del cuerpo lúteo (Burden, 1978).

Los mensajeros químicos que proveen las fibras del NOS al ovario son la Noradrenalina (NA) y el Péptido Intestinal Vasoactivo (VIP) (Lawrence y Burden, 1980; Dissen y Ojeda, 1999).

La NA es una catecolamina que regula la formación de receptores a gonadotropinas durante el desarrollo folicular temprano (Mayerhofer y col., 1997). Cuando se une a receptores específicos de tipo β -adrenérgicos presentes en células de la teca y granulosa estimula la liberación de P_4 y andrógenos (Dissen y Ojeda, 1999; Sosa y col., 2004).

El VIP está implicado en la regulación de la actividad androgénica y estimula la síntesis de P_4 y E_2 ; esto fue observado en estudios realizados en cultivos de células de la granulosa (Dissen y Ojeda, 1999; Parra y col., 2007). El efecto de VIP sobre la síntesis de E_2 está mediado por el incremento de la biosíntesis de la aromataso o por el incremento de la actividad específica de esta enzima (Parra y col., 2007). En este estudio también se observó que existe un incremento de VIP durante la etapa del Diestro-2, aunado al pico de E_2 existente durante esta etapa que antecede al preovulatorio de LH en el Proestro (Parra y col., 2007).

En diversos estudios se muestran asimetrías anatómicas en la distribución de las fibras preganglionares que derivan en el ganglio celiaco y que a su vez, en éste existe una lateralización entre las fibras que originan al NOS (Gerendai y col., 2009; Moran y col., 2009; Töth y col., 2007).

Participación del NOS en las funciones ováricas

Los neurotransmisores provenientes de la inervación que llega al ovario modulan la acción de las gonadotropinas sobre sus compartimientos funcionales, lo que depende del tiempo, amplitud y frecuencia del estímulo y de la etapa del ciclo estral. Estos neurotransmisores afectan la expresión de factores de crecimiento,

de otras moléculas, o de ambas que participan en la regulación de las funciones de las gónadas (Domínguez y Cruz, 2011).

La participación de la inervación en la regulación de las funciones del ovario ha sido analizada en función de los efectos de la sección de los nervios en diferentes edades de la rata (Chávez y col., 1991; Chávez y col., 1994; Flores y col., 2011; Morales y col., 1993; Morales y col., 1998).

Función del NOS sobre la secreción hormonal

En la rata adulta, la sección bilateral del NOS resulta en menor número de ovocitos liberados por el ovario derecho, 20 días después de la denervación (Chávez y col., 1991). Esta cirugía realizada entre las 11:30-12:30 h del Proestro disminuye la concentración de P₄ 30 minutos después de la denervación, sin cambios en la de E₂ (Erskine y Weaver, 1988).

Las catecolaminas presentes en las fibras simpáticas afectan la esteroidogénesis ovárica vía la activación de receptores β -adrenérgicos quienes estimulan la secreción de P₄ en las células de la granulosa y de andrógenos en células de la teca interna. Estos facilitan la respuesta esteroidogénica del ovario a bajas concentraciones de gonadotropinas, lo que sugiere que en circunstancias fisiológicas la inervación catecolaminérgica amplifica los efectos de las gonadotropinas circundantes sobre la esteroidogénesis ovárica (Dissen y Ojeda, 1999).

La estimulación eléctrica del NOS en el día del Estro resulta en la inhibición de la secreción de E₂ (Kagitani y col., 2008).

La sección unilateral del NOS en ratas con ovariectomía unilateral realizada a las 13:00 h en cada etapa del ciclo estral, muestra que la capacidad de secreción de hormonas esteroides por el ovario izquierdo es diferente a la del

ovario derecho y que además varía a lo largo de la etapa del ciclo estral y del ovario *in situ* (Flores y col., 2011; Santiago, 2012).

Función del NOS sobre el desarrollo folicular

Varios estudios revelan que la inervación ovárica facilita el desarrollo folicular, dado que la pérdida de estas fibras reduce este proceso. El NOS actúa por medio del ensamble de los neurotransmisores con el sistema AMPc lo que estimula el proceso de diferenciación por la adquisición de receptores a FSH en los folículos recién formados y su respuesta a ésta (Domínguez y col., 1991).

Función del NOS sobre la ovulación

El NOS participa en la modulación de los procesos que culminan en la ovulación. González y colaboradores (2010), mostraron que en animales adultos con sección unilateral o bilateral del NOS a las 7:00 h en cada etapa del ciclo estral, la respuesta ovulatoria se ve afectada dependiendo de la etapa del ciclo en que se realice el estudio; pero es en el día del Proestro donde se bloqueó la ovulación tras la sección unilateral o bilateral del NOS.

La sección del NOS derecho a las 11:00 h del Estro o 13:00 h del Proestro o Estro resulta en disminución de la tasa de animales ovulantes por el ovario denervado (Muñoz y col., 2013). Dicha cirugía a las 15:00 h de cada etapa del ciclo estral resulta en menor tasa de animales ovulantes por el ovario denervado, y sólo disminuye por el ovario inervado (ovario izquierdo), cuando se realiza en Diestro-1 (Javier y col., 2013). La sección realizada a las 17:00 h en las etapas del Estro, Diestro-1 o Proestro ocasiona descenso en la tasa de animales ovulantes por el ovario denervado (Cortés y col., 2014). A las 19:00 h, la sección del NOS derecho en el Diestro-1 bloquea la ovulación por el ovario denervado, y en Diestro-2 o Proestro disminuye la tasa de animales ovulantes por ambos ovarios (Javier y col., 2013).

La sección del NOS izquierdo a las 19:00 h en Estro, resulta en menor tasa de animales ovulantes por el ovario denervado mientras que en el Diestro-2 la disminuye en el ovario inervado (derecho) (Cortés y col., 2014).

ASIMETRÍA OVÁRICA

Se ha considerado que los órganos pares son fisiológica y anatómicamente similares. Sin embargo, existe evidencia experimental que indica que los órganos endocrinos pareados no son idénticos en su funcionamiento y regulación (Domínguez y col., 2011).

La información revisada sugiere que la principal diferencia entre el ovario derecho e izquierdo está relacionado con su capacidad para regular las señales procedentes del sistema neuroendocrino que participan en la regulación de las funciones ováricas. Estas diferencias están relacionadas con la inervación que recibe cada ovario y su comunicación con el SNC (Domínguez y col., 2011, Flores y col., 2011, Morales y col., 1998; Morales y col., 2012).

Otros estudios indican que la capacidad ovulatoria de un ovario es distinta a la del otro y es el ovario izquierdo el que libera un mayor número de ovocitos que el derecho (Cruz y col., 2001).

Existen evidencias de que 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 Haláz, 1997).

Cuando se extirpa el ovario izquierdo (ovario derecho *in situ*), la proporción de animales que ovulan en Estro es el doble que cuando queda el ovario izquierdo (Chávez y col., 1987).

MODELO DE RATA HEMICASTRADA E HIPERTROFIA COMPENSATORIA

La ovariectomía unilateral es una herramienta frecuentemente utilizada para analizar la existencia de asimetrías entre los ovarios (Chávez y Domínguez, 1994). Distintos estudios en la rata muestran que después de la ovariectomía unilateral, el ovario remanente presenta cambios compensadores que incluyen el incremento en el número de folículos antrales, disminución de la atresia folicular, incremento de su masa (hipertrofia) y ovulación compensatoria (Chávez y Domínguez, 1994; Peppler y Greenwald, 1970). Estos cambios podrían ser explicados por el incremento en la concentración sérica de FSH, inducido por la caída en las concentraciones de E₂ que ocasiona la extirpación de la gónada o bien, por mecanismos neuroendócrinos donde la inervación juega un papel modulador en la respuesta del ovario remanente a las gonadotropinas (Chávez y Domínguez, 1994).

Algunos estudios muestran la participación de la información neural en la regulación de la hipertrofia compensatoria ovárica y que ésta varía a lo largo del ciclo estral, lo que implica que se producen cambios muy sutiles en los mecanismos neuronales que regulan la respuesta de los ovarios a las gonadotropinas durante el ciclo estral (Chávez y Domínguez, 1994; Cruz y col., 2001; Gerendai y Haláz, 1997; Gerendai y Haláz; 2001).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Al analizar la participación del NOS como modulador de la acción de las gonadotropinas sobre las funciones de los ovarios en distintas horas del día durante el ciclo estral en animales enteros o con ovariectomía unilateral, se han obtenido resultados que permiten sugerir que su participación es asimétrica y que se modifica en función de la etapa del ciclo, el momento del día, el nervio y el ovario analizado. Debido a la falta de información de su participación a las 9:00 h, en el presente estudio se analizarán los efectos de la sección unilateral del NOS a esta hora en cada etapa del ciclo estral de la rata con o sin ovariectomía unilateral sobre la ovulación.

HIPÓTESIS

Dado que por medio del NOS el ovario recibe neurotransmisores que actúan como moduladores de la acción de las gonadotropinas sobre los folículos, entonces la sección unilateral de dicho nervio en ratas con o sin ovariectomía unilateral resultará en cambios en la respuesta ovulatoria que dependerán del nervio y del ovario *in situ* y de la etapa del ciclo estral en que se realice el tratamiento.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Analizar la participación del Nervio Ovárico Superior a las 9:00 h de cada etapa del ciclo estral sobre la ovulación de la rata adulta.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Analizar si la ovulación de la gónada izquierda o derecha es asimétrica y si dicha asimetría está en función de la información simpática que llega al ovario vía el NOS.

MATERIALES Y MÉTODOS

En el presente estudio se utilizaron ratas hembra de tres meses de edad, vírgenes, cíclicas, de la cepa CIIZ-V, mantenidas en condiciones controladas de temperatura ($22\pm 1^\circ\text{C}$) y fotoperiodo (luces encendidas de 05:00 a 19:00 h), con libre acceso al agua y alimento (Purina rat chow). El ciclo estral de los animales se monitoreó por la toma diaria de exudados vaginales y sólo se utilizaron aquellos animales que presentaron dos ciclos consecutivos de cuatro días de duración (Estro, Diestro-1, Diestro-2 y Proestro).

Las manipulaciones quirúrgicas se realizaron entre las 8:50 y 9:10 en cada etapa del ciclo estral.

Grupos experimentales (n= 7)

EFFECTOS DE LA SECCIÓN UNILATERAL DEL NOS SOBRE LA OVULACIÓN

Sección unilateral del Nervio Ovárico Superior: para analizar si el Nervio Ovárico Superior es una vía neural que modula la acción de las gonadotropinas a las 9:00 h sobre la ovulación (porcentaje de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados), a ratas anestesiadas con éter se les realizó una incisión horizontal ventral un centímetro por debajo de la última costilla que incluyó piel músculo y peritoneo.

Con apoyo de pinzas de disección se buscó, sujetó y exteriorizó el ligamento suspensorio (sin manipular órganos) para exponer al ovario izquierdo e identificar al Nervio Ovárico Superior izquierdo (NOS-I) el cual se seccionó un centímetro en posición craneal a la gónada (Figura 16a). En otro grupo de animales se expuso el ovario derecho y se seccionó el Nervio Ovárico Superior derecho (NOS-D) (Figura 16b). Una vez realizada la sección de uno u otro NOS, el ovario se regresó a su ubicación original y se suturó la herida por planos iniciando con un punto de anclaje para asegurar que no se abriera la herida y al finalizar se colocó alcohol yodado como antiséptico.

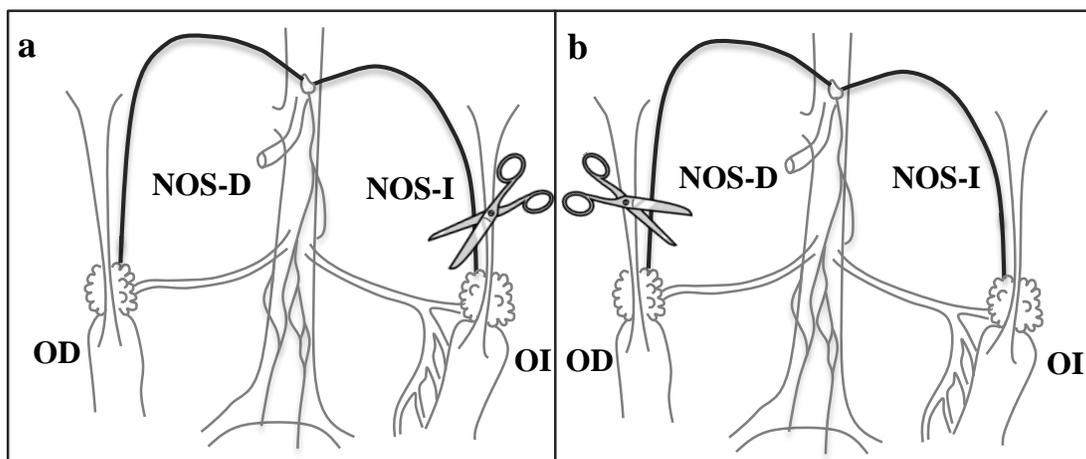


Figura 16.- Representación esquemática de la sección del NOS izquierdo (a) y derecho (b). OI: Ovario Izquierdo, OD: Ovario Derecho, NOS-I: Nervio Ovárico Superior izquierdo, NOS-D: Nervio Ovárico Superior derecho.

EFFECTO DE LA SECCIÓN DEL NERVIO OVÁRICO SUPERIOR SEGUIDA DE LA OVARIECTOMÍA UNILATERAL

Sección unilateral del NOS seguida de ovariectomía contralateral a la sección del nervio: para evaluar la participación del NOS como la posible vía de comunicación que permite la interacción entre los ovarios, a los animales bajo las mismas condiciones del experimento anterior, se les seccionó el NOS izquierdo e inmediatamente después se les extirpó el ovario contralateral al nervio seccionado (ovario derecho) (Figura 17a) En otro grupo de animales se seccionó el NOS derecho y se extirpó el ovario izquierdo (Figura 17b).

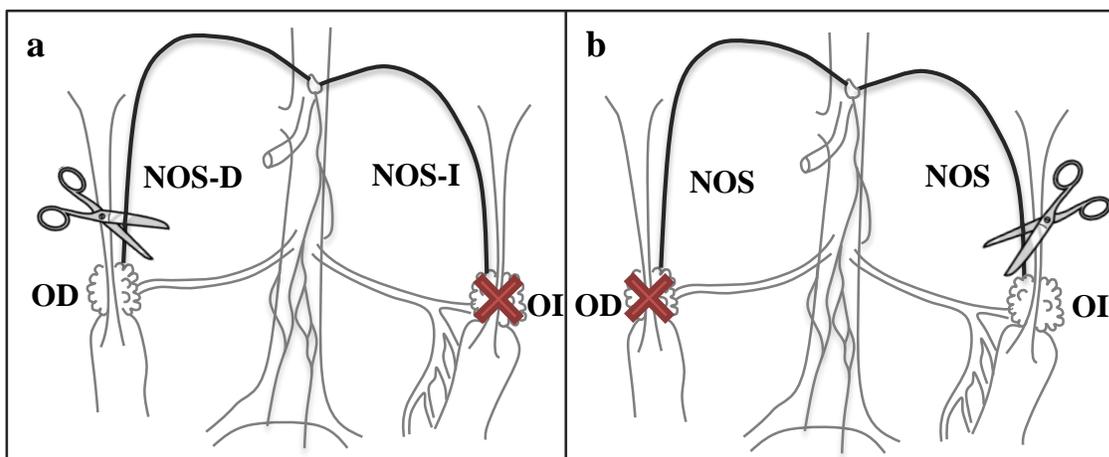


Figura 17.- Representación esquemática de la sección del NOS izquierdo (a) o derecho (b), seguida de la ovariectomía contralateral a la sección. OI: Ovario Izquierdo, OD: Ovario Derecho, NOS-I: Nervio Ovárico Superior izquierdo, NOS-D: Nervio Ovárico Superior Derecho.

Grupos de comparación:

Testigo absoluto: con el fin de conocer si existen diferencias en el porcentaje de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados entre un ovario y otro, animales cíclicos e intactos fueron sacrificados entre las 8:50 y 9:10 h en la etapa de Estro.

Laparotomía: para estudiar el efecto de la anestesia seguida de la laparotomía ventral sobre la ovulación, las ratas fueron anestesiadas con éter y enseguida se les realizó una incisión ventral en el centro de la cavidad peritoneal (aproximadamente 1 cm por debajo de la última costilla) y se atravesó piel, músculo y peritoneo; sin tocar los órganos internos. Una vez terminada la laparotomía se continuó a suturar la herida por planos.

Ovariectomía Unilateral: con el propósito de analizar la respuesta ovulatoria del ovario remanente ante la ausencia de su homólogo, a ratas cíclicas se les extirpó el ovario izquierdo (Ovx-I) (Figura 18a) o el derecho (Ovx-D) (Figura 18b) para

cuantificar el número de ovocitos liberados. Una vez finalizada la cirugía se suturó la herida por planos.

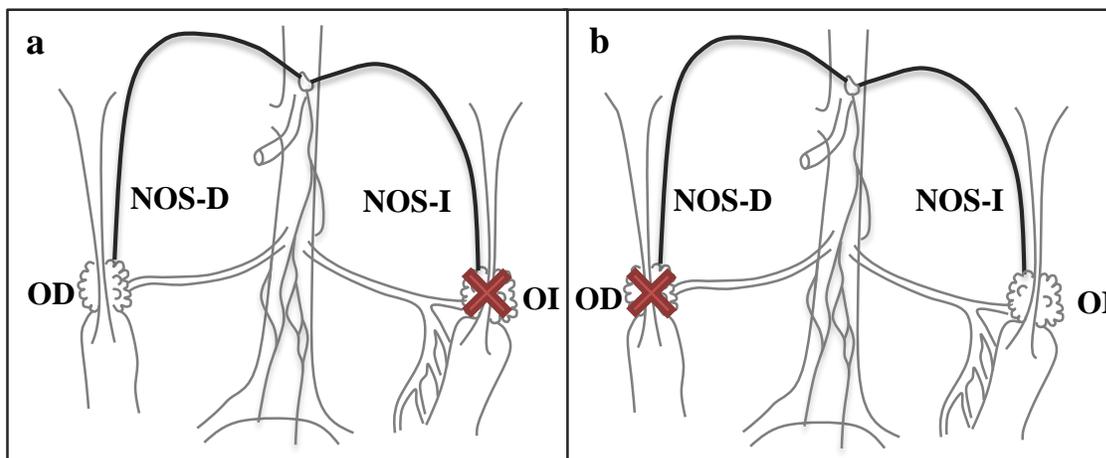


Figura 18.- Representación esquemática de la ovariectomía izquierda (a) o derecha (b). OI: Ovario Izquierdo, OD: Ovario Derecho, NOS-I: Nervio Ovárico Superior izquierdo, NOS-D: Nervio Ovárico Superior derecho.

Procedimiento de autopsia

Después de la cirugía y una vez que los animales presentaron la citología típica del Estro, se pesaron y sacrificaron por decapitación a la misma hora en que se intervinieron quirúrgicamente. En los oviductos se verificó la presencia de ovocitos y se les contó con la ayuda de un microscopio estereoscópico. Los resultados del número de ovocitos liberados se expresaron por cada ovario y con base en ello, se calculó el porcentaje de animales ovulantes. Se disecaron las gónadas y el útero y posteriormente se pesaron en la balanza analítica.

Análisis estadístico de los datos

El número de ovocitos liberados se analizó por la prueba de U de Mann Whitney, el porcentaje de animales ovulantes por la prueba de ji cuadrada y la masa de los órganos por la prueba de "t" de Student. En todos los casos sólo se aceptaron como significativas aquellas diferencias en las que la probabilidad fue igual o menor a 0.05.

RESULTADOS

ANIMALES INTACTOS

En los animales intactos sacrificados en el Estro vaginal, el porcentaje de animales ovulantes, el número de ovocitos liberados y la masa del ovario izquierdo fue similar a la del ovario derecho (Cuadros 1 y 2).

Cuadro 1. Porcentaje de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados en animales intactos sacrificados a las 9:00 h del Estro vaginal (n=7).

Tratamiento	PAO	OI	PAO	OD	PAO	OI + OD
Intacto	100	6.0 \pm 1.0	100	7.1 \pm 0.7	100	13.1 \pm 0.9

PAO = Porcentaje de Animales Ovulantes, OI = Ovario Izquierdo, OD = Ovario Derecho.

Cuadro 2. Media \pm e.e.m. de la masa relativa de órganos en animales intactos sacrificados a las 9.00 h del Estro vaginal (n=7).

Tratamiento	OI	OD	Útero
	mg/100g de masa corporal		
Intacto	15.7 \pm 0.8	15.4 \pm 0.6	134.8 \pm 4.1

OI = Ovario Izquierdo, OD = Ovario Derecho.

ANIMALES CON LAPAROTOMÍA VENTRAL

La laparotomía ventral en cada etapa del ciclo estral no alteró el porcentaje de animales ovulantes, ni el número de ovocitos liberados respecto a lo registrado en el grupo de animales intactos, excepto el número de ovocitos liberados por el ovario derecho cuando la operación quirúrgica se realizó en la etapa del Diestro-2 (Cuadro 3). En lo que respecta a la masa de órganos, únicamente se observó aumento en la

masa del útero en animales con laparotomía operados en los días del Proestro o Estro (Cuadro 4).

Cuadro 3. Porcentaje de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados en animales intactos o con laparotomía ventral (n=7).

Etapa del ciclo estral	Tratamiento	PAO	OI	PAO	OD	PAO	OI+OD
Estro	Intacto	100	6.0 \pm 1.0	100	7.1 \pm 0.7	100	13.1 \pm 0.9
	Laparotomía	100	4.6 \pm 0.9	100	9.0 \pm 0.8	100	13.6 \pm 0.8
Diestro-1	Intacto	100	6.0 \pm 1.0	100	7.1 \pm 0.7	100	13.1 \pm 0.9
	Laparotomía	100	6.7 \pm 1.0	100	5.0 \pm 0.8	100	11.7 \pm 0.7
Diestro-2	Intacto	100	6.0 \pm 1.0	100	7.1 \pm 0.7	100	13.1 \pm 0.9
	Laparotomía	100	6.9 \pm 0.6	100	4.3\pm0.6*	100	11.1 \pm 0.9
Proestro	Intacto	100	6.0 \pm 1.0	100	7.1 \pm 0.7	100	13.1 \pm 0.9
	Laparotomía	100	6.3 \pm 0.4	100	5.1 \pm 0.8	100	11.4 \pm 0.7

*p<0.05 vs. Grupo de animales Intactos (prueba de U de Mann-Whitney). PAO = Porcentaje de Animales Ovulantes, OI = Ovario Izquierdo, OD = Ovario Derecho.

Cuadro 4. Media \pm e.e.m. de la masa de órganos en animales con laparotomía ventral en cada etapa del ciclo estral (n=7).

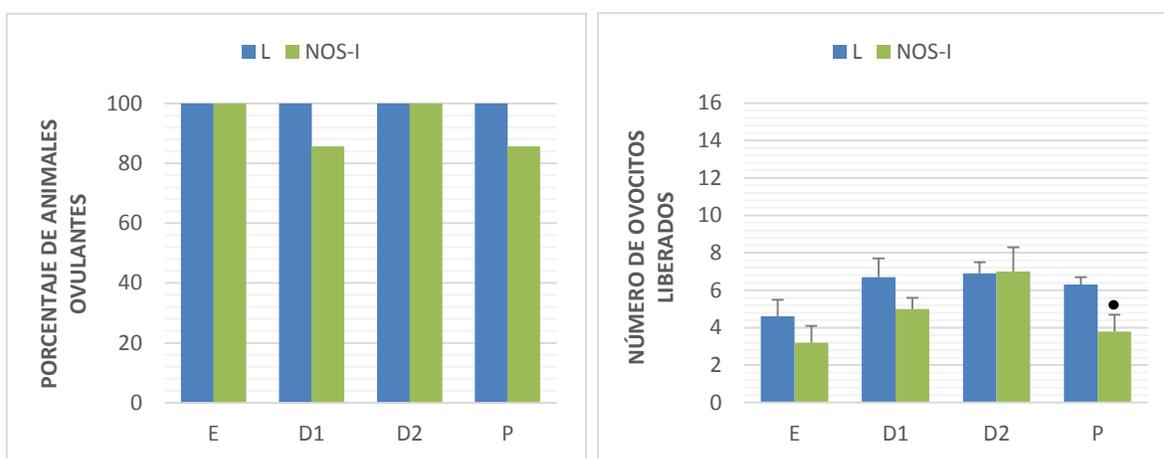
Etapa del ciclo estral	Tratamiento	OI	OD	Útero
		mg/100g de masa corporal		
Estro	Intacto	15.7 \pm 0.8	15.4 \pm 0.6	134.8 \pm 4.1
	Laparotomía	14.5 \pm 0.7	17.0 \pm 0.8	164.8\pm8.9*
Diestro-1	Intacto	15.7 \pm 0.8	15.4 \pm 0.6	134.8 \pm 4.1
	Laparotomía	15.3 \pm 1.0	16.7 \pm 0.6	146.0 \pm 7.6
Diestro-2	Intacto	15.7 \pm 0.8	15.4 \pm 0.6	134.8 \pm 4.1
	Laparotomía	16.9 \pm 1.3	16.8 \pm 0.8	146.8 \pm 14.0
Proestro	Intacto	15.7 \pm 0.8	15.4 \pm 0.6	134.8 \pm 4.1
	Laparotomía	15.7 \pm 0.8	16.5 \pm 1.0	167.4\pm2.0*

*p<0.05 vs. Intacto (prueba de "t" de Student). OI = Ovario Izquierdo, OD = Ovario Derecho.

ANIMALES CON SECCIÓN UNILATERAL DEL NOS

Sección del NOS izquierdo

La sección del NOS-I no modificó el porcentaje de animales ovulantes por el ovario denervado (izquierdo), pero resultó en disminución significativa en el número de ovocitos liberados sólo cuando la cirugía fue realizada en Proestro (Gráfica 1). El tratamiento no alteró ningún parámetro en el ovario que permaneció inervado (derecho) (Cuadro 5).



Gráfica 1. Porcentaje de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo en animales con sección del NOS-I. • $p < 0.05$ vs. Laparotomía (L) (prueba de U de Mann-Whitney). NOS-I = Nervio Ovárico Superior izquierdo.

Cuadro 5. Porcentaje de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados por el ovario derecho en animales con sección del NOS-I (n=7).

Etapa del ciclo estral	Tratamiento	PAO	OD
Estro	Laparotomía	100	9.0 \pm 0.8
	NOS - I	86	8.4 \pm 0.4
Diestro-1	Laparotomía	100	5.0 \pm 0.8
	NOS - I	86	6.5 \pm 1.3
Diestro-2	Laparotomía	100	4.3 \pm 0.6
	NOS - I	100	3.0 \pm 0.4
Proestro	Laparotomía	100	5.1 \pm 0.8
	NOS - I	57	5.8 \pm 0.7

PAO = Porcentaje de Animales Ovulantes, OD = Ovario Derecho, NOS-I = Nervio Ovárico Superior izquierdo.

Respecto a la masa de los órganos, el tratamiento en el día del Estro resultó en aumento en la masa del ovario denervado (izquierdo), mientras que en Proestro en disminución en la masa del útero en relación a la del grupo con laparotomía (Cuadro 6).

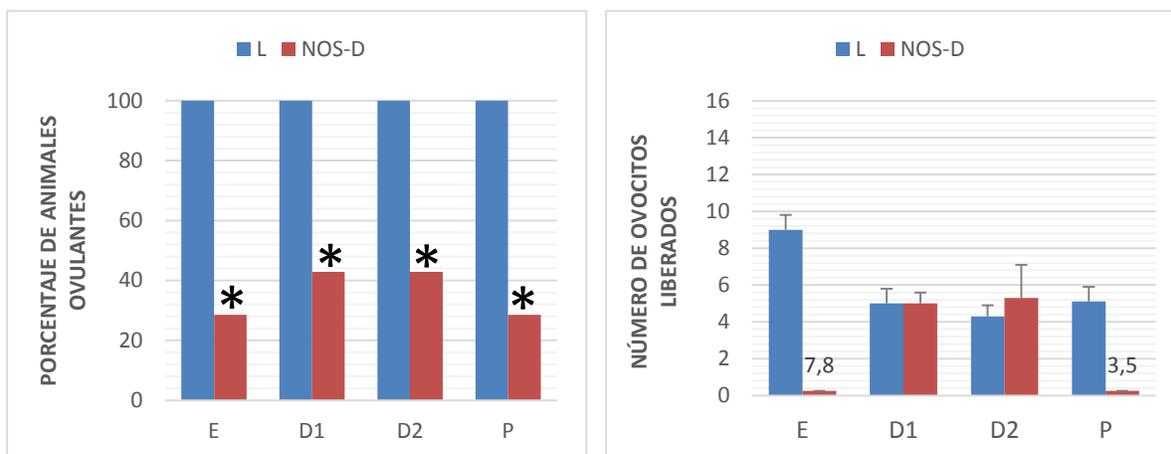
Cuadro 6. Media \pm e.e.m. de la masa de órganos en grupos con sección del NOS-I (n=7).

Etapa	Tratamiento	OI	OD	Útero
		mg/100g de masa corporal		
Estro	Laparotomía	14.5 \pm 0.7	17.0 \pm 0.8	164.8 \pm 8.9
	NOS-I	20.0\pm1.2*	17.4 \pm 1.2	151.1 \pm 7.6
Diestro-1	Laparotomía	15.3 \pm 1.0	16.7 \pm 0.6	146.0 \pm 7.6
	NOS-I	14.1 \pm 1.5	18.2 \pm 3.0	142.3 \pm 9.1
Diestro-2	Laparotomía	16.9 \pm 1.3	16.9 \pm 0.8	146.8 \pm 14.0
	NOS-I	16.0 \pm 0.6	15.6 \pm 0.9	150.4 \pm 11.3
Proestro	Laparotomía	15.7 \pm 0.8	16.5 \pm 1.0	167.4 \pm 19.0
	NOS-I	17.6 \pm 1.2	18.0 \pm 1.0	137.0\pm6.3*

* $p < 0.05$ vs. Intacto (prueba de "t" de Student). OI = Ovario Izquierdo, OD = Ovario Derecho, NOS-I = Nervio Ovárico Superior izquierdo.

Sección del NOS derecho

A diferencia de los resultados observados en animales con sección del NOS-I, la sección del NOS derecho en cada etapa del ciclo estral trajo consigo menor porcentaje de animales ovulantes por el ovario denervado (derecho) respecto a lo observado en el grupo con laparotomía (Gráfica 2). Ningún parámetro evaluado para el ovario inervado (izquierdo) se modificó (Cuadro 7).



Gráfica 2. Porcentaje de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados por el ovario derecho en animales con sección del NOS-D. * $p < 0.05$ vs. Laparotomía (L) (prueba de ji cuadrada). NOS-D = Nervio Ovárico Superior derecho.

Cuadro 7.- Porcentaje de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo en animales con sección del NOS-D (n=7).

Etapa del ciclo estral	Tratamiento	PAO	OI
Estro	Laparotomía	100	4.6 \pm 0.9
	NOS - D	100	7.1 \pm 1.4
Diestro-1	Laparotomía	100	6.7 \pm 1.0
	NOS - D	100	6.7 \pm 0.5
Diestro-2	Laparotomía	100	6.9 \pm 0.6
	NOS - D	100	5.0 \pm 1.2
Proestro	Laparotomía	100	6.3 \pm 0.4
	NOS - D	100	6.3 \pm 1.0

PAO = Porcentaje de Animales Ovulantes, OI= Ovario Izquierdo, NOS-D = Nervio Ovárico Superior derecho.

En comparación con los animales con laparotomía, únicamente la masa del ovario izquierdo mostró aumento cuando la sección del NOS-D se realizó en el día del Estro (Cuadro 8).

Cuadro 8. Media \pm e.e.m. de la masa relativa de órganos en grupos con sección del NOS-D (n=7).

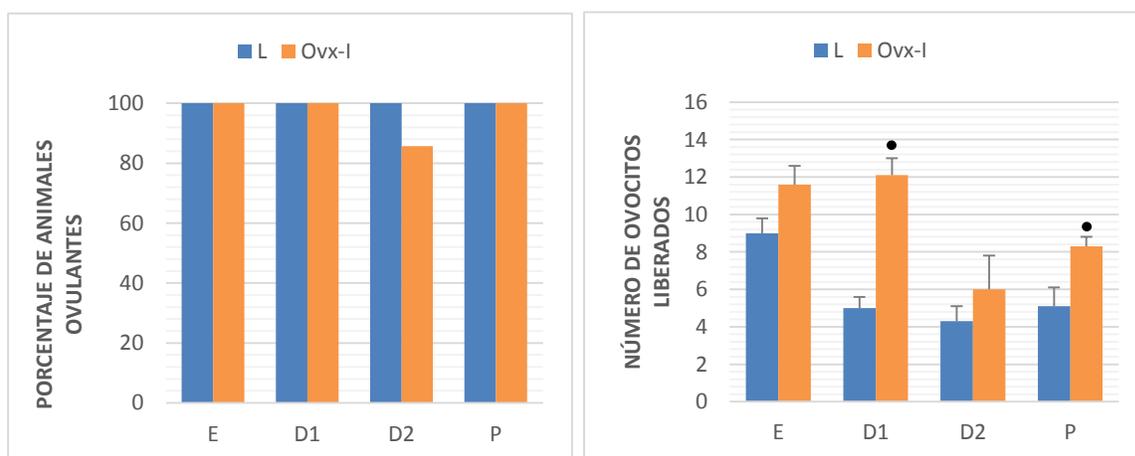
Etapa del ciclo estral	Tratamiento	OI	OD	Útero
		mg/100g de masa corporal		
Estro	Laparotomía	14.5 \pm 0.7	17.0 \pm 0.8	164.8 \pm 8.9
	NOS-D	17.6\pm0.7*	16.9 \pm 0.8	161.0 \pm 8.5
Diestro-1	Laparotomía	15.3 \pm 1.0	16.7 \pm 0.6	146.0 \pm 7.6
	NOS-D	15.9 \pm 1.0	21.0 \pm 5.7	143.1 \pm 7.3
Diestro-2	Laparotomía	16.9 \pm 1.3	16.9 \pm 0.8	146.8 \pm 14.0
	NOS-D	13.8 \pm 1.4	15.7 \pm 0.8	144.7 \pm 11.2
Proestro	Laparotomía	15.7 \pm 0.8	16.5 \pm 1.0	167.4 \pm 19.0
	NOS-D	15.5 \pm 0.8	19.3 \pm 1.4	152.5 \pm 7.1

*p<0.05 vs. Laparotomía (prueba de “t” de Student). OI = Ovario Izquierdo, OD = Ovario Derecho, NOS-D = Nervio Ovárico Superior derecho.

ANIMALES CON OVARIECTOMÍA UNILATERAL

Ovariectomía izquierda

A los animales que se les eliminó la gónada izquierda en Diestro-1 o en Proestro se presentó mayor liberación de ovocitos por el ovario remanente (derecho), sin cambios en el porcentaje de animales ovulantes (Gráfica 3).



Gráfica 3.- Porcentaje de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados por el ovario derecho (*in situ*) en animales con Ovx-I. • p<0.05 vs. Laparotomía (L) (prueba de U de Mann-Whitney). Ovx-I = Ovariectomía Izquierda.

El ovario remanente (derecho) de los animales con Ovx-I en Estro presentó aumento en su masa respecto a la del grupo con laparotomía (Cuadro 9).

Cuadro 9. Media \pm e.e.m. de la masa relativa de órganos en grupos con Ovx-I en cada etapa del ciclo estral (n=7).

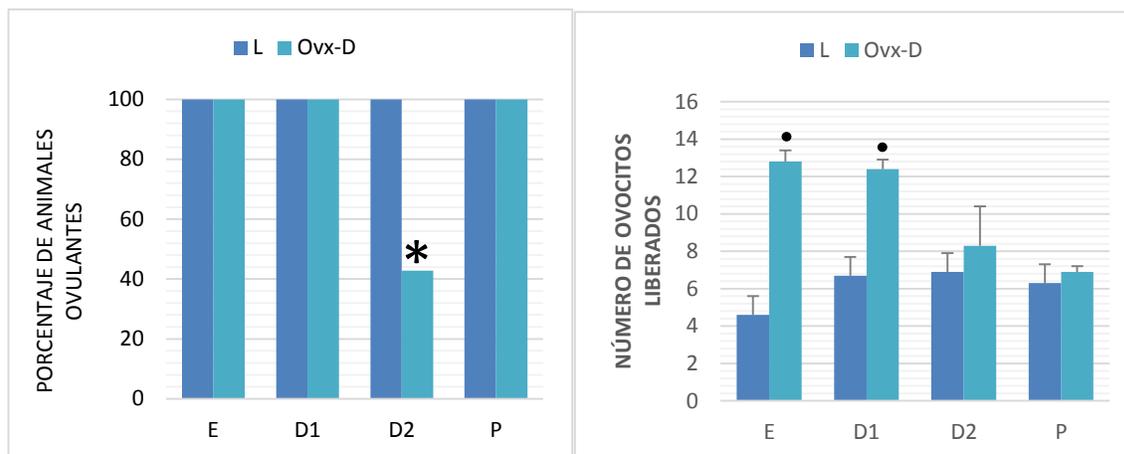
Etapa	Tratamiento	OD <i>in situ</i> mg/100g de masa corporal	Útero
Estro	Laparotomía	14.5 \pm 0.7	164.8 \pm 8.9
	Ovx-I	16.3\pm0.7*	146.7 \pm 7.2
Diestro-1	Laparotomía	15.3 \pm 1.1	146.0 \pm 7.6
	Ovx-I	17.3 \pm 0.9	146.2 \pm 2.5
Diestro-2	Laparotomía	16.8 \pm 1.3	146.8 \pm 14.0
	Ovx-I	15.9 \pm 0.9	135.8 \pm 9.8
Proestro	Laparotomía	15.7 \pm 0.8	167.4 \pm 7.1
	Ovx-I	15.5 \pm 1.1	145.1 \pm 7.4

*p<0.05 vs. Laparotomía (prueba de “t” de Student). Ovx-I = Ovariectomía Izquierda, OD= Ovario Derecho.

Ovariectomía derecha

En los animales que se les extirpó el ovario derecho en las etapas de Estro o Diestro-1 se registró aumento en el número de ovocitos liberados por el ovario *in situ* (izquierdo) respecto a lo registrado en el grupo con laparotomía; sin cambios en el porcentaje de animales ovulantes. La cirugía en el Diestro-2 resultó en menor porcentaje de animales ovulantes por el ovario *in situ* en relación al grupo control, pero no afectó el número de ovocitos liberados. A diferencia de lo anterior, la ausencia del ovario izquierdo en Proestro no alteró la ovulación (Gráfica 4).

Esa cirugía en el Estro resultó en menor masa del útero en comparación a la de los animales con laparotomía (Cuadro 10)



Gráfica 4. Porcentaje de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo (*in situ*) en animales con OvxD. * $p < 0.05$ vs. Laparotomía (L) (prueba de ji cuadrada); • $p < 0.05$ vs. L (prueba U de Mann-Whitney). OvxD = Ovariectomía Derecha.

Cuadro 10. Media \pm e.e.m. de la masa relativa de órganos en los animales con OvxD durante el ciclo estral (n=7).

Etapa	Tratamiento	OI <i>in situ</i> mg/100g de masa corporal	Útero
Estro	Laparotomía	14.5 \pm 0.7	164.8 \pm 8.9
	Ovx-D	16.3 \pm 0.7	133.9\pm5.7*
Diestro-1	Laparotomía	16.7 \pm 0.6	146.0 \pm 7.6
	Ovx-D	16.7 \pm 1.2	144.0 \pm 7.9
Diestro-2	Laparotomía	16.9 \pm 0.8	146.8 \pm 14.0
	Ovx-D	16.3 \pm 1.2	140.0 \pm 12.3
Proestro	Laparotomía	16.5 \pm 1.0	167.4 \pm 7.1
	Ovx-D	15.4 \pm 0.9	143.0 \pm 10.0

* $p < 0.05$ vs. Laparotomía (prueba de "t" de Student). OvxD = Ovariectomía Derecha, OD = Ovario Izquierdo.

SECCIÓN DEL NERVIO OVÁRICO SUPERIOR SEGUIDA DE LA OVARIECTOMÍA UNILATERAL

Sección del NOS izquierdo seguida de la ovariectomía derecha

La ovariectomía derecha en animales con denervación del ovario izquierdo *in situ* no alteró los parámetros registrados en este estudio (Cuadros 11 y 12).

Cuadro 11. Porcentaje de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo (*in situ*) en animales con sección del NOS izquierdo seguida de la Ovx-D (n=7).

Etapa del ciclo estral	Tratamiento	PAO	OI
Estro	Ovx-D	100	12.7 \pm 0.6
	NOS-I + Ovx-D	100	12.6 \pm 0.4
Diestro-1	Ovx-D	100	12.4 \pm 0.5
	NOS-I + Ovx-D	100	11.4 \pm 1.3
Diestro-2	Ovx-D	43	8.3 \pm 2.1
	NOS-I + Ovx-D	43	6.3 \pm 1.5
Proestro	Ovx-D	100	6.9 \pm 0.3
	NOS-I + Ovx-D	57	6.3 \pm 1.7

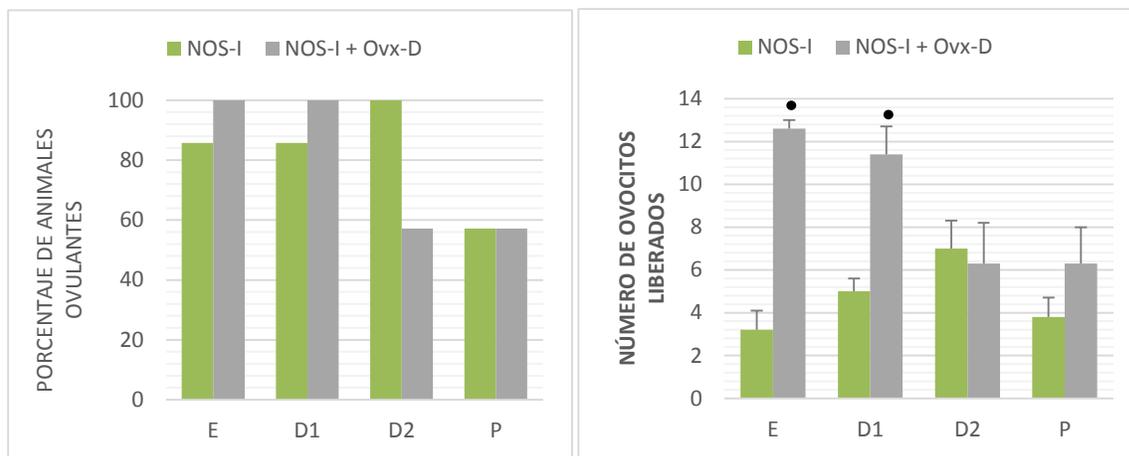
Ovx-D = Ovariectomía Derecha, NOS-I = Nervio Ovárico Superior izquierdo, PAO = Porcentaje de Animales Ovulantes, OI = Ovario Izquierdo.

Cuadro 12. Media \pm e.e.m. de la masa relativa de órganos en grupos con sección del NOS izquierdo previa a la ovariectomía contralateral a la sección (n=7).

Etapa	Tratamiento	OI <i>in situ</i> mg/100g de masa corporal	Útero
Estro	Ovx-D	16.7 \pm 0.7	146.7 \pm 7.2
	NOS-I + Ovx-D	15.5 \pm 0.7	139.9 \pm 6.2
Diestro-1	Ovx-D	17.3 \pm 0.9	146.2 \pm 2.5
	NOS-I + Ovx-D	15.6 \pm 1.2	151.2 \pm 6.4
Diestro-2	Ovx-D	15.9 \pm 0.9	135.8 \pm 9.8
	NOS-I + Ovx-D	17.2 \pm 1.5	164.6 \pm 11.0
Proestro	Ovx-D	15.5 \pm 1.1	145.1 \pm 7.4
	NOS-I + Ovx-D	18.8 \pm 2.5	145.1 \pm 8.2

Ovx-D = Ovariectomía Derecha, NOS-I = Nervio Ovárico Superior izquierdo, OI = Ovario Izquierdo.

Con respecto a la sección del NOS-I, la ausencia de la gónada contralateral a la sección en los días del Estro o Diestro-1 causó aumento significativo en el número de ovocitos liberados, sin modificaciones en el porcentaje de animales ovulantes (Gráfica 5). Únicamente la masa del ovario remanente presentó disminución al extirpar a su homóloga en la etapa del Estro (Cuadro 13).



Gráfica 5. Porcentaje de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo (*in situ*) en animales con sección del NOS-I previa a la ovariectomía contralateral a la sección. • $p < 0.05$ vs. Laparotomía (prueba U de Mann-Whitney).

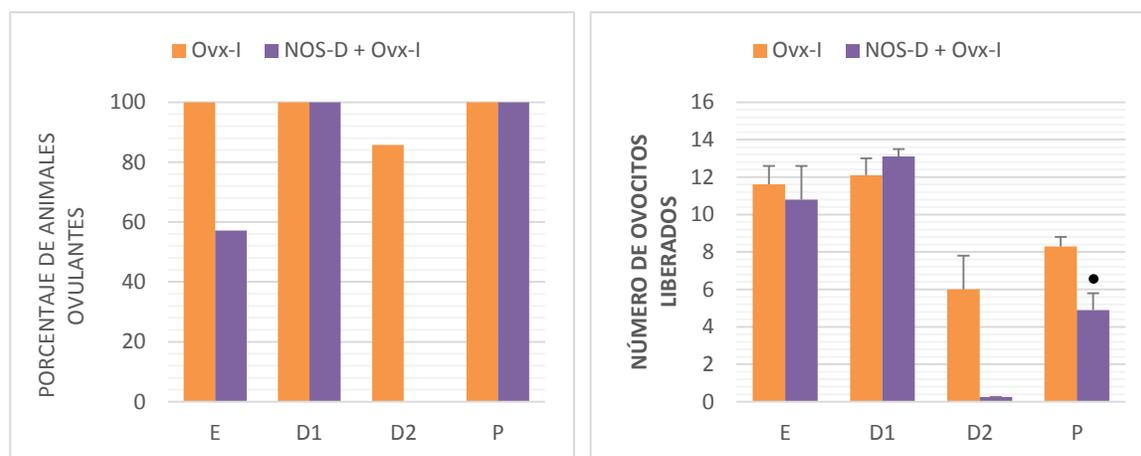
Cuadro 13. Media \pm e.e.m. de la masa relativa de órganos en grupos con sección del NOS izquierdo previa a la ovariectomía contralateral a la sección (n=7).

Etapa	Tratamiento	OI <i>in situ</i> mg/100g de masa corporal	Útero
Estro	NOS-I	20.0 \pm 1.2	151.1 \pm 7.6
	NOS-I + Ovx-D	15.5\pm0.7*	140.0 \pm 6.2
Diestro-1	NOS-I	14.1 \pm 1.5	142.3 \pm 9.1
	NOS-I + Ovx-D	15.6 \pm 1.2	151.2 \pm 6.4
Diestro-2	NOS-I	16.0 \pm 0.6	150.4 \pm 11.3
	NOS-I + Ovx-D	17.2 \pm 1.5	164.6 \pm 11.0
Proestro	NOS-I	17.6 \pm 1.2	137.0 \pm 6.3
	NOS-I + Ovx-D	18.8 \pm 2.5	145.1 \pm 8.2

* $p < 0.05$ vs. NOS-I (prueba de "t" de Student). NOS-I = Nervio Ovárico Superior izquierdo, Ovx-D = Ovariectomía Derecha, OI = Ovario Izquierdo.

Sección del NOS derecho seguida de la ovariectomía izquierda

La sección del NOS derecho previa a la ovariectomía izquierda en Diestro-2 resultó en bloqueo de la ovulación, mientras que esta cirugía en el Proestro sólo redujo el número de ovocitos liberados (Gráfica 6). Los animales que fueron operados en el día del Estro presentaron mayor masa del útero respecto a la observada en animales con Ovx-I (Cuadro 14).



Gráfica 6. Porcentaje de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados por el ovario derecho (*in situ*) con sección del NOS-D previa a la ovariectomía contralateral a la sección. • $p < 0.05$ vs. Ovx-I (prueba de U de Mann-Whitney). Ovx-I = Ovariectomía Izquierda, NOS-D = Nervio Ovárico Superior derecho.

Cuadro 14. Media \pm e.e.m. de la masa relativa de órganos en grupos con sección del NOS derecho previa a la ovariectomía contralateral a la sección (n=7).

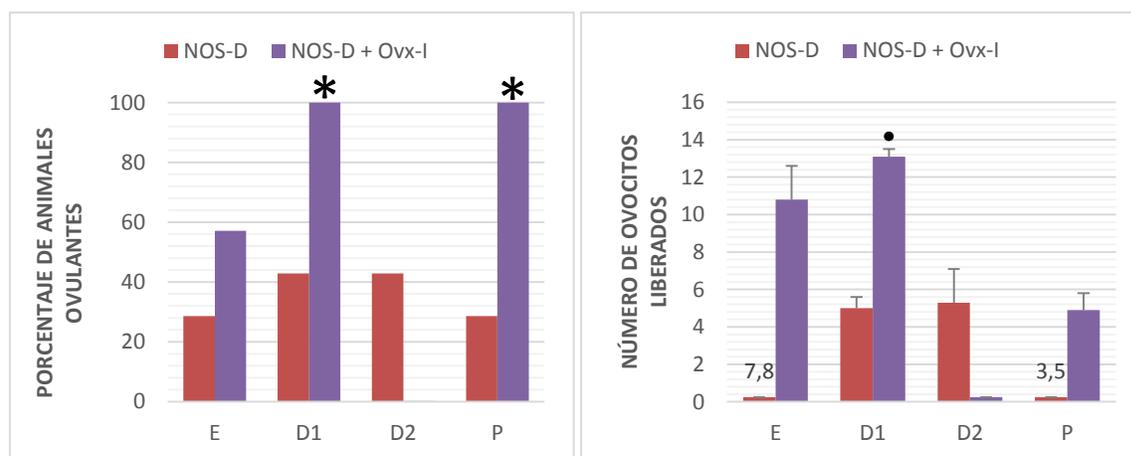
Etapa	Tratamiento	OD <i>in situ</i> mg/100g de masa corporal	Útero
Estro	Ovx-I	16.3 \pm 0.7	133.8 \pm 5.7
	NOS-D + Ovx-I	21.7\pm1.7*	137.3 \pm 11.4
Diestro-1	Ovx-I	16.3 \pm 1.2	139.5 \pm 12.3
	NOS-D + Ovx-I	18.4 \pm 1.8	156.5 \pm 6.2
Diestro-2	Ovx-I	16.3 \pm 1.2	139.5 \pm 12.3
	NOS-D + Ovx-I	18.4 \pm 1.8	156.5 \pm 6.2
Proestro	Ovx-I	15.42 \pm 0.9	143.0 \pm 1.0
	NOS-D + Ovx-I	17.3 \pm 1.2	146.4 \pm 6.1

* $p < 0.05$ vs. Intacto (prueba de "t" de Student). Ovx-I = Ovariectomía Izquierda, NOS-D = Nervio Ovárico Superior derecho, OD = Ovario Derecho.

Con respecto a los resultados obtenidos en animales con sección del NOS-D en el día del Estro, la extirpación del ovario izquierdo posterior a la sección del NOS-D resultó en mayor masa del ovario derecho *in situ* y menor masa del útero (Gráfica 7 y Cuadro 15).

Los animales con NOS-D + Ovx-I en Diestro-1 mostraron aumento en el porcentaje de animales ovulantes y en el número de ovocitos liberados respecto a lo registrado en el grupo con sección del NOS-D, mientras que dicha cirugía en el Diestro-2 bloqueó la ovulación (Gráfica 7).

En animales con NOS-D + Ovx-I en el día del Proestro, ocasionó el aumento en el porcentaje de animales que ovularon (Gráfica 7).



Gráfica 7.- Porcentaje de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados por el ovario derecho (*in situ*) con sección del NOS-D previa a la ovariectomía contralateral a la sección. * $p < 0.05$ vs. NOS-D (prueba de ji cuadrada), • $p < 0.05$ vs. L (prueba U de Mann-Whitney). NOS-D = Nervio Ovárico Superior derecho, Ovx-I = Ovariectomía Izquierda.

Cuadro 15. Media \pm e.e.m. de la masa relativa de órganos en grupos con sección del NOS derecho previa a la ovariectomía contralateral a la sección (n=7).

Etapa	Tratamiento	OD <i>in situ</i> mg/100g de masa corporal	Útero
Estro	Ovx-I	15.9 \pm 0.8	161.0 \pm 8.5
	NOS-D + Ovx-I	21.9\pm1.7*	137.3\pm11.3*
Diestro-1	Ovx-I	21.0 \pm 5.7	143.1 \pm 7.3
	NOS-D + Ovx-I	19.6 \pm 1.5	151.0 \pm 7.4
Diestro-2	Ovx-I	15.8 \pm 0.8	144.7 \pm 11.2
	NOS-D + Ovx-I	18.4 \pm 1.8	156.5 \pm 6.2
Proestro	Ovx-I	19.3 \pm 1.4	152.4 \pm 7.1
	NOS-D + Ovx-I	17.3 \pm 1.2	146.4 \pm 6.1

*p<0.05 vs. Ovx-I, (prueba de “t” de Student). Ovx-I = Ovariectomía Izquierda, NOS-D = Nervio Ovárico Superior derecho, OD = Ovario Derecho.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Con base en los resultados obtenidos en el presente estudio se sugiere que la información neural que recibe el ovario por medio del NOS juega un papel asimétrico en la modulación de la respuesta de los ovarios a las gonadotropinas y que se modifica en función de la etapa del ciclo, el momento del día, el nervio y el ovario analizado.

La disminución en el número de ovocitos liberados por el ovario derecho en los animales con laparotomía ventral realizada en el Diestro-2 nos permiten sugerir que la perforación de la piel, el músculo y el peritoneo representaron un factor estresante que afectó la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-ovario (HHO). El estrés es un factor de desequilibrio para la homeostasis (la tendencia de los organismos para mantener la estabilidad de componentes fisiológicos vitales como son el pH, la temperatura corporal, etc.), por lo que mantener en equilibrio sus valores en un rango estrecho es de vital importancia para la supervivencia de los organismos. Existen sistemas que participan de manera importante durante el estrés, tales como el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA) y el sistema nervioso autónomo (Pagés y col., 2005).

Como resultado del estrés al que se somete a un animal, en el área paraventricular del hipotálamo (PVN) se secreta la hormona liberadora de la corticotropina (CRH) hacia la eminencia media, la que al llegar a la *pars distalis* de la adenohipófisis estimula la secreción de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) al torrente sanguíneo. Este aumento en la secreción de ACTH estimula la secreción de P₄ y corticosterona de la corteza adrenal al torrente sanguíneo (Figura 19) (Pagés y col., 2005).

La P₄ liberada actúa en el hipotálamo y ejerce un efecto de retroalimentación negativa sobre la secreción de GnRH y por tanto la liberación de las gonadotropinas que culmina con una alteración en la ovulación (Clarke y

Pompolo, 2005). Además como observaron Macfarland y Mann (1977), los glucocorticoides ejercen un estímulo inhibitorio sobre la secreción de LH y FSH lo que se traduce en menor desarrollo folicular y por tanto menor secreción de E₂ debido al descenso en la actividad de las células de la granulosa en desarrollo (Figura 19).

La razón de que la laparotomía ventral resulte en menor número de ovocitos liberados por el ovario derecho en la etapa del Diestro-2 posiblemente es resultado de que el estímulo inhibitorio por parte de los glucocorticoides sobre la secreción de la LH no sea suficiente como para interrumpir la señal que ejerce esta hormona en el Proestro y que da paso a la ovulación. Sin embargo, está interrumpiendo de manera importante la secreción de FSH, lo que interfiere con el mecanismo de conversión que involucra la cascada de señalización de la proteína G asociada con los receptores a FSH y que desencadena la interacción del dominio α con *Adenil ciclasa* quien activa la expresión de cAMP, que como segundo mensajero activa el desarrollo folicular y la aromatización de andrógenos en estrógenos (Erickson y Shimakasi, 2001; Palermo, 2007).

El aumento de la masa del útero observado en los animales con laparotomía ventral en los días del Proestro o Estro podría ser explicado por el aumento en la actividad adrenal. Como se mencionó, el estrés provocado conduciría a una mayor secreción de P₄, hormona encargada de promover la diferenciación y proliferación celular del epitelio uterino (Figura 19) (Couse y col., 2006).

Otra posible explicación del descenso de la cuota de ovocitos liberados es que la laparotomía ventral en el Diestro-2 está activando vías neurales sensoriales que se ha observado, pasan por el peritoneo parietal y visceral que tienen conexión con los ganglios de la raíz dorsal y los ganglios nodosos, que a su vez pasan por la cadena simpática que atraviesa ganglios pevertebrales tales como el ganglio celiaco (Tanaka y col., 2002), donde se originan las fibras

extrínsecas que llegan al ovario a través del NOS (Dissen y Ojeda, 1999; Lawrence y Burden, 1980). El estímulo de estas fibras que tienen conexión con las que inervan al ovario podría estar estimulando de forma negativa la liberación de ovocitos. Aunque este argumento no nos permite explicar porque sólo se observaron diferencias significativas en la etapa del Diestro-2.

Los resultados observados en los animales con sección unilateral del NOS ponen en evidencia la participación de la NA y el VIP, contenidos en el nervio, al modular la respuesta de los compartimentos ováricos a las gonadotropinas (Burden, 1980; Dissen y Ojeda, 1999; Domínguez y Cruz, 2011; Kawakami y col., 1979; Lawrence y Gerendai y col., 2005; Parra y col., 2007).

Los resultados observados en los animales con sección del NOS-I en Proestro nos hacen sugerir que los neurotransmisores contenidos en el nervio modulan de manera estimulante la acción de las gonadotropinas sobre la ovulación del ovario ipsilateral. Este resultado concuerda con lo obtenido por Itoh e Ishizuka (2005), quienes mostraron que en la etapa del Proestro, el aporte de NA proveniente del NOS es necesario para la ovulación. Se tienen evidencias de que la catecolamina en dicha etapa aumenta su concentración en comparación con el resto de las etapas del ciclo estral (Cortés, 2013), así como la expresión de los receptores β -adrenérgicos en el ovario (Jordan, 1981).

Aunado a lo anterior, la disminución del aporte de NA que provee el NOS ocasionó la interrupción del proceso ovulatorio, posiblemente por comprometer la afinidad de los receptores a LH necesarios en la etapa preovulatoria (Figura 20) (Dissen y Ojeda, 1999), también se pudo comprometer la contracción del músculo liso que promueve la NA en el momento de la ovulación y que ayuda en la expulsión del ovocito (Itoh e Ishizuka, 2005). La interrupción en la expresión de receptores a LH podría ayudarnos a explicar el decremento en la masa uterina, como resultado de la disminución en la secreción de P_4 por interrupción de la cascada de señalización que ocasiona la unión de LH a su receptor.

A diferencia de los resultados obtenidos en la sección del NOS izquierdo, la disminución en el porcentaje de animales ovulantes observados en aquellos con sección del NOS derecho nos llevan a inferir que la información que proviene de este nervio y llega al ovario derecho modula de manera estimulante la acción de las gonadotropinas sobre los folículos que liberan su ovocito en el Estro inmediato y que al parecer no influye sobre el proceso ovulatorio que ocurre en el ovario izquierdo, que se mantiene inervado por el NOS izquierdo, independientemente de la etapa del ciclo estral en estudio.

La sección del NOS derecho posiblemente interrumpió la formación de receptores a gonadotropinas (Dissen y Ojeda, 1999), además de la activación de la aromatasa promovida por VIP en la esteroidogénesis folicular (Dissen y Ojeda, 1999; Parra y col., 2007) y por tanto el descenso de la síntesis de P_4 y E_2 lo que ocasiona una alteración en el eje hipotálamo-hipófisis-ovario (Figura 21).

El aumento de la masa del ovario izquierdo (que permaneció inervado) en los animales con sección del NOS derecho en la etapa del Estro, nos permite sugerir dos vías por las cuales se promueve su desarrollo folicular y por lo tanto el aumento de su masa (Figura 21). La primera es que al seccionar el NOS derecho se interrumpen los neurotransmisores contenidos en él, lo que compromete la afinidad y expresión de receptores a gonadotropinas y ocasiona un menor desarrollo folicular por el ovario denervado. Este descenso en el desarrollo folicular del ovario denervado se verá reflejado en una disminución de la secreción de E_2 lo que estimulará el aumento de la secreción de GnRH en hipotálamo y por lo tanto la síntesis y secreción de las gonadotropinas, que llegarán al ovario que mantiene integra su inervación y cuenta con las condiciones para responder a las gonadotropinas, y por ende resultará en aumento de su masa como respuesta al incremento de la actividad folicular promovida por la FSH (Figura 21).

Otra vía por la cual el ovario contralateral ante la sección derecha del NOS presenta un incremento en su masa, es que dicho nervio represente una vía de comunicación entre ambos ovarios (Figura 21). Evidencias anatómicas observadas por Moran y su equipo de trabajo (2005), le permite plantear que el ovario izquierdo recibe fibras que comunican con el GCMS izquierdo y derecho, mientras que el ovario derecho sólo recibe fibras que comunican con el ganglio ipsilateral.

Así, sugerimos que la interrupción de la información que comunica al ovario izquierdo con el derecho (vía el NOS derecho) se traduce como una alteración en la fisiología de la gónada izquierda, lo que desencadena el aumento en la actividad folicular y la liberación de un mayor número de ovocitos, aunque este parámetro no haya sido significativo (Cuadro 7) (Figura 21).

Los resultados obtenidos tras la sección unilateral del NOS, ponen en evidencia la existencia de una actividad asimétrica de este nervio sobre el proceso ovulatorio. Esta premisa funcional se apoya en las observaciones de Tóth y colaboradores (2007), quienes describen que el ovario izquierdo recibe una mayor densidad de fibras nerviosas que el derecho y que los conecta con el GCMS con un menor número de fibras que llegan desde el ganglio paravertebral y que atraviesan el ganglio celiaco sin tener contacto con las neuronas ganglionares de esta región (Disen y Ojeda, 1999).

Nuestro equipo de trabajo ha documentado la participación del NOS sobre el proceso ovulatorio en distintos momentos de la fotofase del día (a las 7:00, 11:00, 13:00, 15:00, 17:00 y 19:00 h) en cada etapa del ciclo estral. Estos resultados y la evidencia anatómica descrita anteriormente de la vía neural que vincula al ovario con el SNC y específicamente con el hipotálamo, aunados a los de este estudio nos permiten sugerir que el NOS sigue una actividad circadiana que modula el proceso ovulatorio a lo largo del día y que sirve como vía de que coordina al ovario con un oscilador central (el núcleo supraquiasmático).

Por otra parte, la capacidad de un ovario para responder ante la ausencia de su homóloga contralateral en cada etapa del ciclo estral es distinta entre el ovario derecho e izquierdo. Uno de los mecanismos observados después de extirpar un ovario, y que podría explicar el aumento en el número de ovocitos liberados cuando se extirpa el ovario izquierdo en Diestro-1 o Proestro, es el aumento de FSH y el desarrollo acelerado de los folículos en la gónada *in situ*, así como la disminución de la atresia folicular, lo que promueve la ovulación compensadora de la gónada remanente a la ausencia de su homóloga (Peppler y Greenderwald, 1970). Esta idea se soporta con el aumento de la masa del ovario remanente aunque sólo fue estadísticamente significativo en la etapa del Estro tras extirpar la gónada izquierda (Figura 22).

La respuesta observada por el ovario derecho también se presentó en el ovario izquierdo cuando se extirpó la gónada derecha en el día de Estro o Diestro-1. El aumento de la masa del útero en el día del Estro, podría ser el resultado del aumento en la actividad folicular lo que ocasiona una mayor secreción de P_4 y por tanto el aumento en la proliferación y diferenciación del epitelio uterino (Figura 23) (Couse y col., 2006).

El mecanismo endocrino que conduce a la capacidad del ovario remanente a responder con un mayor número de ovocitos liberados sólo sería posible cuando la extirpación antecede al menos a una fase de desarrollo folicular, ya que permite al ovario responder al aumento considerable en las concentraciones séricas de FSH (Freeman, 2006).

La disminución en el porcentaje de animales ovulantes que se observó en los animales con ovariectomía derecha en la etapa del Diestro-2, podría deberse a la disminución de las concentraciones de E_2 inducido por la ausencia del ovario, que en esta etapa, son necesarias como señalización que promueve la secreción

de preovulatoria de GnRH y el posterior pico preovulatorio de LH (Freeman, 2006).

Tras extirpar la gónada izquierda no se alteró el porcentaje de animales ovulantes que ocurrió cuando se extirpó la gónada derecha. Y si bien la ovariectomía unilateral en Estro provocó la misma respuesta ovulatoria en ambas gónadas *in situ*, esto no fue así cuando se realizó la ovariectomía en Proestro o Estro. Estas diferencias nos llevan a sugerir que su respuesta depende de la cantidad de fibras que las inervan. Evidencias anatómicas observadas por Moran y su equipo de trabajo (2005), le permite plantear que el ovario izquierdo recibe fibras que comunican con el GCMS izquierdo y derecho, mientras que el ovario derecho sólo recibe fibras que comunican con el ganglio ipsilateral.

La respuesta del ovario izquierdo remanente en los animales con ovariectomía no depende de la inervación que proviene del NOS izquierdo, ya que su ausencia no alteró su función (Figura 24). A diferencia de ello, los resultados obtenidos en los animales con NOS-D+Ovx-I nos permiten sugerir que la presencia del NOS derecho en Diestro-2 es imprescindible en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación. El aumento de VIP registrado por Parra y colaboradores (2007), soportan la idea en esta etapa este neuropéptido es necesario en la regulación de la actividad androgénica y estimula la síntesis de P₄ y E₂ (Dissen y Ojeda, 1999). El efecto de VIP sobre la síntesis de E₂ está mediado por el incremento de la biosíntesis de la aromatasa o por el incremento de la actividad específica de esta enzima (Parra y col., 2007).

Tras extirpar el ovario izquierdo en la etapa del Proestro, el ovario remanente denervado no fue capaz de responder con un mismo número de ovocitos liberados al compararlo con el del grupo con ovariectomía izquierda (Figura 25). Esto apoya la idea planteada anteriormente de que el NOS, en este momento del día y del ciclo estral, actúa como una vía que comunica la ausencia del ovario izquierdo al ovario remanente y que al interrumpir dicha vía de

comunicación este ovario no es capaz de responder en compensación a la ausencia de su homóloga.

En el Diestro-2, la importancia de la inervación, como se planteó al inicio, se pone de manifiesto cuando no sólo se suprime el efecto compensatorio de la gónada remanente, si no que ocasiona la anovulación de ésta.

Al analizar el efecto la ovariectomía derecha sobre la gónada remanente denervada, concluimos que el NOS izquierdo, en este momento del día, no está involucrado en los mecanismos que conducen a una mayor cuota de ovocitos liberados y que en concordancia con la sola sección izquierda del NOS, este no afecta de manera significativa la capacidad del ovario a responder a las gonadotropinas circundantes, lo que le permite responder a la señalización endocrina que se desencadena tras la ausencia de su homóloga contralateral. Es evidente que el tiempo que transcurre entre la cirugía y el sacrificio es un factor que podría estar vinculado directamente con los resultados obtenidos, en los grupos en que al sacrificio le antecedían más de 24 horas de recuperación, la respuesta del ovario remanente en cuanto a número de ovocito liberados es mayor. Y se ve reflejado en el aumento de la masa del ovario izquierdo en la etapa del Estro, donde la respuesta del ovario remanente es un mayor desarrollo folicular.

La importancia de la integridad del NOS-D en el proceso ovulatorio se contrasta cuando se observan los resultados de la sección de este nervio contra la sección previa a la ovariectomía contralateral. El mecanismo endocrino que desencadena la extirpación del ovario parece ser suficiente para restablecer la ovulación en las etapas con al menos una fase folicular previa al sacrificio, en el caso del restablecimiento de la ovulación en el Proestro, nuevamente la inervación extrínseca parece ser la explicación, posiblemente una de las dos vías aun integras (el Nervio del Plexo Ovárico y el Nervio Vago), aunque falta evidencia para dar esta conclusión.

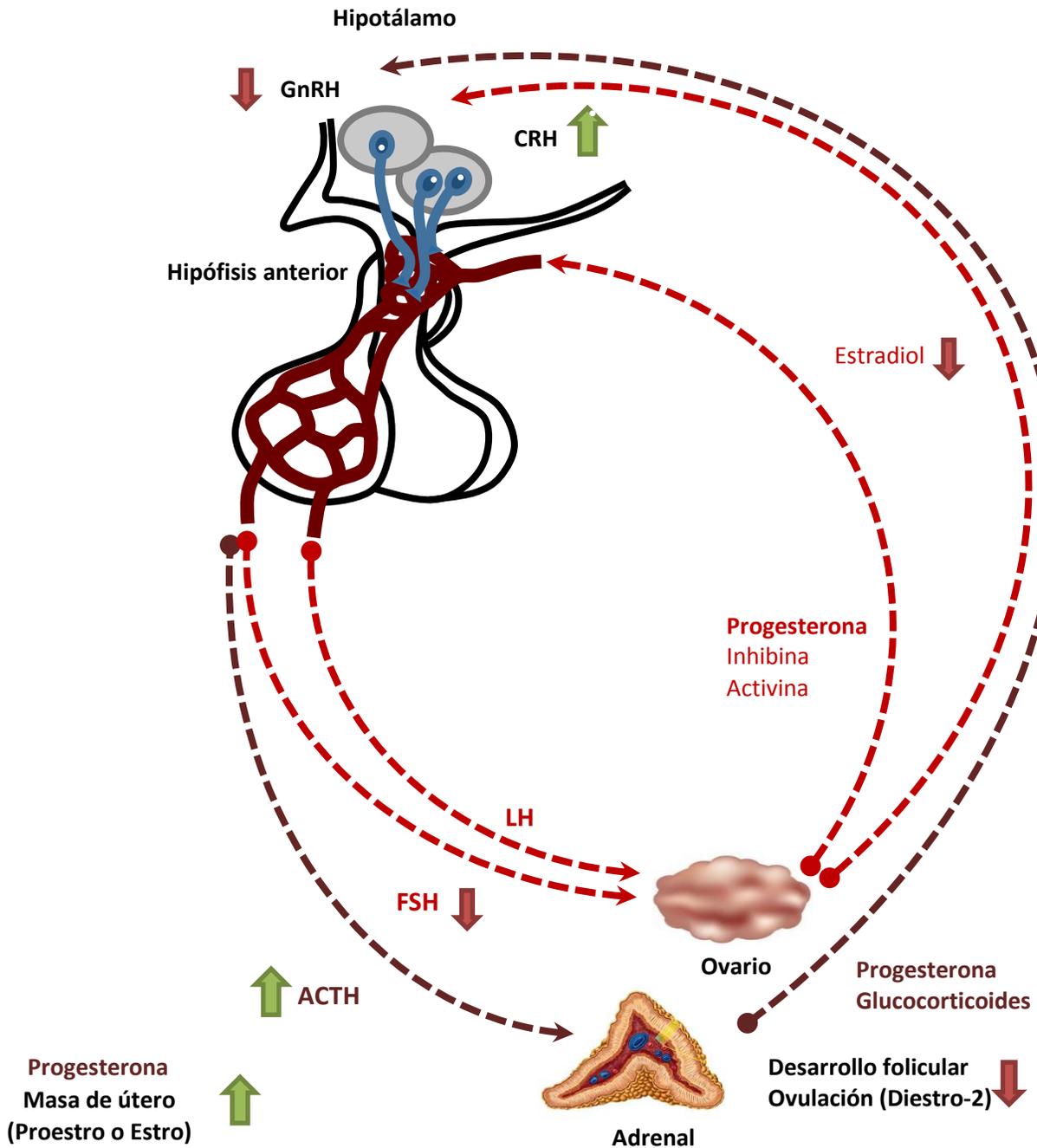


Figura 19.- Modelo propuesto del efecto de la laparotomía en animales tratados en el Diestro-2, Proestro o Estro. La flecha ↓ indica la disminución de las concentraciones de las hormonas y la ovulación; la flecha ↑ indica el aumento en dichas concentraciones. GnRH: Hormona liberadora de las gonadotropinas, CRH: Hormona liberadora de la hormona adrenocorticotrópica; ACTH: Hormona adrenocorticotrópica, LH: Hormona luteinizante, FSH: Hormona estimulante del folículo.

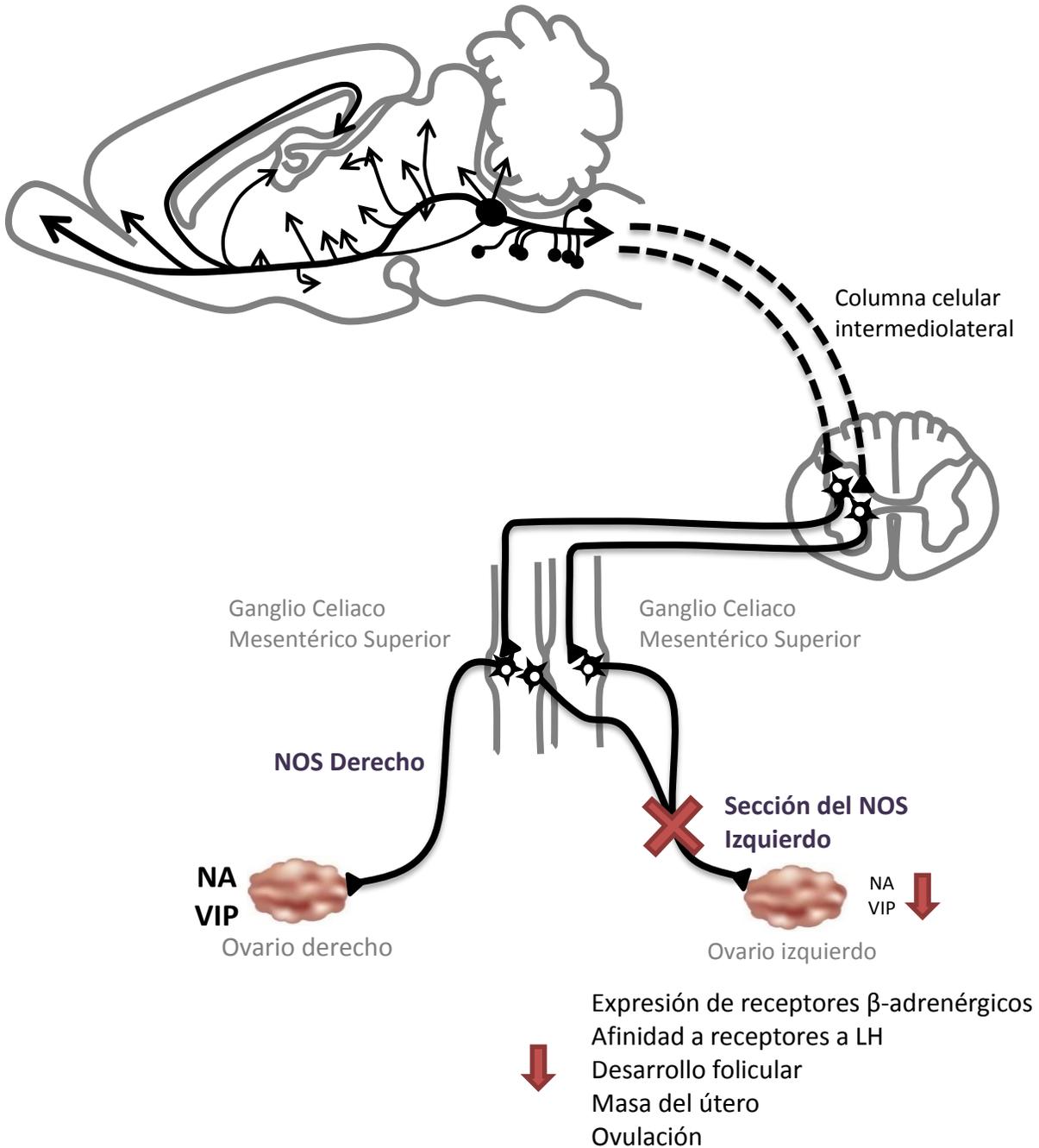


Figura 20.- Modelo propuesto del efecto de la sección del NOS izquierdo realizada en Proestro. La flecha ↓ indica la disminución en los parámetros marcados. NA: noradrenalina, VIP: Péptido intestinal vasoactivo.

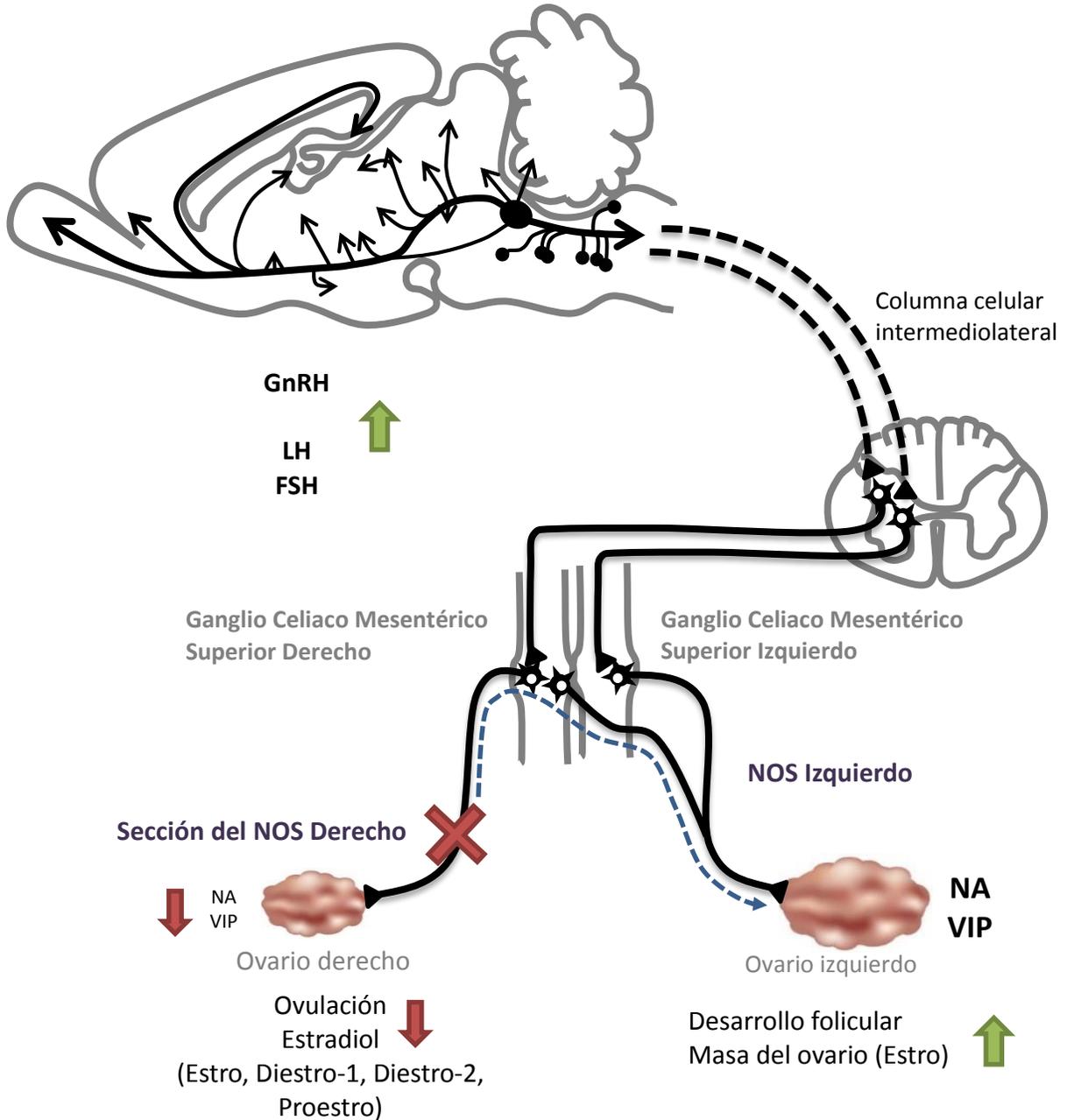


Figura 21.- Modelo propuesto del efecto de la sección del NOS derecho en cada etapa del ciclo estral. La flecha ↓ indica la disminución en la concentración de hormonas o la ovulación; la flecha ↑ indica el aumento en el desarrollo folicular y la masa del ovario. GnRH: hormona liberadora de las gonadotropinas, LH: hormona luteinizante, FSH: hormona estimulante del folículo, NA: noradrenalina, VIP: Péptido intestinal vasoactivo.

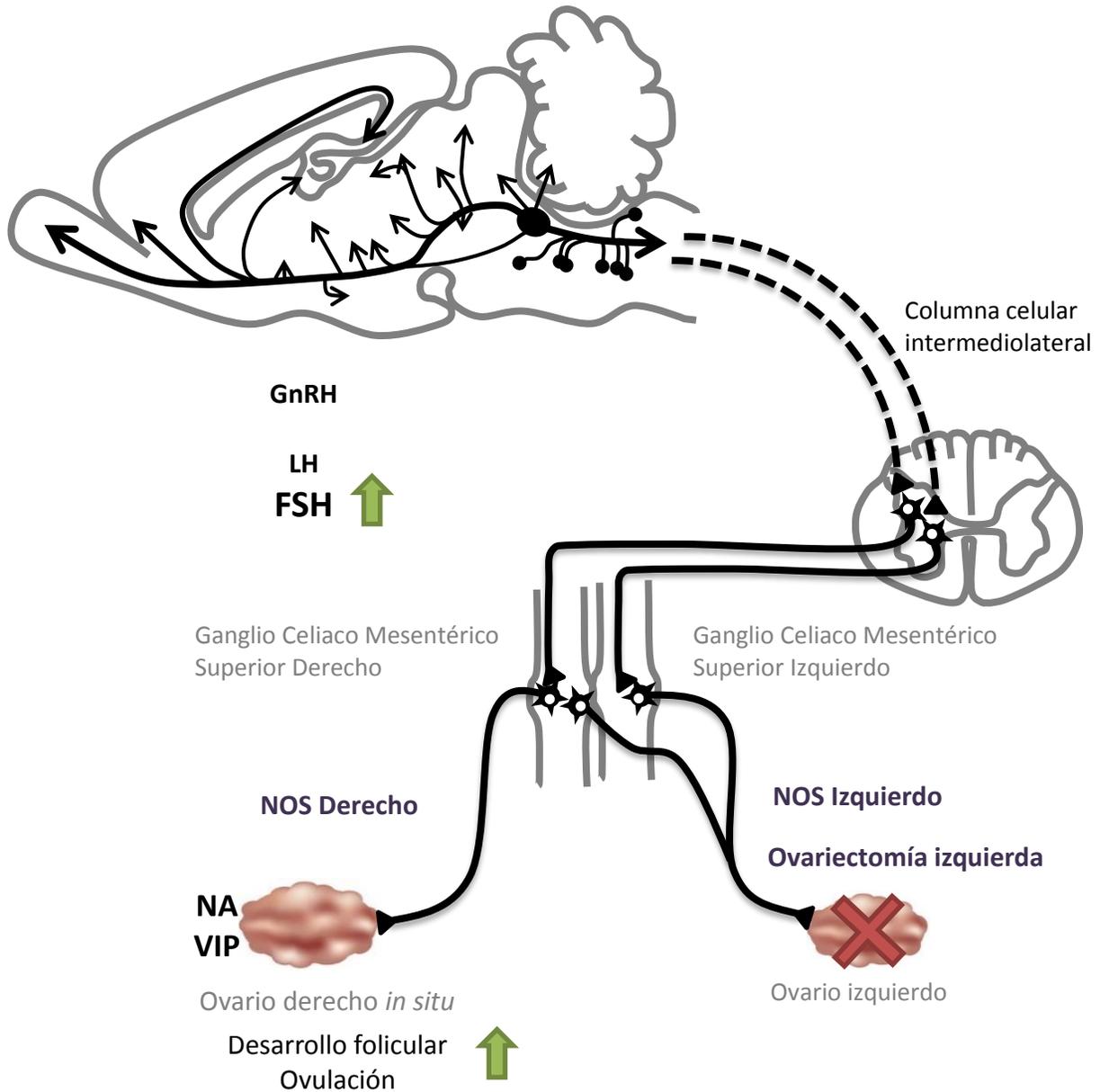


Figura 22.- Modelo propuesto del efecto de la ovariectomía izquierda en Diestro-1 o Proestro y aumento de masa del ovario inervado en animales tratados en el Estro. La flecha ↑ indica el aumento en la concentración de gonadotropinas y la ovulación. GnRH: hormona liberadora de las gonadotropinas, LH: hormona luteinizante, FSH: hormona estimulante del folículo, NA: noradrenalina, VIP: Péptido intestinal vasoactivo.

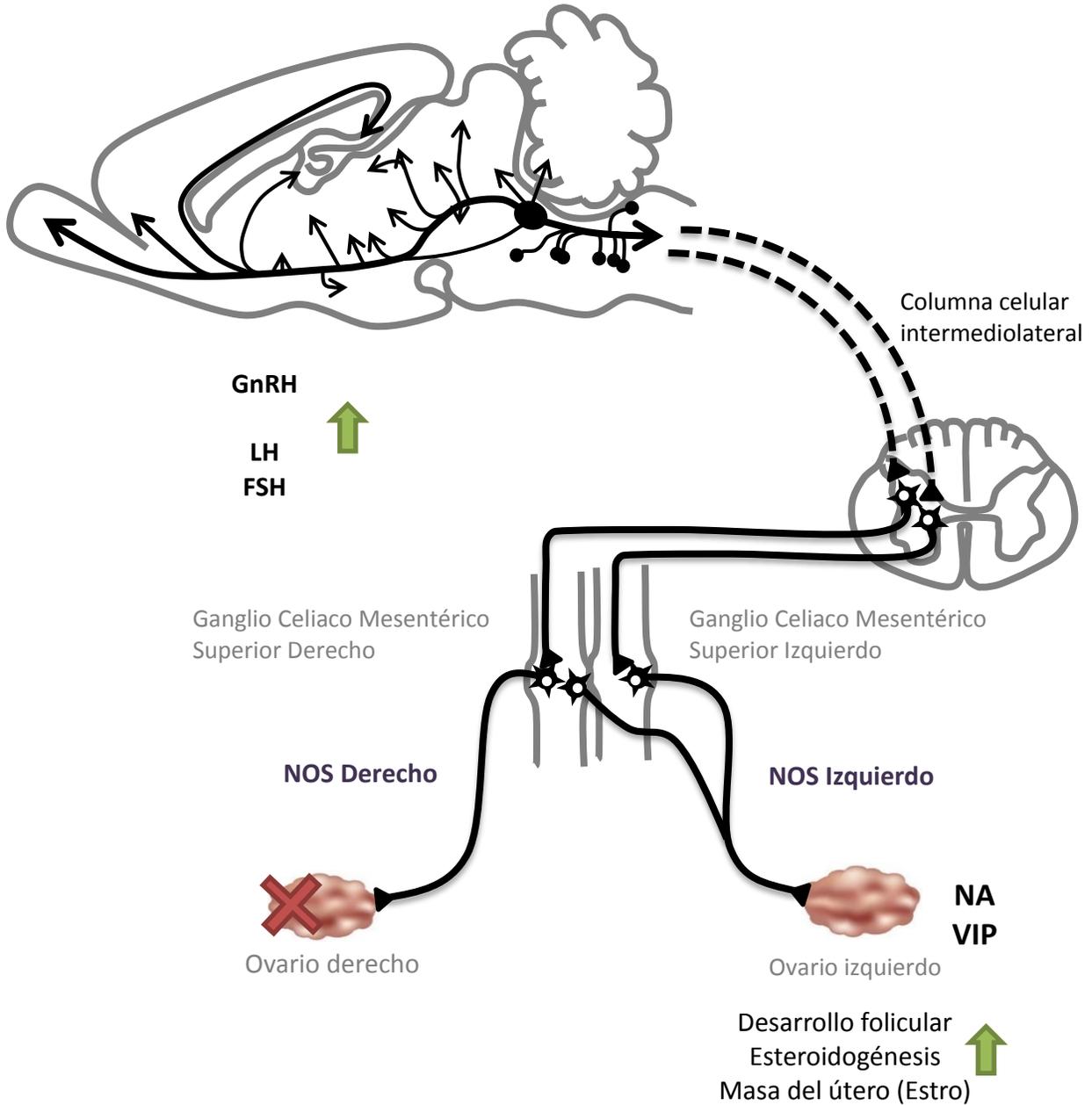


Figura 23.- Modelo propuesto del efecto de la ovariectomía derecha en Estro y Diestro-1. La flecha  indica el aumento en la concentración: hormona liberadora de las gonadotropinas, LH: hormona luteinizante, FSH: hormona estimulante del folículo, NA: noradrenalina; VIP: Péptido intestinal vasoactivo.

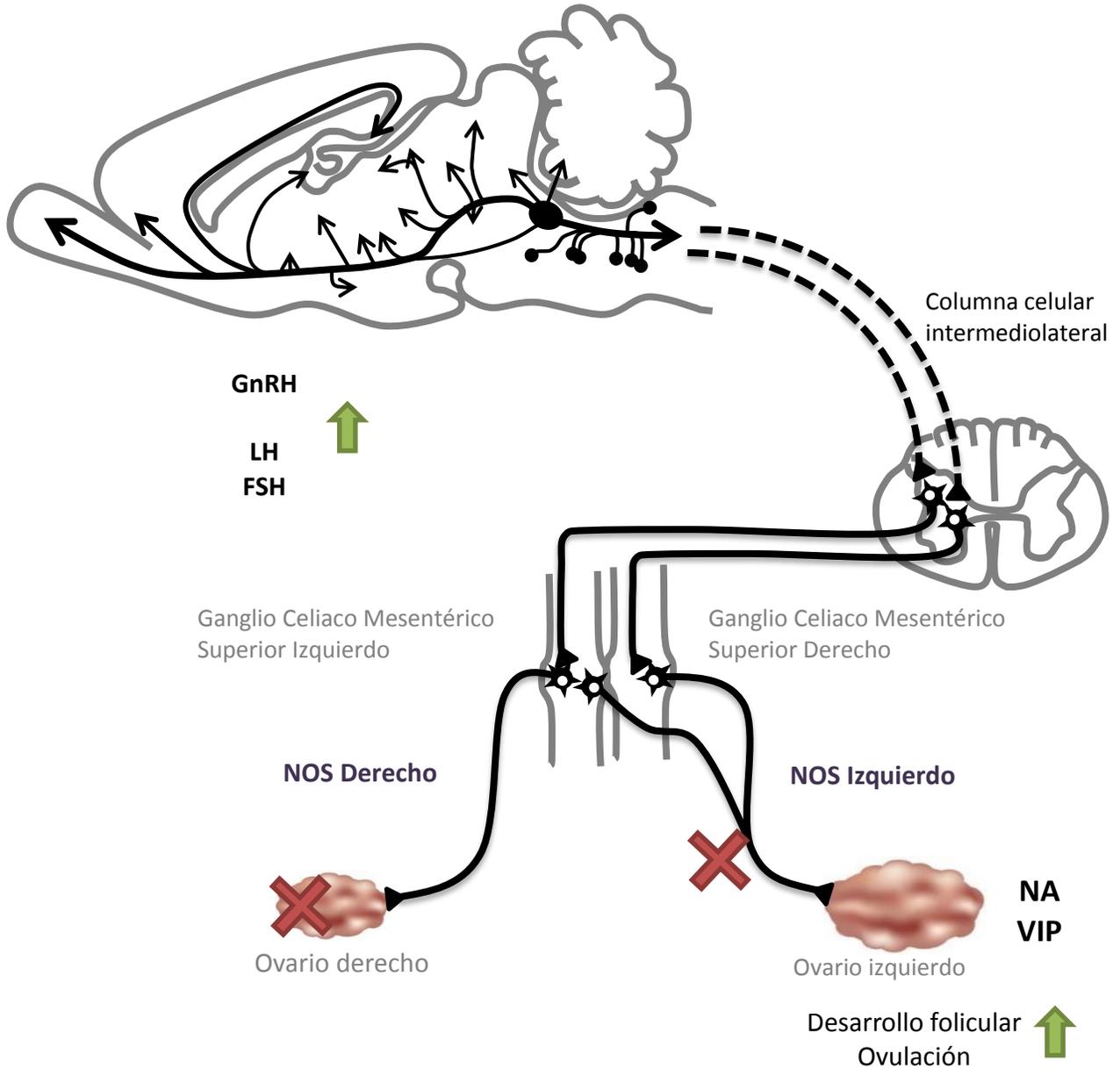


Figura 24.- Modelo propuesto del efecto de la sección derecha del NOS en el Estro o Diestro-1 seguida de la ovariectomía contralateral a la sección. La flecha ↑ indica el aumento en la concentración o desarrollo folicular; la "X", indica la ovariectomía; GnRH: hormona liberadora de las gonadotropinas; LH: hormona luteinizante; FSH: hormona estimulante del folículo; NA: noradrenalina; VIP: Péptido intestinal vasoactivo.

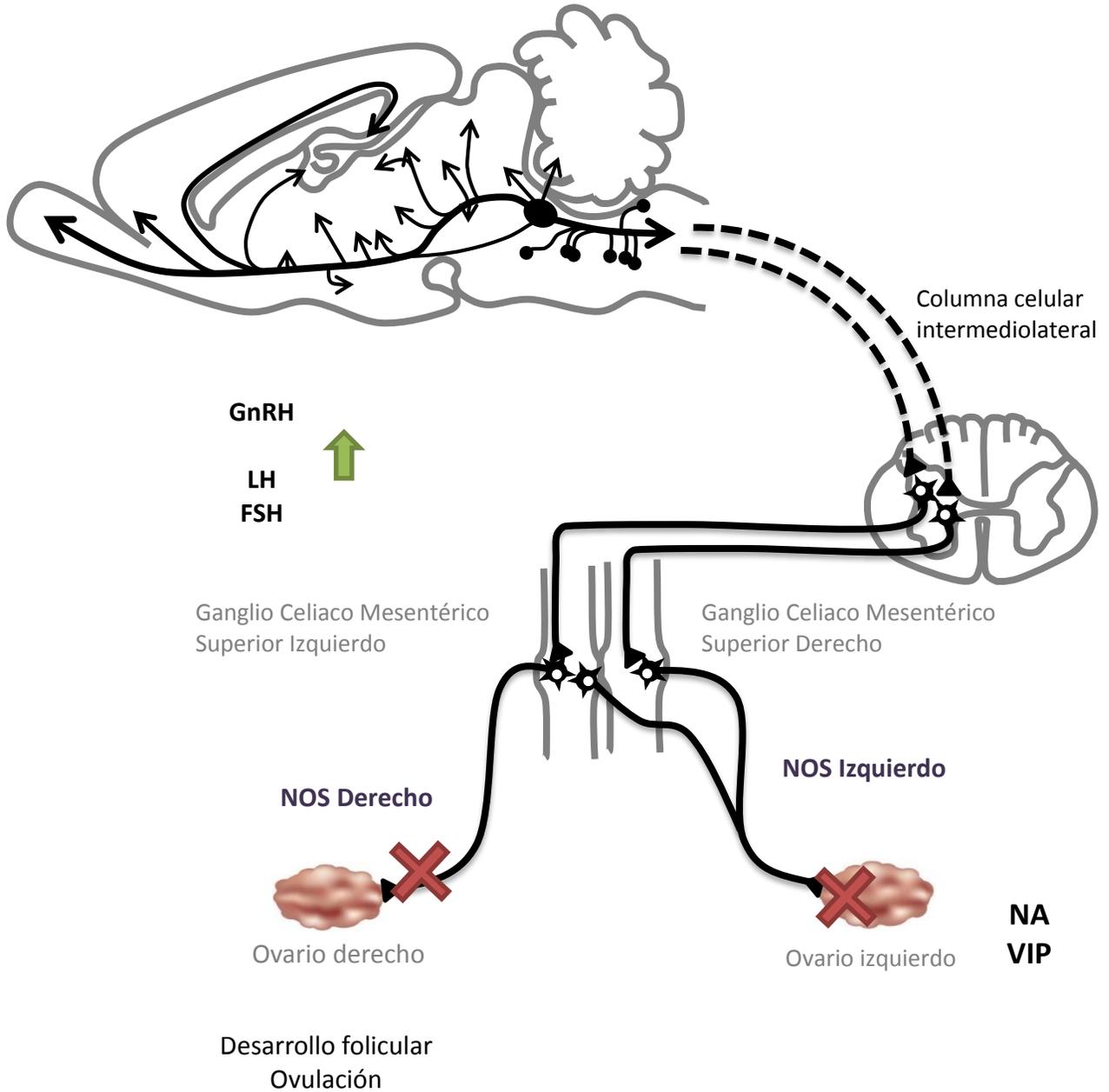


Figura 25.- Modelo propuesto del efecto la sección izquierda del NOS seguida de la ovariectomía contralateral a la sección realizada en el Proestro. La flecha ↑ indica el aumento en la; la "X", indica la ovariectomía; GnRH: hormona liberadora de las gonadotropinas; LH: hormona luteinizante; FSH: hormona estimulante del folículo; NA: noradrenalina; VIP: Péptido intestinal vasoactivo.

CONCLUSIONES

- La capacidad de los ovarios para responder a las señales neuroendocrinas del NOS que promueven la ovulación es asimétrica.
- El NOS derecho en cada etapa del ciclo estral promueve el proceso ovulatorio de la gónada ipsilateral, mientras que el izquierdo sólo participa en la etapa del Proestro.
- El NOS derecho en la etapa de Estro es una vía de comunicación entre el ovario izquierdo y el derecho.
- La capacidad de respuesta de los ovarios ante la ausencia de su homóloga contralateral es diferente y depende del ovario *in situ* y la etapa del ciclo estral.
- La capacidad de respuesta del ovario derecho ante la ausencia de su homóloga en la etapa del Proestro está modulada por el NOS derecho.

REFERENCIAS

- ✓ **Amoss M, Burgus R, Blackwell R, Vale W, Fellows R, Guillemin R.** (1971). *Purification aminoacid composition and N-terminus of the hypothalamic luteinizing hormone releasing factor (LRF) of ovine origin.* Biochemical and Biophysical Research Communications 44 (1): 205-210.
- ✓ **Andreone L, Velásquez EV, Abramovich D, Ambao V, Loreti N, Croxatto HB, Parborell F, Tesone M, Campo S.** (2009). *Regulation of inhibin/activin expression in rat early natural antral follicles.* Molecular and Cellular Endocrinology 309 (1): 48-54.
- ✓ **Belsham D, Lovejoy D.** (2005). *Gonadotropin – releasing hormone: Gene evolution, expression and regulation,* Vitamins and Hormones 17 (1): 59-94.
- ✓ **Bilezikjian L, Justice N, Blackler A, Wiater E, Vale W.** (2012). *Cell-type specific modulation of pituitary cells by activin, inhibin and follistatin.* Molecular and Cellular Endocrinology 359 (1-2): 43-52.
- ✓ **Bliss S, Navratil A, Xie J, Roberson M.** (2010). *GnRH signaling, the gonadotrope and endocrine control of fertility,* Frontiers in Neuroendocrinology 31 (3): 322-340.
- ✓ **Bogdanove E, Gay V.** (1969). *Studies on the disappearance of LH and FSH in the rat; a quantitative approach to adenohipophysial secretory kinetics.* Endocrinology 84 (5): 1118-1131.
- ✓ **Brann DW, Mahesh VB.** (2005). *The aging reproductive neuroendocrine axis.* Steroids 70 (4): 273-283.
- ✓ **Burden HW.** (1978). *Ovarian innervation, p. 615-638.* En: *The vertebrate Ovary.* Jones RE (Ed). Plenum Press, New York.
- ✓ **Caravaca FP, Castel JM, Guzman JL, Delgado M, Mena Y, Alcalde MJ, Gonzales P.** (2003). *Bases de la reproducción animal.* Ed. Universidad de Sevilla, España, p. 65-66.
- ✓ **Chávez R, Carrizosa L, Domínguez R.** (1991). *Effects of superior ovarian nerve section on spontaneous and induced ovulation in the adult rat.* Medical Science Research 19 (1): 41-42.

- ✓ **Chávez R, Domínguez R.** (1994). *Participation of the superior ovarian nerve in the regulation of compensatory ovarian hypertrophy: the effects of its section performed on each day of the oestrous cycle.* Journal of Endocrinology 140 (1): 1-4.
- ✓ **Chávez R, Morales L, González ME, Domínguez R.** (1994). *Ovarian norepinephrine content in prepuberal rats with superior ovarian nerve section.* Medical Science Research 22 (1): 789-790.
- ✓ **Chen C, Fernald D.** (2008), *GnRH and GnRH receptors: Distribution, function and evolution,* Journal of Fish Biology 73 (5):1099-1120.
- ✓ **Chun SY, Eisenhauer KM, Minami S, Billig H, Perlas E, Hsueh AJ.** (1996). *Hormonal regulation of apoptosis in early antral follicles: follicle-stimulating hormone as a major survival factor.* Endocrinology 137 (4): 1447-1456.
- ✓ **Clarke I, Pompolo S.** (2005). *Synthesis and secretion of GnRH.* Animal Reproduction Science 88 (1-2): 29-55.
- ✓ **Clarke I.** (2011). *Control of GnRH secretion: one step back,* Frontiers in Neuroendocrinology 32 (3): 367-375.
- ✓ **Cortés GD, Javier CY, Muñoz JC, Cruz ME, Flores A.** (2013). *El Nervio Ovárico Superior modula de manera asimétrica la ovulación en la tarde y noche del ciclo estral de la rata.* XXXIX Reunión anual de la Academia de Investigación en Biología de la Reproducción. Veracruz, Ver.
- ✓ **Couse J, Hewitt S, Korach K.** (2006). *Steroids receptors in the ovary and the uterus,* p: 593-678. *In: Physiology of Reproduction.* Knobil y Neill (eds). 3a. ed., Academic Press, EUA.
- ✓ **Cruz ME, Sánchez MA, Domínguez R.** (2001). *Asimetrías funcionales del sistema reproductor,* p.75-91. En: *Biología de la Reproducción.* Moctezuma JV (Ed). UNAM – PUIS, México.
- ✓ **D'Albora H, Anesetti G, Lombide P, Dees W, Ojeda S.** (2002). *Intrinsic neurons in the mammalian ovary.* Microscopy Research and Technique 59 (1): 484-489.
- ✓ **Dalkin A, Haisenleder D, Ortolano G, Ellis T, Marshal J.** (1989). *The frequency of gonadotropin-releasing-hormone stimulation differentially regulates*

- gonadotropin subunit messenger ribonucleic acid expression*. *Endocrinology* 125 (2): 917-923.
- ✓ **De Bortoli MA, Garraza MH, Aguado LI.** (1998). *Adrenergic intracerebroventricular stimulation affects progesterone concentration in the ovarian vein of the rat: participation of the superior ovarian nerve*. *Journal of Endocrinology* 159 (1): 61-68.
 - ✓ **Dissen G, Ojeda R.** (1999). *Ovarian innervation*. p. 583-588. *In: Encyclopedia of Reproduction*. Knobil E, Neill JD. (ed.) 3a. ed. Academic Press, USA.
 - ✓ **Domínguez R, Chávez R, Cruz ME.** (1991). *La regulación del crecimiento y del desarrollo del folículo ovárico*, p. 161-192. *En: Tópicos selectos de Biología de la Reproducción*. Domínguez R (Ed). Ed. Miguel Ángel Porrúa, México.
 - ✓ **Domínguez R, Cruz SE.** (2011). *The ovarian innervation participates in the regulation of ovarian functions*. *Endocrinology & Metabolic Syndrome S: 4*: 2-10.
 - ✓ **Erickson G, Shimasaki S.** (2001). *The physiology of folliculogenesis: the role of novel growth factors*. *Fertility and Esterility* 76 (5): 943-949.
 - ✓ **Erskine MS, Weaver CE.** (1988). *The role of ovarian sympathetic innervations in the control of estrous responsiveness in the rat*. *Hormones and Behavior* 22 (1): 1-11.
 - ✓ **Flores A, Velasco J, Gallegos AI, Mendoza FD, Everardo PM, Cruz ME, Domínguez R.** (2011). *Acute effects of unilateral sectioning the superior ovarian nerve of rats with unilateral ovariectomy on ovarian hormones (progesterone, testosterone and estradiol) levels vary during the estrous cycle*. *Reproductive Biology and Endocrinology* 9 (34): 1-11.
 - ✓ **Freeman ME.** (2006). *Neuroendocrine control of the ovarian cycle in the rat*. *In: Physiology of reproduction*. pp: 2347-2388. Knobil E, Neil JD (ed). 3a. ed, Ed. Academic Press, EUA.
 - ✓ **Galina C.** (2008). *Reproducción de animales domésticos*, 3a. ed. Ed. Limusa, México.
 - ✓ **Ganong WF, Barret KE, Barman SM, Boitano S, Brooks HL.** (2010). *Fisiología Médica*, 23ª ed., Ed. Mc Graw.Hill, México, p.377-390.

- ✓ **Geneser F.** (2000). Sistema endócrino. En: *Histología sobre bases biomoleculares*. 3a. ed. Ed. Médica Panamericana S.A. Argentina. p. 581-609.
- ✓ **Gerendai I, Banczerowski P, Halász B.** (2005). *Functional significance of the innervation of the gonads*. *Endocrine* 8(3): 309-318.
- ✓ **Gerendai I, Halaz B.** (1997). *Neuroendocrine asymmetry*. *Frontiers in Neuroendocrinology* 18 (1): 354-381.
- ✓ **Gerendai I, Halaz B.** (2001). Asymmetry of the neuroendocrine system. *News in Physiological Science* 16 (1): 92-95.
- ✓ **Gerendai I, Tóth I, Boldogkői Z.** (2009). *Recent findings on the organization of central nervous system structures involved in the innervation of endocrine glands and other organs; observations obtained by the transneuronal viral double-labeling technique*. *Endocrine* 36 (2): 179-188.
- ✓ **Gerendai I, Tóth IE, Boldogkői Z, Medvecky I, Halász.** (1998). *Neuronal labeling in the rat brain and spinal cord from the ovary using viral transneuronal tracing technique*. *Reproductive Neuroendocrinology* 68 (1): 244-256.
- ✓ **González LE, Santiago ML, Zárate A, Javier C.** (2010). *Respuesta ovulatoria en ratas con denervación simpática a las 7:00 h en cada etapa del ciclo estral*. XI Foro de Investigación Escolar de la Carrera de Biología. FES Zaragoza, UNAM.
- ✓ **Herbison A.** (1997). *Noradrenergic regulation of cyclic GnRH secretion*, *Reviews of Reproduction* 2 (1): 1-6.
- ✓ **Hickman CP.** (2009). *Principios integrales de zoología*. 14ª ed. Ed. Mc Graw-Hill. España.
- ✓ **Hill M, Wyse J, Anderson A.** (2004). *Fisiología Animal*. Editorial Médica Panamericana. España. p. 471-473.
- ✓ **Hillier S.** (2001) *Gonadotropin control of ovarian follicular growth and development*. *Molecular and Cellular Endocrinology* 179 (1): 39-76.
- ✓ **Hsueh AJ, McGee EA, Hayashi M, Hsu SY.** (2000). *Hormonal regulation of early follicle development in the rat ovary*. *Molecular and Cellular Endocrinology* 163 (1-2): 95-100.

- ✓ **Ishikawa J.** (1992). *Lutenizing hormone requirements for ovulation in the rat.* Biology of Reproduction 46 (6): 1144-1150.
- ✓ **Itot MT, Ishizuka B.** (2005). α_1 – *Adrenergic receptor in rat ovary: presence and localization.* Molecular and Cellular Endocrinology 240 (1): 58-63.
- ✓ **Javier CY, Zárate A, Santiago ML, Cruz ME, Flores A.** (2013). *El Nervio Ovárico Superior en la tarde y noche del ciclo estral modula de manera asimétrica la acción de las gonadotropinas sobre la ovulación.* LVI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas, Tlaxcala, Tlax.
- ✓ **Kagitani F, Uchida S, Hotta H.** (2008). *Effects of electrical stimulation of the superior ovarian nerve and the ovarian plexus nerve on the ovarian estradiol secretion rate in rats.* The Journal of Physiological sciences 58 (2): 133-138.
- ✓ **Kawakami M, Kubo K, Uemura T, Nagase M.** (1979). *Evidence for the existence of extra-hypophyseal neural mechanisms controlling ovarian steroid secretion.* Journal of Steroid Biochemistry 11 (1): 1001-1005.
- ✓ **Lawrence IE, Burden HW.** (1980). *The origin of the extrinsic adrenergic innervation to the rat ovary.* The Anatomical Record 196 (1): 51-59.
- ✓ **Lawrence L, JoAnne S.** (2006). *Ovulation.* p. 425-474. In: *Physiology of Reproduction.* Knobil y Neill (eds). 3ªed. Ed. Academic Press, EUA.
- ✓ **Macfarland L, Mann D.** (1977). *The inhibitory effects of ACTH and adrenalectomy on reproductive maturation in female rats.* Biology of Reproduction 16 (1): 306 – 314.
- ✓ **Malamed S, Gibney JA, Ojeda SR.** (1992). *Ovarian innervation develops before initiation of folliculogenesis in the rat.* Cell and Tissue Research 270 (1): 87-93.
- ✓ **Malpoux B, Thiéry J, Chemineau P.** (1999). *Melatonin and the seasonal control of reproduction,* Reproduction, Nutrition, Development 39 (3): 355-366.
- ✓ **Mayerhofer A, Dissen GA, Costa ME, Ojeda SR.** (1997). *A role for neurotransmitters in early follicular development: induction of functional follicle-stimulating hormone receptors in newly formed follicles of the rat ovary.* Endocrinology 138 (8): 3320-3329.
- ✓ **McCann S, Karath S, Mastronardi C, Dees W, Childs G, Miller B, Sower S, Yu W.** (2002). *Hypotalamic control of gonadotropin secretion.* p. 151-164. In:

- Gonadotropin-releasing hormone: molecules and receptors*. Parhar I (Ed.), Ed. Elsevier Science, USA.
- ✓ **Merchenthaler I, Göres T, Sétáló G, Petrusz P, Flerkó B.** (1986). *Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) neurons and pathways in the rat brain*. *Cell and Tissue Research* 237 (1): 15-29.
 - ✓ **Moenter S.** (2010). *Identified GnRH neuron electrophysiology: a decade of study*, *Brain Research* 1364 (1): 10-24.
 - ✓ **Moore RY, Bloom FE.** (1979). *Central catecholamine neuron systems: anatomy and physiology of the norepinephrine and epinephrine systems*. *Annual Review of Neuroscience* 2 (1): 113-168.
 - ✓ **Morales L, Chávez R, Ayala M E, Domínguez R.** (1998). *Effects of unilateral or bilateral superior ovarian nerve section in prepuberal rats on the ovulatory response to gonadotropin administration*. *Journal of Endocrinology* 158 (1): 213-219.
 - ✓ **Morales L, Chávez R, Domínguez R.** (1993). *The participation of superior ovarian nerve in the regulation of ovulation in the prepubertal rat. Differential effects of unilateral and bilateral section of the nerve in the intact and hemiovariectomised animal*. *Medical Science Research* 21 (1): 15-17.
 - ✓ **Morales L, Vieyra E, Ramírez D, Trujillo A, Chavira R, Cárdenas M, Domínguez R.** (2012). *Effects on steroid hormones secretion resulting from the acute stimulation of sectioning the superior ovarian nerve to prepuberal rats*. *Reproduction Biology and Endocrinology* 10 (88): 1-7
 - ✓ **Morán C, Franco A, Morán J L, Handal A, Morales L, Domínguez R.** (2005). *Neural activity between ovaries and prevertebral celiac-superior mesenteric ganglia varies during the estrous cycle of the rat*. *Endocrine* 26 (2): 147-152.
 - ✓ **Morán C, Zarate F, Morán J L, Handal A, Domínguez R.** (2009). *Lateralization of the connections of the ovary to the celiac ganglia in juvenile rats*. *Reproductive Biology and Endocrinology* 7 (50): 1-7.
 - ✓ **Muñoz JC, Silva CC, Cruz ME, Flores A.** (2013). *La asimetría ovárica se refleja en la modulación a lo largo del día y del ciclo estral*. XXXVIII reunión anual de la Academia de Investigación en Biología de la Reproducción, Cholula, Pue.

- ✓ **Pagés CT, Blasco MJ, Palacios RL, Alfaro GV.** (2005). *Fisiología animal*. Universidad de Barcelona. España. p. 113-114.
- ✓ **Palermo R.** (2007). *Differential actions of FSH and LH during folliculogenesis*. *Reproductive BioMedicine Online* 15 (3): 326-337.
- ✓ **Pangas SA, Woodruff TK.** (2000). *Activin signal transduction pathways*. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 11 (8): 309–314.
- ✓ **Parra C, Fiedler J, Luna L, Greiner M, Padmanabhan V, Lara H.** (2007). *Participation of the vasoactive intestinal polypeptide in ovarian steroids production during the rat estrous cycle and in the development of estradiol-valerate induced polycystic ovary*. *Reproduction* 133 (1): 147-154.
- ✓ **Peppler R, Greenwald G.** (1970). *Effects of unilateral ovariectomy on ovulation and cycle length in 4- and 5- day cycling rats*. *Developmental Dynamics* 127 (1): 1-7.
- ✓ **Robertson DM, Hayward S, Irby D, Jacobsen J, Clarke L, McLachlan RI, de Kretser DM,** (1988) *Radioimmunoassay of rat serum inhibin: changes after PMSG stimulation and gonadectomy*. *Molecular and Cell Endocrinology* 58 (1): 1–8.
- ✓ **Romeo C, Paredes A, Dissen G, Ojeda S.** (2002). *Nerve growth factor induces the expression of functional FSH receptors in Newly formed follicles of the rat ovary*. *Endocrinology* 143 (4): 1485-1494.
- ✓ **Sakuma Y.** (2002). *GnRH in regulation of female sexual behavior*. p. 293-30. In: *Gonadotropin-releasing hormone: molecules and receptors*. Parhar I (Ed.), Ed. Elsevier Science, USA.
- ✓ **Sánchez F, Smitz J.** (2012). *Molecular control of oogenesis*. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1822 (12): 1896-1912.
- ✓ **Santiago C.** (2012). *Efectos de la seccion del Nervio Ovárico Superior a las 7:00 h en cada etapa del ciclo estral de la rata con o sin ovariectomía unilateral en la regulación de la secreción de progesterone y 17β-estradiol*. Tesis de Licenciatura. Carrera de Biología. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.

- ✓ **Sosa Z, Casais M, Rastrilla A, Aguado L.** (2000). *Adrenergic influences on celiac ganglion affect the release of progesterone from cycling ovaries: characterization of an in vitro system.* Journal of Endocrinology 164(1): 307-318.
- ✓ **Stouffer R.** (2006). *Structure, function and regulation of the corpus luteum.* p. 475-479. In: Physiology of reproduction. Knobil E, Neill J.D (Ed.). 3a ed. Ed. Academic Press, USA.
- ✓ **Tanaka K, Matsugami T.** (2002). *The origin of sensory innervation of the peritoneum in the rat.* Anatomical Embriology 205 (1): 307-313.
- ✓ **Töth IE, Wiesel O, Boldogkoi Z, Bálint K, Tapaszti Z, Gerendai I.** (2007). *Predominance of supraspinal innervation of the left ovary.* Microscopy Research Technique 70 (8): 710-718.
- ✓ **Tsutsumi R, Webster N.** (2009). *GnRH pulsatility, the pituitary response and reproductive dysfunction,* Endocrine Journal 56 (6): 729-737.
- ✓ **Vanecek J, Klein D.** (1993). *A subpopulation of neonatal gonadotropin-releasing hormone-sensitive pituitary cells is responsive to melatonin.* Endocrinology 133 (1): 360-367.
- ✓ **Vanecek J.** (1999). *Inhibitory effect of melatonin on GnRH-induced LH release.* Reviews in Reproduction 4 (1): 67-72.
- ✓ **Winters S, Dalkin A, Tsujii T.** (1997). *Evidence that pituitary adenylate cyclase activating polypeptide suppresses follicle-stimulating hormone- β messenger ribonucleic acid levels by stimulating follistatin gene transcription.* Endocrinology 138 (10): 4324-4329.
- ✓ **Woodruff TK, Besecke LM, Groome N, Draper LB, Schwartz NB, Weiss J.** (1996). *Inhibin A and inhibin B are inversely correlated to follicle-stimulating hormone, yet are discordant during the follicular phase of the rat estrous cycle, and inhibin A is expressed in a sexually dimorphic manner.* Endocrinology 137 (1): 5463–5467.
- ✓ **Woodruff TK.** (1998). *Regulation of cellular and system function by activin.* Biochemical Pharmacology 55 (7): 953–963.

- ✓ **Yen Sc, Jaffe RB, Barbieri RL.** (2001). *Endocrinología de la reproducción: Fisiología, Fisiopatología y Manejo Clínico.* Ed. Médica Panamericana, Argentina. p. 413-415.

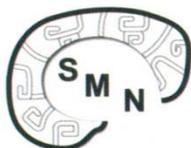


I Congreso FALAN
Federación de Asociaciones Latinoamericanas y
del Caribe de Neurociencias

LV Congreso
Nacional de Ciencias Fisiológicas.



Sociedad Mexicana
de Ciencias Fisiológicas, A.C.



Certificate

that:

MUÑOZ JC , SILVA CC , CRUZ MA , FLORES A , DOMÍNGUEZ R .

presented THE POSTER titled:

**THE EFFECTS OF UNILATERAL SECTION OF THE SUPERIOR OVARIAN NERVE ON
SPONTANEOUS OVULATION DEPENDS ON THE DAY OF THE CYCLE AND THE HOUR OF
THE DAY WHEN THE DENERVATION IS PRODUCED.**

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

Rommy Von Bernhardt
President of FALAN

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

Rafael Gutiérrez
President of the Scientific
Committee



La Academia de Investigación en Biología de la Reproducción, A.C.

Otorga la presente

Constancia

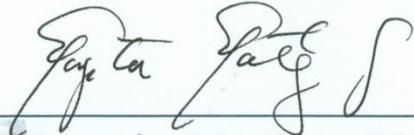
A JC Muñoz, CC Silva, ME Cruz, A Flores

Por la presentación del cartel:

La asimetría ovárica se refleja en la modulación simpática de la ovulación a lo largo del día y del ciclo estral

En la XXXVIII Reunión Anual de la AIBIR, llevada a cabo en la ciudad de Cholula, Pue., del 11 al 14 de junio del 2013


Dr. José Ramón Eguibar Cuenca
Presidente


Dra. Margarita Martínez Gómez
Secretaria



56
congreso
nacional
de ciencias
fisiológicas

Tlaxcala, Tlax. Septiembre 1-5 2013



Otorga la presente
Constancia

A: Muñoz JC, Silva CC, Benítez DP, Cruz ME, Flores A

Por la presentación del **cartel** titulado:

La inervación parasimpática y simpática a las 9:00
h del ciclo estral modulan en forma asimétrica la
ovulación

Dra. Gabriela González Mariscal Muriel
Presidenta

Dra. Gina Lorena Quirarte
Secretaria

Dra. Yolanda Cruz Gómez
Tesorera



**Academia de Investigación en Biología de la
Reproducción, A.C.**

Otorga la presente
Constancia a

Muñoz Julio C, Silva CC, Cruz ME, Flores A.

Por la participación del trabajo en el cartel:

**“Actividad y quiescencia en la comunicación entre Ovarios
mediada por el Nervio Ovárico Superior”**

En la XXXIX Reunión Anual de la AIBIR, llevada a cabo
Universidad Veracruzana y Gran Hotel Diligencias
Veracruz, Ver. del 28 al 31 de mayo de 2014


Dr. Edmundo Bonilla González
Presidente de la AIBIR


C. Dr. Iván Uriel Bahena Ocampo
Secretario de la AIBIR