



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

“PARTICIPACIÓN DEL NERVIOS VAGO EN LA
REGULACIÓN DE LAS FUNCIONES OVÁRICAS EN LA
RATA ESTRESADA POR FRÍO Y RESTRICCIÓN DEL
MOVIMIENTO”.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

PRESENTA

DANIEL RICARDO VELÁZQUEZ EDÉN

DIRECTORA DE TESIS: DRA. LETICIA MORALES LEDESMA



MÉXICO, D.F.

MARZO, 2016.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

CARRERA DE BIOLOGÍA

“Participación del Nervio Vago en la regulación de las funciones ováricas en la rata estresada por frío y restricción del movimiento”

Tesis presentada por: Daniel Ricardo Velázquez Edén

Directora de Tesis: Dra. Leticia Morales Ledesma

Realizada en el Laboratorio de Fisiología Reproductiva
de la Unidad de Investigación en Biología de la
Reproducción, UMIEZ, FES Zaragoza, UNAM

Investigación realizada gracias al Programa UNAM
DGAPA-PAPIIT con clave IN217076



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"ZARAGOZA"
DIRECCIÓN

JEFE DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
P R E S E N T E.

Comunico a usted que el alumno **VELÁZQUEZ EDÉN DANIEL RICARDO**, con número de cuenta **411009366**, de la carrera de Biología, se le ha fijado el día **08 de marzo de 2016** a las **09:00 hrs.**, para presentar examen profesional, el cual tendrá lugar en esta Facultad con el siguiente jurado:

PRESIDENTE Dra. **MARÍA ESTHER CRUZ BELTRÁN**

VOCAL Dra. **LETICIA MORALES FRESMA**

SECRETARIO Dra. **PATRICIA ROSAS SAUCEDO**

SUPLENTE Dra. **ELIA ROLDÁN REYES**

SUPLENTE Dra. **JUANA MONROY MORENO**

[Firma]

[Firma]

[Firma]

[Firma]

[Firma]

El título de la tesis que presenta es: **Participación del Nervio Vago en la regulación de las funciones ováricas en la rata estresada por frío y restricción del movimiento.**

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 11 de enero de 2016

DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ
DIRECTOR



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

RECIBI
OFICINA DE EXÁMENES
PROFESIONALES Y DE GRADO

DEDICATORIA

A Rosy: Gracias mamá por estar conmigo en las buenas, en las malas y en las peores. Por estar siempre dispuesta cuando necesitaba de ti, por abrirme los brazos cuando no tenía a donde ir, por levantarme el ánimo cuando fracasaba, por confiar en mí cuando yo no confiaba en mí mismo, por ser el ejemplo de lucha y fortaleza en mi vida, por tu fe sin límites y tu amor infinito. Gracias y mil gracias.

A Pedro: Las palabras para describir mi cariño son insuficientes papá, y mi agradecimiento es infinito. Fuiste, eres y serás mi gran héroe porque a pesar de que he crecido, para mí sigues siendo aquel hombre invencible e imparable.

A Carlos: Siempre has sido un ejemplo para mí, he aprendido de tus errores y quiero repetir tus éxitos. No necesitamos palabras para demostrarnos que nos queremos, solo puedo decirte gracias por ser mi hermano.

Gracias por cuidar de mí, aceptarme y quererme tal como soy, falta mucho camino por recorrer y espero que se sientan orgullosos de mí así como yo lo estoy de ustedes... ¡Los amo!

AGRADECIMIENTOS

A la **UNAM**, mi segundo hogar.

A los miembros del jurado:

Dra. María Esther Cruz Beltrán

Dra. Leticia Morales Ledesma

Dra. Patricia Rosas Saucedo

Dra. Elia Roldán Reyes

Dra. Juana Monroy Moreno

Por el tiempo dedicado a este trabajo enriqueciéndolo con su conocimiento.

A la **Dra. Adriana**, a la **Dra. Ely** y al **Dr. Román**, así como a todo el personal técnico del bioterio de la FES Zaragoza, por el cuidado de los animales utilizados en la elaboración de este trabajo.

Al **Biol. Roberto Chavira** por su colaboración en las mediciones hormonales del presente trabajo.

A la **Dra. Lety**, por su infinita paciencia, su tiempo y sus consejos tanto en lo académico como en lo personal, gracias por permitirme ser parte de su equipo de trabajo y por la oportunidad de crecer profesionalmente a su lado. Este logro se lo debo en gran parte a usted, y sé que será un gran ejemplo a seguir en lo que resta de este camino llamado vida. ¡Gracias!

A **Azu, Dey, Ely y Gaby** por su gran apoyo, conocimientos (una que otra regañada) y paciencia durante mi estancia en el laboratorio, y especialmente a **Rosa Linares**, por enseñarme lo que es trabajar en un laboratorio, por enseñarme a ser un mejor profesionalista y una mejor persona... Eres un ejemplo a seguir.

A mis compañeros y amigos de laboratorio: **Liz, Iván, David, Alina, Wendy, Misael, Rocío**, y a las chiquitas **Valeria y Lulú**, gracias a todos por su apoyo, su confianza y por esos grandes momentos de trabajo y risas.

Por último y especialmente a **César**, por todos estos años que hemos estado juntos en las buenas y las malas, sin ti no hubiera podido realizar este trabajo, gracias por la ayuda para construir las jaulas, con el manejo de los animales (esos tubos jamás se olvidarán), en fin, y por muchas otras cosas que no terminaría por mencionar, pero te agradezco más que nada tu amistad, tu inmensa paciencia y por estar conmigo en todo momento. **¡Muchas gracias Grandote!**

ÍNDICE

	Páginas
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
MARCO TEÓRICO	4
• La rata como modelo experimental.....	4
• Etapas del desarrollo postnatal de la rata.....	6
• Ciclo Estral.....	5
• Eje Hipotálamo – Hipófisis - Ovario.....	8
• Ovario.....	9
• Foliculogénesis.....	10
• Ovulación.....	13
• Esteroidogénesis Ovárica.....	15
• Inervación Ovárica.....	18
• Participación de la Inervación en la Regulación de las Funciones Ováricas.....	20
• Estrés.....	23
• Efectos del estrés sobre las funciones ováricas.....	24
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	26
HIPÓTESIS	27
OBJETIVOS	27
MATERIALES Y MÉTODOS	28
RESULTADOS	32
Experimento 1	32
Experimento 2	43
DISCUSIÓN	59
CONCLUSIONES	75
BIBLIOGRAFÍA	76
APÉNDICE: Presentaciones en Congresos	91

RESUMEN

La función reproductiva es regulada por una vía endocrina mediante el eje hipotálamo-hipófisis-ovario y por una vía neural, que llega a la gónada por el nervio ovárico superior, el nervio del plexo ovárico y el nervio vago.

En la rata, la exposición a estrés por frío más la restricción de movimiento resulta en la hiperactivación de las vías simpáticas, y este aumento se ha asociado a alteraciones como el hiperandrogenismo, la anovulación y la presencia de quistes foliculares.

El soma de las fibras simpáticas se origina en el ganglio celiaco mesentérico superior (GCMS), el cual recibe fibras vagales, lo que podría sugerir una comunicación entre fibras simpáticas y parasimpáticas a nivel del ganglio y modular la función ovárica.

En el presente estudio se analizó el papel del nervio vago en la modulación de la función ovárica en la rata de 24 días de edad sometida a estrés por frío, restricción de movimiento o la combinación de ambos, por un período de dos o tres semanas.

La exposición a cualquiera de los factores estresantes utilizados en el presente estudio, resultó en cambios en el peso corporal, retraso en la edad de apertura vaginal, aumento en el peso de la glándula adrenal, cambios en la morfología ovárica y en la secreción de hormonas esteroideas.

Cuando se realizó la sección bilateral del nervio vago (SBNV) previa a la exposición a estrés, los parámetros modificados por el estrés se normalizaron, siendo semejantes a los de un animal no estresado, por lo que se sugiere que en la rata prepúber el nervio vago modula de manera estimulante la respuesta al estrés.

INTRODUCCIÓN

El estrés es definido como la amenaza real o aparente a la integridad fisiológica o psicológica de un individuo, que resulta en una respuesta fisiológica y conductual. El eje hipotálamo – hipófisis – adrenal (H-H-A) junto con el sistema nervioso autónomo se activan en respuesta a un estresor. La activación de estos sistemas induce la liberación de hormonas y neurotransmisores en sangre y tejidos que pueden producir efectos dañinos (Cruz-Morales y col. 2012).

Un efecto general del estrés es el incremento de noradrenalina (NA) en el ganglio celiaco mesentérico superior, el aumento en la actividad de los nervios simpáticos que llegan al ovario vía el nervio ovárico superior, en la concentración plasmática de corticosterona, así como en el contenido de catecolaminas en la glándula adrenal (Nankova y col., 1996; Paredes y col., 1998).

El grupo de Paredes (1998) observaron que a las 3 semanas de exposición a estrés por frío combinado con restricción de movimiento, aumenta la actividad de los nervios simpáticos y esto lo relacionan con la presencia en el ovario de prequistes foliculares, mientras que a las 11 semanas estos parámetros se restablecen. El prequiste, similar al folículo de tipo III, se caracteriza por tener un ovocito bien desarrollado, una capa de células de la teca sana, pero dispuesta de manera irregular, y varias capas de células de la granulosa, lo cual resulta en una mayor capacidad de secretar andrógenos y estradiol.

El grupo de Dorfman (2003) observó aumento en la concentración de NA en ovario acompañado por folículos con hipertecosis. Los autores proponen que el estrés podría ser considerado como un factor involucrado en la alteración de las funciones ováricas. La presencia de quistes

foliculares, la disminución en la respuesta ovulatoria, la pérdida del patrón del ciclo estral y los trastornos endocrinos que se producen después de la exposición a estrés crónico por frío, se asocian con el incremento en la actividad simpática que se produce en las primeras semanas de exposición al estresor (Bernuci y col., 2008).

Las funciones del ovario se encuentran reguladas por el ambiente endócrino y por la información neural que recibe la gónada (Morales y col., 2010). Una de las vías neurales es el nervio vago, el cual contiene fibras parasimpáticas. La información que recibe el ovario por este paquete neural participa en la regulación de la respuesta del folículo a la acción de las gonadotropinas (Cruz y col., 1986). A nivel del GCMS, donde se localiza el soma de las neuronas que forman al nervio ovárico superior (NOS), también llegan fibras vagales (Berthoud y Powley 1996), lo que permite pensar que a éste nivel existe comunicación entre las fibras simpáticas y parasimpáticas, y de esta manera el nervio vago podría estar regulando la actividad de las fibras simpáticas.

A partir de estos hechos, se sugiere que la información vagal también puede alterarse cuando el animal es sometido a estrés, alterando la modulación que ejerce sobre el ovario. Por ello, en el presente estudio se analizó el efecto de la vagotomía bilateral sobre las funciones ováricas cuando la rata es sometida a estrés por frío, restricción de movimiento o la combinación de ambos estresores.

Marco Teórico

La rata como modelo experimental

Los animales de laboratorio son utilizados como modelos experimentales para analizar algunos eventos fisiológicos y entender lo que ocurre en otros mamíferos como el humano. Se deben usar animales acreditados de calidad genética y estado de salud que permita obtener resultados confiables, comparables y reproducibles (Jiménez Schuhmacher, 2007).

La rata es un mamífero del cual gran parte de los procesos bioquímicos son similares al hombre. Su uso proporciona las siguientes ventajas:

- 1) Su fácil manejo.
- 2) Su tamaño apropiado para la crianza y manipulación.
- 3) Tienen un sistema inmune similar al de los seres humanos.
- 4) Tienen un alto número de crías.
- 5) Poseen un breve período de gestación y su destete es rápido.
- 6) Al ser mamíferos euterios, poseen un genoma muy similar al de los seres humanos.

Etapas del desarrollo postnatal de la rata

En la rata, el desarrollo de los mecanismos involucrados en la reproducción se produce en un corto lapso de 5 semanas; el peso aumenta 15 veces y la longitud del cuerpo 3 veces. Las etapas por las que transcurre el animal desde el nacimiento hasta llegar a la pubertad son cortas (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990).

Ojeda y colaboradores (1980) han propuesto una clasificación de estas etapas donde tomaron en consideración parámetros morfológicos y fisiológicos relacionados con los componentes del eje hipotálamo-hipófisis-gónada.

Etapa neonatal: Abarca desde el nacimiento hasta los siete días de vida. En los primeros cuatro días de vida, el ovario no responde a las gonadotropinas ya que aún no se han formado sus receptores (Peter, 1970), por lo que el crecimiento folicular es un proceso cuyo inicio es independiente de estas. A partir del quinto día el ovario presenta receptores a gonadotropinas, por lo que la FSH es capaz de estimular la producción de estradiol. Sin embargo, la retroalimentación negativa que ejerce el estradiol sobre las gonadotropinas es ineficiente debido a la alta concentración de α -feto proteína que inactiva a los estrógenos. Al final de la etapa el ovario presenta una respuesta esteroideogénica estimulada por las gonadotropinas, es decir la FSH empieza a aumentar y LH se mantiene baja (Dohler y Wuttke, 1974).

Etapa infantil: Transcurre desde el día ocho de vida hasta el día 21. Durante esta etapa se presentan altas concentraciones de FSH (Dohler y Wuttke, 1974; Mackinnon y col., 1976). Las altas concentraciones de FSH estimulan el reclutamiento y crecimiento de los folículos, algunos de los cuales llegarán a ovular cuando el animal inicie su etapa reproductiva. Se presentan picos esporádicos de LH que en el día quince de vida desaparecen y la concentración de FSH disminuye (Dohler y Wuttke, 1974; Wuttke y col., 1980). La concentración de estradiol aumenta como resultado de la disminución de la α -feto proteína y ello permite el establecimiento del mecanismo de retroalimentación negativa del estradiol sobre las gonadotropinas. Durante esta etapa la inhibina comienza a detectarse en suero (Rivier y Vale, 1987; Sander y col., 1987).

Etapa juvenil: Comprende del día 21 al día 30 de vida. En este periodo la LH se secreta de forma pulsátil (Andrews y Ojeda, 1981), en un principio la concentración de la hormona es baja y hacia el final del periodo incrementa su concentración basal y la amplitud de los pulsos durante la tarde, estableciendo un ritmo de secreción circadiano (Meijs-Roelofs y col., 1983; Urbanski y Ojeda, 1983). En el ovario se observa aumento en los receptores a LH, lo que junto con el patrón de secreción se traduce en una mayor esteroidogénesis (Smith-White y Ojeda, 1981). A su vez, un aumento gradual de la prolactina (PRL) y la hormona del crecimiento (GH) en este periodo provoca un efecto facilitador de la acción estimulante de las gonadotropinas hasta finales de la etapa (Ojeda y col., 1980).

Etapa peripuberal: Comienza en el día 33 de vida y culmina con el inicio de la pubertad. En esta etapa se establece el patrón circadiano de la LH. En el ovario se incrementa el número de receptores a LH y FSH, lo que resulta en la mayor concentración de estrógenos, progesterona y testosterona siendo esta última la responsable de la canalización de la vagina (Mathews y col., 1987). Las gonadotropinas al actuar en el ovario estimulan el crecimiento y la maduración del folículo preovulatorio, éste responde a la liberación brusca de la LH y el evento culmina con la primera ovulación (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990).

Ciclo Estral

Los mamíferos presentan cambios citológicos vaginales que permiten estudiar los eventos reproductivos. Al momento de que se produce la canalización de la vagina, se puede determinar la fase del ciclo en la que se encuentra el animal. Durante el ciclo estral se producen cambios conductuales, morfofisiológicos, histológicos y bioquímicos del aparato genital que permiten la aceptación del macho (Álvarez y col., 2009).

El ciclo estral de la rata hembra comprende cuatro etapas (Álvarez y col., 2009):

Estro: Se caracteriza por la receptividad sexual, el apareamiento, la ovulación y el inicio de la formación del cuerpo lúteo. Se presenta incremento en las concentraciones de progesterona aproximadamente doce horas antes de la ovulación. El frotis vaginal se distingue por un gran número de células epiteliales escamosas o cornificadas y regularmente hay ausencia total de leucocitos y de células epiteliales nucleadas.

Metaestro: En esta etapa se constituye la transición de la ovulación al desarrollo del cuerpo lúteo, con un cambio del predominio de los estrógenos hacia progesterona. En la mucosa vaginal se observan leucocitos y algunas células queratinizadas.

Diestro: Se caracteriza por el desarrollo total del cuerpo lúteo y por el aumento en las concentraciones de progesterona. Constituye la fase más larga del ciclo, al final de la cual se produce la luteólisis en caso de no ocurrir fecundación. En esta etapa predominan leucocitos y algunas células epiteliales cornificadas.

Proestro: En esta fase concluye la involución del cuerpo lúteo, y al mismo tiempo se produce un rápido crecimiento folicular por acción de las gonadotropinas, con incremento progresivo de la concentración de estrógenos y de la disminución de la concentración de progesterona. En el frotis vaginal predominan células epiteliales redondas con un núcleo fácilmente visible, estas pueden aparecer en grupos o individualmente. Ocasionalmente pueden aparecer en el campo células epiteliales cornificadas o escamosas. En esta etapa hay ausencia total de leucocitos.

Eje Hipotálamo – Hipófisis – Ovario

La función reproductiva se encuentra regulada por una vía endócrina, ejercida por el eje hipotálamo-hipófisis-ovario (Figura 1), y por la inervación que recibe el ovario (Gerendai y col., 2002).

El hipotálamo es el lugar de regulación e integración de todas las señales neurales y endocrinas procedentes del sistema nervioso, la hipófisis y el ovario. Una vez que el hipotálamo se activa, produce la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), un decapeptido sintetizado en las áreas hipotalámicas preóptica y arqueada, de liberación pulsátil, con una vida media de 2 a 4 minutos (Yen y col., 2001), la cual viaja a través de los axones hasta la eminencia media, de donde es liberada a la circulación portal hipotálamo-hipofisaria, de la cual llega a la adenohipófisis, e induce la secreción de la hormona luteinizante (LH) y de la hormona folículo estimulante (FSH) (Tresguerres, 2010).

En el ovario, la FSH y LH participan en el crecimiento y maduración folicular que culmina en la ovulación, además de que estimulan la secreción de estrógenos, progesterona e inhibina. La administración de un antagonista de la GnRH, de larga vida media, induce la pérdida de receptores hipofisarios para esta hormona, que se traduce en la inhibición de la secreción de FSH y LH y por lo tanto de la ovulación (Sankaran y Manyonda, 2008).

Las hormonas esteroideas regulan las funciones del ovario vía mecanismos de retroalimentación ejercidos sobre el hipotálamo y la hipófisis (Bajo y Coroleu, 2009). Los estrógenos producidos por el ovario causan inhibición de la secreción tanto de GnRH en el hipotálamo como de FSH y LH en la hipófisis, completándose así un circuito de retroalimentación hipotálamo-hipófisis-ovario (Tresguerres, 2010).

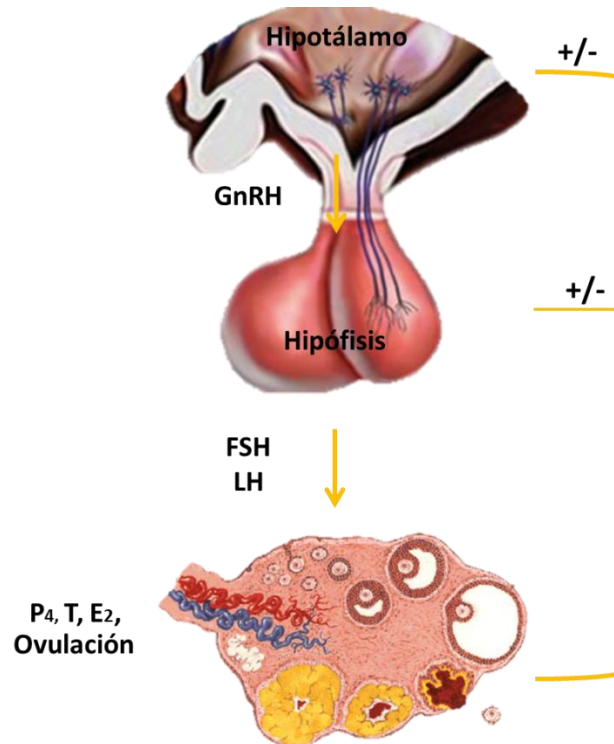


Figura 1.

Esquema que muestra la regulación endocrina del ovario. GnRH: hormona liberadora de gonadotropinas; FSH: hormona folículo estimulante; LH: hormona luteinizante; P4: progesterona; T: testosterona; E2: estradiol; +: regulación estimulante; -: regulación inhibitoria.

Ovario

Los ovarios son glándulas cuyas funciones son la secreción de hormonas ováricas que regulan la expresión de los caracteres sexuales en la hembra, así como la producción de óvulos que puedan ser fecundados (Tresguerres, 2010) (Figura 2).

En la rata adulta, los ovarios tienen un peso aproximado de 30 mg cada uno y miden 4.35 mm de ancho, 5.5 mm de largo y tienen un grosor de 1.6 mm (Navarrete, 2014).

Los ovarios se encuentran alojados en la pelvis fijados a la superficie posterior del ligamento ancho por medio de un pliegue del peritoneo

denominado mesovario (Tresguerres, 2010). Reciben aporte nervioso, vascular y linfático a través del mesovario, que juntamente con otras estructuras fibromusculares, mantienen a los ovarios próximos a la entrada de los oviductos y unidos al útero.

El ovario está compuesto por tres zonas:

- **Médula:** Contiene tejido conjuntivo laxo así como un conjunto de vasos sanguíneos, vasos linfáticos y nervios (Ross, 2007).
- **Corteza:** Ubicada en la periferia del ovario, es la que contiene a los folículos en sus diferentes etapas y rodeando a estos se encuentra el estroma, formado por células musculares lisas dispersas (Sánchez, 1999; Ross, 2007).
- **Hilio:** Constituido por la arteria y vena ovárica, vasos linfáticos, terminales nerviosas y por células intersticiales (Fawcett, 1990; Sánchez, 1999).

Foliculogénesis

El proceso de foliculogénesis comprende el crecimiento y desarrollo del folículo, desde el momento en que inicia su formación hasta que culmina con el proceso ovulatorio o bien entra en atresia. Este proceso es llevado a cabo en la corteza del ovario.

Los ovarios están constituidos por unidades funcionales básicas denominadas folículos. Los folículos pasan por diferentes etapas de desarrollo, las cuales han sido clasificadas según su morfología, el tipo y número de células que las componen (Figura 2). Los folículos se clasifican en:

- **Folículo primordial:** Están formados por ovocitos en fase de diploteno de la profase I de la meiosis I, tienen un diámetro de entre 30 y 60

μm , se encuentran rodeados por una capa de células de la pregranulosa (Rosales y col., 2006). El crecimiento inicial de estos folículos es independiente de la estimulación por gonadotropinas (Ross, 2007) y depende totalmente de las condiciones internas del ovario (Domínguez y col., 1991). Existen células precursoras de la teca en el estroma circundante (Erickson y col., 1985).

- **Folículo primario:** El ovocito aumenta de tamaño ($>60\mu\text{m}$), las células foliculares adquieren forma cúbica, y son llamadas células de la granulosa (Raga y col., 2009). Entre el ovocito y las células de la granulosa aparece una lámina homogénea llamada zona pelúcida. El folículo produce factores peptídicos que dan la señal para que las células del estroma formen la teca, la cual aparece a medida que el folículo crece (Erickson y col., 1985). Con la aparición de la capa de la teca se adquiere la vascularización del folículo, así las células de la teca tendrán acceso a las gonadotropinas, moléculas que estimulan la esteroidogénesis (Rosales y col., 2006).
- **Folículo secundario o antral:** Se caracteriza por la proliferación y diferenciación de las células de la granulosa. Las células de la teca se hipertrofian y junto con el crecimiento del ovocito causan el agrandamiento folicular hasta que alcanza un diámetro de $120\mu\text{m}$ (Lintern-Moore y col., 1974). Cuando la capa de la granulosa alcanza un espesor de 6 a 12 capas celulares entre las células de la granulosa aparecen cavidades llenas de líquido folicular, el cual está compuesto de proteínas, polipéptidos, FSH, LH, prolactina, estrógenos, progesterona, y noradrenalina (Domínguez y col., 1991). A medida que el líquido continúa acumulándose entre las células de la granulosa, las cavidades comienzan a confluir y finalmente forman una cavidad única llamada antro. Las capas de la granulosa que

revisten al antro se vuelven más grandes, formando un montículo abultado que se proyecta dentro del antro llamado cumulo ovóforo, el cual rodea inmediatamente al ovocito formando la corona radiada (Ross, 2007).

- **Folículo preovulatorio:** Es un folículo maduro que en la mujer tiene un diámetro aproximado a los 10 mm (Ross, 2007), mientras que en la rata llega a medir más de 450 μm de diámetro (Hirshfeld, 1992). La capa de la granulosa se torna más fina conforme el antro aumenta de tamaño (Ross, 2007). Las células tecaes son más prominentes y adquieren las características ultraestructurales de las células productoras de esteroides (Oktem y Oktay, 2008).

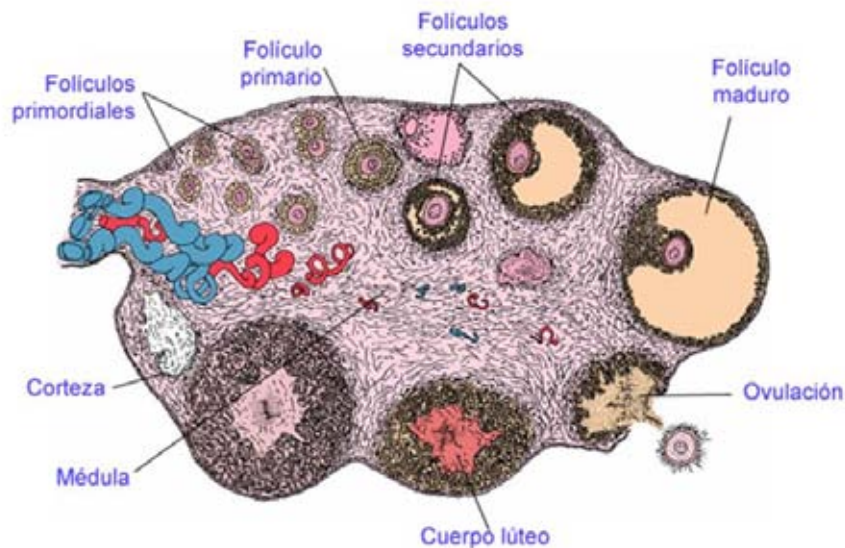


Figura 2. Esquema del ovario en el que se muestran los diferentes compartimientos ováricos, la secuencia de la maduración folicular, ovulación y formación del cuerpo lúteo (Modificado de Murphy, 2011).

Ovulación

La ovulación es el nombre dado a la suma de eventos foliculares que dan lugar a la expulsión de un ovocito viable desde el folículo ovárico, evento que implica una coordinación funcional del eje hipotálamo-hipófisis-ovario (Murphy, 2011).

En las últimas etapas del desarrollo folicular, se producen estrógenos que actúan en el hipotálamo, induciendo la liberación brusca de LH, conocido como "pico preovulatorio" (Duggavathi y Murphy, 2009), favoreciendo la ruptura del folículo preovulatorio y la liberación del ovocito contenido en su interior junto con el cúmulo ovóforo que lo rodea. Durante la culminación del desarrollo del folículo, las células de la granulosa adquieren, bajo la influencia de los estrógenos, receptores de membrana para la LH (Ireland y Richards, 1978).

La ruptura de la membrana folicular ocurre por acción de un activador del plasminógeno presente en el líquido folicular, que cataliza la conversión del plasminógeno en plasmina, enzima proteolítica capaz de romper la membrana basal, y que actúa sobre el tejido conectivo de la teca. El proceso de la ruptura folicular también está mediado por una especie de reacción inflamatoria local dependiente de histamina, por colagenasas o por la contractura folicular inducida por prostaglandinas (Tresguerres, 2010).

Cuerpo lúteo

Tras la ruptura del folículo, tanto los capilares como los fibroblastos de la teca interna proliferan y penetran la lámina basal. Las células granulosas murales experimentan cambios morfológicos, que en su conjunto determinan el proceso de luteinización. Todas estas células granulosas transformadas, más las células tecales y los vasos, se entremezclan para

dar lugar al cuerpo lúteo, que será el responsable de la secreción de las hormonas sexuales durante la fase postovulatoria del ciclo (Tresguerres, 2010).

El cuerpo lúteo produce estrógenos y andrógenos, pero su principal producto hormonal es la progesterona. La producción de progesterona aumenta rápidamente después de la ovulación (Gonzales-Merlo y col., 2006). La progesterona inhibe el desarrollo de nuevos folículos al ejercer una doble acción: 1) en el ovario inhibe la aromatización de los andrógenos y retarda las modificaciones que los estrógenos producen durante la foliculogénesis (Schreiber y col., 1980), 2) en el eje hipotálamo – hipófisis inhibe la liberación de gonadotropinas.

Atresia folicular

La atresia folicular es el fenómeno por el cual se eliminan folículos que habiendo iniciado el proceso de crecimiento y diferenciación no ovulan (Rodríguez, 2005). Se presenta en cualquier etapa del desarrollo folicular, tanto en la vida fetal como en las etapas prepuberal, puberal y en la vida adulta (Domínguez y col., 1991).

El inicio de la atresia parece estar determinado por alteraciones del ovocito, el cual pierde su capacidad para mantener el control metabólico del folículo. Esta alteración es seguida por modificaciones de las células de la granulosa, las que pierden gradualmente los receptores a FSH y LH, lo que se traduce en una disminución de la capacidad de aromatización de los andrógenos, por lo que su concentración aumenta dentro y alrededor del folículo (Domínguez y col., 1991).

Durante el proceso de atresia además de las alteraciones que se producen en la síntesis de estrógenos, también disminuye la capacidad de síntesis de andrógenos por parte de las células tecaes, sin embargo, estas

células mantienen la capacidad de síntesis de progesterona y de AMPc hasta etapas avanzadas del mismo proceso (Domínguez y col., 1991).

Con base en criterios morfológicos y fisiológicos el proceso de atresia folicular se ha clasificado en tres etapas (Hsueh y col., 1994; Bhardwaj y Sharma, 2011).

- Etapa I: El folículo presenta un 10% o menos de células de la granulosa con picnosis nuclear. Disminuye la tasa de proliferación celular.
- Etapa II: Aumenta hasta el 30 % de células de la granulosa con el núcleo picnótico, algunas células se encuentran libres en el antro folicular, (descamación). En este estado los folículos no pueden recuperarse de la atresia y degeneran.
- Etapa III: En las células de la granulosa se detiene la mitosis e incrementa la tasa de mortalidad en estas. Las células de la teca se hipertrofian y se da la separación y fragmentación de la membrana basal.

Esteroidogénesis Ovárica

En el folículo ovárico se da la producción de células germinales y la síntesis de hormonas. El folículo cuenta con dos tipos celulares íntimamente relacionados en la biosíntesis de las hormonas esteroideas. En las células de la teca se da lugar la síntesis de andrógenos, mientras que en las células de la granulosa se da la formación de estrógenos, esto en respuesta a la LH y FSH respectivamente (Strauss III y Hsueh, 2004) (Figura 3).

Los estrógenos y andrógenos derivan del colesterol que se obtiene a partir de tres fuentes: el que circula en la sangre como lipoproteínas, el que se sintetiza de novo dentro del ovario a partir de acetil coenzima A, y el que

se libera de los ésteres del colesterol almacenados en las gotas lipídicas (Tresguerres, 2010).

El colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad (LDL) representa la fuente aislada más importante de sustrato para la esteroidogénesis ovárica (Tresguerres, 2010).

El colesterol, independientemente de su origen, se transporta a las membranas mitocondriales, donde comienza la biosíntesis (Tresguerres, 2010). El pasaje de colesterol libre desde la membrana mitocondrial externa hacia la membrana mitocondrial interna es el paso limitante en la síntesis de las hormonas esteroides. La transferencia intramitocondrial de colesterol requiere una proteína de recambio rápido, identificada como una fosfoproteína designada proteína reguladora de la esteroidogénesis aguda (StAR) (Stocco y Clark, 1996; Strauss III y col., 1999).

La primer enzima esteroidogénica (P450scc) se encuentra presente en las mitocondrias de las células de la granulosa y la teca, y es la enzima que cataliza el clivaje de las cadenas laterales del colesterol y convierte el colesterol en pregnenolona (Strauss III y Hsueh, 2004; Tresguerres, 2010).

Existen dos rutas en la esteroidogénesis ovárica, la ruta Δ -4 donde la biosíntesis se produce en el cuerpo lúteo y se da la conversión de pregnenolona a progesterona; y la ruta Δ -5, que ocurre en el folículo y se lleva a cabo la conversión a andrógenos, ya que las células tecaes son capaces de metabolizar a la 17-hidroxiprogesterona en androstenediona, la cual es precursora de la testosterona (Tresguerres, 2010). La pregnenolona producida a partir del colesterol puede experimentar una 17 β - hidroxilación por la enzima P450c17 para formar 17-hidroxipregnenolona, o puede ser convertida en progesterona por la 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3 β -HSD) (Strauss III y Hsueh, 2004).

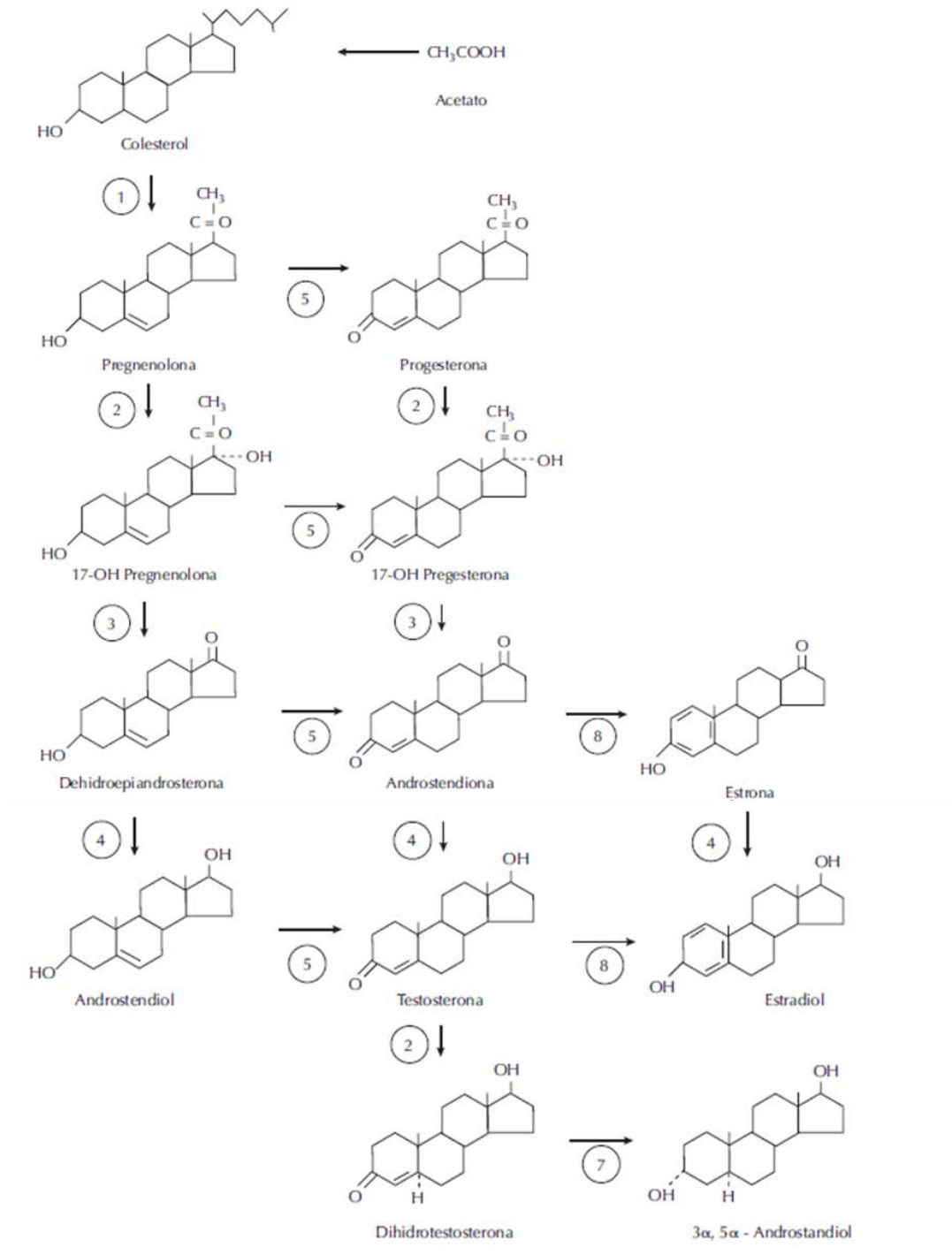


Figura 3. Síntesis de hormonas esteroides ováricas. (1) CYP11A1, (2) CYP17-hidroxilasa, (3) 17,20-liasa, (4) 17- α -OH-esteroideshidrogenasa, (5) 3 β -ol-deshidrogenasa y δ 4-5 isomerasa, (6) 5 α -reductasa, (7) 3 α -reductasa, (8) CYP19-aromatasa (Tomado de Tresguerres, 2010).

La 3 β -HSD es capaz de convertir a la pregnenolona en progesterona; la dehidroepiandrosterona (DHEA) en androstenediona y androstenediol en testosterona (Strauss III y Hsueh, 2004).

La enzima P450c17 se expresa en células de la teca y es necesaria para producir los andrógenos que sirven como sustrato a las células de la granulosa, donde se aromatizan y forman estrógenos (Strauss III y Hsueh, 2004).

La conversión de estrona a estradiol, DHEA en androstenediona y de androstenediona a testosterona es catalizada por un grupo de enzimas denominadas 17 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (17 β HSD). La aromatización del anillo esteroide es catalizada por la enzima P450-aromatasa (P450arom), la cual convierte a la androstenediona en estrona y a la testosterona en estradiol (Strauss III y Hsueh, 2004).

Inervación Ovárica

Existen evidencias a favor de una vía neural directa entre las gónadas y el sistema nervioso central (SNC) (Burden, 1978; Dissen y Ojeda, 1999; Gerendai y col., 2000). El ovario está inervado tanto por el sistema simpático, parasimpático y sensorial.

- **Inervación Simpática:**

La inervación simpática comprende la región torácica T-10 a T-13, y el segmento lumbar L-4 y L-11 de los ganglios de la cadena simpática (Burden, 1978, Dissen y Ojeda, 1999).

En la rata el ovario recibe inervación simpática de dos fuentes (Lawrence y Burden, 1980):

- El nervio del plexo ovárico (NPO) que transcurre a través de la arteria ovárica. Las fibras del NPO son mayoritariamente perivasculares y los neurotransmisores que viajan por el son: el péptido relacionado con el gen que codifica a la calcitonina (GCRP), sustancia P (SP), Neuropeptido Y (NPY) y noradrenalina (NA) (Dissen y Ojeda, 1999).
- El nervio ovárico superior (NOS), transcurre junto con el ligamento suspensorio del ovario. Sus fibras inervan la glándula intersticial y la teca de los folículos. El NOS transporta NPY, péptido intestinal vasoactivo (VIP) y principalmente noradrenalina (Dissen y Ojeda, 1999).

La distribución intraovárica de las fibras simpáticas es similar en todas las especies, pero la densidad de las fibras varía considerablemente entre ellas. Las fibras simpáticas no inervan al cuerpo lúteo o la capa de la granulosa de los folículos en desarrollo (Araya y col., 2004), sin embargo, presentan receptores β -adrenérgicos, lo cual les permite responder a estímulos catecolaminérgicos (Aguado y col., 1982).

- **Inervación Parasimpática:**

La inervación parasimpática que recibe el ovario esta mediada por el nervio vago, el cual no solo regula el tono vaso/motor sino también regula la actividad secretora de la gónada (Gerendai y col., 2002). El nervio vago es un nervio motor/sensitivo, es el más largo de los doce pares craneales y presenta la distribución y la variabilidad funcional más extensa. Transmite información sensorial y distribuye fibras motoras a estructuras viscerales y somáticas. El nervio vago, en combinación con los nervios glosofaríngeo y accesorio, constituye un sistema único que tiene una función parasimpática (Upledger, 2004). A diferencia con los demás nervios

craneales, no solo inerva la región cefálica sino que además se dirige hacia las cavidades torácica y abdominal (König y col., 2008).

El ovario recibe inervación parasimpática, a través del nervio vago, el cual se origina de cuatro núcleos del bulbo raquídeo, 1) el núcleo del tracto solitario (NTS), 2) el núcleo dorsal del nervio vago, 3) el núcleo ambiguo y 4) el núcleo espinal del nervio trigémino (Upledger, 2004). El soma de las neuronas que inervan a los ovarios se origina del ganglio nodoso y del ganglio de la raíz dorsal, ubicados en el segmento lumbar T9 y T11 (Dissen y Ojeda, 1999).

Las fibras vagales transportan a los ovarios neurotransmisores como Sustancia P (SP), calcitonina, el Péptido Relacionado con el Gen de Calcitonina (CGRP) y principalmente acetilcolina (Ach) (Dissen y Ojeda, 1999).

- **Inervación Sensorial:**

El ovario de los mamíferos también es inervado por neuronas sensoriales aferentes cuyo soma se encuentra localizado en el ganglio de la raíz dorsal superior y torácica lumbar inferior.

Los nervios sensoriales que llegan al ovario contienen varios neurotransmisores como son SP, VIP, CGRP, galanina, neuroquinina A y B (Davoren y col., 1985; Ojeda y col., 1985; Dess y col., 1986; Vaccari y col., 2006). Las fibras sensoriales que inervan al ovario son clasificadas como no mielinizadas o como aferencias primarias de tipo C (Gamse y col., 1981).

Participación de la Inervación en la Regulación de las Funciones Ováricas

La sección bilateral del NOS en ratas Spraw- Dawley a los 24 días de edad resulta en la disminución de la concentración de noradrenalina ovárica e

incrementa el número de sus receptores β -adrenérgicos, sin que se modifique su afinidad. En este modelo experimental, la alteración en el sistema noradrenérgico no modifica el inicio de la pubertad, el número de cuerpos lúteos, ni la concentración de gonadotropinas (Aguado y Ojeda, 1984).

En la rata prepúber con sección bilateral del NOS la estimulación con PMSG (gonadotropina del suero de yegua preñada), no modifica la respuesta ovulatoria, resultados que llevaron a los autores a sugerir que la inervación simpática no participa de manera relevante en el proceso que culmina con la ovulación, sin embargo no descartan su participación en la esteroidogénesis (Selstam y col., 1985).

La sección unilateral del NOS realizada en la rata adulta reduce el número de ovocitos liberados por el ovario denervado (Chávez y col., 1991), esta respuesta también se presenta en la rata prepúber, donde además, el ovario inervado presenta una ovulación compensadora (Morales y col., 1993). Estas evidencias permiten postular que la información que transcurre por el NOS modula de manera estimulante la ovulación (Morales y col., 1993).

El grupo de Gerendai en el 2000 propone la existencia de una comunicación neural entre el ovario y el SNC, que podría estar dada por el nervio vago. Esta idea surge del hecho de que al inyectar el virus de la pseudorabia en el ovario, posterior a realizar la vagotomía ipsilateral a la inyección, desaparece la marca en el núcleo del tracto solitario, núcleo ambiguo y en el núcleo dorsal del vago, núcleos que dan origen al nervio vago.

En la rata adulta la vagotomía bilateral altera el ciclo estral (Chávez y col., 1989). La sección del nervio vago izquierdo da como resultado disminución

en la proporción de animales ovulantes, mientras que, la sección del nervio vago derecho no la modifica. Con base en estos resultados, Cruz y colaboradores (1986), postulan que la información neural que transcurre por el nervio vago izquierdo está más comprometida con el proceso de ovulación que la información del nervio vago derecho.

La vagotomía bilateral en ratas de 24 días de edad aumenta la concentración de progesterona; mientras que si se realiza a los 28 días de edad no se modifica la concentración de progesterona pero disminuye la de estradiol, lo que se acompaña por el aumento en el número de ovocitos liberados por animal ovulante y por el retraso en el inicio de la pubertad (Morales y col., 2004). Los autores sugieren que la inervación vagal modula de manera estimulante el inicio de la pubertad y de forma inhibitoria la ovulación. La participación de la información vagal en la regulación de la esteroidogénesis va a depender de la edad en la que en animal es vagotomizado (Morales y col., 2004).

En un estudio realizado en ratas prepúberes de 28 días de edad y hemi ovariectomizadas del ovario derecho previamente, se observó que la vagotomía izquierda disminuye la tasa ovulatoria, aumenta las concentraciones de progesterona y testosterona y disminuye la concentración de estradiol. Al realizar el mismo procedimiento en ratas de 32 días de edad, la tasa ovulatoria y la concentración de testosterona disminuyeron, mientras que la concentración de progesterona incremento (Morales y col., 2007).

Al realizar la vagotomía derecha en ratas de 28 días de edad previamente hemi ovariectomizadas del ovario izquierdo, se observó disminución en la concentración de testosterona; el mismo procedimiento en ratas de 32 días de edad provoca aumento en la concentración de progesterona. Estos resultados llevan a sugerir que la participación del nervio vago en la

regulación de la secreción de hormonas esteroides es asimétrica y va a depender de la edad en la que se realice la cirugía (Morales y col., 2007).

Estrés

El estrés es definido como la amenaza real o aparente a la integridad fisiológica o psicológica de un individuo, que resulta en una respuesta fisiológica y conductual (Cruz-Morales y col., 2012).

El eje hipotálamo – hipófisis – adrenal (H-H-A) junto con el sistema nervioso autónomo se activan en respuesta a un estresor. La activación de estos sistemas induce a la liberación de hormonas y neurotransmisores en sangre y tejidos que pueden producir efectos dañinos (Cruz-Morales, 2012). El individuo estresado secretará la hormona liberadora de corticotropina (CRH), la cual regula a la hormona adrenocorticotrópica (ACTH), cuya secreción es regulada por señales neuroendocrinas ya sean estimulantes o inhibitorias (Ganong, 1995; Cruz-Morales, 2012).

Seyle (1936) reportó que la exposición a cualquier agente nocivo, como puede ser la administración de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) produce tres patologías: el agrandamiento adrenal, ulceración gastrointestinal, e involución del timo. A partir de estas alteraciones, plantea la teoría de que el estrés es la respuesta no específica del cuerpo a cualquier demanda (Pacak y col., 1998).

Otros estudios han mostrado diferentes respuestas neuroendocrinas durante la exposición a diversos estresores. Cuando se induce hipoglucemia, se observa aumento en la actividad de la glándula adrenal tanto en la medula como en la corteza (Goldstein y col., 1992; Mitrakou y col., 1992); la ortostasis, la hipertermia y la exposición a frío provoca activación de los nervios simpáticos (Kim y col., 1979; Wittert y col., 1992).

Pacak y col. (1998) observaron que al someter ratas adultas a diferentes tipos e intensidades de estresores se producía hiperactivación de las fibras simpáticas, determinado por el aumento de la concentración de NA en plasma. El mantener a la rata privada de movimiento incrementa la concentración de NA sérica tres veces más que cuando se induce hipoglucemia, dolor inducido por la administración de formaldehído, hemorragia o la exposición al frío. Estos resultados les permitieron sugerir que cada tipo de estresor tiene su propia respuesta neuroendocrina y neuroquímica, y que dependerá del tiempo y la intensidad del factor estresante.

Efectos del estrés sobre las funciones ováricas

El efecto principal del estrés crónico es incrementar la activación de la inervación simpática del ovario, que se asocian con alteraciones en la función ovárica, como disminución en los folículos sanos preantrales y la aparición de quistes (Paredes y col., 1998; Araya, 2004).

Existe un mecanismo adaptativo que involucra factores que afectan la liberación de NA. Esto se apoya con el hecho de que al someter a ratas adultas a 3 semanas de exposición a estrés, aumenta la actividad nerviosa simpática en el ovario relacionado con la presencia de quistes foliculares (Paredes y col., 1998), y la disminución en el número de folículos antrales sanos (Dorfman y col., 2003). La población de folículos antrales sanos se recupera cuando el estrés se prolonga a 4 semanas de exposición, y se acompaña de la presencia de folículos con hipertecosis y aumento en la concentración de noradrenalina ovárica (Dorfman y col., 2003). Sin embargo, al prolongar más el tiempo de exposición hasta 11 semanas, estas condiciones no se mantienen (Paredes y col., 1998). Algunos autores han postulado que el estrés crónico pudiera incrementar la concentración

de corticoides por la glándula adrenal y éstos disminuir la actividad simpática (Axelrod y Reisine, 1984; Fukuhara y col., 1996).

Existe controversia con los efectos del estrés por frío sobre la rata adulta, ya que Bernucci y colaboradores en 2008 muestran que después de 8 semanas de exposición a estrés por frío la actividad simpática del ovario no se alteró, sin embargo, los animales son acíclicos y presentan trastornos endocrinos, reducción de la ovulación y presencia de quistes foliculares en la morfología ovárica. La falta de la hiperactividad de las fibras simpáticas ha sido explicada por los autores a partir de dos posibilidades:

- 1) Cuando la temperatura corporal disminuye, se eleva la concentración de óxido nítrico en el cuerpo (NO) (Fernandex y col., 1994) lo que resulta en la disminución de la concentración de las catecolaminas.
- 2) Una adaptación a largo plazo al estresor por parte de las neuronas del locus coeruleus (LC), ya que, después de la exposición a estrés por frío durante 8 semanas disminuye la expresión de neuronas inmunoreactivas de tirosina hidroxilasa (TH) en el LC (Meyer y col., 2000).

Estudios realizados en nuestro laboratorio, han demostrado que la exposición al frío durante 8 semanas en ratas de 24 días de edad, la respuesta ovulatoria ni la capacidad esteroidogénica del ovario se modifican. Esta falta de respuesta puede estar asociada al hecho de que el tono simpático no se incrementó (Navarrete, 2014; Guerrero, 2015). Estas evidencias permiten sugerir que la exposición al frío por períodos largos puede inducir la adaptación del animal al estresor, y que en el animal juvenil esta adaptación puede ser más rápida que en el animal adulto.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La ovulación y la esteroidogénesis ovárica son reguladas por las hormonas hipotalámicas e hipofisarias y por la inervación extrínseca del ovario.

Se ha observado que en la rata las fibras vagales llevan información del ovario al SNC y éste envía una respuesta al ovario la cual es modulada por el NOS. A nivel del GCMS se ha reportado la presencia de fibras vagales que se encuentran en aposición con los somas de las fibras que forman al NOS. Estos paquetes neurales ingresan al ovario por el hilum e inervan la vasculatura, el tejido intersticial y los folículos en desarrollo.

Al someter a la rata a estrés sólo por frío o acompañado por restricción de movimiento, aumenta la concentración de noradrenalina ovárica, la cual es un indicativo de la hiperactivación de las fibras simpáticas. Este cambio en el tono simpático se ha asociado a la presencia de quistes foliculares así como la alteración en la esteroidogénesis ovárica.

Sin embargo, al momento no se sabe si en el modelo de la rata estresada, la información parasimpática del nervio vago participa en la regulación de las funciones ováricas, por lo que en este estudio se analizó en la rata juvenil estresada, el efecto de la vagotomía bilateral sobre la respuesta ovulatoria, la concentración de hormonas esteroides y la morfología ovárica.

HIPÓTESIS

Si las fibras vagales llevan información del ovario al hipotálamo, y en la gónada modula la respuesta del folículo a las gonadotropinas, entonces la alteración de la actividad de las fibras vagales al someter al animal a estrés por frío y restricción de movimiento resultará en la disminución de las funciones ováricas.

OBJETIVOS

General

- ❑ Analizar el efecto de la vagotomía bilateral en las funciones ováricas de ratas sometidas a estrés por frío, restricción de movimiento o a la combinación de ambos.

Particulares:

- Estudiar el efecto de la sección bilateral del nervio vago en ratas expuestas a estrés por frío, restricción de movimiento o la combinación de ambos sobre el inicio de la pubertad.
- Estudiar el efecto de la sección bilateral del nervio vago en ratas expuestas a estrés por frío, restricción de movimiento o la combinación de ambos sobre la respuesta ovulatoria.
- Analizar el efecto de la sección bilateral del nervio vago en ratas sometidas a estrés por frío, restricción de movimiento o la combinación de ambos sobre el aspecto morfológico del ovario.
- Analizar el efecto de la sección bilateral del nervio vago en ratas sometidas a estrés por frío, restricción de movimiento o la combinación de ambos sobre la concentración sérica de progesterona, testosterona y estradiol.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales:

Se utilizaron grupos de 10 ratas hembra de 24 días de edad de la cepa CII-ZV, en fotoperiodo controlado de 14 h de luz y 10 h de oscuridad (luces encendidas de 5:00 a 19:00) y temperatura de 22 ± 2 °C.

Las crías fueron separadas al nacimiento en camadas de 5 hembras y un macho. Los animales fueron destetados a los 24 días de edad y a partir de ese momento tuvieron libre acceso al agua y al alimento, hasta el día de la autopsia.

Durante el desarrollo de los experimentos se siguieron las normas establecidas por la Ley Mexicana de Protección Animal para el Uso de Animales de Experimentación (NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y uso de los Animales de Laboratorio).

Cirugías:

Al cumplir los 24 días de edad, los animales fueron anestesiados con éter entre las 8:00 y 10:00 h y posteriormente se realizó alguna de las siguientes cirugías:

- **Operación simulada:** Se realizó una incisión ventral de la piel y del músculo de aproximadamente 2 cm, a lo largo de la línea media del cuerpo, sin tocar ningún órgano y se suturó la herida.
- **Sección bilateral del nervio vago (SBNV):** Se realizó una incisión de piel y músculo del mismo modo que en el caso anterior, se exteriorizó el estómago, se desplazó el hígado y se expuso el esófago. A nivel subdiafragmático se localizaron los troncos vagales y se procedió a

seccionar con pinzas de micro disección el nervio vago izquierdo y el derecho y se suturó la herida.

Inmediato a la cirugía algunos de los animales fueron sometidos a uno de los siguientes estresores:

- **Estrés por frío (F):** Se colocaron dentro del cuarto frío a una temperatura de 4° C durante 3 horas, de 8 a 11 de la mañana, cinco días a la semana durante 2 ó 3 semanas.
- **Restricción de movimiento (R):** En el bioterio, los animales fueron colocados dentro de un cilindro de PVC el cual se diseñó para que hubiera el mínimo movimiento posible y permanecieron así durante 3 horas, de 8 a 11 de la mañana, cinco días a la semana durante 2 ó 3 semanas.
- **Estrés combinado (F+R):** En el caso de la exposición a estrés por restricción de movimiento se aplicó la metodología ya descrita. Una vez inmovilizados, se colocaron seis animales por caja y fueron llevados al cuarto frío a 4° C, donde permanecieron durante 3 horas, de 8 a 11 de la mañana, cinco días a la semana durante 2 ó 3 semanas.

Durante el tiempo de exposición al estresor, los grupos fueron privados de agua y alimento. Una vez terminado el lapso en el cual se les sometió al estresor, se realizó frotis vaginal, se registró el día de apertura vaginal y los organismos fueron sacrificados al presentar el primer estro después de concluido el tratamiento.

Otro grupo que se utilizó fue el **testigo absoluto**, donde los animales se mantuvieron en las condiciones normales de bioterio ya mencionadas y se sacrificaron en el día del primer estro vaginal.

Procedimiento de Autopsia

En el día de la autopsia se registró el peso corporal y se sacrificaron por decapitación entre las 10:00 y 12:00 h. Se colectó la sangre en tubos de ensaye, se centrifugó a 3500 rpm durante 15 minutos, se separó el suero y se almacenó a -20 °C hasta el momento en el que se cuantificaron las concentraciones de hormonas esteroides. Se disecaron y pesaron los ovarios y las adrenales. Los oviductos se separaron de los ovarios y con ayuda de un microscopio estereoscópico (Nikon, modelo SMZ800), se observaron y contaron el número de ovocitos liberados por cada ovario.

Aspecto morfológico de los ovarios

Al momento de la autopsia los ovarios fueron fijados en solución de Bouin por 24 h, se deshidrataron en alcohol al 70, 80 y 96% y en cloroformo, y posteriormente se incluyeron en parafina. Después se realizaron cortes histológicos seriados a 10 µm de grosor y fueron teñidos con la técnica de hematoxilina-eosina.

Se observó la presencia de folículos preovulatorios y quistes foliculares. Se consideraron folículos preovulatorios aquellos que presentaron capas de las células tecales, una membrana basal, más de cuatro capas de células de la granulosa, un antro bien definido, el ovocito rodeado de la corona radiada y el cúmulo ovóforo. Se consideraron como quistes foliculares aquellos que tuvieron una cavidad antral alargada, una capa de células de la granulosa fina, presencia de invaginaciones y evaginaciones, así como ausencia de ovocito.

Cuantificación de Hormonas Esteroides en Suero

La concentración sérica de progesterona, testosterona y estradiol fue cuantificada por la técnica de radioinmunoanálisis (RIA) de fase sólida, mediante reactivos comerciales Coat-A-Count (Diagnostic Products, Los Ángeles, CA, USA).

En tubos de polipropileno que ya contienen el anticuerpo específico anti-progesterona-I o anti-estradiol-I se adicionaron 100 μ L de la muestra. En el caso de los tubos que contienen anti-testosterona-I se adicionaron 50 μ L de la muestra. En todos los casos se adicionó 1 mL de la hormona marcada con I^{125} . Para facilitar la reacción, la mezcla se agitó en un vortex durante un minuto y se incubó durante 3 horas a temperatura ambiente. Posteriormente se decantó la muestra quitando el exceso de líquido y se determinó la concentración de la hormona en la muestra problema con ayuda de un contador de rayos gamma (Cobra 5005, Packardtm), en función de las cuentas por minuto y una curva de calibración.

Análisis Estadístico

Los resultados del peso corporal, peso relativo de los órganos y la concentración sérica de hormonas esteroides se analizaron por la prueba de Análisis de Varianza Multifactorial (ANDEVA) seguida por la prueba de Tukey. Cuando se realizó la comparación de dos grupos se utilizó la prueba "t" de Student. La edad de apertura vaginal y el número de ovocitos liberados fueron analizados por la prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney. La tasa de animales ovulantes se analizó por la prueba exacta de Fisher para proporciones. Se consideraron como estadísticamente significativas aquellas diferencias cuya probabilidad fue igual o menor a 0.05.

RESULTADOS

Experimento 1

Efectos de la exposición al estrés por frío y restricción de movimiento durante dos o tres semanas, sobre las funciones ováricas.

Peso Corporal y Edad de Apertura Vaginal

La exposición al frío durante dos semanas no modificó el peso corporal respecto a su grupo testigo, mientras que la exposición por tres semanas lo incrementó. En los grupos con restricción de movimiento o la combinación del frío con la restricción de movimiento por tres semanas, fue menor el peso corporal respecto a su grupo testigo (Tabla 1).

La edad de apertura vaginal no se modificó cuando los animales fueron sometidos al estrés por frío ya sea por dos o tres semanas (Tabla 1). Cuando se sometió a restricción de movimiento por dos o tres semanas se retrasó la edad de apertura vaginal, comparada con su respectivo grupo testigo, este retraso fue similar si el animal además es expuesto al frío (Tabla 1).

Tabla 1.- Media \pm eem del peso corporal (P.C.) y de la edad de apertura vaginal (E.A.V.) de animales testigo absoluto (TA), sometidos a estrés por frío (F), restricción de movimiento (R) o a ambos estresores (F+R) por dos o tres semanas. Los animales fueron sacrificados al estro vaginal posterior al tratamiento.

2 Semanas			
Grupo	n	P.C. (mg/100)	E.A.V (Días)
TA	8	123.75 \pm 4.5	36.75 \pm 0.61
F	10	115.2 \pm 4.59	35.4 \pm 0.47
R	10	113.6 \pm 2.33	40.9 \pm 0.54 ^a
F+R	11	109.45 \pm 4.03	40.63 \pm 0.43 ^a

3 Semanas			
Grupo	n	P.C. (mg/100)	E.A.V (Días)
TA	9	130.44 \pm 4.88	37.6 \pm 1.04
F	10	139.9 \pm 5.47 ^a	37.6 \pm 1
R	10	108.8 \pm 3.29 ^a	41.9 \pm 0.83 ^a
F+R	9	105.77 \pm 3.16 ^a	41.5 \pm 0.5 ^a

^a p < 0.05 vs. su respectivo TA (Prueba de ANDEVA seguida por la prueba de Tukey).

Porcentaje de Animales Ovulantes

La exposición al frío, la restricción del movimiento o la combinación de ambos estresores por dos semanas no modificó la tasa de animales ovulantes respecto a su grupo testigo (Figura 4). En cambio, la restricción de movimiento durante tres semanas provocó ligero aumento en el porcentaje de animales ovulantes respecto a su grupo testigo que no llegó a ser significativo. Cuando se compara el efecto entre dos y tres semanas, la tasa ovulatoria fue menor cuando los animales fueron expuestos a la combinación de los estresores por tres semanas (Figura 4).

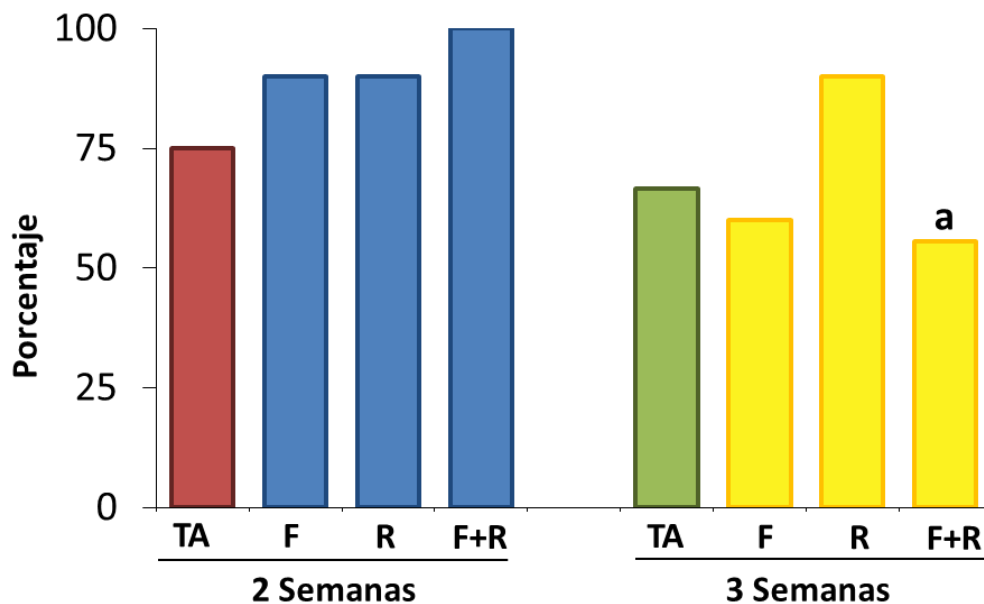


Figura 4.- Porcentaje de ovulación de animales testigo absoluto (TA), sometidos a estrés por frío (F), restricción de movimiento (R) o a ambos estresores (F+R) por dos o tres semanas. Los animales fueron sacrificados al estro vaginal posterior al tratamiento. a $p < 0.05$ vs. F+R 2 semanas (prueba de Fisher).

No. de Ovocitos Liberados

En comparación con los animales testigo absoluto, la exposición al frío, la restricción del movimiento o la combinación de los estresores por dos semanas no modificó la cuota ovulatoria. En cambio, cuando los animales se les expusieron al frío por tres semanas, la cuota ovulatoria fue menor sin llegar a ser estadísticamente significativa (Figura 5).

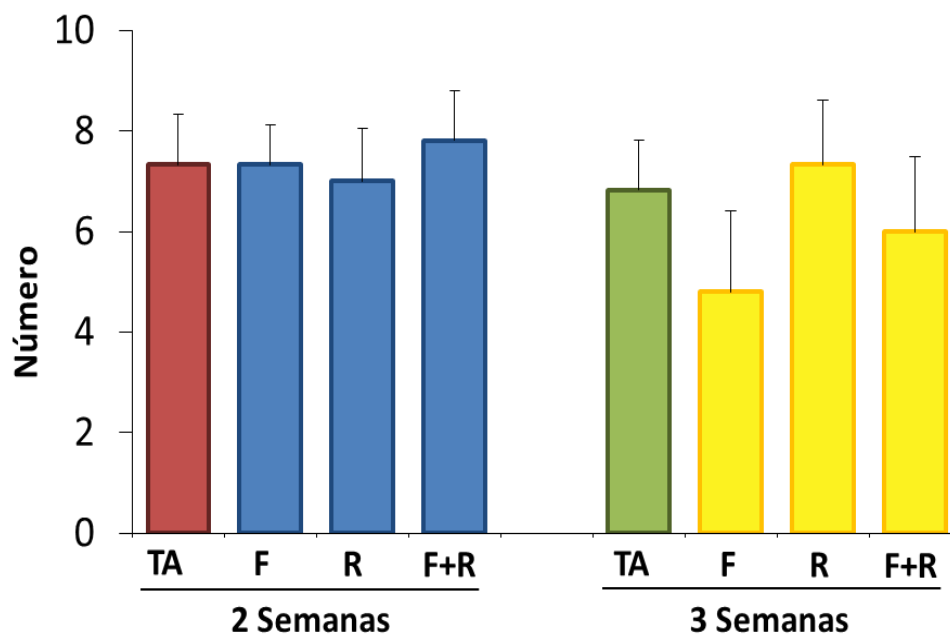


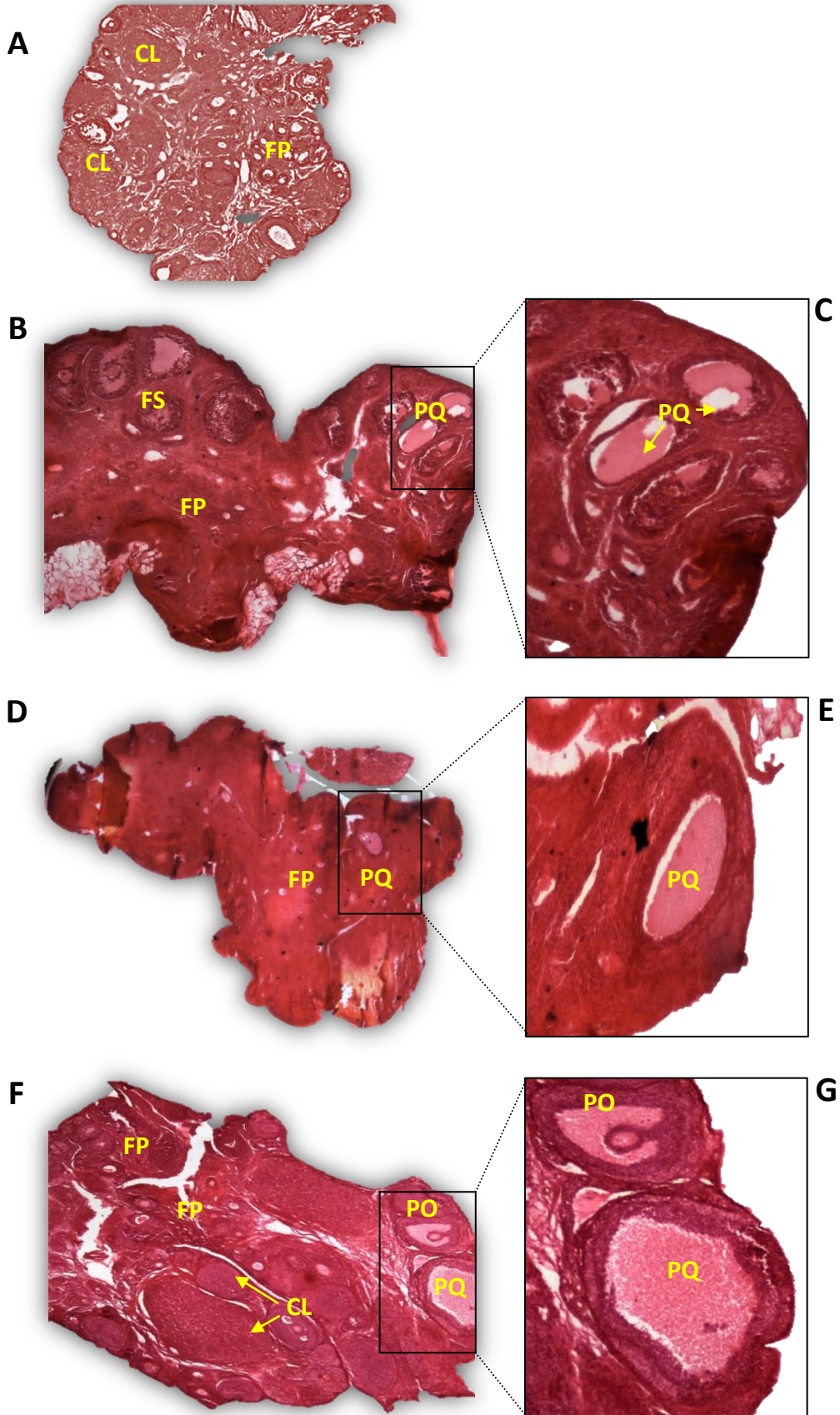
Figura 5.- Media \pm eem del número de ovocitos liberados de animales testigo absoluto (TA), sometidos a estrés por frío (F), restricción de movimiento (R) o a ambos estresores (F+R) por dos o tres semanas. Los animales fueron sacrificados al estro vaginal posterior al tratamiento.

Histología Ovárica

En el ovario de los animales testigo se observa la presencia de cuerpos lúteos, indicadores de que ocurrió la ovulación (Figura 6ª). En los ovarios de grupos sometidos a estrés por frío durante dos semanas se observó la formación de estructuras prequísticas, y folículos en desarrollo (Figura 6B y C), cuando el frío fue por tres semanas hubo una notable disminución en el número de folículos en crecimiento (Figura 6D y E).

Cuando los animales son sometidos a restricción de movimiento, por dos o tres semanas, se observó en los ovarios estructuras prequísticas (Figura 6F, G, H, I) con un tamaño mayor a los presentes en los ovarios de animales estresados por frío (Figura 6B, D).

En el ovario de los animales sometidos a la combinación de estrés por frío y restricción de movimiento se observó los prequistes acompañados de un mayor número de folículos pequeños (Figura 6J, K).



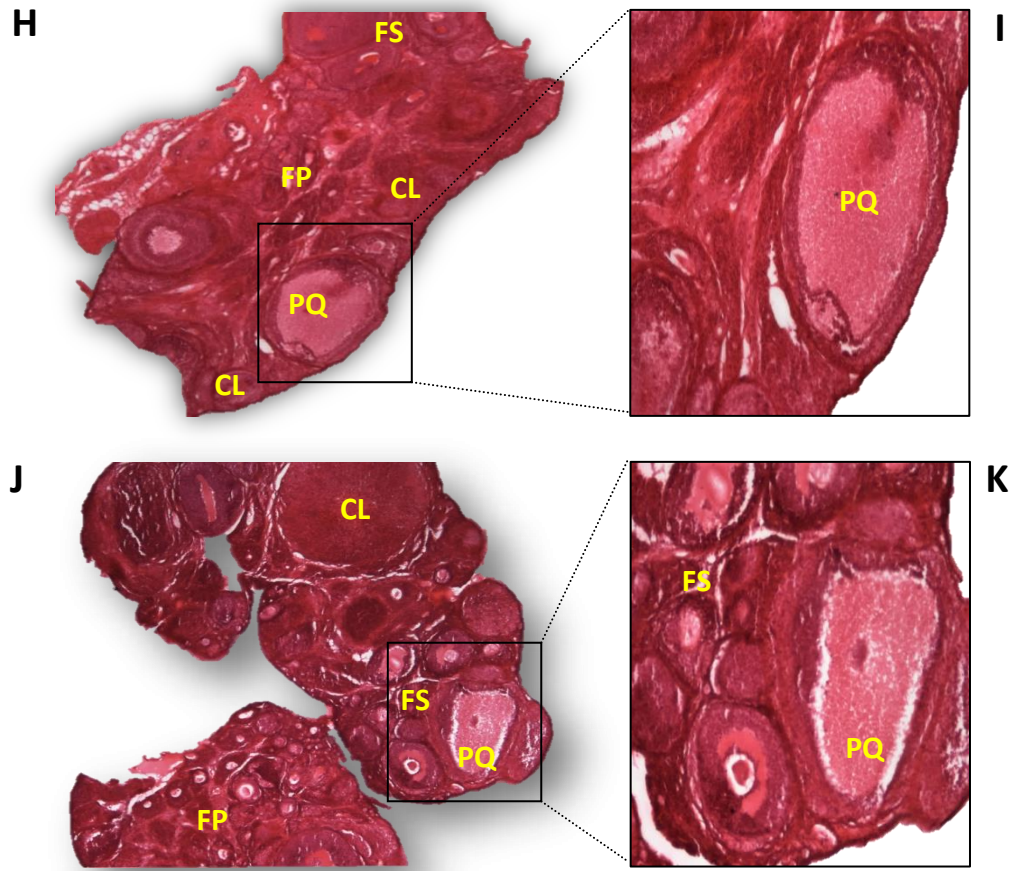


Figura 6. Fotomicrografías de cortes histológicos de ovario de ratas sometidas a frío por dos (B y C) o tres (D y E) semanas, restricción de movimiento por dos (F y G) o tres (H y I) semanas, o a la combinación de estresores por dos (J y K) o tres semanas.

A, B, D, F, H y J: 40x; C, E, G, I y K: 100X

FP: Folículo Primario; FS: Folículo Secundario; PO: Folículo Preovulatorio; CL: Cuerpo Lúteo; PQ: Prequiste

Masa Ovárica

Después de que el animal fue sometido a la restricción de movimiento o a la combinación de frío y restricción por dos semanas, se observó aumento en la masa ovárica. No se observaron cambios cuando se sometió a los estresores durante tres semanas (Figura 7).

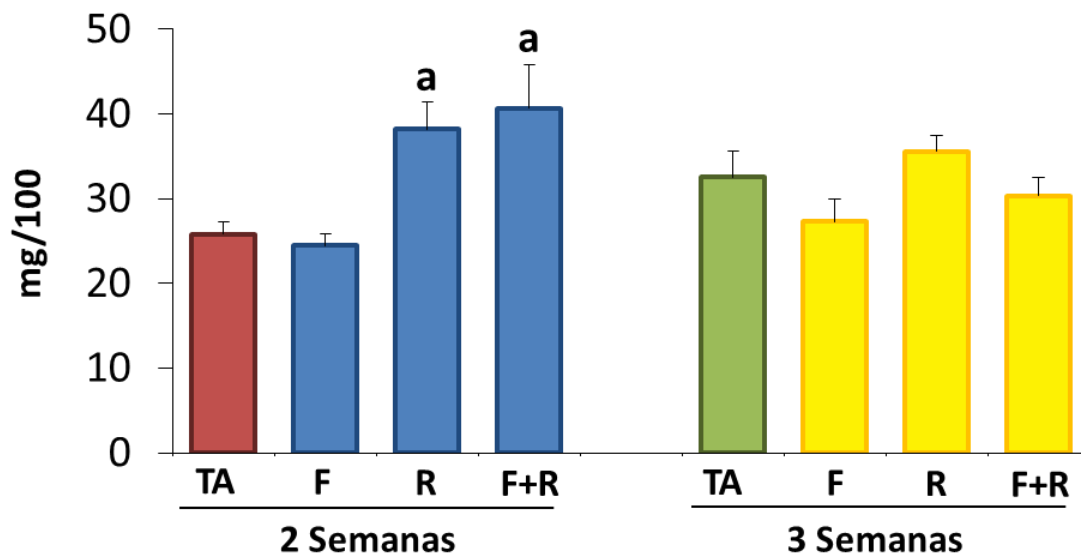


Figura 7.- Media \pm eem de la masa ovárica de animales testigo absoluto (TA), sometidos a estrés por frío (F), restricción de movimiento (R) o a ambos estresores (F+R) por dos o tres semanas. Los animales fueron sacrificados al estro vaginal posterior al tratamiento. a $p < 0.05$ vs. su respectivo TA (Prueba de ANDEVA seguida por la prueba de Tukey).

Masa Adrenal

Cuando el animal fue sometido a la restricción de movimiento por dos semanas, resultó en el aumento de la masa adrenal, el cual también se observó cuando el animal además está expuesto al frío (Figura 8). Si la restricción de movimiento fue por tres semanas el aumento en el peso de las adrenales persistió (Figura 8).

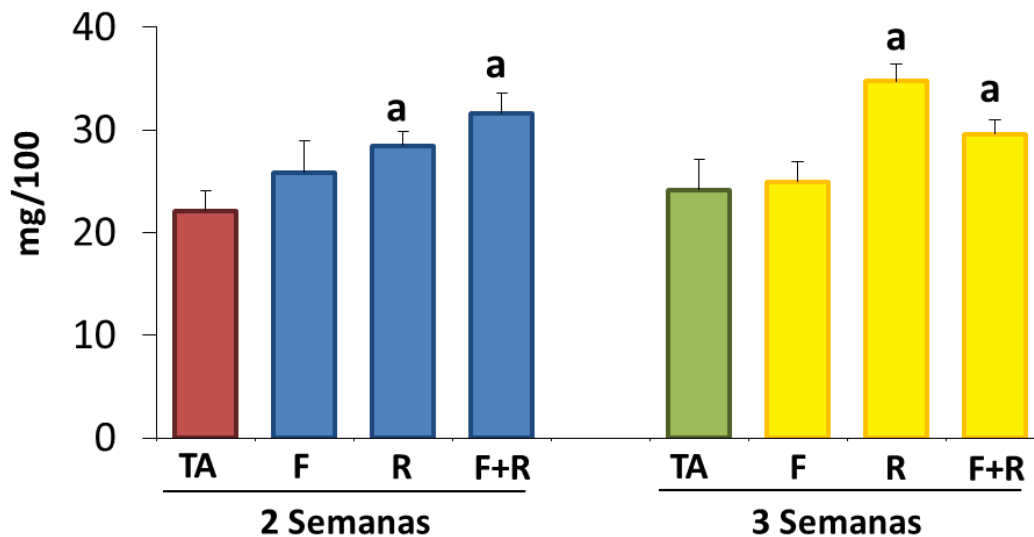


Figura 8.- Media \pm eem de la masa adrenal de animales testigo absoluto (TA), sometidos a estrés por frío (F), restricción de movimiento (R) o a ambos estresores (F+R) por dos o tres semanas. Los animales fueron sacrificados al estro vaginal posterior al tratamiento. a $p < 0.05$ vs. su respectivo TA (Prueba de ANDEVA seguida por la prueba de Tukey).

Concentración de Hormonas Esteroides

En comparación con el testigo absoluto, la concentración de progesterona disminuyó cuando se sometió a estrés por frío o bien cuando se combinaron los estresores durante dos semanas. Cuando el frío, la restricción o la combinación de ambos se prolongaron a tres semanas, la concentración de la hormona disminuyó. La concentración de testosterona disminuyó significativamente cuando se sometió al estrés por restricción de movimiento, o bien, a la combinación de los estresores durante 2 semanas. La exposición a los estresores por tres semanas resultó en la disminución de la concentración de testosterona. Cuando se sometió a restricción por dos semanas, la concentración de estradiol aumentó. Este efecto se observó al someter a frío, restricción o a la combinación de ambos durante tres semanas.

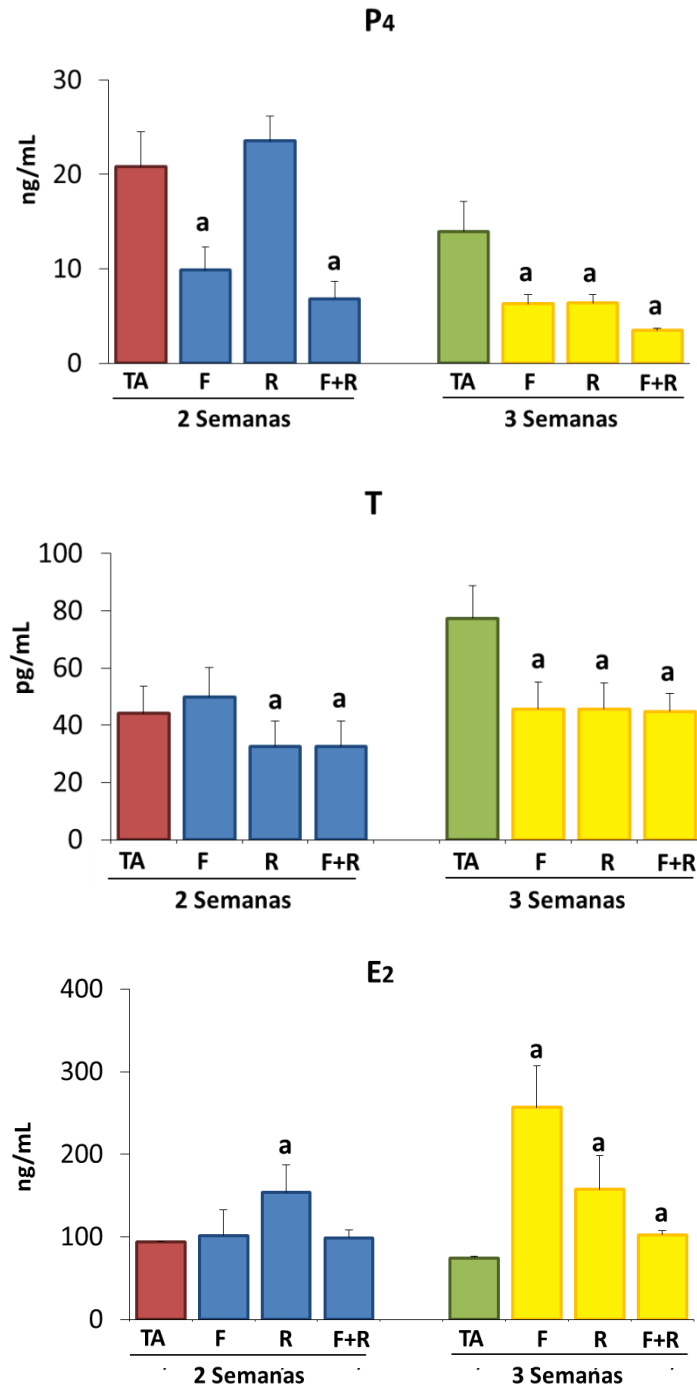


Figura 9.- Media \pm eem de la concentración en suero de progesterona (P4), testosterona (T) y estradiol (E2) de animales testigo absoluto (TA), sometidos a estrés por frío (F), restricción de movimiento (R) o a ambos estresores (F+R) por dos o tres semanas. Los animales fueron sacrificados al estro vaginal posterior al tratamiento. a $p < 0.05$ vs. su respectivo TA (prueba de ANDEVA).

Experimento 2

Efectos de la vagotomía bilateral sobre las funciones ováricas en ratas expuestas a estrés por frío, restricción de movimiento o la combinación de ambos durante dos o tres semanas.

Peso Corporal

El peso corporal en ratas con operación simulada o vagotomizadas y sacrificadas a las dos o tres semanas después de la cirugía no se modificó en comparación con su respectivo testigo absoluto. Cuando se vagotomizó y se sometió a la combinación de estresores por dos semanas, fue menor el peso corporal comparado con su grupo de operación simulada. Al prolongar por tres semanas el estrés combinado después de realizar la operación simulada o la vagotomía bilateral, se observó incremento del peso corporal. La exposición a frío durante tres semanas disminuyó el peso corporal de la rata con operación simulada o con sección bilateral del nervio vago (Tabla 2).

Tabla 2.- Media \pm eem del peso corporal de animales testigo absoluto (TA), con operación simulada (OS), vagotomizados (SBNV) y posteriormente sometidos a estrés por frío (F), restricción de movimiento (R) o a la combinación de ambos estresores (F+R) por dos o tres semanas. Los animales fueron sacrificados al estro vaginal posterior al tratamiento.

2 Semanas			3 Semanas		
Grupo	n	P. C. (mg/100)	Grupo	n	P. C. (mg/100)
TA	8	123.8 \pm 4.5	TA	9	123.8 \pm 4.5
OS	9	127.9 \pm 4.49	OS	9	142.6 \pm 6.32
SBNV	11	128.8 \pm 3.23	SBNV	9	139.7 \pm 6.44
OS+F	11	127.1 \pm 3.06	OS+F	10	116.1 \pm 4.41
SBNV+F	11	132.5 \pm 3.01	SBNV+F	9	120 \pm 5.92
OS+R	7	118.9 \pm 8.8	OS+R	8	133.4 \pm 5.80
SBNV+R	10	124 \pm 5.57	SBNV+R	10	124 \pm 6.23
OS+F+R	8	139 \pm 6.23	OS+F+R	8	156 \pm 6.07 ^b
SBNV+F+R	11	117.9 \pm 3.47 ^a	SBNV+F+R	7	152 \pm 6.74 ^a

a $p < 0.05$ vs. su respectiva SBNV; **b** $p < 0.05$ vs su respectiva OS (Prueba de ANDEVA seguida por la prueba de Tukey).

Edad de Apertura Vaginal

Se observó retraso en la edad de apertura vaginal cuando se sometió a la operación simulada o a la sección bilateral del nervio vago. Este efecto también se observó cuando las ratas fueron posteriormente sometidas a estrés por frío, restricción de movimiento o a la combinación de ambos estresores por dos o tres semanas (Tabla 3).

Tabla 3.- Media \pm eem de la edad de apertura vaginal (EAV) de animales testigo absoluto (TA), con operación simulada (OS), vagotomizados (SBNV) y posteriormente sometidos a estrés por frío (F), restricción de movimiento (R) o a la combinación de ambos estresores (F+R) por dos o tres semanas. Los animales fueron sacrificados al estro vaginal posterior al tratamiento.

2 Semanas			3 Semanas		
Grupo	n	E. A. V. (Días)	Grupo	n	E. A. V. (Días)
TA	8	36.75 \pm 0.61	TA	9	37.3 \pm 1.13
OS	9	39,66 \pm 0,83	OS	9	44.1 \pm 0.45
SBNV	11	39.9 \pm 0.31 ^a	SBNV	9	42.3 \pm 0.33 ^a
OS+F	11	40 \pm 0.37	OS+F	10	44.7 \pm 0.33
SBNV+F	11	41.63 \pm 0.35 ^a	SBNV+F	9	42.5 \pm 0.52 ^a
OS+R	7	40.71 \pm 0.43	OS+R	8	43.5 \pm 0.65
SBNV+R	10	43.6 \pm 0.74 ^a	SBNV+R	10	42.9 \pm 0.7 ^a
OS+F+R	8	40.75 \pm 0.3	OS+F+R	8	42.7 \pm 0.73
SBNV+F+R	11	41,45 \pm 0.43 ^a	SBNV+F+R	7	42.2 \pm 0.71 ^a

^a p < 0.05 vs. su respectivo TA (Prueba de ANDEVA seguida por la prueba de Tukey).

Porcentaje de Animales Ovulantes

En los grupos con operación simulada o con sección bilateral del nervio vago la posterior exposición al frío, restricción del movimiento o la combinación de ambos estresores no modificó la tasa de animales ovulantes, respecto a su grupo testigo (Figura 10).

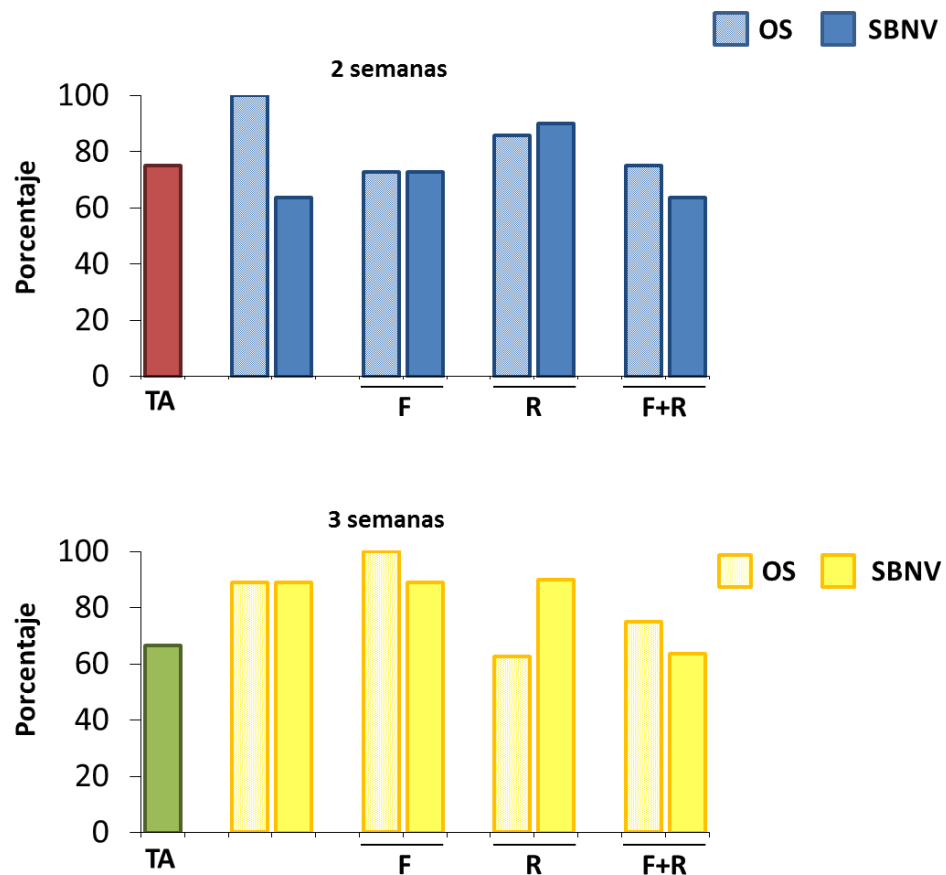


Figura 10.- Porcentaje de ovulación de animales testigo absoluto (TA), con operación simulada (OS) o vagotomizados (SBNV) y posteriormente sometidos a estrés por frío (F), restricción de movimiento (R) o a la combinación de ambos estresores (F+R) por dos o tres semanas. Los animales fueron sacrificados al estro vaginal posterior al tratamiento.

Número de Ovocitos Liberados

La operación simulada o la vagotomía bilateral seguida de la exposición al frío, la restricción del movimiento o la combinación de los estresores por dos o tres semanas no modificó la cuota ovulatoria, respecto al grupo testigo absoluto (Figura 11). Cuando sólo se realizó la sección bilateral de nervio vago y se sacrificó a las dos o tres semanas, la cuota ovulatoria mostró una tendencia a la disminución, que no llegó a ser significativa por la dispersión de los datos (Figura 11).

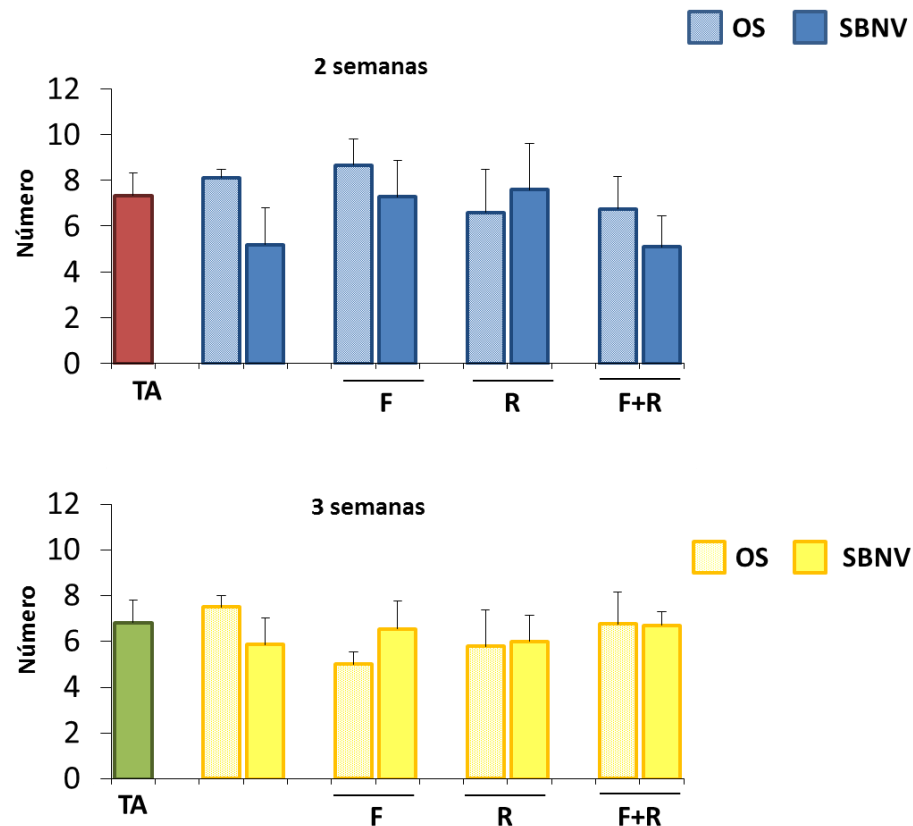


Figura 11.- Media \pm eem del número de ovocitos liberados de animales testigo absoluto (TA), con operación simulada (OS) o vagotomizados (SBNV) y posteriormente sometidos a estrés por frío (F), restricción de movimiento (R) o a la combinación de ambos estresores (F+R) por dos o tres semanas. Los animales fueron sacrificados al estro vaginal posterior al tratamiento.

Histología Ovárica

En los ovarios de los animales testigo se observó la presencia de cuerpos lúteos y algunos folículos en desarrollo (Figura 12A).

En los animales sometidos a la operación simulada y expuestos al frío no se observaron cambios en la histología del ovario (Figura 12B y C). En los ovarios de animales con restricción de movimiento por tres semanas (Figura 12 D), o la combinación del frío más restricción de movimiento por dos o tres semanas (Figura 12E y F) se observó mayor número de cuerpos lúteos, lo que indica que ocurrió la ovulación.

En comparación con el ovario de un animal con SBNV (Figura 13B), en el corte de ovario de los animales con SBNV y estrés por frío se observaron cuerpos lúteos, un menor número de folículos en crecimiento, y la presencia de estructuras prequísticas (Figura 13C).

En el ovario de los animales con SBNV y sometidos a la restricción de movimiento (Figura 13 D) se puede apreciar folículos antrales y preovulatorios, cuando son sometidos a la combinación de estrés por frío y restricción de movimiento se observaron folículos en crecimiento (Figura 13E y F).

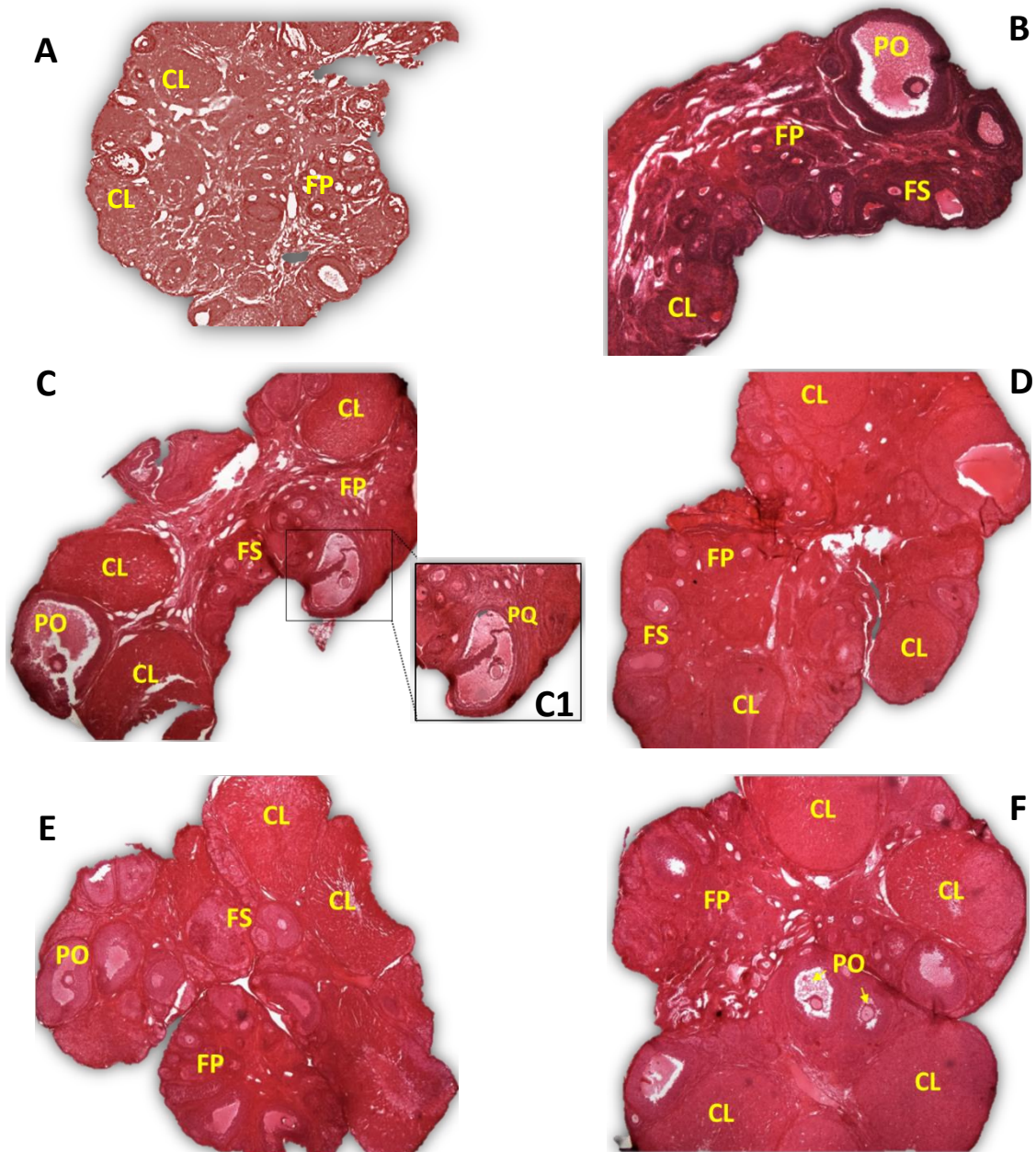


Figura 12. Fotomicrografías de cortes histológicos de ovario de ratas sometidas a operación simulada (A) y posteriormente expuestas a frío por dos semanas (B), restricción de movimiento por dos semanas (C) o la combinación de estresores por dos (D) o tres (E) semanas.

A, B, C, D y E: 40X; C1:100X

FP: Folículo Primario; FS: Folículo Secundario; PO: Folículo Preovulatorio; CL: Cuerpo Lúteo; PQ: Prequite

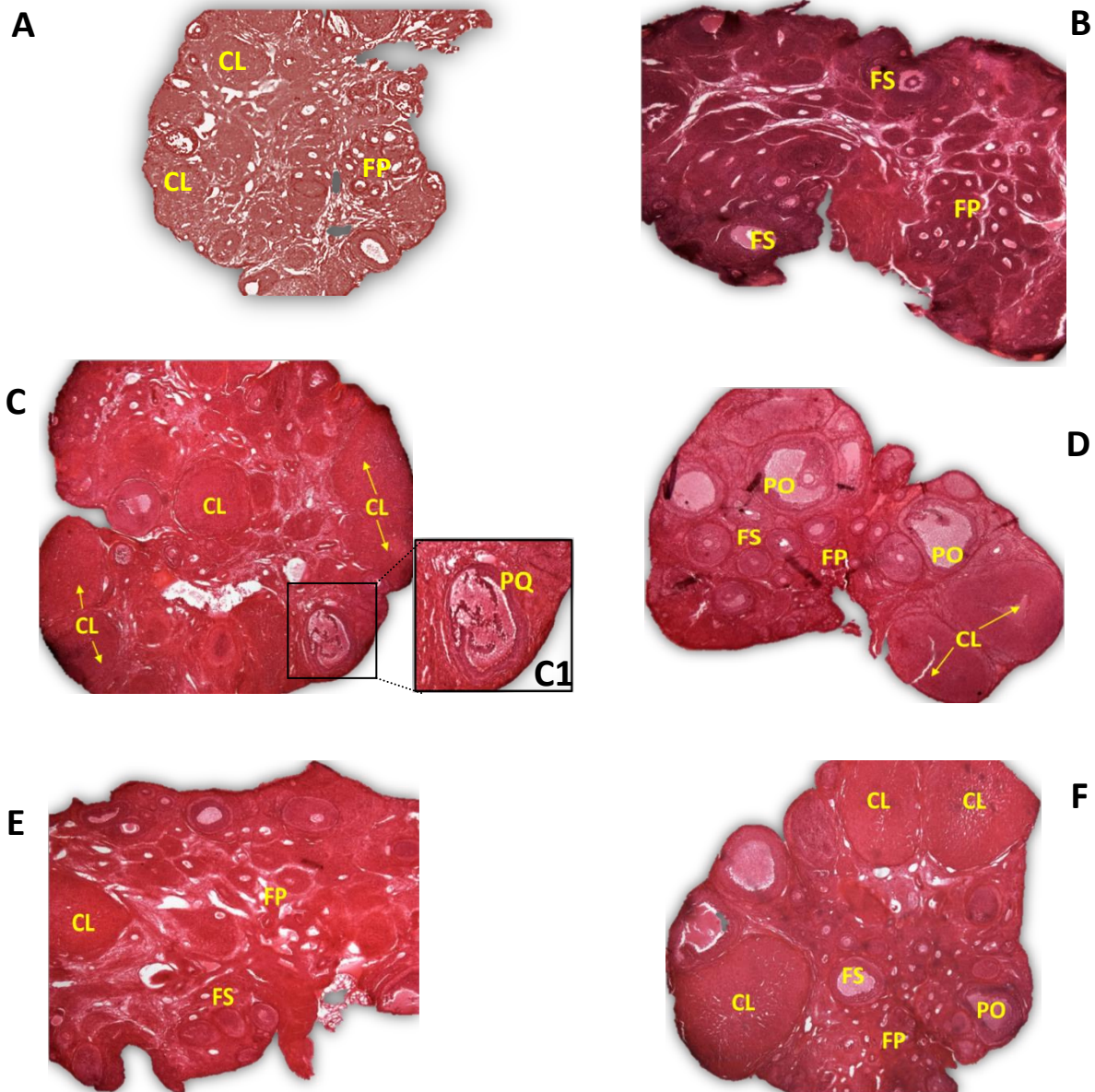


Figura 13. Fotomicrografías de cortes histológicos de ovario de ratas sometidas a la operación simulada (A) y posteriormente expuestas a frío por tres semanas (B), restricción de movimiento por tres semanas (C) o la combinación de estresores por dos (D) o tres (E) semanas.

A, B, C, D y E: 40X; C1:100X

FP: Folículo Primario; FS: Folículo Secundario; PO: Folículo Preovulatorio; CL: Cuerpo Lúteo; PQ: Prequiste

Masa Ovárica

Cuando se realizó la vagotomía bilateral y posteriormente se sometió a estrés por frío, restricción de movimiento o a la combinación de ambos estresores durante dos o tres semanas, no se observaron cambios en la masa ovárica con respecto a los grupos con operación simulada y con el grupo testigo absoluto (Figura 14).

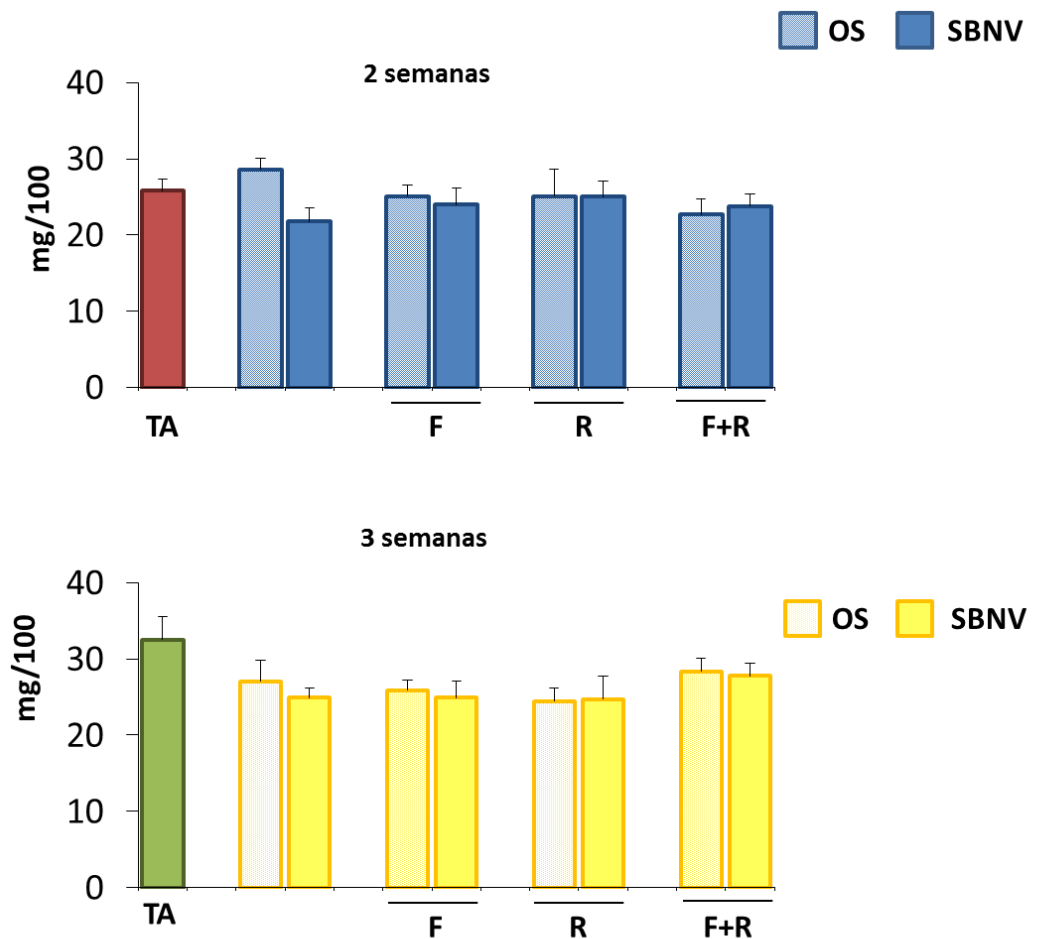


Figura 14.- Media \pm eem de la masa ovárica de animales testigo absoluto (TA), con operación simulada (OS) o vagotomizados (SBNV) y posteriormente sometidos a estrés por frío (F), restricción de movimiento (R) o a la combinación de ambos estresores (F+R) por dos o tres semanas. Los animales fueron sacrificados al estro vaginal posterior al tratamiento.

Masa Adrenal

El peso de la glándula adrenal no se modificó cuando la rata fue sometida a la operación simulada o la vagotomía y posteriormente expuesta a estrés por frío, restricción de movimiento o a la combinación de ambos estresores durante un lapso de dos o tres semanas en comparación con el grupo testigo absoluto (Figura 15).

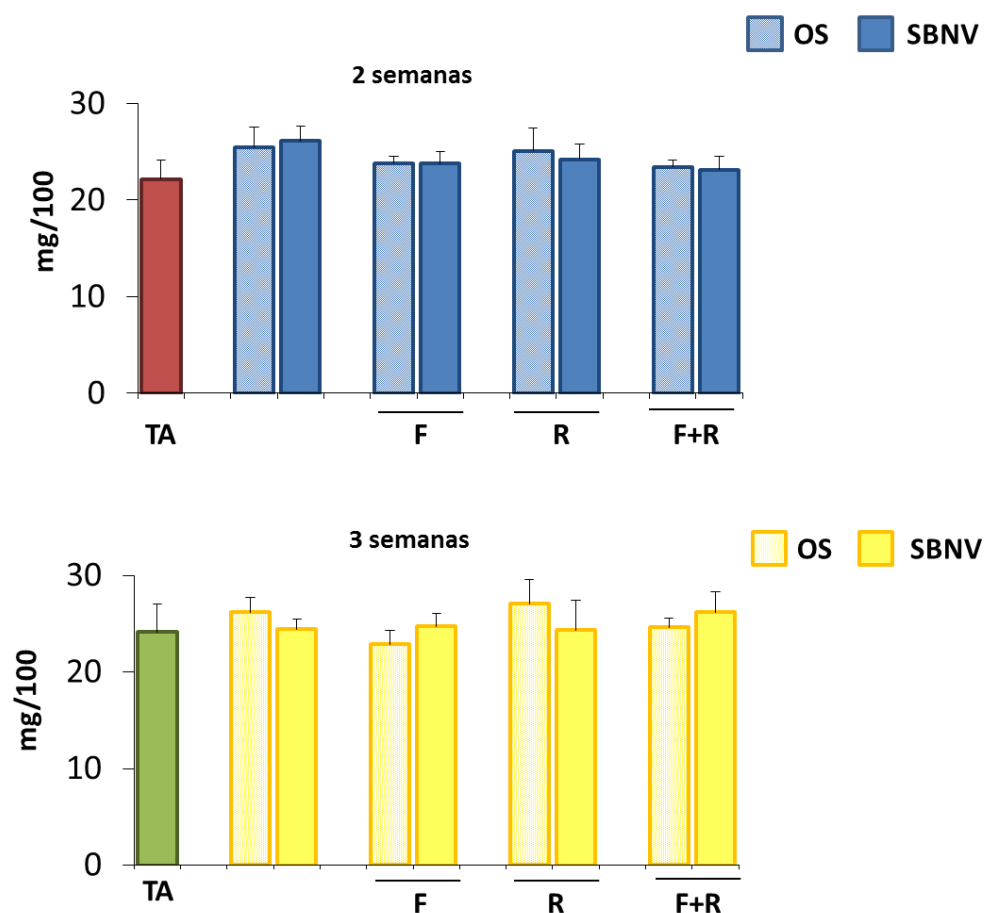


Figura 15.- Media \pm eem de la masa adrenal de animales testigo absoluto (TA), con operación simulada (OS) o vagotomizados (SBNV) y posteriormente sometidos a estrés por frío (F), restricción de movimiento (R) o a la combinación de ambos estresores (F+R) por dos o tres semanas. Los animales fueron sacrificados al estro vaginal posterior al tratamiento.

Concentración de Hormonas Esteroides

Progesterona

La concentración de progesterona fue menor en la rata vagotomizada o con operación simulada expuesta a estrés por frío, restricción de movimiento o bien cuando se combinaron los estresores durante dos semanas con respecto al su grupo sin estrés (Figura 16). Este comportamiento se observó cuando el frío se prolongó por tres semanas en la rata con operación simulada (Figura 16). La concentración de progesterona aumentó cuando la rata vagotomizada fue expuesta a tres semanas de frío con respecto a su operación simulada, sin embargo, cuando la restricción y la combinación de estresores se prolongaron por tres semanas no se observaron cambios en la concentración de la hormona con respecto a su grupo sin estrés (Gráfica 12).

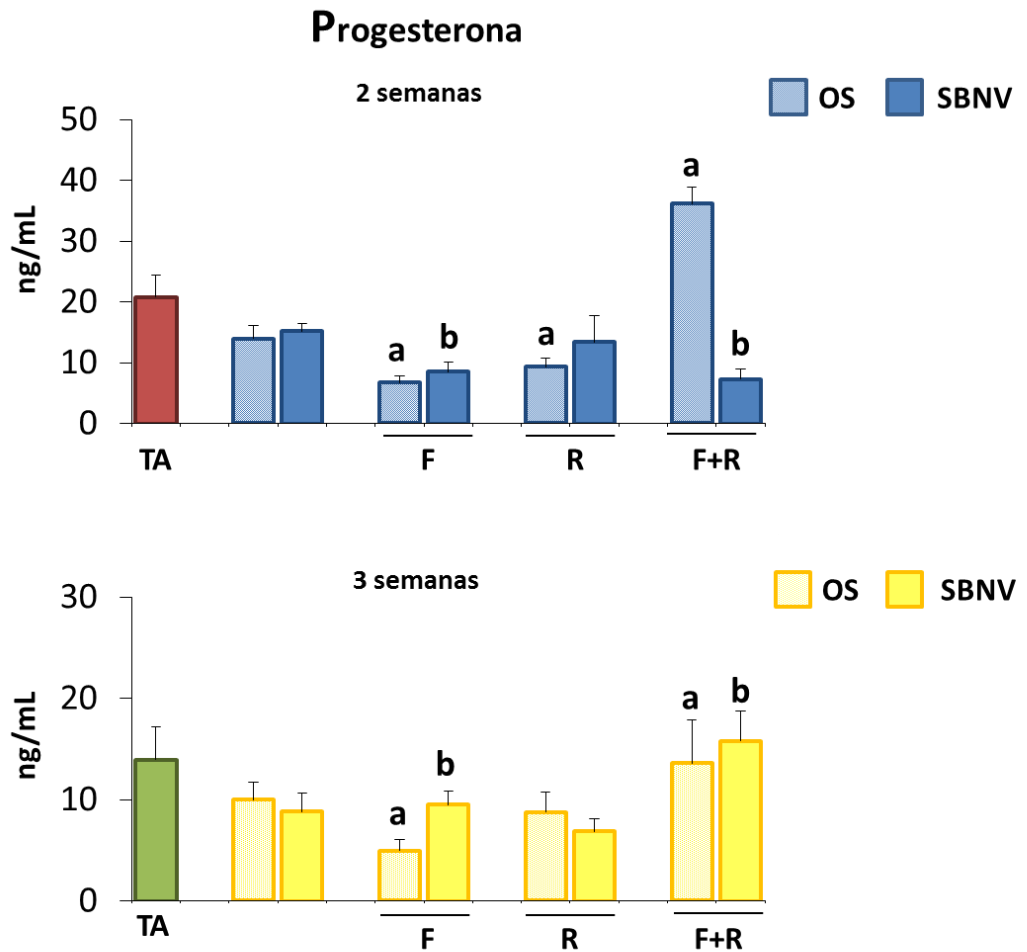


Figura 16.- Media \pm eem la concentración en suero de progesterona de animales testigo absoluto (TA), con operación simulada (OS) o vagotomizados (SBNV) y posteriormente sometidos a estrés por frío (F), restricción de movimiento (R) o a la combinación de ambos estresores (F+R) por dos o tres semanas. Los animales fueron sacrificados al estro vaginal posterior al tratamiento. a $p < 0.05$ vs. su grupo con OS; b $p < 0.05$ vs. su grupo con SBNV (prueba de ANDEVA).

Testosterona

La concentración de testosterona aumentó en los animales con operación simulada y sometidos a restricción de movimiento o a la combinación de los estresores durante dos semanas (Figura 17). Este comportamiento es similar cuando se realizó la operación simulada o la SBNV y fueron expuestos solo a restricción o acompañado por frío durante tres semanas (Figura 17). En el resto de los grupos experimentales no se observó cambios en la concentración de la hormona (Figura 17).

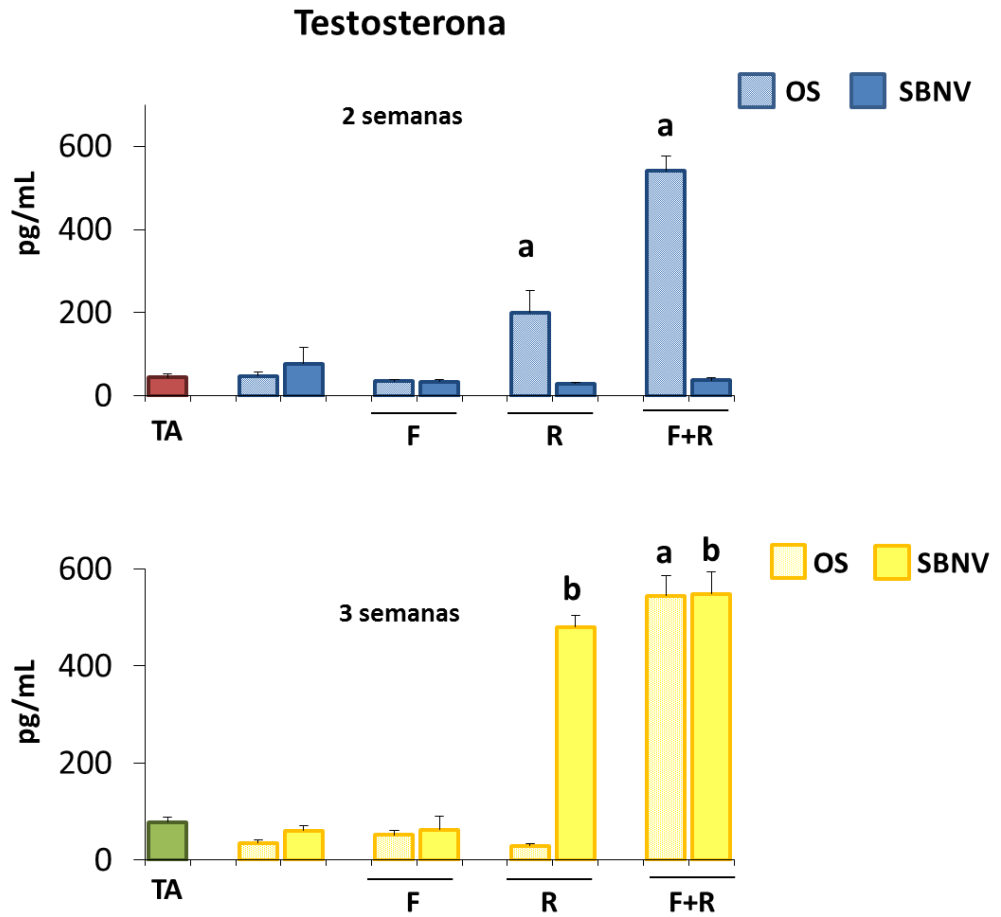


Figura 17.- Media \pm eem la concentración en suero de testosterona de animales testigo absoluto (TA), con operación simulada (OS) o vagotomizados (SBNV) y posteriormente sometidos a estrés por frío (F), restricción de movimiento (R) o a la combinación de ambos estresores (F+R) por dos o tres semanas. Los animales fueron sacrificados al estro vaginal posterior al tratamiento. a $p < 0.05$ vs. su respectiva OS; b $p < 0.05$ vs. su respectiva SBNV (prueba de ANDEVA).

Estradiol

La concentración de estradiol fue menor cuando la rata vagotomizada fue expuesta a restricción de movimiento o a la combinación de estresores durante dos semanas con respecto a su grupo sin estrés. Esta disminución también se observó cuando a la rata solamente se le realizó operación simulada (Figura 18). La concentración de estradiol fue mayor en animales con sección bilateral del nervio vago respecto al grupo testigo absoluto y al grupo con operación simulada (Figura 18). Cuando se realizó la operación simulada o la vagotomía bilateral y se sacrificó después de tres semanas la concentración de la hormona disminuyó. Este comportamiento se observó también cuando además se sometió a frío o restricción de movimiento durante tres semanas (Figura 18).

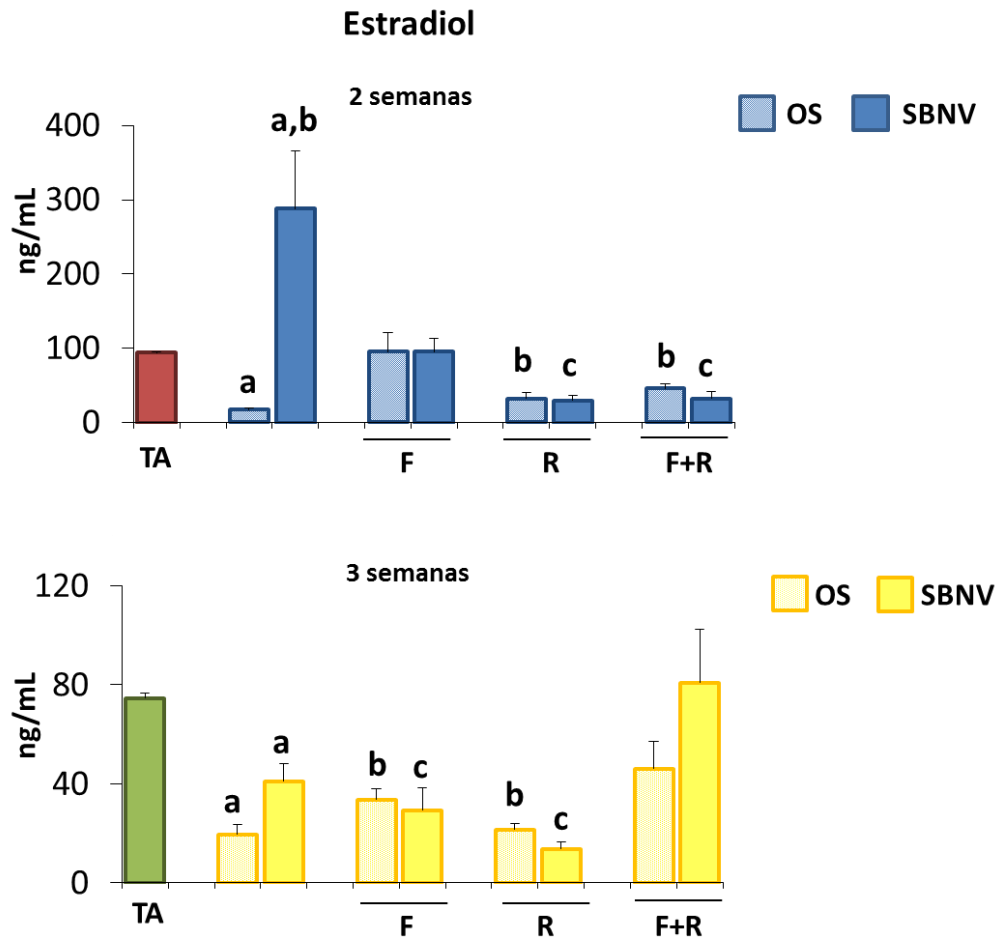


Figura 18.- Media \pm eem la concentración en suero de estradiol de animales testigo absoluto (TA), con operación simulada (OS) o vagotomizados (SBNV) y posteriormente sometidos a estrés por frío (F), restricción de movimiento (R) o a la combinación de ambos estresores (F+R) por dos o tres semanas. Los animales fueron sacrificados al estro vaginal posterior al tratamiento. a $p < 0.05$ vs. TA; b $p < 0.05$ vs. su respectiva OS; c $p < 0.05$ vs. su respectiva SBNV (prueba de ANDEVA).

DISCUSIÓN

En la rata post-puberal el nervio vago modula de manera estimulante la secreción de estradiol y no participa en la regulación de los mecanismos que culminan con la ovulación. El estrés sobre-estimula la información que transcurre por el nervio vago, lo que explica que la vagotomía resulte en la disminución de la secreción de estradiol.

Gasparetti y su grupo (2003) muestran que en la rata macho de 60 días de edad la exposición al frío por 5 días de manera ininterrumpida resulta en la disminución del peso corporal, acompañado de mayor ingesta de alimento.

Se ha sugerido que cuando los animales homeotermos son sometidos a un ambiente frío, se presenta una situación única caracterizada por disminución en la secreción de insulina acompañado por una mayor movilización de la glucosa (Gasparetti y col., 2003). La exposición al frío aumenta el tono simpático lo que resulta en una menor secreción de insulina por el páncreas, por lo que en el animal aumenta la actividad metabólica en el tejido adiposo, mientras que en el músculo esquelético promueve la toma de glucosa (Moreno-Aliaga y col., 2002).

Con base en los resultados del presente estudio, sugerimos que la modificación en el peso corporal va a depender del tipo de estresor al que sea sometido el animal, y que la modificación puede deberse a cambios en la ingesta de alimento, en la actividad metabólica, o a ambos procesos. Así observamos que la exposición al frío durante 3 semanas aumentó el peso corporal. Esto se explica como respuesta a la activación de los nervios simpáticos que estimulan la termogénesis y disminuye la respuesta a las señales de saciedad a nivel del SNC, que se vería reflejado

en mayor consumo de alimento, y por ende el aumento de peso corporal (Gerozissis, 2008).

El aumento en el peso corporal inducido por la exposición al frío se ve revertido si los animales son sometidos previamente a la sección de ambos nervios vago. Dado que existen aferencias sensoriales del nervio vago que llevan información del estado y contenido del tracto gastrointestinal al SNC (Grundy y Scratchter, 1989), es posible pensar que en el animal estresado por frío la información vagal estaría regulando de forma estimulante los mecanismos que se activan por el estresor, de manera que cuando se remueven las fibras vagales el peso corporal es semejante a un animal no estresado.

A diferencia de lo que se observó con la exposición al frío, la restricción de movimiento durante tres semanas provoca disminución en el peso corporal, este efecto se mantiene si además es expuesto al frío. Estos resultados nos llevan a sugerir que la restricción del movimiento resulta ser un estresor más agresivo. A este respecto se ha reportado que la restricción de movimiento aumenta tres veces más las concentraciones de catecolaminas que el estrés por frío (Pacak y col., 1998). Tomando en consideración este hecho, es posible que la hiperactivación del sistema simpático inducido por el estrés resulte en el incremento de la tasa metabólica del tejido adiposo y músculo esquelético que conlleve a la disminución del peso.

Cuando se realizó la vagotomía bilateral y posteriormente se sometió a restricción de movimiento, el peso corporal fue similar al de un animal no estresado. El nervio vago modula de manera estimulante los efectos inducidos por la restricción de movimiento, al igual que cuando se somete al frío.

La modulación que ejerce el nervio vago cambia si el animal es sometido a la combinación de los estresores, ya que cuando el animal vagotomizado es sometido al frío y restricción de movimiento por dos semanas, disminuye el peso corporal, mientras que si se prolonga por tres semanas éste aumenta.

Se ha reportado que en la rata la ingesta de alimento es modulada por la información que transcurre por el nervio vago. Así, la vagotomía de la rama gástrica provoca la pérdida acelerada de grasa, proteína, hidratos de carbono y de ácido estomacal, mientras que se observa disminución en la digestión de alimentos sólidos (Martin y col., 1977; Shwartz y col., 1993). Cuando la vagotomía bilateral se realiza en la rata hembra juvenil se observa aumento en el peso corporal al primer estro vaginal. Estos resultados llevaron a sugerir que la falta de la información vagal induce acumulación de alimento sólidos no digeridos (Morales y col., 2004). A diferencia de lo que reportamos previamente, en el presente estudio la sección bilateral del nervio vago no modificó la masa corporal. Al momento no contamos con una explicación a esta discrepancia, dado que a pesar de haber observado distensión del estómago y acumulación de sólidos en los intestinos no se observaron cambios en el peso.

En la rata hembra, el único signo exterior que señala el comienzo de la edad reproductiva es la canalización de la vagina. Cuando la rata llega a la etapa peripuberal, comienzan a aumentar las concentraciones de estradiol y testosterona, siendo esta última la responsable de la canalización de la vagina (Mathews y col., 1987; Ojeda y Urbanski, 1994).

En nuestros modelos de estrés, se observó retraso en la edad de apertura vaginal cuando los animales son sometidos a la restricción de movimiento. Este retraso puede asociarse con las bajas concentraciones de

testosterona que presentaron los animales cuando tenían dos semanas de exposición al estrés.

Se ha sugerido que en la rata la información neural aportada por el nervio vago modula de manera estimulante los eventos que conllevan a la canalización de la vagina. Esto se apoya en el hecho de que en la rata de 24 ó 28 días de edad la vagotomía uni o bilateral retrasa el inicio de la pubertad, evento que ha sido atribuido a la disminución en la concentración de estradiol (Morales y col. en 2004). Este retraso también lo observamos en el presente estudio, el cual permanece aún después de la exposición, por dos o tres semanas, a los diferentes estresores analizados.

Los resultados del presente estudio no siempre muestran una correlación directa entre el peso de los ovarios y el aspecto histológico del mismo. Así, las micrografías de los ovarios de los animales expuestos al frío por dos o tres semanas muestran un escaso desarrollo folicular, sin cambios en la masa ovárica, mientras que con la combinación de los estresores por dos semanas se aprecia un mayor número de folículos grandes, que posiblemente podrían contribuir al incremento en el peso de las gónadas. Por otra parte, el grupo de Paredes (1998), plantea que a las tres semanas de exposición de estrés por frío acompañado de restricción de movimiento no sólo se produce acumulación de folículos antrales con un diámetro de 350 a 450 μm , sino que también se produce aumento en el volumen de la glándula intersticial y la vascularización.

Gerendai y col. (2000), proponen una vía neural multisináptica entre el ovario y el SNC que se encuentra involucrado en la regulación de las funciones ováricas. En la rata adulta, la vagotomía bilateral altera el ciclo estral e incrementa la tasa de animales ovulantes (Chávez y col., 1989; Morales y col., 2004), mientras que en la rata preñada disminuye la concentración de LH lo que resulta en la reabsorción de los fetos

(Lawrence y col., 1978). Estos resultados sugieren que la información que llega a los ovarios a través del nervio vago participa en la regulación de las funciones ováricas. Como hemos observado anteriormente, la exposición a estrés modifica la morfología ovárica así como el peso de la gónada, lo que hace suponer que el factor estresante modifica la información que viaja del NV al ovario.

En apoyo a esta interpretación, en el presente estudio, al realizar la sección bilateral del nervio vago y posteriormente someter a frío, restricción de movimiento o a la combinación de ambos, durante dos o tres semanas, la masa ovárica no se modificó. Esto podría deberse a que la información vagal podría modular de manera estimulante el efecto que tiene el estrés sobre el ovario.

A las tres semanas de exposición al frío incrementa en el ovario la tasa de liberación de NA en un 50% y retorna a valores del grupo control a las 11 semanas, aún cuando la concentración de la amina es alta. La respuesta de la adrenal al estrés es diferente a la que se suscita por parte del ovario, ya que en ambos períodos la concentración de NA se mantiene alta (Paredes y col., 1998). Previamente hemos mostrado que en nuestra cepa de ratas existe adaptación al estrés por frío. En la rata juvenil expuesta a frío por 5 días a la semana, durante tres horas diarias por 3 semanas, incrementa la concentración de NA en ovario, mientras que si se mantiene por 5 semanas la concentración comienza a disminuir. Si el estrés se prolonga a 8 semanas, se observa una adaptación ya que la concentración de la amina en el ovario y en el GCMS es semejante a la de un animal no estresado (Espinoza, 2014; Navarrete, 2014).

Diferentes tipos de estresores, como el frío, la restricción de movimiento, la hipoglucemia, entre otros, afectan de manera directa la actividad nerviosa y al eje H-H-A, estimulando la secreción de A, ACTH y NA (Packac

y col.,1998; Cruz-Morales, 2012). En ratas adultas expuestas a frío y restricción de movimiento por 3 semanas, aumenta la concentración de NA en adrenales, efecto que persiste a las 11 semanas. Los autores proponen que el incremento en el peso de las adrenales se debe a la mayor actividad del sistema simpático, evaluado por la concentración de NA en GCMS y en la misma glándula (Paredes y col., 1998).

A diferencia de lo reportado, en el presente estudio no se observó modificación en el peso de las adrenales de los animales sometidos a frío por dos o tres semanas. Este efecto podría deberse a que el tiempo de exposición a estrés fue más corto, o a la edad del animal cuando se inició el estrés. No se puede descartar que durante los primeros días de exposición al frío se haya modificado la actividad de las fibras simpáticas de la glándula, que vaya aparejado con cambios en la concentración de catecolaminas en el GCMS.

Cuando el estrés es más severo, como la restricción de movimiento o la combinación de estresores por dos o tres semanas, se observó aumento en el peso de la glándula adrenal, probablemente debido a la hiperactivación que provoca este estresor sobre el sistema simpático.

Se ha reportado que el nervio vago provee información neural de tipo sensorial a órganos y tejidos que sintetizan catecolaminas, como la glándula adrenal y que estas fibras vagales están directamente expuestas a la A y NA circundante (Coupland y col., 1988; Miyashita y col., 2006). Todos los organismos poseen mecanismos de respuesta al estrés (Goldstein, 2008), donde los glucocorticoides ejercen un efecto inhibitorio directo sobre el hipotálamo, modulando la actividad del eje H-H-A (Tasker y col., 2011; Myers y col., 2012).

Mravec (2011) postula que el estrés induce incremento en la concentración periférica de A y NA, información que llega por el nervio vago hasta el SNC, éste último encargado de generar la respuesta necesaria para disminuir la concentración de las aminas. Esta idea se ve apoyada por el hecho de que en la rata adulta vagotomizada, a los tres días después de la cirugía, la concentración basal en plasma de A, NA y corticoides fue mayor, mientras que al día 14 post- cirugía la concentración se normaliza (Mravec y col., 2015). Estas evidencias indican que el nervio vago modula de manera inhibitoria la actividad catecolaminérgica. Si a estos animales vagotomizados se les somete al estrés por restricción de movimiento se eleva aún más la concentración en plasma de A, NA y corticoides, en comparación al grupo con operación simulada y estresado (Mravec y col., 2015).

Como en las neuronas aferentes del nervio vago existen receptores β 2-adrenérgicos, que tienen más afinidad con la adrenalina, estos resultados permitieron a los autores postular que las aferencias vagales participan en la regulación de la secreción de catecolaminas por la glándula adrenal (Mravec y col., 2015).

A diferencia de lo observado en el animal estresado, donde aumenta el peso adrenal y probablemente la actividad simpática, cuando se realizó la sección bilateral del nervio vago y posteriormente se sometió a estrés por frío, restricción de movimiento o la combinación de ambos, el peso de la glándula adrenal no se modificó, lo que parece indicar que la actividad de la glándula se normalizó. Mientras que algunos autores plantean que en la rata adulta con o sin estrés el vago modula de manera inhibitoria la secreción de catecolaminas de origen adrenal, nuestros resultados parecen indicar que en la rata juvenil, el nervio vago modula de manera estimulante la respuesta provocada por el estresor, por lo que proponemos

que el papel de las fibras vagales sobre la regulación de la respuesta al estrés va a depender de la edad del animal.

Hasta el momento, existe poca información sobre los efectos del estrés por frío sobre la ovulación. El grupo de Paredes (1998) señala que en la rata adulta sometida a estrés por frío más restricción de movimiento durante 3 semanas, disminuye la tasa ovulatoria. Los autores mencionan que la interrupción de la ovulación parece ser la consecuencia del aumento de la actividad simpática. De tal manera que a las 11 semanas del estresor, cuando la tasa de liberación de NA se normaliza, se restablece este parámetro.

El grupo de Bernuci (2008), mostró que al someter ratas adultas a 8 semanas de estrés por frío, la actividad simpática no se modifica, sin embargo se observa disminución en el número de ovocitos liberados. Los autores plantean que la disminución en la respuesta ovulatoria no es el resultado del cambio en la dinámica de las catecolaminas y proponen que puede deberse a la disminución en el número de folículos preovulatorios y a la acumulación de folículos antrales pequeños, o bien, al incremento en la transición de folículos preovulatorios a folículos quísticos.

A diferencia de lo reportado, estudios realizados en nuestro laboratorio han mostrado que al someter a ratas juveniles a 3, 5 u 8 semanas de estrés por frío no se modificó el número de animales ovulantes ni el número de ovocitos liberados por ambos ovarios (Espinoza, 2014; Navarrete, 2014). Esta misma respuesta la observamos en el presente estudio, ya que en la rata juvenil expuesta a 2 o 3 semanas de estrés por frío sólo o combinado con restricción de movimiento, no se modificó la respuesta ovulatoria por ambos ovarios. Las diferencias entre nuestros resultados y los reportados por otros autores, pueden deberse a que ellos utilizan como modelo a la rata adulta, o bien a la cepa utilizada. Nuestros resultados nos permiten

sugerir que la rata prepúber puede desarrollar más fácilmente mecanismos de adaptación.

En la rata adulta, la ovulación y el crecimiento folicular son modulados de manera inhibitoria por el nervio vago, y se ha postulado que la información que lleva el vago izquierdo tiene más relevancia en el proceso ovulatorio (Cruz y col., 1986; Chávez y col., 1989). En ratas de 28 días de edad la vagotomía bilateral resulta en un aumento de la tasa ovulatoria, mientras que si se realiza la cirugía a los 24 días de edad, este incremento no se observa. Los autores han sugerido que en la rata prepuberal, la información que aporta el nervio vago va a depender de la edad del animal (Morales y col., 2004). Resultados similares fueron observados en el presente estudio, donde la sección bilateral del nervio vago no afectó la respuesta ovulatoria.

En la rata la secreción de progesterona en respuesta al estrés por frío depende del tiempo de exposición y de la edad del animal. Si la rata adulta se somete a cuatro semanas de estrés por frío, la concentración de la hormona aumenta, lo que ha sido atribuido por los autores a la acumulación de folículos luteinizados (Dorfman y col., 2003). Cuando el período de exposición es por ocho semanas, no se modifica la concentración de progesterona en plasma (Bernuci y col., 2008). Este mismo comportamiento se observa si el estrés se inicia en la rata juvenil durante ocho semanas (Navarrete, 2014). En nuestros animales el estrés por frío o la combinación de estresores, por dos semanas, resulta en una menor concentración de progesterona, sin embargo el metabolismo de esta hormona parece depender del tiempo de exposición al estresor, ya que cuando permanecieron por tres semanas disminuye aún más la concentración de progesterona, la cual se acompaña del incremento de estradiol. Estos resultados nos permiten sugerir que los estresores producen

mayor actividad del complejo enzimático p450, lo que facilitaría el metabolismo de la progesterona.

Se ha propuesto que el nervio vago tiene fibras sensoriales que llevan información de los ovarios al SNC, modulando la respuesta del hipotálamo y por ende de las gonadotropinas, las cuales actúan regulando la respuesta del ovario a las mismas (Lawrence y col., 1978; Cruz y col., 1986).

En el presente estudio se observó que en la rata con operación simulada o vagotomía bilateral, y expuesta a frío por dos semanas la concentración de progesterona disminuyó. Este efecto nos indica que el frío es capaz de alterar las enzimas que facilitan la conversión de pregnenolona a progesterona, donde la ausencia del nervio vago no modifica ésta respuesta.

En las ratas sometidas a la restricción de movimiento por dos semanas no se modificó la concentración de progesterona, sin embargo, si previamente se les realiza la operación simulada o la vagotomía bilateral la concentración de la hormona es menor. Estos resultados nos indican que alterar la información nerviosa que corre por el peritoneo y por el nervio vago modula la respuesta que tiene el organismo cuando es estimulado por el factor estresante. Esta idea se ve apoyada en el hecho de que la sección del vago previo a la exposición a la combinación de los estresores por dos semanas resulta en la disminución de la concentración de progesterona, mientras que si la exposición se prolonga durante tres semanas, la concentración de la hormona aumenta. Evidencias que indican que la actividad vagal depende del tipo y del tiempo de exposición al estresor.

Con base en estos resultados, podemos inferir que la actividad del nervio vago depende del medio endocrino y fisiológico en que se encuentre el

animal. La vagotomía bilateral practicada al inicio de la etapa juvenil resulta en el incremento de la concentración de progesterona, mientras que si se realiza al final de la etapa juvenil la hormona disminuye (Morales y col., 2004). En el hámster hembra adulta y en la rata preñada la vagotomía bilateral resulta en la disminución de la concentración de progesterona en plasma. Los autores proponen que se debe a la disminución de la actividad enzimática de la 3β -HSD (Burden y col., 1980; Nakamura y col., 1992). En el presente estudio, se observó que en respuesta a la vagotomía bilateral hay tendencia a la disminución en la concentración de progesterona sin ser estadísticamente significativa. Resultados que apoyan la idea de que el efecto de la vagotomía sobre la secreción de progesterona va a depender de la edad del animal en la que se realice la cirugía.

En la rata adulta la exposición a estrés por frío y restricción de movimiento por 3 semanas, o la exposición solamente a frío por 8 semanas, da como resultado aumento de la concentración de testosterona (Paredes y col., 1998; Bernuci y col., 2008). Debido a que los autores señalan que en los ovarios de sus animales se observan estructuras prequísticas y quistes foliculares, los cuales se caracterizan por presentar hipertrofia de las células tecaes, es posible que el aumento en la concentración de testosterona se deba a presencia de una mayor actividad de la teca.

Al parecer la actividad del folículo cambia en función del tipo de estresor y la duración del mismo. Si la rata adulta se expone a estrés por frío durante 4 semanas la concentración de androstenediona disminuye, sin cambios en el índice de atresia folicular. Los autores atribuyen esta disminución al hecho de que los folículos detienen su desarrollo en la fase preovulatoria (Dorfman y col., 2003). En nuestro estudio el estrés por frío, la restricción de movimiento o la combinación de ambos estresores dio como resultado la

disminución en la concentración de testosterona cuando el período del estresor es por dos o tres semanas. Es posible que este tipo de estresores ocasionen que a nivel de las células de la granulosa se incremente la actividad de la aromatasas, lo que favorece el paso de los andrógenos a estrógenos y lo que explicaría el aumento en la concentración de estradiol. Histológicamente, los ovarios presentaron estructuras pre quísticas que al parecer no fueron las suficientes para tener un papel en la modificación de la secreción de hormonas esteroides, mientras que la presencia de cuerpos lúteos indican ovulación y la secreción de progesterona, la cual puede ser la fuente para el posterior aumento en la concentración de estradiol.

Se ha planteado que al momento de realizar una laparotomía se puede alterar alguna vía neural que inerva el peritoneo, y que pudiera estar implicada en la regulación de las funciones ováricas (Barco y col., 2003). La operación simulada en un animal no estresado no modificó la concentración de testosterona, mientras que si a estos animales se les somete a restricción de movimiento por dos semanas, o a la combinación de frío y restricción de movimiento, por dos o tres semanas, la concentración de testosterona aumentó. Resultados que permiten sugerir que la laparotomía modifica la regulación de la hormona cuando el animal es sometido a estrés por algún mecanismo hasta ahora desconocido. A este respecto, se ha propuesto una vía neural entre el peritoneo y los ovarios y la glándula adrenal, que parece ser específico para el control de la secreción de progesterona y testosterona (Barco y col., 2003).

Cuando se realizó la sección bilateral del nervio vago y se sometió a restricción de movimiento sola o acompañada por frío, durante tres semanas, la concentración sérica de testosterona es mayor que en los

animales estresados con vagos intactos. Estos resultados podrían indicar que el estrés induce hiperactividad de la glándula adrenal, lo que resulta en la mayor secreción de testosterona, y donde el nervio vago modularía de forma inhibitoria esta respuesta al estrés.

Se ha postulado que en el animal no estresado la información neural que lleva el nervio vago y que regula la secreción de testosterona es asimétrica, ya que en ratas de 28 días de edad el nervio vago izquierdo tiene un papel inhibitorio en la secreción de testosterona, mientras que el vago derecho tiene un papel estimulante (Morales y col., 2007). En el presente estudio, la vagotomía bilateral del nervio vago no afectó la concentración de testosterona sérica en animales no estresados. Con base en las evidencias mencionadas, sugerimos que el remover ambos nervios vago podría activar algún mecanismo de compensación en la regulación de la hormona, sin descartar que pueda ser de origen adrenal. En apoyo a esta interpretación, Flores y colaboradores (2006) proponen que en la rata adulta ovariectomizada la glándula adrenal compensa la concentración de testosterona.

Bernuci y col. (2008) mostraron que en la rata adulta la exposición al frío por un período de ocho semanas ocasiona aumento en la concentración sérica de estradiol, a pesar de la disminución en el número de folículos preovulatorios sanos. Si la rata prepúber es sometida a estrés por frío durante 5 u 8 semanas, se observa disminución en la concentración de la hormona, probablemente por la disminución de folículos medianos, sin que se descartarte una menor actividad de las aromatasas (Navarrete, 2014; Espinoza, 2014; Guerrero, 2015). En nuestros animales expuestos a frío, restricción de movimiento o a la combinación de ambos durante dos o tres semanas, se observó aumento en la concentración de estradiol. Con estos

resultados planteamos que la secreción de estradiol va a depender del tipo y del tiempo de exposición al estrés.

La inervación vagal que llega al ovario tiene un papel estimulante en la regulación de la secreción de estradiol (Ojeda y col., 1983; Morales y col., 2004). Basándonos en los resultados obtenidos en el presente estudio, observamos que en los animales sacrificados a las dos semanas de la vagotomía aumenta la concentración de estradiol, lo que nos indica que el vago modula de manera inhibitoria la secreción de estradiol, mientras que si se sacrifican a las tres semanas post-cirugía la modulación que ejerce es de tipo estimulante. El papel que ejerce el nervio vago es bloqueado si los animales son sometidos a cualquiera de los estresores analizados en este estudio.

Tomando en conjunto nuestros resultados, sugerimos que el estrés por frío, restricción de movimiento o la combinación de ambos podría actuar a nivel de las células de la granulosa, incrementando la actividad de la aromatasas, lo que favorecería la conversión de andrógenos a estrógenos y de esta manera explicar la disminución en la concentración de progesterona, testosterona y el consecuente aumento de estradiol, y que esta respuesta al estrés puede estar regulada de forma estimulante por la información neural que transcurre por el nervio vago, como se muestra en los siguientes modelos (Figura 19 y 20).

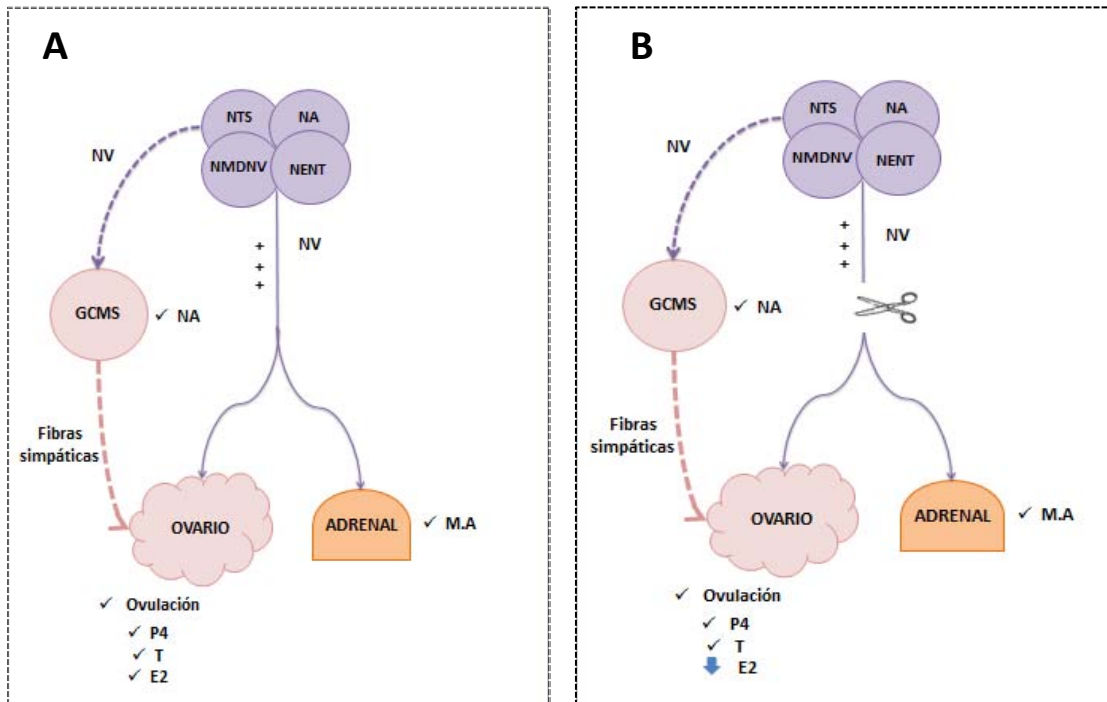


Figura 19. Modelo del animal vagotomizado

A: Regulación del nervio vago sobre la función ovárica en un animal intacto.

B: La falta de la información vagal resulta en la disminución en la concentración de estradiol.

NTS: Núcleo del tracto solitario; NA: Núcleo ambiguo; NMDNV: Núcleo Motor Dorsal del Nervio Vago; NENT: Núcleo Espinal del Nervio Trigémino; NV: Nervio vago; GCMS: Ganglio Celíaco Mesentérico Superior; P4: Progesterona; T: Testosterona; E2: Estradiol; +: Estimulante.

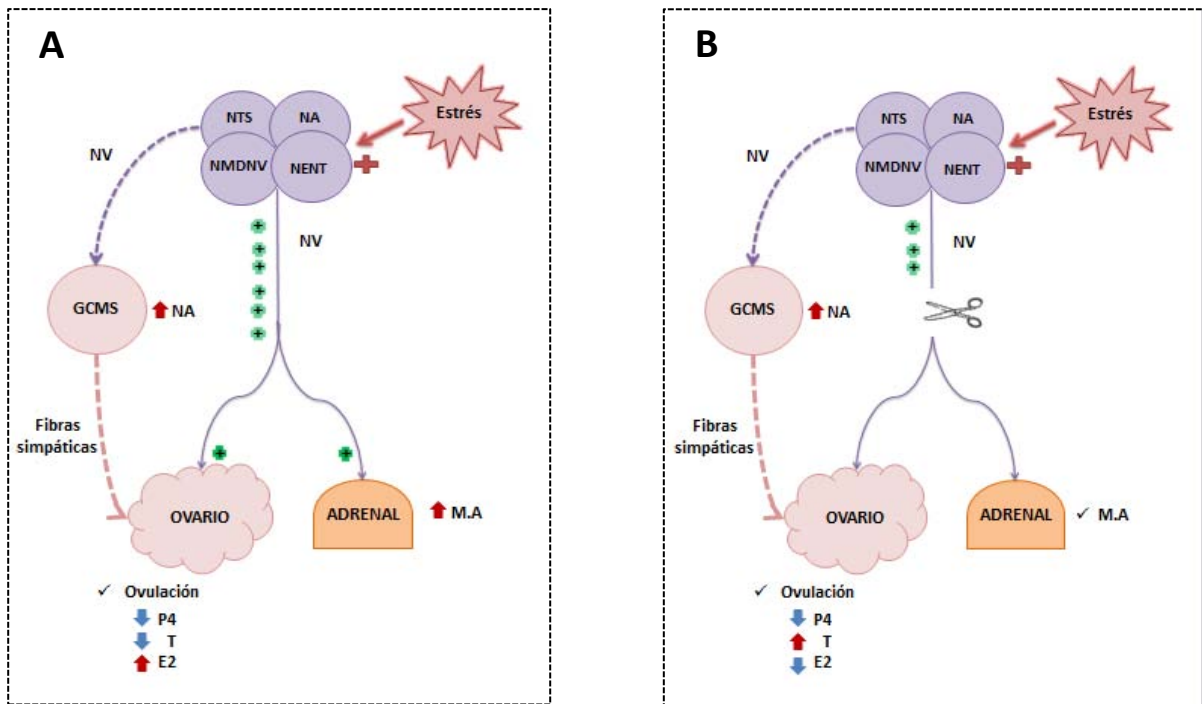


Figura 20. Modelo del animal vagotomizado expuesto a estrés.

A: Hiperactivación de las fibras vagales y simpáticas por la exposición a estrés que resulta en la disminución de progesterona y testosterona y el consecuente aumento de estradiol, así como aumento en la masa adrenal.

B: La ausencia de la información vagal en el animal estresado resulta en la disminución de progesterona, el aumento de testosterona y la disminución de estradiol, así como la normalización de la masa adrenal.

NTS: Núcleo del tracto solitario; NA: Núcleo ambiguo; NMDNV: Núcleo Motor Dorsal del Nervio Vago; NENT: Núcleo Espinal del Nervio Trigémino; NV: Nervio vago; GCMS: Ganglio Celiaco Mesentérico Superior; P4: Progesterona; T: Testosterona; E2: Estradiol; +: Estimulante.

CONCLUSIONES

- En la rata juvenil, el nervio vago modula de manera estimulante el efecto del estrés sobre la secreción de hormonas esteroides y la actividad de la glándula adrenal.
- El nervio vago modula de manera estimulante el inicio de la pubertad, efecto que no se ve modificado por el estrés.
- En la rata hembra, la exposición a estrés por dos o tres semanas no modificó los mecanismos neuroendócrinos que culminan con la ovulación.
- En la rata juvenil el estrés por frío, restricción de movimiento o la combinación de ambos estresores inhibe la secreción de progesterona y testosterona, mientras que estimula la secreción de estradiol.

BIBLIOGRAFÍA

- ❑ Aguado, L. I., Ojeda, S. R. 1984. Prepubertal Ovarian Function is Finely Regulated by Direct Adrenergic Influences. Role of Noradrenergic Innervation. *Endocrinology*. 114: 1845-1853.
- ❑ Aguado, L. I., Petrovic, S. L., Ojeda, S. R. 1982. Ovarian β -Adrenergic Receptors during the Onset of Puberty: Characterization, Distribution and Coupling to Steroidogenic Responses. *Endocrinology*. 110: 1124-1132.
- ❑ Álvarez, A., Pérez, H., De la Cruz, T., Quincosa, J. y Sánchez, A. 2009. *Fisiología animal aplicada*. Editorial Universidad de Antioquia. pp. 104-107.
- ❑ Andrews, W. W., S. R. Ojeda. 1981. A detailed analysis of the serum luteinizing hormone secretory profile in conscious, free-moving female rats during the time of puberty. *Endocrinology*, 109: 2032-2039.
- ❑ Araya, V., P. Jara, H. E. Lara. 2004. Cerebro, Estrés y Ovario Poliquístico. Participación de la Inervación Simpática en el Desarrollo de Ovario Poliquístico. *Endocrinol*. 51(8): 473-477.
- ❑ Axelrod, L., T. D. Reisine. 1984. Stress hormones: their interaction and regulation. *Science*. 224: 452-459.
- ❑ Bajo, A. J., L. I. B. Coroleu. 2009. *Fundamentos de reproducción*. Editorial Médica Panamericana. pp. 16-19.
- ❑ Barco, A. I., Flores, A., Chavira, R., Matsumura, P. D., Domínguez, R., Cruz, M. E. 2003. Asymmetric Effects of Acute Hemiovariectomy on Steroid Hormone Secretion by the In Situ Ovary. *Endocrine*. 21(3): 209-215.
- ❑ Becu-Villalobos, D., I. Lacau-Mengido. 1990. Control Hormonal Del Desarrollo Puberal En La Rata Hembra. *Physiol. Pharmacol. Latinoam*. Vol 40. Pg. 1-17.

- ❑ Bernuci, M. P., E. R. Szawka, C. V. Helena, C. M. Leite, H. E. Lara, J. A. Anselomo-Franci. 2008. Locus coeruleus mediates cold stress-induced polycystic ovary in rats. *Endocrinology*. 149: 2907-2916.
- ❑ Berthoud, H. R. y Powley, T. L. 1996. Interaction between Parasympathetic and Sympathetic Nerves in Prevertebral Ganglia Morphological evidence for Vagal Efferent Innervation of Ganglion Cells in the Rat. *Microsc. Res. Tech.* 35: 80-86.
- ❑ Bhardwaj, J. K., R. K. Sharma. 2011. Changes in trace elements during follicular atresia in goat (*Capra hircus*) ovary. *Biol. Trace. Elem. Res.* 140 (3): 291-298.
- ❑ Burden, H. W. 1978. Ovarian Innervation. En: Jones, R. E. (ed.) *The Vertebrate Ovary Comparative Biology*. Plenum Press. New York. pp. 615-628.
- ❑ Burden, H. W., Lawrence, Jr., Hodson, C. 1980. Effect of abdominal vagotomy of the pregnant rat on pituitary content of prolactin and gonadotropins. *IRCS. Med. Sci.* 8:809.
- ❑ Chávez, R., Carrizosa, L., Domínguez, R. 1991. Effects of superior ovarian nerve section on spontaneous and induced ovulation in adult rats. *Med. Sci. Res.* 19: 41-42
- ❑ Chávez, R., Sánchez, S., Ulloa-Aguirre, A., Domínguez, R. 1989. Effects on Oestrus cyclity and ovulation of unilateral section of the vagus nerve performed on different days of the oestrus cycle in the rat. *J Endocrinol.* 140: 197 – 201.
- ❑ Coupland, R. E., Parker, T. L., Kesse, W. K., Mohamed, A. A. 1989. The innervation of the adrenal gland. III. Vagal innervation. *J. Anat.* 163: 173 – 181.

- ❑ Cruz, M. E., Chávez, R., Domínguez, R. 1986. Ovulation follicular growth and ovarian reactivity to exogenous gonadotropins in adult rats with unilateral or bilateral section of the vagi nerves. *Rev. Invest. Clín.* 38:167-171.
- ❑ Cruz-Gonzalo, G., R. Barra, D. Gonzalez, R. Sotomayor-Zarate, H. E. Lara. 2012. Temporal window in which exposure to estradiol permanently modifies ovarian function causing polycystic ovary morphology in rats. *Reproductive Biology.* 3: 1-8.
- ❑ Cruz-Morales, S. E., Domínguez, R., García-Saldívar, N. L., González-López, Ma. R. A. 2012. Stress animal models. *Behavioral Animal Models.*
- ❑ Davoren, J. B., Hsueh, A. J.W. 1985. Vasoactive intestinal peptide: a novel stimulator of steroidogenesis by cultured rat granulosa cells. *Biology of Reproduction* 33 37–52.
- ❑ Dess, N. K., Patterson, J., Overmier, J. B. 1986. Relative effectiveness of concurrent forward/backward versus simple forward and simple backward Pavlovian conditioning procedures. *Am J Psychol.* Spring; 99(1): 31-44.
- ❑ Dess, W. L., Hiney, C. E., Schultea, T. D., Mayerhofer, A., Danilchik, M., Dissen, G. A., Ojeda, S. R. 1995. The primate ovary contains a population of catecholaminergic neuron-like cells expressing nerve growth factor receptors. *Endocrinology.* 136: 5760 – 5768.
- ❑ Dissen, G. y Ojeda, S.R. 1999. Ovarian Innervation. En: Knobil, E., Neill, J. (Eds.) *Encyclopedia of Reproduction.* Academic Press. USA. 3: 583-589.

- ❑ Dohler, K. D., W. Wuttke. 1974. Serum LH, FSH, prolactin and progesterone from birth to puberty in female and male rats. *Endocrinology*, 94: 1003-1008.
- ❑ Domínguez, R., R. Chávez, M. E. Cruz. 1991. La regulación del crecimiento y del desarrollo del folículo ovárico. En: *tópicos selectos de biología de la reproducción*. Ed. Porrúa. México. Pp. 163-191.
- ❑ Dorfman, M., S. Arancibia, J. L. Fiedler, H. E. Lara. 2003. Chronic intermittent cold stress activates ovarian sympathetic nerves and modifies ovarian follicular development in the rat. *Biology of Reproduction*. 68: 2038-2043.
- ❑ Duggavathi, R., B. D. Murphy. 2009. Development: Ovulation signals. *Science*. 324: 890-891.
- ❑ Erickson, G., D. Magoffin, D. Dyer, C. Hofeditz. 1985. The ovarian androgen producing cells: a review of structure/function relationships. *Endocrinology Rev*; 6: 371-399.
- ❑ Espinoza, J. A. 2014. Participación del nervio ovárico superior en la respuesta ovárica de la rata con síndrome de ovario poliquístico inducido por estrés por frío. Tesis de Maestría. FES Zaragoza, UNAM. México, DF.
- ❑ Fawcett, D.W. 1990. *Tratado de Histología*. 12ª edición. Interamericana, México. 489-491.
- ❑ Fernandex, J., L. Monge, A. L. García-Villalon, J. L. García, B. Gómez, G. Dieguez. 1994. Cooling effects on nitric oxide production by rabbit ear and femoral arteries during cholinergic stimulation. *Br. J. Pharmacol*. 113:550-4.

- ❑ Flores, A., Gallegos, A. I., Velasco, J., Mendoza, F. D., Montiel, C., Everardo, P. M., Cruz, M. E., Domínguez, R. 2006. The acute effects of bilateral ovariectomy or adrenalectomy on progesterone, testosterone and estradiol serum levels depend on the surgical approach and the day of the estrous cycle when they are performed. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 10.1186/1477-7827-6-48: 1-17.
- ❑ Fukuhara, K., R. Kvetnansky, G. Cizza, K. Pacak, H. Ohara, D. S. Goldstein, J. J. Kopin. 1996. Interrelations between sympathoadrenal system and hypothalamo-pituitary-adrenocortical/thyroid systems in rats exposed to cold stress. *J. Neuroendocrinol.* 8: 533–541.
- ❑ Gamse, R., Lackner, D., Gamse, G., Leeman, S. E. 1981. Effect of capsaicin pretreatment on capsaicin-evoked release of immunoreactive somatostatin and substance P from primary sensory neurons. *Naunyn. Schmiedebergs Arch Pharmacol.* Feb; 316(1): 38-41.
- ❑ Ganong, W. F. 1995. *Review of Medical Physiology*. Norwalk, CT: Appleton & Lange. 327–351.
- ❑ Gasparetti, A. L., C. T. de Souza, M. Pereira-da-Silva, R. L. G. S. Oliveira, M. J. A. Saad, E. M. Carneiro, L. A. Velloso. 2003. Cold exposure induces tissue-specific modulation of the insulin-signalling pathway in *Rattus norvegicus*. *J. Physiol.* 552 (1): 149-162.
- ❑ Gerendai, I., Kocsis, K., Halász, B. 2002. Supraspinal Connections of the Ovary: Structural and Functional Aspects. *Micros. Res. Tech.* 59: 474 – 483.
- ❑ Gerendai, I., Tóth, I. E., Boldogkői, Z., Medveczky, I., Halász, B. 1998. Neuronal labeling in the rat brain and spinal cord from the ovary

- using viral transneuronal tracing technique. *Neuroendocrinology*. 68: 244 – 256.
- ❑ Gerendai, I., Tóth, I. E., Boldogkői, Z., Medveczky, I., Halász, B. 2000. CNS structures presumably involved in vagal control of ovarian function. *J. Auton. Syst.* 80: 40 – 45.
 - ❑ Gerozissis, K. 2008. Brain insulin, energy and glucose homeostasis; genes, environment and metabolic pathologies. *Eur. J. Pharmacol.* 585 (1): 38-49.
 - ❑ Goldstein, D. S., Breier, A., Wolkowitz, O. M., Pickar, D., Lenders, J. W. M. 1992. Plasma levels of catechols and ACTH during acute glucopenia in humans. *Clin. Auton. Res.* 2: 359–366.
 - ❑ Goldstein, D. S., Kopin, I. J. 2008. Adrenomedullary, adrenocortical, and sympathoneural responses to stressors: a meta-analysis. *Endocr Regul. Sep*; 42(4): 111-9. Review.
 - ❑ Goldstein, D. S., Stull, R., Zimlichman, R., Levinson, P. D., Smith, H., Keiser, H. R. 1984. Simultaneous measurement of DOPA, DOPAC, and catecholamines in plasma by liquid chromatography with electrochemical detection. *Clin. Chem.* 30: 815–816.
 - ❑ González-Merlo, J., J. M. Laila, E. Fabre, E. González. 2006. *Obstetricia*. 5ta edición. Ed. Masson. Barcelona. Pp. 63
 - ❑ Grundy, D. y Scatcherd, T. 1989. Sensory afferent from the gastrointestinal tract. In S. G. Schultz (Ed.), *Handbook of physiology, Sec. 6, The gastrointestinal system, Vol. 1, Motility and circulation, Part I* (pp. 593-620). Bethesda, MD: American Physiological Society.
 - ❑ Guerrero, Y. 2015. Participación del nervio vago en la actividad neural del ganglio celiaco mesentérico superior, en el modelo del

- animal con exposición al estrés por frío o con síndrome de ovario poliquístico inducido con valerato de estradiol. Tesis de Licenciatura. FES Zaragoza, UNAM. México, DF.
- ❑ Hirsfield, A. N. 1992. Heterogeneity of cell populations that contribute to the formation of primordial follicles in rats. *Biol. Reprod.* 47(3): 466 – 72.
 - ❑ Hsueh, A. J. W., H. Billig, A. Tsafiriri. 1994. Ovarian follicle atresia: A hormonally controlled apoptotic process. *Endocrinology.* 15: 707-724.
 - ❑ Ireland, J. J., J. S. Richards. 1978. Acute effects of estradiol and follicle-stimulating hormone on specific binding of human [125I]iodo follicle-stimulating hormone to rat ovarian granulosa cells in vivo and in vitro. *Endocrinology.* 102: 876-883.
 - ❑ Jiménez Schuhmacher, A. 2007. La rata como modelo animal en oncología: Pasado, presente y futuro. En *Boletín Oncológico del área sanitaria de Teruel.*
 - ❑ Kim, Y. D., Lake, C. R., Lees, D. E., Schuette, W. H., Bull, J. M., Weise, V., Kopin, I. J. 1979. Hemodynamic and plasma catecholamine responses to hyperthermic cancer therapy in humans. *Am. J. Physiol.* 237 (Heart Circ. Physiol. 6): H570–H574.
 - ❑ Köing, E., Liebich, H. G. 2008. *Anatomía de los Animales Domésticos.* Editorial Panamericana. 2da edición. Argentina. Págs. 249-253.
 - ❑ Lara, H. E., A. Porcile, J. Espinoza, C. Romero, S. M. Irujo, J. Fuhrer, C. Miranda, L. Roblero. 2001. Release of norepinephrine from human ovary. *Endocrine.* 15: 187-192.

- ❑ Lawrence, I. E., Burden, H. W., Louis, T. M. 1978. Effect of abdominal vagotomy of the pregnant rat on LH and progesterone concentration and fetal resorption. *J Reprod Fertil.* 53: 131 – 136.
- ❑ Lawrence, I. E., H. W. Burden. 1980. The origin of the extrinsic adrenergic innervation to the rat ovary. *Anat. Rec.* 1: 51-59.
- ❑ Levi-Montalcini, R. 1987. The nerve growth factor 35 years later. *Science* 237:1154–1162.
- ❑ Lintern-Moore, S., H. Peters, G. Moore, M. Faber. 1974. Follicular development in the infant human ovary. *J Reprod Fertil*; 39: 53-54.
- ❑ Mackinnon, P. C. B., J. M. Mattock, M. B. Ter Haar. 1976. Serum gonadotrophin levels during development in male, female and androgenized female rats and the effect of general disturbance on high luteinizing hormone levels. *J. Endocr.*, 70: 361-371.
- ❑ Martin, J. R., Rogers, R. C., Novin, D. 1977. Excessive gastric retention by vagotomized rats and rabbits given a solid diet. *Bulletin of the Psychonomic Society*, 10, 291-294.
- ❑ Mathews, D., W. W. Andrews, R. Parker Jr., S. R. Ojeda. 1987. A role for aromatizable androgens in female puberty. *Biol. Reprod.*, 36: 836-843.
- ❑ Meijs-Roelofs, H. M. A., P. Kramer, H. J. Sander. 1983. Changes in serum concentrations of luteinizing hormone in the female rat approaching puberty. *J. Endocr.*, 98: 241-249.
- ❑ Meyer, H., M. Palchaudhuri, M. Scheinin, G. Flügge. 2000. Regulation of $\alpha 2A$ -adrenoceptor expression by chronic stress in neurons of the brain stem. *Brain Reserch.* 880: 147-158.

- ❑ Mitrakou, A., Mokan, M., Boli, G., Veneman, T., Jenssen, T., Cryer, P., Gerich, J. 1992. Evidence against the hypothesis that hyperinsulinemia increases sympathetic nervous system activity in man. *Metabolism* 41: 198–200.
- ❑ Miyashita, T., Williams, C.L., 2006. Epinephrine administration increases neural impulses propagated along the vagus nerve: role of peripheral beta-adrenergic receptors. *Neurobiol. Learn. Mem.* 85: 116–124.
- ❑ Morales, L., Betanzos, R., Domínguez, R. 2004. Unilateral or Bilateral Vagotomy Performed on Prepubertal Rats at Puberty Onset of Female Rat Deregulates Ovarian Function. *Archives of medical research.* (35): 279-283.
- ❑ Morales, L., Betanzos, R., Domínguez, R. Unilateral or bilateral vagotomy performed on prepubertal rats at puberty onset of female rat deregulates ovarian function. *Arch. Med. Res.* 35: 279 – 283.
- ❑ Morales, L., Chávez, R., Domínguez, R. 1993. Participation of the Superior Ovarian Nerve in the Regulation of Ovulation in the Prepubertal Rat: Differential Effects of Unilateral and Bilateral Section of the Nerve. *Medical Science Research.* 21: 15-17.
- ❑ Morales, L., Linares, R., Rosas, G., Morán, C., Chavira, R., Cárdenas, M., Domínguez, R. 2010. Unilateral sectioning of the superior ovarian nerve of rats with polycystic ovarian syndrome restores ovulation in the innervated ovary. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 8:99.
- ❑ Morales, L., Ricardo, B. Bolaños, A., Chavira, R., Domínguez, R. 2007. Ipsilateral vagotomy to unilaterally ovariectomized pre-pubertal rats. *Reproductive Biology and Endocrinology.* 5: 24.

- ❑ Morán, V. C. 2006. Síndrome de Ovario Poliquístico. En: Lombardia, P. J., P. Fernández Editores. Ginecología y reproducción humana. Especialistas en ginecología y obstetricia. México. Art. 35. Pp. 313-318.
- ❑ Moreno-Aliaga, M. J., O. Lamas, A. Martí, J. A. Martínez. 2002. Effects of a beta3-adrenergic agonist on glucose uptake and leptin expression and secretion in cultured adipocytes from lean and overweight (cafeteria) rats. *Biochem. Biophys Res. Commun.* 291: 1201–1207.
- ❑ Mravec, B., 2011. Role of catecholamine-induced activation of vagal afferent pathways in regulation of sympathoadrenal system activity: negative feedback loop of stress response. *Endocr. Regul.* 45, 37–41.
- ❑ Mravec, B., Ondicova, K., Tillinger, A. Pecenak, J. 2015. Subdiaphragmatic vagotomy enhances stress-induced epinephrine release in rats. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical.* 190: 20 – 25.
- ❑ Murphy, B. 2011. Ovulación. Tomado de: Memorias IX Simposio Internacional de Reproducción Animal–IRAC 9,10 y 11 de Septiembre de 2011. Centro de Investigación en Reproducción Animal, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Montreal, Canadá.
- ❑ Myers, B., McKlveen, J.M., Herman, J.P. 2012. Neural regulation of the stress response: the many faces of feedback. *Cell. Mol. Neurobiol.* 32, 683–694.
- ❑ Nakamura, Y., Kato, H., Terranova, P. F. 1992. Abdominal vagotomy decreased the number of ova shed and serum progesterone levels on estrus in the cyclic hamster. *Endocrinol. Jap.* 39:141-145.

- ❑ Nankova, B., Kvetnansky, E., Hiremagalur, B., Sabban, B., Rusnak, M., Sabban, E. L. 1996. Immobilization stress elevates expression for catecholamine biosynthetic enzymes and some neuropeptides in rat sympathetic ganglia: effects of adrenocorticotropin and glucocorticoides. *Endocrinology*; 137: 5597-604.
- ❑ Navarrete, M. I. 2014. Tesis de licenciatura: Modificación de las funciones ováricas en el animal con síndrome de ovario poliquístico inducido por la administración de valerato de estradiol o la exposición de estrés por frío. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. UNAM. México, D.F.
- ❑ Ojeda, S. R., Costa, M. E., Katz, K. H, Hersh, L. B. 1985. Evidence for the Existence of Substance P in the Prepuberal Rat Ovary. *Biology of Reproduction*. 33: 286 – 295.
- ❑ Ojeda, S. R., W. W. Andrews, J. P. Advis, S. Smith White. 1980. Recent advances in the endocrinology of puberty. *Endocrine Rev.*, 1: 228-257.
- ❑ Ojeda, S. R., White, S. S., Aguado, L. I., Advis, J. P., Andersen, J. M. 1983. Abdominal vagotomy delays the onset of puberty and inhibits ovarian function in the female rat. *Neuroendocrinology*. 36:261–267.
- ❑ Ojeda, S.R., H.F. Urbanski. 1994. Puberty in the Rat. En: Knobil E, Neill J. M. (Eds.) *The Physiology of Reproduction*. 2a edición. Raven Press. New York. vol. 2 pp. 363-382.
- ❑ Oktem O., K. Oktay. 2008. The ovary: anatomy and function throughout human life. *Ann NY Acad Sci*; 1127:1–9.
- ❑ Pacak, K., Palkovits, M., Yadid, G., Kvetnansky, R., Köpin, I. J., Goldstein, D. S. 1998. Heterogeneous neurochemical responses to

- different stressors: a test of Selye's doctrine of nonspecificity. *Am. J. Physiol: Regul Integr. Comp. Physiol.* 275: R1274 – R1255.
- ❑ Paredes, A., A. Gálvez, V. Leyton, G. Aravena, J. L. Fiedler, D. Bustamante, H. Lara. 1998. Stress promotes development of ovarian cysts in rats. The possible role of sympathetic nerve activation. *Endocrine*, vol. 8, no. 3, 309-315.
 - ❑ Peter, H. 1970. Some aspects of early follicular development. En: *Ovarian Follicular Development and Function*. Migdley, A. R., W. A. Sadler, Eds. Raven Press, Nueva York. Pp. 1-3.
 - ❑ Raga, F., M. Muñoz, P. Ferrer. 2009. Foliculogénesis. Centro Medico de Reproducción Asistida. Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina. Valencia. Pp. 2-6.
 - ❑ Rivier, C., W. Vale. 1987. Inhibin: Measurement and role on the immature female rat. *Endocrinology*, 120: 1688-1690.
 - ❑ Rodríguez Solano, A. 2005. Guía de laboratorio de histología. Ed. de la Universidad de Costa Rica. Costa Rica. Pp. 111.
 - ❑ Rosales, J. C., A. Prado, M. I. Camejo. 2006. Infertilidad: Fisiología, diagnóstico y tratamiento. FERTILAB. Unidad de Reproducción Humana, Caracas. Pp. 37-54.
 - ❑ Rosas, G. G. 2006. Tesis de licenciatura: Efecto de la inducción del síndrome del ovario poliquístico en la rata infantil, sobre la dinámica del crecimiento folicular y la secreción. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM. México, D. F.
 - ❑ Ross, M. H. 2007. *Histología: Texto y atlas color con Biología Celular y Molecular*. 5ta. Edición. Ed. Médica Panamericana. Pp. 829-839.

- ❑ Sánchez Criado, J. E. 1999. Fisiología del Ovario. En: Tresguerres J. A. Ed. Fisiología Humana. 2ª edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. Madrid. Cap. 75. Pp. 1020-1032.
- ❑ Sander, H. J., H. M. A. Meijs-Roelofs, P. Kramer, F. C. M. van Leeuwen. 1987. Inhibin-like activity in ovarian homogenates of prepubertal female rats and its physiological significance. *J. Endocr.*, 107: 251-257.
- ❑ Sankaran, S., I. Manyonda. 2008. Medical Management of Fibroids. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynecology* 22(4):655-676.
- ❑ Schreiber, J. R., Hsueh, A. J., Weinstein, D. B., Erickson, G. F. 1980. Plasma lipoproteins stimulate progesterin production by rat ovarian granulosa cells cultured in serum free medium. *J. Steroid. Biochem.* 13(9): 1009 – 14.
- ❑ Schreiber, J. R., K. Nakamura, G. Erickson. 1980. Progesterins inhibit FSH-stimulated steroidogenesis in cultured rat granulosa cells. *Mol Cell Endocrinol* 19: 165-173.
- ❑ Schwartz, G. J., Berkow, G., McHugh, P. R., Moran, T. H. 1993. Gastric branch vagotomy blocks nutrient and cholecystokinin-induced suppression of gastric emptying. *Am J Physiol.* 264: R630 – R637.
- ❑ Selstam, G., Norjavaara, E., Tegenfelt, T., Lundberg, S., Sandstrom, C., Persson, S. 1985. Partial denervation of the Ovaries by Transection of the Suspensory Ligament does not Inhibit Ovulation in Rats Treated with Pregnant mare Serum Gonadotropin. *Anat. Rec.* 213: 392-395.
- ❑ Selye, H. A. 1936. Syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature* 138: 32.

-
- ❑ Smith, O. L., S. B. Davidson. 1982. Shivering thermogenesis and glucose uptake by muscles of normal or diabetic rats. *Am. J. Physiol.* 242: 109–115.
 - ❑ Smith-White, S., S. R. Ojeda. 1981. Change in ovarian luteinizing (LH) and follicle stimulating hormone (FSH) receptor content and in gonadotropin-induced ornithine decarboxylase activity during prepubertal and pubertal development of the rat. *Endocrinology*, 109: 152-161.
 - ❑ Stocco, D. M., Clark, B. J. 1996. Regulation of the acute production of steroids in steroidogenic cells. *Endocr. Rev.* 17:221-ZM.
 - ❑ Straus III, J. F., Hsueh, A. J. W. 2004. Ovarian Hormone Synthesis. En: Marshal, J. C. (Ed.) *Female Reproduction*. Cap. 148.
 - ❑ Strauss III, J. F., Peming, T. M. 1999: Synthesis of the sex steroid hormones: Molecular and structural biology with applications to clinical practice. En: Fauser, B. C. J. M., Rutherford, A. J., Strauss, J. F. (eds): *Molecular Biology in Reproductive Medicine*. New York, Pafhenon. pp 201-237.
 - ❑ Tasker, J.G., Herman, J.P. 2011. Mechanisms of rapid glucocorticoid feedback inhibition of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis. *Stress* 14: 398–406.
 - ❑ Tresguerres, J. A. F. 2010. *Fisiología del sistema endocrino*. Ed. McGraw Hill. Pp. 1007-1015.
 - ❑ Upledger, J. E. 2004. *Terapia Craneosacra II. Más Allá de la Duramadre*. Editorial Paidotribo. 1era ed. Barcelona. Págs. 126-134.
 - ❑ Urbanski, H. F., S. R. Ojeda. 1983. The juvenile-peripubertal transition period in the female rat: establishment of a diurnal pattern of pulsatile luteinizing hormone secretion. *Endocrinology*, 117: 644-649.
 - ❑ Vaccari, S., Latini, S., Barberi, M., Teti, A., Stefanini, M., Canipari, R. 2006. Characterization and expression of different pituitary adenylate

- cyclase-activating polypeptide/vasoactive intestinal polypeptide receptors in rat ovarian follicles. *Journal of Endocrinology*. 191:287–299 .
- ❑ Vallerand, A. L., F. Perusse, L. J. Bukowiecki. 1987. Cold exposure potentiates the effect of insulin on in vivo glucose uptake. *Am. J. Physiol.* 253. 179–186.
 - ❑ Wittert, G. A., Or, H. K., Livesey, J. H., Richards, A. M., Donald, R. A., Espiner, E. A. 1992. Vasopressin, corticotrophin releasing factor, and pituitary adrenal responses to acute cold stress in normal humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 75: 750 – 755.
 - ❑ Wuttke, W., K. Honma, J. Lamberts, K. G. Hohn. 1980. The role of monoamines in female puberty. *Fed. Proc.*, 39: 2378-2383.
 - ❑ Yen, S. S. C., P. Vela, J. Rankin. 2001. Inappropriate secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone in polycystic ovarian disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 30:435.



LVII CONGRESO NACIONAL
SOCIEDAD MEXICANA DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS

Otorga la presente

CONSTANCIA

a:

Daniel Ricardo Velázquez Eden

Quien asistió y presentó el trabajo

Efectos del estrés por frío y restricción de movimiento en las funciones del ovario

Por:

Linares-Culebro Rosa, Velázquez-Edén Daniel Ricardo, Domínguez-Casalá Roberto, Morales-Ledesma Letficia

En la modalidad de cartel durante el

LVII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas.

Agosto 31 a Septiembre 4, 2014 en Oaxaca, Oax.

Atentamente

Por el Comité Organizador

Marcia Hirriart U.

Dra. Marcia Hirriart Urdanivia



LVIII CONGRESO NACIONAL
SOCIEDAD MEXICANA DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS

Otorga la presente

CONSTANCIA a:

Daniel Ricardo Velázquez Edén

Quien asistió y presentó el trabajo

Participación del Nervio Vago en la regulación de las funciones ováricas de la rata estresada

Co-autores:
Velázquez-Edén Daniel Ricardo, Linares-Culebro Rosa, Domínguez-Casalá Roberto, Morales-Ledesma Leticia

En la modalidad de presentación de Cartel durante el
LVIII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas
del 6-10 de septiembre, 2015. San Miguel de Allende, Gto.

Atentamente
La Mesa Directiva y Comité Organizador

Marcia Hirriart U.

Dra. Marcia Hirriart Urdanivia

Dr. Daniel Ortuño Sahagún