



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

"ZARAGOZA"

“Participación del Nervio Ovárico Superior en el
Desarrollo del Síndrome del Ovario Poliquístico.
La rata como modelo de estudio”.

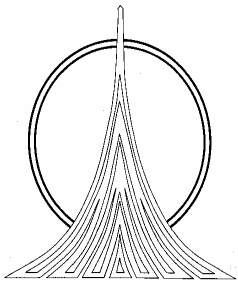
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G O

P R E S E N T A:

ROSA LINARES CULEBRO



DIRECTORA DE TESIS: DRA. LETICIA MORALES LEDESMA

MEXICO, D.F.

OCTUBRE DE 2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

CARRERA DE BIOLOGÍA

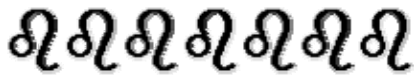
**“Participación del Nervio Ovárico Superior en el
Desarrollo del Síndrome del Ovario Poliquístico.
La rata como modelo de estudio”.**

Tesis presentada por: Rosa Linares Culebro.

Directora de Tesis: Dra. Leticia Morales Ledesma

**Realizada en el Laboratorio de Fisiología Reproductiva de la
Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción
FES-ZARAGOZA, UNAM**

**Durante la elaboración de esta Tesis se contó con el Apoyo Financiero
del CONACYT 40300-A y de la DGAPA-PAPIIT convenio IN-200505.**



A G R A D E C I M I E N T O S

A **DIOS**, por la oportunidad de existir y por haber puesto en mi camino valiosas personas que han contribuido con sus consejos y sabiduría a la culminación de una etapa más de mi vida.

A la **UNAM**, porque me acuño en su seno y por medio de su prestigio y profesores obtuve grandes beneficios que me hicieron crecer, madurar y ahora llegar al final de mi carrera profesional.

A la **Dra. Leticia Morales Ledesma**, porque gracias a su dedicación, dirección e infinita paciencia logre culminar este proyecto de vida.

A los miembros del jurado:

Dr. Roberto Domínguez Casalá.

Dra. Leticia Morales Ledesma.

Dra. Patricia Rosas Saucedo.

M. en C. Rosalva Rangel Corona.

Biól. Cristina Alvarado Domínguez.

Por dedicar tiempo a la revisión de éste estudio y compartir sus conocimientos para enriquecerlo.

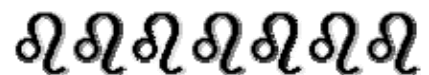
Al **Dr. Roberto Domínguez Casalá**, por su ayuda y valiosos aportes durante la elaboración de ésta tesis.

A todos mis compañeros y amigos de la Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción: Ubaldo, Javier, Adán, Bety, Avisahi, Deyra, Elizabeth y en especial a **Gaby**, por su apoyo, amistad y solidaridad.

A mis exprofesores y actuales amigos, **Meche, Magda, Alfredo, Paty, David, Gerardo y Juan Romero**, por compartir conmigo sus enseñanzas académicas y por sus palabras de aliento en los momentos difíciles.

A Maria Luisa Vera por su colaboración en la realización de la técnica en el estudio histológico.

A la **Dra. Adriana**, a la secretaria **Lucy** y al personal del Bioterio de la FES Zaragoza, por el cuidado a los animales utilizados en este estudio.



XXXXXXXXXXXX

XXXXXX

DEDICATORIAS

*A mis padres **Macedonio** y **Crecencia**, por ser los pilares que sostienen mi vida y por enseñarme que en la vida los sueños se vuelven metas y una de ellas la hemos logrado **juntos** hoy. Muchas Gracias.*

*A mí **Padre**, porque con su ejemplo, amor, rectitud y delicadas enseñanzas, logro fundar en mí un espíritu de superación, que me ha permitido llegar hasta donde hoy me encuentro.*

*A mí **Mamá**, por esas noches de desvelo compartidas, por su ejemplo de superación incansable, por sus palabras de amor, ternura y comprensión que me reconfortaban cada día, pero sobre todo por sus sacrificios, comprensión, amor y dedicación hacia mi y mis hermanos a lo largo de nuestras vidas **Te Amo Mamá.***

*A mis hermanos, **Francisco**, **Javier** y **Adolfo**, porque sin ustedes mi felicidad no sería completa y porque juntos formamos el mejor de los equipos, los quiero mucho.*

XXXXXXXXXXXX

XXXXXXXXXXXX

X
X
X
X
X

D E D I C A T O R I A S

A mis Abuelitos, Tíos y demás familiares, por demostrarme su apoyo y amor incondicional en todo momento.

A Isabel, Cristóbal, Edi, Aída y Ángel, por haberme hecho sentir como un miembro más de su familia y brindarme su apoyo y cariño incondicional.

A la Dra. Lety, por su invaluable apoyo, infinita paciencia y su valiosa amistad y por hacer de mí y mis compañeros personas con criterio capaces de solucionar problemas personales y profesionales.

A Gaby, por su apoyo y comprensión a lo largo de nuestra amistad y porque en el futuro sigamos alcanzando metas y cosechando éxitos.

A Samantha, por compartir conmigo tu sonrisa angelical, tus bromas inocentes y sobre todo por enseñarme el valor de una verdadera amistad.

X
X
X
X
X

XXXXXXXXXXXX

XXXXXXXXXXXX

XXXXXXXXXX

DEDICATORIAS

A Isra, por llenar mi vida de alegría, esperanza, comprensión y amor y porque en un futuro compartamos un mismo sueño lleno de logros e ilusiones.

A mis grandes amigos:

Gaby, Giovanna y Magda por los momentos compartidos y porque nuestra amistad perdure a lo largo del tiempo y podamos superar todos los obstáculos que a lo largo del camino se presenten y alcanzar así nuestros sueños más anhelados.

Edith, Cecilia, Paulina y Claudia, porque a pesar del tiempo y la distancia nuestra amistad permanece intacta y siempre presente.

Arturo, Jesús, Miguel y Osvaldo por ser unos verdaderos amigos y porque en todo momento me brindaron su apoyo incondicional.

XXXXXXXXXX

XXXXXXXXXXXX

ÍNDICE DE CONTENIDO

	PÁGINAS
ABREVIATURAS.....	i
RESUMEN.....	iii
INTRODUCCIÓN.....	1
MARCO TEÓRICO.....	3
Pubertad en la Rata.....	3
Etapas del Desarrollo Postnatal	4
Desarrollo Folicular.....	6
Atresia Folicular.....	12
Inervación Ovárica.....	14
Neuronas Intraováricas.....	19
Participación de la Inervación en la regulación de las Funciones Ováricas	20
Efectos de la Denervación Simpática.....	24
Síndrome del Ovario Poliquístico.....	26
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	28
HIPÓTESIS.....	29
OBJETIVO GENERAL.....	30
OBJETIVOS PARTICULARES.....	30
MATERIALES Y MÉTODOS.....	31

	PÁGINAS
RESULTADOS.....	36
EXPERIMENTO 1. Efecto de la sección unilateral o bilateral del NOS en animales tratados con vehículo o valerato de estradiol, sobre el patrón del ciclo estral.....	36
EXPERIMENTO 2. Efecto de la sección unilateral del NOS, Sobre el inicio de la pubertad y las funciones ováricas.....	38
EXPERIMENTO 3. Efecto de la administración de Valerato de estradiol, sobre la respuesta ovulatoria.....	45
EXPERIMENTO 4. Efecto de la sección unilateral o bilateral del NOS en ratas tratadas con valerato de estradiol, sobre el inicio de la pubertad y las funciones ováricas.....	46
DISCUSIÓN.....	55
MODELO.....	61
CONCLUSIONES	63
REFERENCIAS.....	64

ABREVIATURAS

SOPQ	Síndrome del ovario poliquístico
NOS	Nervio ovárico superior
VE	Valerato de estradiol
LH	Hormona luteinizante
FSH	Hormona estimulante del foliculo
GnRH	Hormona liberadora de las gonadotropinas
IGF-I	Factor de crecimiento semejante a la insulina
Il-6	Interleucina-6
TNF-α	Factor de necrosis tumoral α
EGF	Factor de crecimiento epidermal
NGF	Factor de crecimiento neural
bFGF	Factor de crecimiento fibroblasto básico
NA	Noradrenalina
NPY	Neuropéptido Y
VIP	Péptido intestinal vasoactivo
SP	Substancia P
CGRP	Péptido relacionado con el gen que codifica a la calcitonina

PO	Plexo ovárico
TH	Tirosina hidroxilasa
MAO	Monoaminoxidasa
COMT	Catecol-O-metil transferasa
NGF-Ab	Anticuerpos al factor de crecimiento neural
PMSG	Gonadotropina de yegua preñada
NGF	Factor de crecimiento neural
NGF-p75	Receptor de baja afinidad
Vh	Vehículo
OSI	Operación simulada izquierda
OSD	Operación simulada derecha
SNOI	Sección del nervio ovárico superior izquierdo
SNOD	Sección del nervio ovárico superior derecho
SBNO	Sección bilateral del nervio ovárico superior
ANDEVA	Análisis de varianza multifactorial
EAV	Edad de apertura vaginal
PEV	Primer estro vaginal

R E S U M E N

El síndrome del ovario poliquístico (SOPQ) es la causa más común de infertilidad en mujeres de edad reproductiva. En los últimos años ésta patología ha sido vinculada con una mayor actividad de las fibras simpáticas que llegan al ovario, por el nervio ovárico superior (NOS). La administración de valerato de estradiol (VE) en ratas prepúberes o adultas incrementa la actividad de las fibras catecolaminérgicas lo que resulta en un incremento del contenido de noradrenalina en el ovario y disminución del número de receptores β -adrenérgicos. La hiperactividad de los nervios simpáticos trae como resultado la falta de ovulación, formación de quistes foliculares así como altas concentraciones plasmáticas de andrógenos y estrógenos, semejante a lo observado en pacientes con SOPQ.

En el presente estudio se utilizó como modelo al animal con SOPQ, inducido por la administración de VE, con el fin de analizar el papel de la inervación simpática en el desarrollo de la patología. Para ello a ratas hembras de la cepa CII-ZV de 10 días de edad se les administró por vía intraperitoneal 2 mg de VE en aceite de maíz y 14 días después se les realizó una laparotomía o se les seccionó el NOS unilateral o bilateralmente. Como grupos testigo se utilizaron hembras a las que sólo se les realizó la operación simulada (laparotomía) o la sección unilateral o bilateral del NOS. Todos los animales fueron sacrificados por decapitación a los 90 días de edad en el día del estro.

En las ratas tratadas con VE la sección unilateral o bilateral del NOS restableció el ciclo estral. La sección unilateral del NOS resultó en un retraso en el inicio de la pubertad, comparado con las hembras a las que sólo se les inyectó el VE.

En las hembras tratadas con VE, la sección unilateral del NOS incrementó significativamente la tasa de animales ovulantes por el ovario inervado, comparado con el ovario contralateral (sección izquierda 7/9 vs. 2/9, $p < 0.05$; sección derecha 9/10 vs. 2/10, $p < 0.05$). En el grupo con sección bilateral se restableció la cuota ovulatoria por ambos ovarios.

En los animales inyectados con VE a los que se les seccionó el nervio derecho o ambos nervios la concentración sérica de progesterona fue menor, que en el grupo inyectado sólo con VE.

La concentración de testosterona y estradiol fue menor en los animales tratados con VE y sección unilateral o bilateral del nervio ovárico superior que en los animales que sólo fueron inyectados con el VE.

Dado que en el modelo del animal con síndrome del ovario poliquístico, la sección bilateral del nervio ovárico superior restablece la función ovárica en ambos ovarios, mientras que la sección unilateral del NOS lo hace sólo en el ovario inervado, sugerimos que la inervación simpática regula de manera estimulante el desarrollo del SOPQ y es suficiente la eliminación de una vía de información simpática para que se presente la recuperación de las funciones de la gónada inervada.

INTRODUCCIÓN

El SOPQ, es un desorden endócrino que afecta a mujeres en edad reproductiva, caracterizado por presentar hiperandrogenismo, irregularidad del ciclo menstrual, falta de ovulación e infertilidad (Barria y col., 1993; Franks y col., 1995; Yen, 2001).

A pesar de que se han descrito las características clínicas que definen al SOPQ y de que se han aplicado diferentes estrategias terapéuticas para su tratamiento, se conoce poco sobre los factores primarios que inician la disfunción que trae como consecuencia esta patología (Barria y col., 1993; Lara y col., 1993; Rosa-E-Silva y col., 2003).

Algunos autores han propuesto que el SOPQ es el resultado de un defecto a nivel del hipotálamo, que trae como consecuencia una alteración en el patrón de secreción basal de las gonadotropinas (Abdel y col., 1991). En las pacientes con este síndrome el modelo de secreción de gonadotropinas puede variar de una mujer a otra, en algunos casos se puede presentar una mayor concentración de la hormona luteinizante (LH) que de la estimulante del folículo (FSH). Además, se ha mostrado que el eje hipotálamo-hipófisis es capaz de responder al mecanismo de retroalimentación estimulante e inhibitoria ejercido por el estradiol (Yen, 1980) y puede reiniciar su función cíclica después de una manipulación terapéutica apropiada.

Tanto en la mujer (Yen, 1991) como en la rata (Hemmings y col., 1983) con SOPQ la administración de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) puede restablecer la ovulación. También se ha mostrado que en la mujer se puede normalizar la función cíclica del ovario por la administración de un antiestrógeno como el citrato de clomifeno, que bloquea el mecanismo de retroalimentación inhibitoria de los estrógenos (Barria y col., 1993). Mientras que en la rata la hemiovariectomía favorece la disminución de la concentración de estradiol y ello permite el reinicio de la función cíclica (Farookhi y col., 1985; Convery y col., 1990).

Es posible que el síndrome se desarrolle no sólo por una alteración hipotalámica sino también por un daño a nivel intraovárico (Barria y col., 1993; Rosa-E-Silva y col., 2003). Se ha propuesto a la insulina y al factor de crecimiento semejante a la insulina (IGF-I) como algunas de las moléculas intraováricas implicadas en la regulación parácrina/autócrina del síndrome (Iwashita y col., 1990).

La complejidad de esta patología reproductiva lleva a la necesidad de buscar nuevas alternativas sobre el origen de la disfunción que origina el síndrome; la alteración en el control neurogénico del ovario puede jugar un papel importante en la iniciación o el mantenimiento del SOPQ. Esta aseveración se ve apoyada por el hecho de que en los ovarios de pacientes con el síndrome, incrementa la actividad de los nervios catecolaminérgicos (Semonova, 1969) y la eliminación de la fuente simpática puede restablecer los ciclos ovulatorios (Vaitukaitis, 1983; Nakamura , 1990; Yen, 1991).

En la rata con SOPQ inducido por la administración VE, la esteroidogénesis del ovario se ve incrementada en respuesta a la estimulación de los receptores β -adrenérgicos. La eliminación del aporte simpático al ovario por la sección bilateral del NOS, restablece la respuesta esteroidogénica y ovulatoria de la gónada (Lara y col., 1991; Barria y col., 1993). Dado que el efecto de la sección bilateral no es el resultado de realizar la sección del NOS izquierdo y derecho (Chávez y col., 1991; Morales y col., 1993), asumimos que este nervio presenta una asimetría funcional, por lo que en el presente estudio se analizó la participación del NOS izquierdo y derecho en la regulación del síndrome del ovario poliquístico, utilizando como modelo experimental a la rata infantil.

MARCO TEÓRICO

Pubertad en la Rata

En los mamíferos el inicio de la etapa reproductiva está marcado por la pubertad, que es la fase biológica de un individuo entre la madurez y la inmadurez sexual (Ramírez, 1973; Ramaley, 1980), en la que se produce la maduración anatómica y fisiológica del eje hipotálamo-hipófisis-gónada. Es un evento que depende de factores internos y externos del individuo (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990; Ojeda y Urbansky, 1994; Goldfien y Monroe, 1998).

La diferenciación sexual del encéfalo en la rata se produce durante los primeros cinco días de vida extrauterina y es inducida por la presencia o ausencia de testosterona secretada por los testículos. En la rata hembra el único signo externo que marca el inicio de la pubertad es la canalización de la vagina, evento que se origina entre los 35 y 40 días de edad y depende de la cepa del animal. La apertura vaginal puede darse en el día del primer estro y puede o no estar acompañada de la primera ovulación (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990).

Etapas del Desarrollo Postnatal

En la rata el desarrollo de los mecanismos neuroendócrinos que regulan el inicio de la pubertad se producen en un lapso de cinco semanas; durante este tiempo el animal presenta un incremento en peso y talla. Ojeda y colaboradores (1980) con base en parámetros fisiológicos y morfológicos del eje hipotálamo-hipófisis-gónada han clasificado este periodo en cuatro etapas:

Etapa Neonatal: Está etapa se inicia desde el nacimiento y culmina el día siete de vida. El control del desarrollo folicular por las gonadotropinas se inicia a partir del día quinto de vida, momento en el cual las células de la granulosa del folículo ya presentan receptores a la FSH. La unión de la FSH a su receptor estimula la síntesis de la aromatasa, enzima que cataliza la conversión de la testosterona a estrógenos; la mayor parte de los estrógenos circulantes se van a encontrar unidos la α -fetoproteína, de manera que aún no se puede establecer el mecanismo de retroalimentación estimulante o inhibitorio a nivel del hipotálamo e hipófisis (Raynaud, 1973, Lamprecht y col., 1976, en Becu-Villalobos y Lacau- Mengido, 1990).

Etapa Infantil: Transcurre del día ocho al día 21 de vida. Durante esta etapa se observan altas concentraciones plasmáticas de FSH, que favorecen el reclutamiento y crecimiento de los folículos que llegaran a ovular en la pubertad. Se presentan incrementos bruscos de LH, conocidos como "picos" esporádicos (Döhler y Whuttke, 1974), que en el día 15 de vida desaparecen y la concentración de FSH disminuye. Además, disminuye la α -feto proteína y por lo tanto se hace más eficiente la participación del estradiol en la regulación de la síntesis de gonadotropinas (Becu-Villalobos y Lacau- Mengido, 1990).

En estudios previos se ha mostrado que en nuestra cepa de ratas (CII-ZV) cuando el animal tiene 10 días de edad el ovario presenta un gran número de folículos, que disminuyen al final de la etapa infantil. En el perfil de secreción de LH se observa un incremento brusco entre los 14 y 16 días de edad del animal y tiende a disminuir en las etapas subsecuentes. Aunque la concentración de progesterona no se ve modificada durante esta etapa, la de estradiol incrementa conforme el animal crece. En el hipotálamo anterior y medio la concentración de NA aumenta al final de la etapa infantil, entre los 16 y 18 días de edad, mientras que no se modificó en el hipotálamo posterior (Castro, 1999).

Etapa Juvenil: Se inicia en el día 22 y termina alrededor del día 32 de vida; en ésta fase la secreción de la LH se presenta de manera pulsátil, inicialmente la concentración de la hormona es baja y tiende a incrementar conforme madura el animal (Andrews y Ojeda, 1981). A nivel ovárico aumenta la esteroidogénesis, por la influencia de la LH y del aumento en la cantidad de receptores a esta hormona (Smith-White y Ojeda, 1981).

Etapa Peripuberal: inicia en el día 33 de vida y su duración está determinada por el momento de la canalización de la vagina, por lo que su duración es variable. En esta etapa se establece el patrón circadiano de secreción de la LH. En el ovario el número de receptores a la FSH y LH es máximo, lo que se traduce en una mayor respuesta esteroidogénica. Las concentraciones de estrógenos, progesterona y testosterona incrementan significativamente en relación a la etapa juvenil (Ojeda y Urbanski, 1994). En esta fase los estrógenos modulan la secreción de las gonadotropinas, las que al actuar sobre el ovario estimulan el crecimiento y la maduración del folículo preovulatorio. El folículo preovulatorio responde a la liberación brusca de la LH y el evento culmina con la primera ovulación (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990).

Desarrollo Folicular

La función reproductiva es regulada por el eje hipotálamo-hipófisis-ovario (Lara y col., 1993; Barria y col., 1993; Rosa-E-Silva y col., 2003). El hipotálamo recibe la señal neuroendócrina y en respuesta sintetiza la GnRH, este péptido llega a los gonadotropos vía el sistema porta hipotalámico, donde estimula la liberación de la FSH y LH. Ambas gonadotropinas estimulan el crecimiento y la maduración de los folículos ováricos, así como la producción de hormonas esteroideas (figura 1) (Speroff, 1983; Sánchez Criado, 1999).

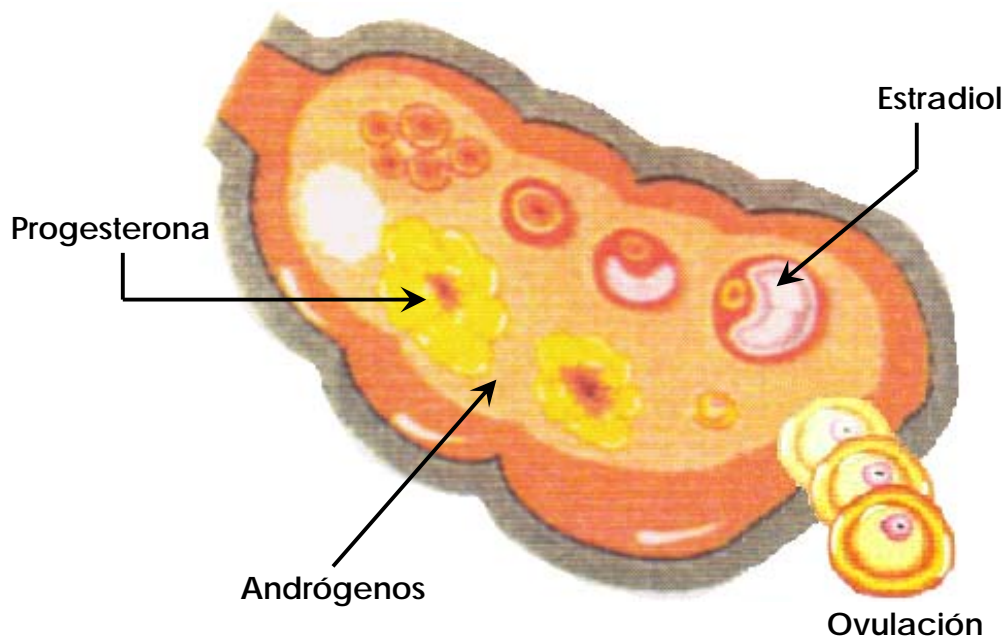


Figura 1. Se muestra de manera esquemática la secreción de estradiol por parte de los folículos ováricos, de progesterona por el cuerpo lúteo y de andrógenos por la glándula intersticial, así como la expulsión del óvulo maduro. Modificado de Arias, 2003.

El ovario de los mamíferos presenta tres zonas: la médula, la corteza y el hilio.

☞ **La médula:** está compuesta por tejido conectivo laxo, que contiene numerosos nervios, microganglios nerviosos y la glándula intersticial formada por células provenientes de la teca de los folículos atrésicos, así como por vasos sanguíneos y linfáticos.

☞ **La corteza:** se compone de un estroma de tejido conectivo, en el que están incluidos los folículos ováricos en diferentes estadios de maduración (Sánchez Criado, 1999; Geneser, 2000).

☞ **El hilio:** es donde penetran la arteria y la vena ovárica, las fibras nerviosas y los vasos linfáticos (Sánchez Criado, 1999).

El ovario es una estructura dinámica, donde los folículos antrales se desarrollan a partir de folículos primordiales, los cuales, en el caso de la mujer, permanecen por muchos años en estado de latencia hasta que son reclutados y restablecen su crecimiento y maduración. Hasta el momento los mecanismos de reclutamiento o selección de los folículos primordiales son desconocidos (Goldfien y Monroe, 1998).

El folículo es la unidad anátomo-funcional del ovario y está constituido por un ovocito, células de la granulosa que rodean al ovocito, la membrana basal que separa a las células de la granulosa de los otros componentes del folículo, las células de la teca que rodean a la membrana basal y se diferencian en una teca interna y otra externa. Conforme crece el folículo aumenta el número de células de la granulosa por mitosis, asimismo se forma entre el ovocito y las células de la granulosa una cavidad antral, por la unión de espacios llenos de líquido folicular incoloro y viscoso (Freeman, 1994; Gore-Langton y Armstrong, 1994) (Figura 2).

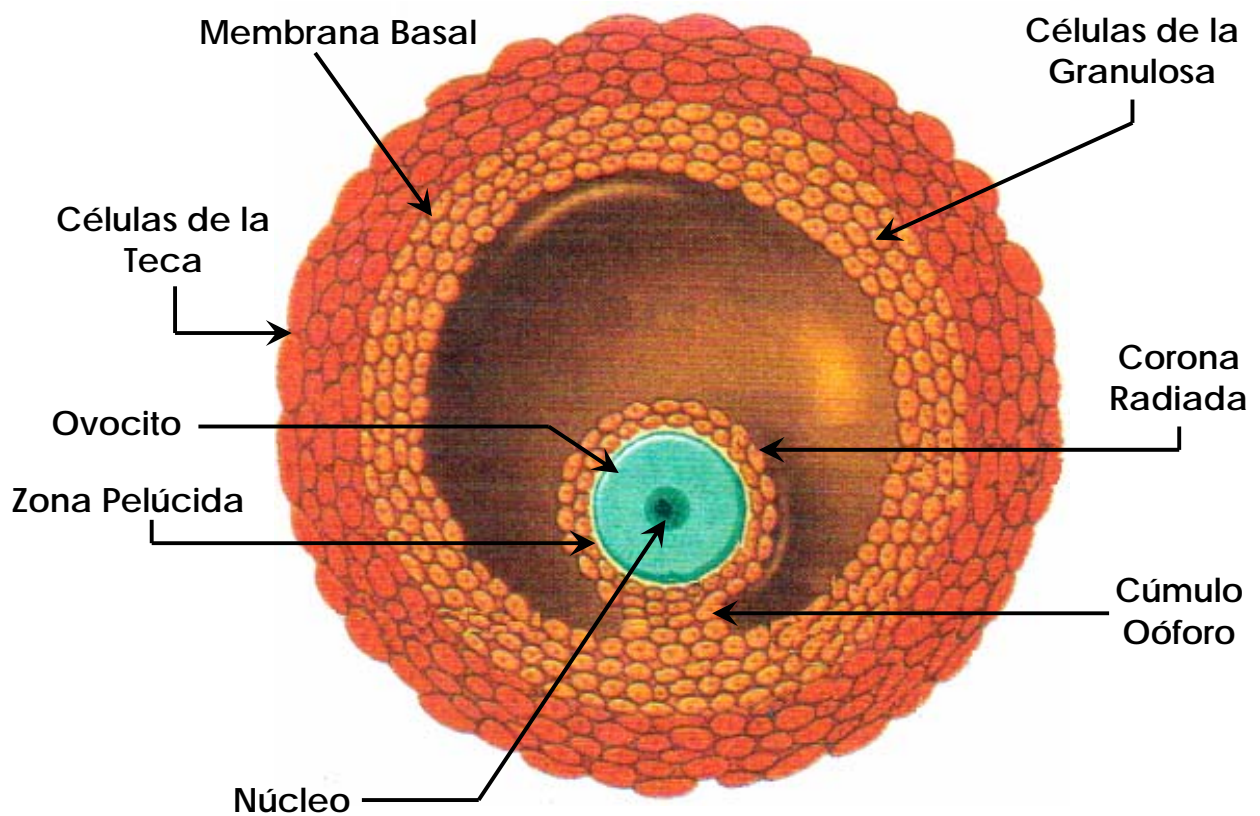


Figura 2. Esquema que muestra las diferentes partes anatómicas que constituyen un folículo preovulatorio. Modificado de Vander y col., 2001.

Durante su crecimiento los folículos pasan por varias etapas, que si bien el paso de una etapa a otra es imperceptible, sirven para caracterizarlos (Bergman y col., 1998; Goldfien y Monroe, 1998). Estas etapas son: folículo primordial, primario, secundario, terciario o folículo de De Graaf (Figura 3).

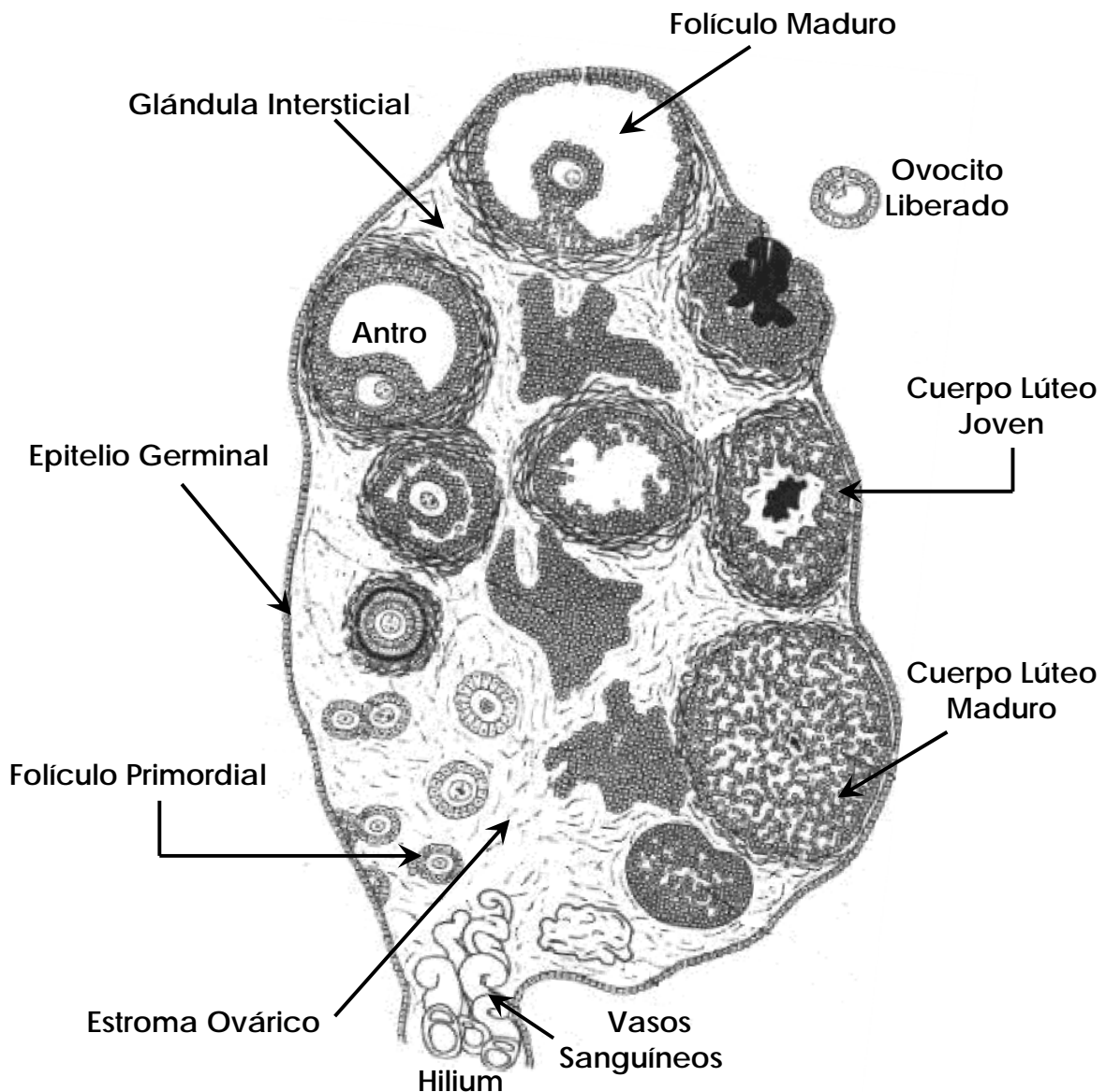


Figura 3. Esquema del ovario de mamíferos, que muestra las diferentes etapas de desarrollo por las que pasa un folículo. Tomado de Goldfien y Monroe, 1998.

Folículo Primordial¹: Presenta un ovocito de 20 a 30 micras de diámetro con un núcleo vesicular grande, rodeado por una capa simple de células foliculares escamosas derivadas del epitelio germinal embrionario (Bergman y col., 1998). Estos folículos se encuentran principalmente en la corteza externa por debajo de la cápsula fibrosa del ovario (Goldfien y Monroe, 1998).

El cambio morfológico indicador de que el folículo primordial ha salido de la población de los folículos en reposo y que su crecimiento ha sido reactivado, es un aumento en el tamaño del ovocito, lo que es seguido por la formación de la zona pelúcida, membrana que rodea al ovocito. cuando el ovocito mide entre 80 a 100 μm las células de la granulosa planas, adoptan una apariencia cuboidal. En esta etapa del desarrollo, la unidad folicular se conoce como **folículo primario** (Goldfien y Monroe, 1998; Van Voorhis, 1999).

El folículo primario continúa su crecimiento por la proliferación de las células de la granulosa, dando lugar a la formación del **folículo secundario** que tiene un diámetro de 260 μm . En el folículo secundario comienzan a unirse los cuerpos de Call-exner, característica por la que son llamados folículos preantrales y forman el antro folicular. Al continuar el crecimiento del folículo, unas células mesenquimatosas, se alinean de manera concéntrica por fuera de la membrana basal y forman la capa de células de la teca, que se diferencia en interna y externa (Goldfien y Monroe, 1998; Geneser, 2000; Guyton y Hall, 2001).

¹ Estos son los únicos folículos que se encuentran presentes en la mujer al momento del nacimiento (Fawcett, 1995).

El **folículo terciario o preovulatorio**, aumenta de tamaño considerablemente debido a la acumulación rápida de líquido folicular y alcanza un diámetro mayor a 500 μm . En este momento el folículo está listo para la ovulación. Poco antes de la ovulación el ovocito comienza a moverse libremente en el líquido folicular y más adelante se rompe el folículo y el ovocito abandona la cavidad folicular (Geneser, 2000; Guyton y Hall, 2001).

En la rata, algunos folículos comienzan su crecimiento poco después del nacimiento (Rajah y Hirshfield, 1991) se ha observado que durante las primeras 24 horas de vida hay muy pocos folículos primordiales y hay un marcado incremento a los dos días de vida (Malamed y col., 1992). El crecimiento de los folículos continúa hasta que culminan con la ovulación, donde se pueden liberar varios óvulos que pueden o no ser fecundados. Los folículos que no liberan su ovocito experimentan degeneración, proceso conocido como atresia folicular (Freeman, 1994). De manera convencional en el laboratorio clasificamos a los folículos en función de su diámetro folicular promedio en: pequeños (menores de 350 μm), medianos (350-449 μm) y preovulatorios (>450 μm) (Hirshfield, 1983).

Al finalizar la fase folicular del ciclo ovárico, se da inicio a la fase luteínica, las células de la granulosa y teca del folículo roto cambian y se luteinizan, dando lugar a la formación del cuerpo lúteo. El cuerpo lúteo produce progesterona y estrógenos. El número de cuerpos lúteos presentes en el ovario depende del número de óvulos liberados y varía según la especie (Tresguerres, 2003). Si el óvulo liberado no es fecundado, en el cuerpo lúteo disminuye la producción de progesterona y estrógenos lo que ocasiona que en los primates se produzca la menstruación (Ross y Vande-Wiele, 1981; Freeman, 1994; Geneser, 2000). En el caso de la rata, si el ovocito es fertilizado, la hipófisis secreta altas cantidades de LH que rescatan al cuerpo lúteo y permiten su permanencia durante la gestación (que dura de 20 a 22 días). Finalmente el cuerpo lúteo experimenta regresión o luteólisis (Freeman, 1994).

ATRESIA FOLICULAR

La atresia es un mecanismo de degeneración que presentan la mayoría de los folículos antes de la ovulación (Geneser, 2000; Hsueh y col., 1994). Este proceso se da de manera continua, se presenta desde antes de la pubertad y se acelera antes de la menopausia (Hsueh y col., 1994; Kapia y Hsueh, 1997; Oliver y col., 1999).

Algunas de las alteraciones que la caracterizan son la pérdida de los receptores a la FSH en las células de la granulosa y degeneración subsecuente de estas últimas (Speroff, 1983).

Aún no se han identificado las principales causas que inducen la atresia folicular, Hsueh y colaboradores (1994) sugieren que son tres los factores que determinan la atresia en los folículos: deficiencias inherentes al ovocito o a las células de la granulosa; que los folículos entran al proceso de atresia cuando son expuestos a factores inductores de atresia (atretogénicos), entre los que se encuentran los andrógenos, GnRH-like, interleucina-6 (Il-6) y el factor de necrosis tumoral α (TNF- α) (Kapia y Hsueh, 1997); que únicamente los folículos que se encuentran en ciertas etapas del desarrollo y en un ambiente hormonal determinado alcanzan el estadio de folículo preovulatorio y llegan a ovular.

También existen factores que rescatan a los folículos de la atresia, entre los más conocidos se encuentran las gonadotropinas, los estrógenos, el factor de crecimiento epidermal (EGF), el factor de crecimiento neural (NGF), IGF-I, y el factor de crecimiento fibroblasto básico (bFGF) (Hay y Moor, 1978; Byskov, 1978; Peters, 1979; Braw y Tsafiriri, 1980; Gougeon, 1986).

Los cambios morfológicos que presentan el ovocito, las células de la granulosa y las células de la teca, durante el proceso de atresia van a depender de la etapa del proceso en que se encuentren (Van Voorhis, 1999; Oliver y col., 1999). Con base en criterios morfológicos y fisiológicos el proceso de atresia folicular se ha clasificado en tres etapas (Greenwald y Roy, 1994; Hsueh y col., 1994)

Etapa I: el folículo se caracteriza por presentar un 10% o menos de células de la granulosa con picnosis² nuclear. Disminuye la tasa de proliferación celular.

Etapa II: el folículo presenta entre el 10 y el 30 % de células de la granulosa con el núcleo picnótico, algunas células se encuentran libres en el antro folicular, (descamación). Debido a que la membrana basal pierde su integridad la capa de células de la granulosa es invadida por linfocitos T citotóxicos. En este estado los folículos no pueden recuperarse de la atresia y degeneran.

Etapa III: se caracteriza porque en las células de la granulosa se detiene la mitosis e incrementa la muerte de estas células. Las células de la teca se hipertrofian y hay separación y fragmentación de la membrana basal.

Es importante destacar que los folículos atrésicos secretan una gran cantidad de androstenediona y la actividad de las aromatasas disminuye, por lo que la síntesis de estradiol es menor (Hsueh y col., 1994; Van Voorhis, 1999).

² Los primeros signos de este proceso son el rompimiento del núcleo y la condensación de la cromátida de las células de la granulosa (Freeman, 1994).

INERVACIÓN OVÁRICA

La inervación extrínseca del ovario llega por nervios simpáticos y sensoriales, así como por algunas fibras parasimpáticas (Burden, 1978). La inervación **simpática** de la glándula transporta catecolaminas [principalmente noradrenalina(NA)] y péptidos [neuropéptidos Y (NPY); péptido intestinal vasoactivo (VIP)] (Lawrence y Burden, 1980; Burden, 1985; McNeill y Burden, 1986; McDonald y col., 1987; Dissen y Ojeda, 1999), mientras que por las fibras **sensoriales** llega substancia P (SP) y el péptido relacionado con el gen que codifica a la calcitonina (CGRP) (Papka y col., 1985; Dees y col., 1985; Kannisto y col., 1986; Klein y Burden, 1988). El VIP esta presente tanto en fibras simpáticas como sensoriales (McNeill y Burden, 1987; Klein y Burden, 1988).

En la rata los nervios ováricos se originan del plexo celiaco, el plexo intermesentérico y el nervio esplácnico lumbar superior (Baljet y Drukker, 1980; Isomura y col., 1985).

Los nervios extrínsecos llegan al ovario por dos rutas principales el plexo ovárico (PO) que acompaña a la arteria ovárica y el NOS, que viaja a lo largo del ligamento suspensorio del ovario (Burden, 1978; Baljet y Drukker, 1980; Lawrence y Burden, 1980; Hsueh y col., 1984; Ojeda y col., 1989) (Figura 4).

Nervio Ovárico Superior

Este nervio está conformado por fibras simpáticas, noradrenérgicas y vipérgicas (Burden, 1985; McNeill y Burden, 1986). La porción simpática de la inervación ovárica proviene de los segmentos T11 a L4 de la cadena simpática que hacen sinápsis en los ganglios celiaco y mesentérico superior, además de los nervios espláncnicos lumbares (Dissen y Ojeda, 1999). Inerva predominantemente a la glándula intersticial y a la teca interna de los folículos (Lawrence y Burden, 1980; Burden, 1985; Jorgensen y col., 1991). A pesar de que las células de la granulosa y el cuerpo lúteo no se encuentran inervados, presentan receptores β -adrenérgicos que son capaces de responder ante un estímulo noradrenérgico (Flerko, 1977; Lawrence y Burden, 1980; Burden, 1985; Jorgensen y col., 1991). Algunas fibras del NOS inervan al oviducto y el útero (Dissen y Ojeda, 1999).

Plexo Ovárico

Está constituido en su mayoría por fibras de naturaleza sensorial y los neurotransmisores presentes son la SP y el CGRP (Dees y col., 1985; Klein y Burden, 1988). El plexo también contiene fibras de naturaleza simpática que transportan NA y NPY. La inervación sensorial del ovario, deriva del ganglio nodoso y el ganglio de la raíz dorsal, que se localizan entre el segmento torácico caudal (T9-T11) y el segmento lumbar craneal de la médula espinal (L2-L4) (Burden, 1978; 1985). Las fibras del plexo ovárico tienen una distribución predominantemente perivascular (Lawrence y Burden 1980; Burden, 1985).

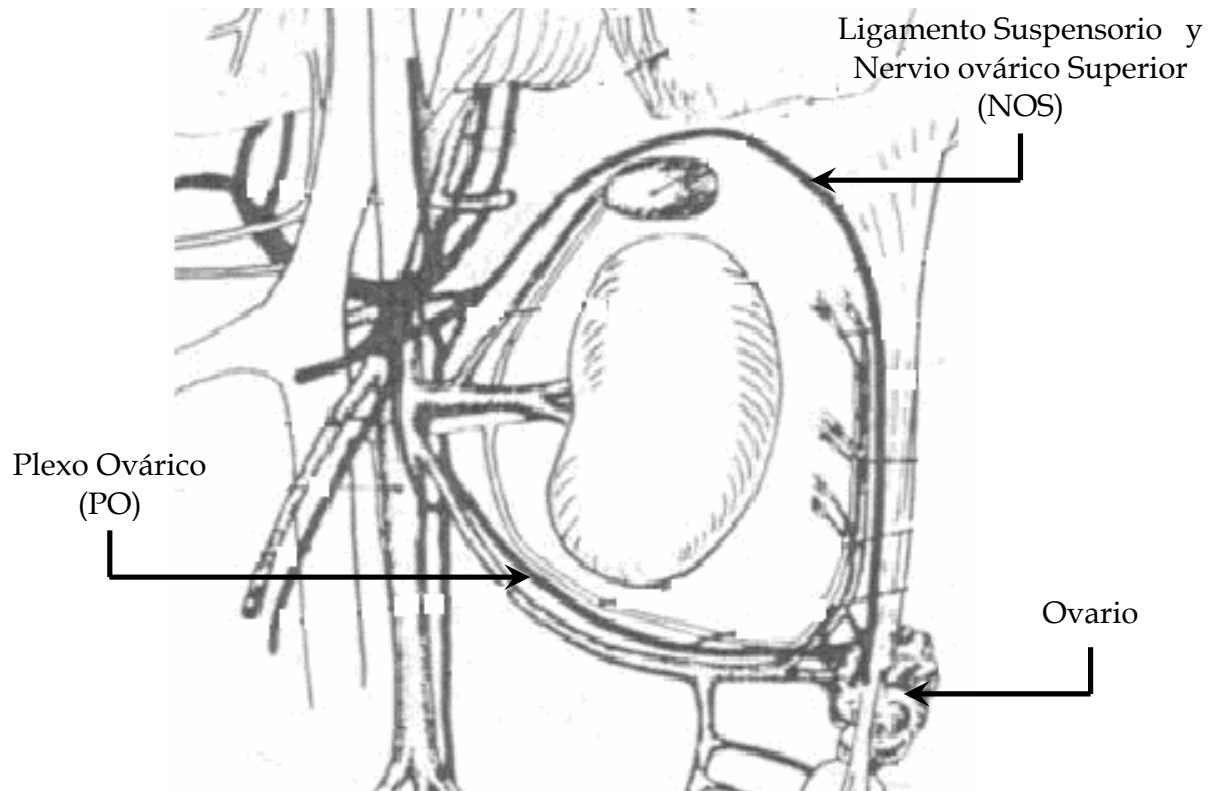


Figura 4. Esquema que muestra la inervación eferente que llega al ovario vía el nervio ovárico superior (NOS) y el plexo ovárico (PO).

Modificado de Lawrence y Burden 1980.

Las neuronas que salen de los ganglios y llegan a los órganos efectores, reciben el nombre de neuronas **posganglionares**, mientras que, aquellas que se proyectan hacia los ganglios y hacen sinápsis con las neuronas posganglionares se denominan neuronas **preganglionares** (Duorkin y Cardinali 2003).

Tal como se muestra en la figura 5, los cuerpos celulares de las neuronas preganglionares se encuentran en la región que va del primer segmento dorsal hasta los segmentos lumbares, sus axones son delgados y mielínicos, (constituyen las fibras de tipo B), salen de la médula por el asta anterior, a partir de ahí se separan de las fibras motoras y continúan en forma de haces (ramas comunicantes) hacia los ganglios de la cadena simpática paravertebral (Iversen y col., 2001). Abandonan la médula por las "ramas comunicantes blancas" y terminan en los ganglios paravertebrales o prevertebrales, o en la médula suprarrenal (Duorkin y Cardinali, 2003).

Los ganglios paravertebrales están conectados por fibras nerviosas y forman la cadena simpática, que se extiende desde la base del cráneo hasta el nivel sacro. Desde estos troncos simpáticos los axones amielínicos posganglionares (fibras de tipo C) toman dos caminos: pueden entrar por las ramas grises en los nervios espinales y distribuirse por los dermatomas respectivos, o bien formar nervios especiales que inervan órganos de la región cefálica, torácica, abdominal y pélvica (Duorkin y Cardinali, 2003).

Los ganglios prevertebrales (celíaco, mesentérico superior, mesentérico inferior) dan origen a fibras posganglionares, que a través de plexos o nervios inervan órganos de la región abdominal y pélvica. La mayoría de los ganglios simpáticos se ubican a distancia del órgano inervado, y por lo tanto, los axones posganglionares son largos; una excepción son las neuronas adrenérgicas cortas ubicadas en la pared de algunos órganos genito-uritarios que presentan una disposición semejante a las parasimpáticas (Duorkin y Cardinali 2003).

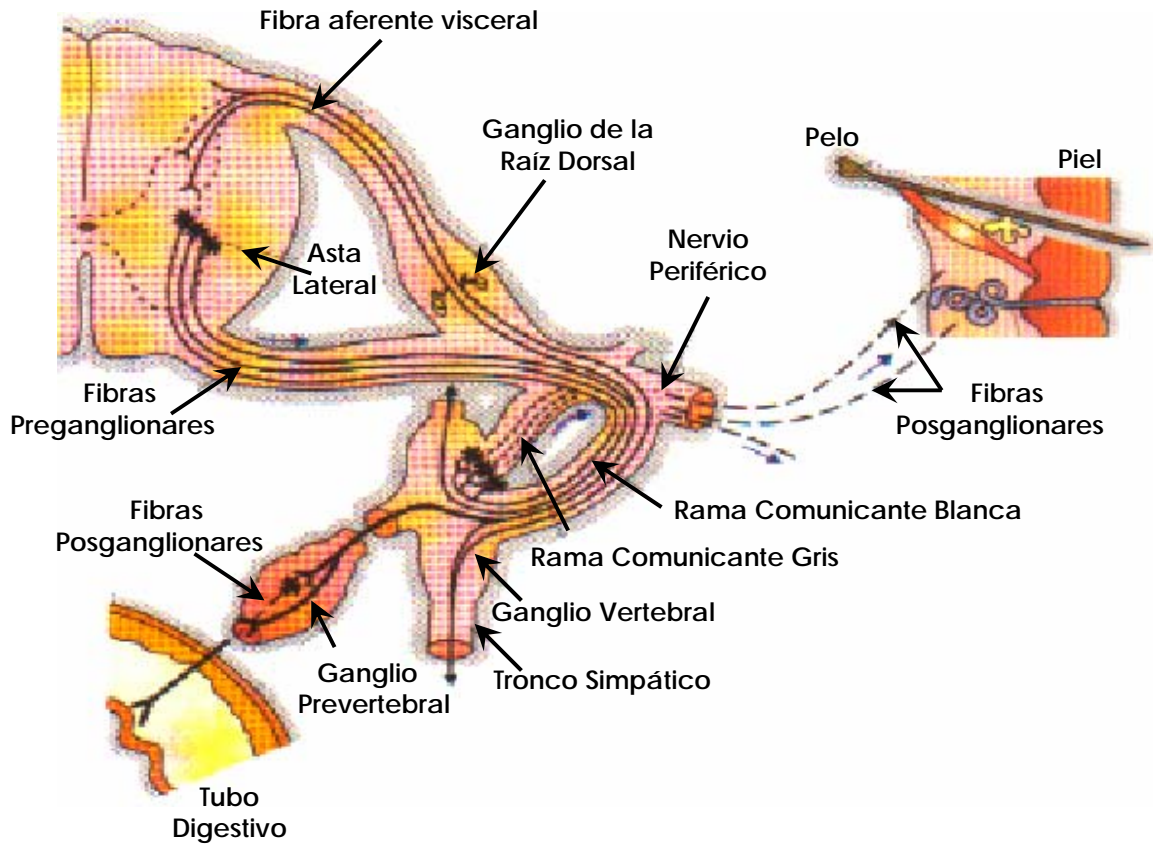


Figura 5. Neuronas preganglionares y posganglionares del sistema simpático.

Modificado de Duorkin y Cardinali 2003.

Los efectores del sistema simpático son: la musculatura lisa en general, el corazón, el riñón, las glándulas exocrinas y endocrinas, el tejido adiposo, el hígado y los órganos linfo-hematopoyéticos (Duorkin y Cardinali 2003).

Neuronas Intraováricas

En varias especies de animales, incluido el humano, se ha mostrado la presencia de neuronas ováricas intrínsecas (Dees y col., 1995; D'Albora y col., 2000; Anesetti y col., 2001; D'Albora y col., 2002). Algunas de estas son de naturaleza catecolaminérgica (Dees y col., 1995).

En el ovario de la rata se ha identificado un componente neural intrínseco en forma de ganglios bien desarrollados localizados en el mesoovario y el hilio. También se han observado neuronas en la corteza y médula pero de una forma dispersa, aunque se pueden presentar algunos ganglios. En los ganglios mesoováricos los cuerpos neurales son esféricos, forman agregados estrechos y paquetes de fibras nerviosas y presentan cuerpos neuronales multipolares. En el hilio y la médula, se pueden observar ganglios bien definidos parecidos a cadenas, asociados a vasos sanguíneos que corren a lo largo del tejido conectivo. Los ganglios que se encuentran en la corteza presentan células redondas, pequeñas, con pocas dendritas, con arreglo polar y algunas veces, neuronas de forma irregular. También pueden observarse algunas neuronas en el tejido intersticial que rodea a los folículos (D'Albora y col., 2000).

En la rata, la presencia de neuronas intraováricas parece depender de la cepa y de la edad. Dees y colaboradores (1995) identificaron neuronas en el ovario de ratas de la cepa Wistar, pero no en la cepa Sprague-Dawley o Long-Evans. El número de neuronas disminuye conforme avanza la edad del animal. Estas fibras son de naturaleza catecolaminérgica y por tanto podrían estimular la esteroidogénesis en conjunto con la inervación simpática extrínseca. (D'Albora y col., 2000; D'Albora y col., 2002).

Participación de la Inervación en la Regulación de las Funciones Ováricas

Diversos autores han sugerido que la inervación simpática participa en la regulación de varios procesos, como la ovulación, el desarrollo folicular y la esteroidogénesis ovárica (Domínguez y Riboni, 1971; Grob 1974; Gerendai y col., 1978; Lawrence y Burden, 1980; Barria y Lara, 1991; Morales y col., 1993; Morán y col., 2000).

En circunstancias fisiológicas los nervios simpáticos catecolaminérgicos modulan el efecto estimulador de las gonadotropinas sobre la secreción de esteroides (Aguado y col., 1982; Hsueh y col., 1984; Ojeda y Lara, 1989; Barria y col., 1993). Las catecolaminas estimulan la esteroidogénesis ovárica, vía la activación de los receptores β -adrenérgicos (Figura 6), que se traduce en una mayor síntesis de progesterona por parte de las células de la granulosa y luteales (Adashi y Hsueh, 1981; Aguado y Ojeda, 1984; Weiss, y col., 1982), y a su vez en una mayor secreción de andrógenos por parte de las células de la teca (Dyer y Erickson, 1985; Hernández y col., 1988).

La estimulación eléctrica del NOS de ratas adultas en diestro, incrementa la secreción de progesterona ovárica (Weiss y col., 1982). Asimismo, se mostró que el VIP participa en la regulación de la esteroidogénesis ovárica al incrementar la actividad del complejo enzimático P450_{scc} y de las aromatasas, lo que resulta en un aumento de la secreción de progesterona y estradiol, respectivamente (Davoren y Hsueh, 1985; George y Ojeda, 1987).

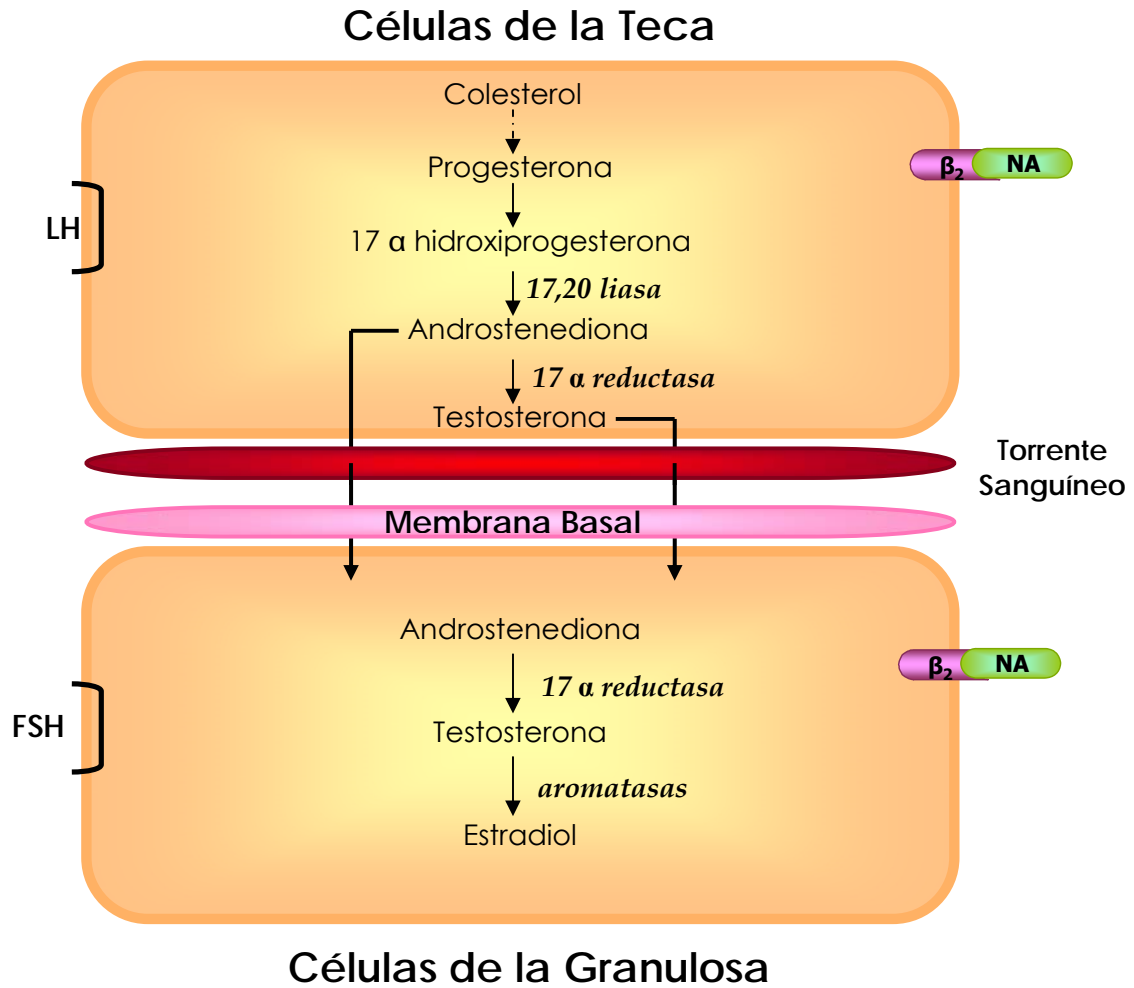


Figura 6. Esquema que muestra la estimulación de la esteroidogénesis ovárica por parte de las catecolaminas. Modificado de Gore-Langton y Armstrong, 1994.

La inervación simpática del ovario no sólo modula la actividad secretora de la glándula, sino que también participa en la regulación del desarrollo folicular. Mayerhofer y colaboradores (1997) mostraron que el VIP y la NA aceleran la diferenciación bioquímica de los folículos recién formados al inducir la formación de receptores biológicamente activos para la FSH, sin los cuales las células foliculares no podrían responder a la gonadotropina. Estos resultados han llevado a los autores a sugerir que los neurotransmisores que son aportados al ovario por la inervación extrínseca también facilitan el inicio del crecimiento de los folículos ováricos (Mayerhofer y col., 1997; Dissen y Ojeda, 1999; Romero y col., 2002).

En el ovario del feto de la rata de 19 días de gestación o recién nacida, existen fibras que son inmunorreactivas a la tirosina hidroxilasa (TH) (enzima que limita la tasa de síntesis de catecolaminas, Figura 7), por lo que se ha sugerido que las fibras que participan en la regulación del inicio del desarrollo folicular son de naturaleza catecolaminérgica (Malamed y col., 1992). La distribución inicial de las fibras nerviosas indica que existe una relación estrecha entre la presencia de las mismas y el inicio de la foliculogénesis (Dissen y Ojeda, 1999). Adicionalmente, se ha mostrado que la foliculogénesis se inicia cerca de la región medular de la glándula, donde se encuentra la mayor parte de la inervación (Byskov y Lintern-Moore, 1973; Hirshfield, 1991).

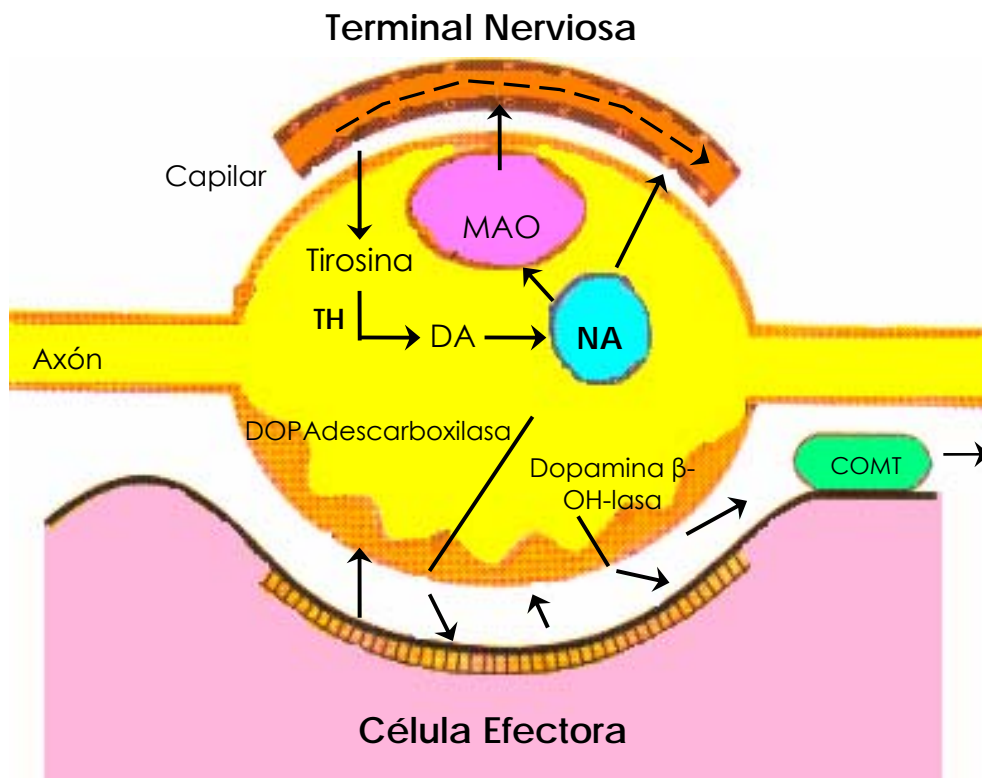


Figura 7. Participación de las enzimas que intervienen en la síntesis de noradrenalina. Tiroxina Hidroxilasa (TH), monoaminoxidasa (MAO), catecol-O-metil transferasa (COMT). Modificado de Duorkin y Cardinali, 2003.

Efectos de la Denervación Simpática

La administración crónica de guanetidina (neurotóxico de las terminales adrenérgicas) en ratas prepúberes destruye de manera selectiva los nervios simpáticos periféricos del ovario (Lara y col., 1990a), mientras que, la administración de anticuerpos al factor de crecimiento neural (NGF-Ab), a ratas neonatas elimina casi por completo las fibras simpáticas y reduce la inervación sensorial de la glándula (Lara y col., 1990b). En ambos casos, la pérdida de inervación simpática se asoció con un retraso en el desarrollo folicular y el inicio de la pubertad, así como a marcadas irregularidades en el ciclo estral.

Selstam y colaboradores (1985) mostraron que la sección bilateral del ligamento suspensorio no afecta la ovulación en ratas prepúberes tratadas con gonadotropina de yegua preñada (PMSG), por lo que sugieren que la información que transporta el NOS no sería indispensable para que se lleve a cabo la ovulación. Por su parte, Wylie y colaboradores (1985) proponen que la inervación simpática no participa en la regulación de la ruptura folicular ni del transporte de ovocitos hacia el oviducto y que los folículos podrían llegar al estadio de antrales pequeños sin la necesidad de la inervación simpática.

Aguado y Ojeda (1984) mostraron que la sección bilateral del NOS, realizada a ratas de 24 días de edad, resulta en una depleción de hasta el 60% de la concentración de NA en el ovario, que se acompaña por un descenso agudo en la concentración sérica progesterona. La menor actividad esteroideogénica no alteró el inicio de la pubertad, ni la primera ovulación.

La sección del NOS realizada al cuarto día de vida postnatal, resulta en un retraso en la edad de apertura vaginal y del primer diestro. A partir de los 30 días de edad hasta los 60 días hay disminución en la concentración sérica de FSH, incremento en la de estradiol, mientras que la de LH no se modifica. También se presentó aumento en la concentración de NA en el ovario que se acompaña por un descenso en el número de receptores β -adrenérgicos (Forneris y Aguado, 2002).

Resultados obtenidos en nuestro laboratorio muestran que la sección bilateral del NOS no modifica la cuota ovulatoria espontánea en la rata prepúber y adulta (Morales y col., 1993; Chávez y Domínguez, 1994). Sin embargo, cuando se realiza la sección unilateral del nervio, el ovario denervado libera un menor número de ovocitos. En el caso del animal púber, la gónada intacta presenta una respuesta compensadora, semejante a lo que ocurre en un animal hemicastrado (Morales y col., 1993). El hecho de que en las hembras con sección unilateral del NOS la administración de gonadotropinas no restablezca la cuota ovulatoria por parte del ovario denervado (Morales y col., 1998) apoya la hipótesis de que la inervación simpática modula la respuesta del folículo a las gonadotropinas. Estos resultados han llevado a sugerir que existe una comunicación neural entre los ovarios que podría ser dada por el mismo NOS (Chávez y col., 1991; Morales y col., 1993) o por el plexo ovárico (Klein y Burden, 1988; Forneris y Aguado, 2002).

Síndrome del Ovario Poliquístico

El SOPQ, es un desorden endocrino (Franks y col., 1996) que afecta principalmente a mujeres en edad reproductiva. Se caracteriza por presentar concentraciones variables de gonadotropinas circulantes, irregularidades en el ciclo menstrual, hiperandrogenismo, infertilidad y formación de quistes foliculares (Barria y col., 1993; Rosa-E-Silva y col., 2003; Hoyt y Schmidt, 2004).

En la rata el síndrome del ovario poliquístico inducido por la administración de una dosis de valerato de estradiol tiene características similares a los que presenta este síndrome en la mujer (Hemmings y col., 1983; Schulster y col., 1984; Brawer y col., 1986). El valerato de estradiol, es un estrógeno de larga duración (Williams y Stancel, 1996) que causa aciclicidad, anovulación y formación de quistes foliculares (Brawer y col., 1978; Brawer y col., 1986) y alcanza su concentración plasmática máxima entre el tercer y quinto día después de su administración.

En los últimos años, se han obtenido evidencias que muestran la participación de la inervación simpática en el desarrollo del síndrome del ovario poliquístico (Lara y col., 1993; Barria y col., 1993; Rosa-E-Silva y col., 2003). La administración de valerato de estradiol a ratas juveniles (Rosa-E-Silva y col., 2003) o adultas (Barria y col., 1993) ocasiona una activación de las neuronas simpáticas periféricas que inervan el ovario, influencia que contribuye a un incremento en el contenido de NA ovárica y una disminución en el número de receptores β -adrenérgicos, que se traduce en aciclicidad estral, falta de ovulación, hiperandrogenismo y formación de quistes foliculares (Lara y col., 1993). Con estas evidencias experimentales se ha sugerido que el desarrollo del síndrome es el resultado del incremento simultáneo en la síntesis del factor de crecimiento neural (NGF) y de su receptor de baja afinidad (NGF-p75) (Dissen y col., 2000; Lara y col., 2000, Stener-Victorin y col., 2000).

A partir del postulado de que en los animales con SOPQ se produce una hiperactividad de las fibras simpáticas, algunos grupos de investigación han mostrado que la eliminación total de la información simpática que transcurre por el nervio ovárico superior, restablece la función ovárica (Barria y col., 1993; Rosa E-Silva y col., 2003).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El ovario recibe fibras de naturaleza simpática aportadas principalmente por el nervio ovárico superior, por donde llega noradrenalina y algunos péptidos que estimulan la esteroidogénesis ovárica y el desarrollo folicular.

Recientemente se ha sugerido que el SOPQ, considerado como la causa más común de infertilidad, que afecta a mujeres en edad reproductiva, es el resultado de un incremento en la actividad de las fibras simpáticas que llegan al ovario, vía el nervio ovárico superior. En el 2003, el grupo de Rosa E-Silva, mostró que la sección bilateral del nervio ovárico superior, realizada en la etapa adulta, es capaz de disminuir la concentración de noradrenalina ovárica y de restablecer el patrón del ciclo estral, la concentración de LH, estradiol y la actividad de la 3β -HSD.

Debido a que no se conoce si la eliminación de la información simpática aportada por el NOS desde la etapa juvenil, restablece la función del ovario poliquístico, en el presente estudio se decidió analizar la respuesta del ovario del animal con SOPQ ante la eliminación total o parcial del nervio ovárico superior. Para ello se administró una sola dosis de valerato de estradiol a hembras de 10 días de edad y 14 días después se les realizó la sección unilateral o bilateral del nervio ovárico superior y sus efectos fueron analizados en la etapa adulta.

H I P Ó T E S I S

Si el SOPQ inducido por la inyección de valerato de estradiol, es sólo el resultado de un aumento de la actividad de las neuronas simpáticas periféricas que inervan al ovario, entonces la sección unilateral del nervio ovárico superior, restablecerá la respuesta ovulatoria y la capacidad esteroidogénica en el ovario denervado.

OBJETIVO GENERAL

- ☞ Analizar los efectos de la sección unilateral o bilateral del nervio ovárico superior realizada en el período juvenil a animales con SOPQ inducido por la administración de valerato de estradiol a los 10 días de edad, sobre el inicio de la pubertad y las funciones ováricas.

OBJETIVOS PARTICULARES

- ☞ Estudiar los efectos de la sección unilateral o bilateral del nervio ovárico superior, realizada a los 24 días de edad, en ratas con SOPQ, sobre el inicio de la pubertad, el ciclo estral, la respuesta ovulatoria.
- ☞ Estudiar los efectos de la sección unilateral o bilateral del nervio ovárico superior, realizada a los 24 días de edad, en ratas con SOPQ, sobre la concentración sérica de progesterona, androstenediona, testosterona y estradiol.
- ☞ Estudiar los efectos de la sección bilateral del nervio ovárico superior, realizada a los 24 días de edad, en ratas con SOPQ, sobre la concentración de noradrenalina en el ovario.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ratas hembras de la cepa CII-ZV, fueron mantenidas desde el nacimiento bajo condiciones controladas de iluminación (14 h de luz por 10 h de oscuridad) y temperatura de 22 ± 2 °C. El día del nacimiento (día cero) las crías fueron sexadas y colocadas en camadas de seis individuos por caja, cinco hembras y un macho, con el fin de evitar alteraciones en la maduración del sistema nervioso (Salas y col., 1991). Las ratas tuvieron libre acceso a la madre hasta el momento del destete, que se realizó a los 21 días de vida y posteriormente al agua y al alimento hasta el día de la autopsia. Los animales se asignaron al azar en alguno de los siguientes grupos experimentales, cada uno de ellos formado de 7 a 10 animales.

La administración de una sola dosis del valerato de estradiol (VE), o del vehículo (Vh) se llevó a cabo a los 10 días de edad, por vía intraperitoneal. Se disolvieron 2 mg de valerato de estradiol en 0.1 ml de aceite de maíz, que fungió como el vehículo. Todos los animales fueron autopsiados a los 90 días de edad al presentar un estro vaginal típico.

Grupo Tratado con VE y Sometido a la Operación Simulada Izquierda o Derecha

A los 24 días de edad hembras tratadas con VE fueron sometidas a la operación simulada izquierda (OSI) o derecha (OSD). Para ello, los animales se anestesiaron con éter, se procedió a realizar una incisión dorsal en la piel y el músculo de aproximadamente 1cm y sin tocar ningún órgano se suturó la herida.

Grupo Tratado con Vehículo o VE y Sometido a la Sección Unilateral o Bilateral del NOS

Las hembras tratadas con vehículo o VE se les seccionó uno o ambos nervios ovárico superior. Para ello, a los animales bajo anestesia con éter se les realizó una incisión dorsal en la piel y el músculo, de aproximadamente 1 cm de largo, a través de la cual se extrajo el ovario unido al útero. Se identificó el ligamento suspensorio por el cual transcurre el nervio ovárico superior y se procedió a realizar la sección del nervio ovárico izquierdo (SNOI), derecho (SNOD), o bilateral (SBNO). Terminada la sección nerviosa se regresó el ovario a la cavidad peritoneal y se procedió a suturar la herida.

Grupos Testigo

Como grupos de comparación se utilizaron los siguientes grupos experimentales:

- ☞ Animales que únicamente fueron inyectados, a los 10 días de edad con VE.
- ☞ Animales que únicamente fueron sometidos, a los 24 días de edad, a la operación simulada.
- ☞ animales que sólo fueron inyectados a los 10 días de edad con el vehículo.

Monitoreo del ciclo estral

En los animales tratados con el vehículo la revisión de la apertura vaginal se realizó a partir del día 30 de edad. Dado que previamente hemos mostrado que la administración de VE resulta en un adelanto en la edad de la apertura vaginal, en todos nuestros grupos denervados y tratados con el fármaco se monitoreo el momento en el que se produce la canalización de la vagina a partir del día que se administró el fármaco. En todos los grupos, una vez ocurrida la canalización de la vagina, se inició la toma diaria de frotis vaginal y se analizó el patrón del ciclo estral hasta el momento de la autopsia.

Procedimiento de Autopsia

Cuando los animales cumplieron los 90 días de edad y presentaron un estro vaginal, se registró el peso corporal y se llevó a cabo el sacrificio por decapitación entre las 10:00 y 12:00 h. Se colectó la sangre del tronco, se mantuvo a temperatura ambiente durante 30 minutos y se centrifugó a 3200 rpm durante 15 minutos, se separó el suero del botón celular, se depositó en tubos eppendorf y se almacenaron a -20 °C hasta el momento en que se realizó la cuantificación de progesterona, androstendiona, testosterona y 17 β -estradiol por radioinmunoanálisis (RIA).

Se disecaron los oviductos y en ellos se contaron los ovocitos, siguiendo la metodología habitual del laboratorio (Morales y col, 1998). Se disecaron y pesaron el útero, adrenales y ovarios. Cinco ovarios por grupo experimental fueron congelados a -70° C y se cuantificó la concentración de NA.

Cuantificación de hormonas Esteroides

Las concentraciones plasmáticas de progesterona, androstenediona, testosterona, y estradiol, fueron cuantificadas por RIA de fase sólida, mediante reactivos comerciales Coat-A-Count (Diagnostic Products, Los Angeles, CA, USA). En tubos de polipropileno (que ya contienen el anticuerpo específico: anti-progesterona- I^{125} , anti-estradiol- I^{125} , anti-testosterona- I^{125}), se adicionaron (100 μ l) de la muestra problema y 1 ml de la hormona marcada con (I^{125}), de cada hormona. Para facilitar la reacción, la mezcla se agitó en un vortex durante un minuto y se incubó durante 3 h a temperatura ambiente. Luego se decantó la muestra, se removió el exceso de líquido y se determinó la concentración de hormona en la muestra problema con la ayuda de un contador de rayos gamma modelo Cobra 5005, Packard TM, en función de las cuentas por minuto y una curva de calibración.

La cuantificación hormonal se realizó en el Laboratorio de Hormonas Esteroides del Departamento de Biología de La Reproducción del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán".

Concentración de Noradrenalina en el Ovario.

Cada ovario fue homogeneizado en 300 µl de 0.1 M de ácido perclórico que contenía dihidroxi-benzylamina como estándar interno. Las catecolaminas fueron extraídas del homogeneizado por absorción y medidas por HPLC, utilizando un sistema computarizado de recolección de datos. La validación del método se realizó utilizando concentraciones conocidas de los estándares.

Análisis Estadístico

Los resultados del peso corporal, peso relativo de los órganos (ovarios, útero y adrenales), contenido de noradrenalina en el ovario 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 entre 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 (número de animales que ovulan/número total de animales) se analizó por la prueba exacta de Fisher para proporciones o de Ji². Se consideraron como estadísticamente significativas aquellas diferencias cuya probabilidad fue igual o menor a 0.05.

RESULTADOS

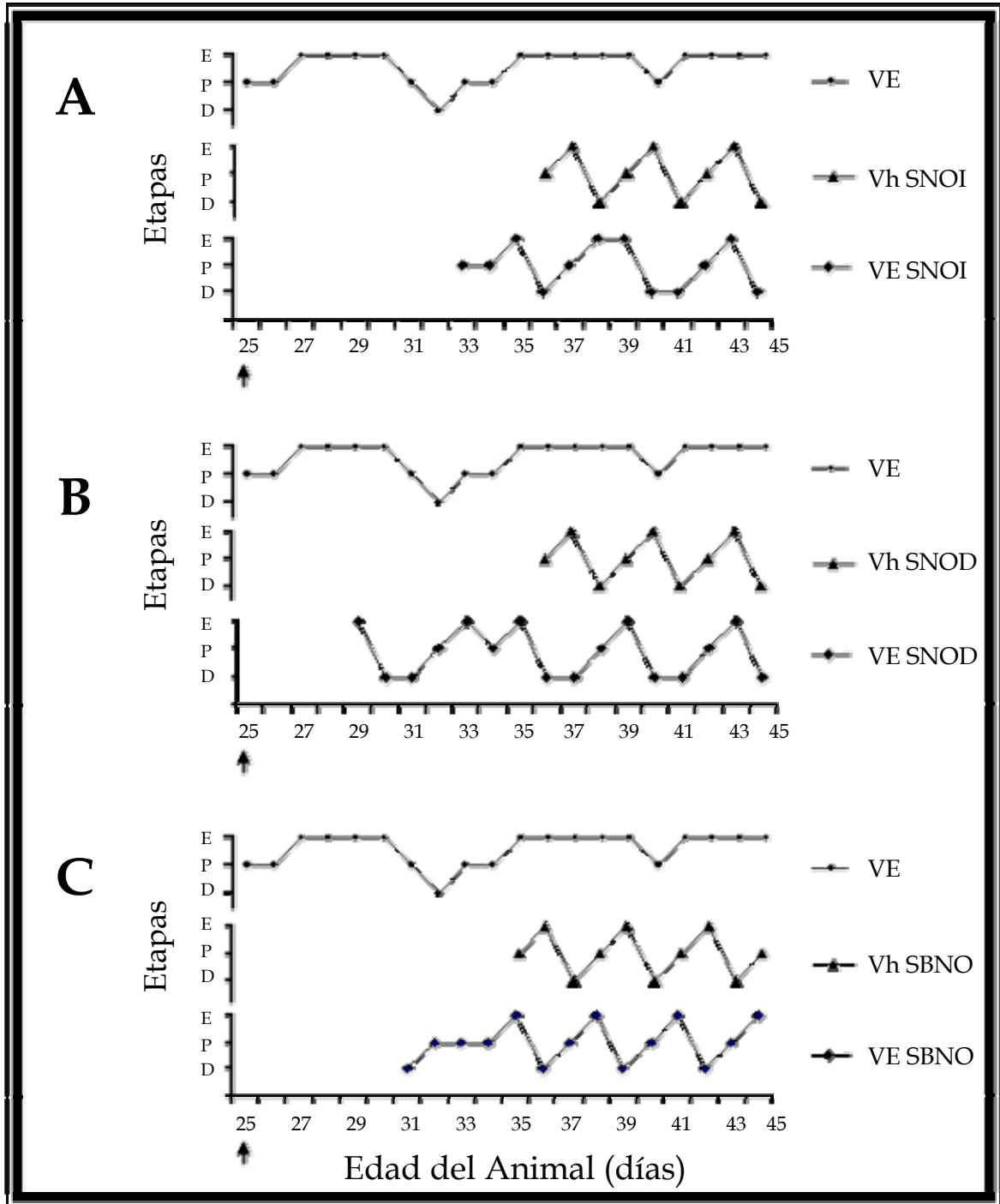
Experimento 1

Efecto de la Sección Unilateral o Bilateral del NOS en Animales Tratados con Vehículo o Valerato de Estradiol, Sobre el Patrón del Ciclo Estral.

Desde que los animales abrieron vagina se inició la toma del frotis vaginal. En la figura 8 se muestra la representación gráfica del patrón del ciclo estral.

Previamente mostramos que la administración de valerato de estradiol (VE) a ratas de 10 días de edad resultó en un patrón de estro constante por periodos prolongados (datos tomados de Rosas, 2006). Los animales tratados con vehículo (Vh) a los diez días de edad y sometidos a la sección del NOS izquierdo (Figura 8A), derecho (Figura 8B) o bilateral (Figura 8C), mostraron un patrón normal del ciclo estral. Asimismo, en las hembras tratadas con valerato y sometidas a la sección del NOS izquierdo (Figura 8A), derecho (Figura 8B) o bilateral (Figura 8C) se observó el restablecimiento del ciclo estral. En todos los casos donde se administró el VE, se presentó un adelanto en la edad de apertura vaginal.

Figura 8. Patrón representativo del **ciclo estral** de animales tratados con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) a los 10 días de edad y sometidos a una sección del nervio ovárico izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o bilateral (SB) a los 24 días de edad.



↑ Indica la edad de apertura vaginal.

EXPERIMENTO 2

Efecto de la Sección Unilateral del NOS, sobre el Inicio de la Pubertad y las Funciones Ováricas

Inicio de la Pubertad

La sección unilateral del NOS no modificó el peso corporal en los animales sacrificados a los 90 días de edad.

La sección del NOS izquierdo, resultó en un retraso en el inicio de la pubertad, en comparación con los animales sometidos a una operación simulada izquierda (38.6 ± 0.4 vs. 36.2 ± 0.6 ; $p < 0.05$). La aparición del primer estro vaginal se presentó antes en los animales con sección del nervio derecho que en los animales con operación simulada derecha (37.3 ± 0.7 vs. 40.4 ± 0.8 ; $p < 0.05$).

Respuesta Ovulatoria

En los animales con sección del NOS izquierdo o derecho, no se observaron diferencias significativas en el porcentaje de animales ovulantes. Sin embargo, la sección del nervio derecho resultó en un incremento en el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo, en comparación con el grupo con operación simulada derecha (cuadro 1).

Cuadro 1. Media \pm e.e.m. del **porcentaje de animales ovulantes** y el **número de ovocitos liberados** por animales con operación simulada izquierda (OSI) o derecha (OSD) y por animales con sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI) o derecho (SNOD), realizada a los 24 días de edad y autopsiados a los 90 días de edad.

Grupo	Porcentaje de animales ovulantes	Ovocitos Liberados por Ovario	
		Izquierdo	Derecho
OSI	77.8	6.5 \pm 1.0	5.14 \pm 1.3
SNOI	80	3.8 \pm 0.9	6.1 \pm 0.8
OSD	70	4.3 \pm 0.4	6.3 \pm 1.0
SNOD	88.9	7.0 \pm 1.0 \blacklozenge	5.3 \pm 1.4

\blacklozenge $p < 0.05$ vs. SNOI y OSD (ovario izquierdo) (prueba de Kruskal-Wallis seguida por la prueba de U de Mann-Whitney).

Peso Relativo de los Ovarios, las Adrenales y el útero

Con la sección del nervio ovárico izquierdo, se observó una disminución en el peso del ovario denervado, con respecto a su grupo con operación simulada. Asimismo, la sección izquierda resultó en un incremento en el peso del ovario derecho, en comparación con su ovario izquierdo. No se observaron diferencias significativas en la masa adrenal ni en el peso del útero (Cuadro 2).

Cuadro 2. Media \pm e.e.m. del **peso relativo (mg/100g de peso corporal)** del ovario izquierdo, derecho, masa adrenal y útero de animales con operación simulada izquierda (OSI) o derecha (OSD) y de animales con sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI) o derecho (SNOD), realizada a los 24 días de edad y autopsiados a los 90 días de edad.

Grupo	n	Ovarios		Masa	Útero
		Izquierdo	Derecho	Adrenal	
OSI	9	15.9 \pm 0.96	16.2 \pm 1.4	20.6 \pm 1.91	148.1 \pm 13.7
SNOI	10	10.2 \pm 0.7 ♣	15.2 \pm 1.5 *	21.2 \pm 0.98	134.8 \pm 7.0
OSD	10	11.4 \pm 1.3	12.5 \pm 1.9	20.6 \pm 0.7	112.8 \pm 13.6
SNOD	9	16.7 \pm 3.2♠	11.7 \pm 3.1	21.2 \pm 1.1	126.2 \pm 7.4

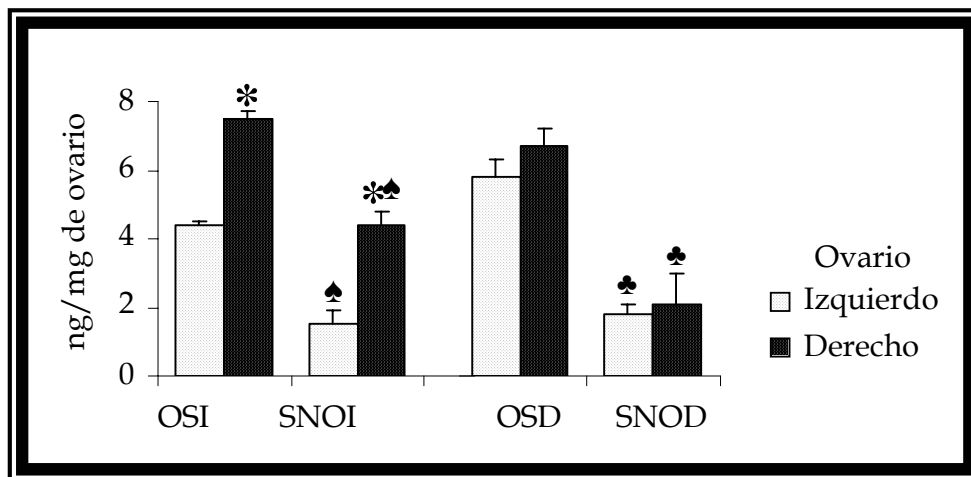
♣ p < 0.05 vs. OSI (ovario izquierdo); ♠ p < 0.05 vs. SNOI (ovario izquierdo);

* p < 0.05 vs. su ovario izquierdo (Prueba de ANDEVA seguida por la prueba de Tukey).

Noradrenalina Ovárica

La concentración de noradrenalina en el ovario derecho de animales sometidos a una operación simulada izquierda, fue mayor que en el ovario izquierdo. En las ratas con sección del NOS izquierdo o derecho, la concentración de noradrenalina fue menor que en los grupos con operación simulada (Figura 9).

Figura 9. Media \pm e.e.m. de la concentración ovárica de **noradrenalina** en animales con operación simulada izquierda (OSI) o derecha (OSD) y de animales con sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI) o derecho (SNOD), realizada a los 24 días de edad y autopsiados a los 90 días de edad.



* $p < 0.05$ vs. su ovario izquierdo; ♠ $p < 0.05$ vs. OSI (mismo ovario);

♣ $p < 0.05$ vs. OSD (mismo ovario) (Prueba "t" de Student).

Hormonas Esteroides

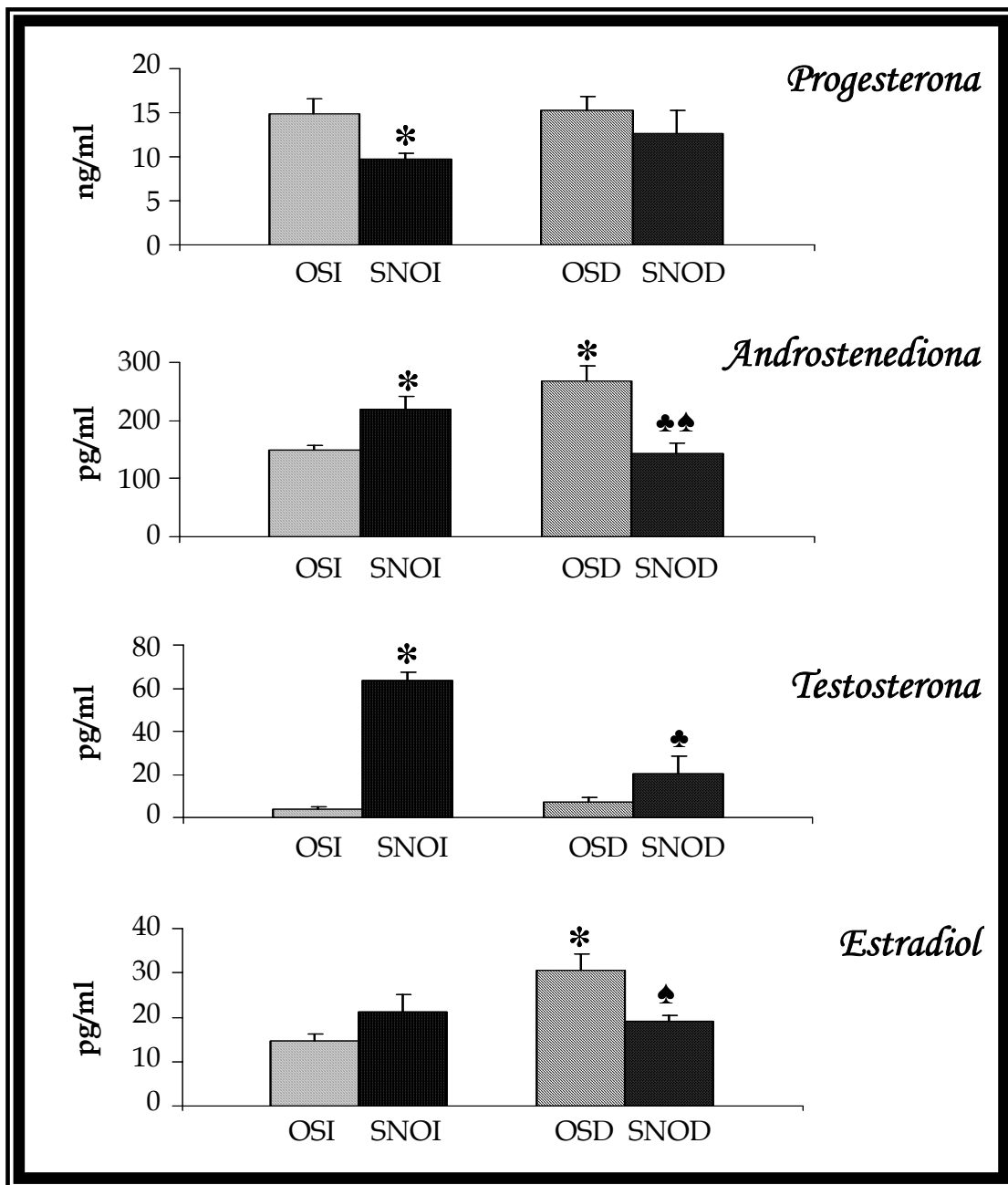
La concentración sérica de **progesterona** fue menor en los animales con sección del NOS izquierdo, que en los animales sometidos a una operación simulada izquierda, en tanto que la sección del nervio derecho no modificó la concentración de esta hormona (Figura 10).

En los animales con sección del nervio ovárico izquierdo la concentración de **androstenediona** fue mayor que en el grupo con operación simulada, mientras a los que se les realizó la sección del nervio derecho la concentración de la hormona fue menor (Figura 10).

La concentración plasmática de **testosterona** fue mayor en el grupo con sección del nervio ovárico izquierdo que en el grupo con operación simulada izquierda, mientras que en los animales con sección del nervio derecho la concentración de la hormona fue menor (Figura 10).

Los animales con operación simulada derecha mostraron una mayor concentración sérica de **estradiol**, en comparación con los animales a los que se les realizó la operación simulada izquierda. Mientras que la concentración de la hormona en los animales con sección derecha fue menor que en el grupo con operación simulada derecha (Figura 10).

Figura 10. Media \pm e.e.m. de la concentración sérica de **progesterona**, **androstenediona**, **testosterona** y **estradiol** en animales con operación simulada izquierda (OSI) o derecha (OSD) y en animales con sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI) o derecho (SNOD), realizada a los 24 días de edad y autopsiados a los 90 días de edad.



* $p < 0.05$ vs. OSI; ♣ $p < 0.05$ vs. SNOI; ♠ $p < 0.05$ vs. OSD (Prueba "t" de Student).

Resumen de Resultados

<i>Parámetros</i>	<i>SNOI</i>	<i>SNOD</i>
PC	=	=
EAV	R	=
TAO	=	=
NA	↓OI ↓OD	↓OI ↓OD
P ₄	↓	=
An	↑	↓
T	↑	=
E ₂	=	↓

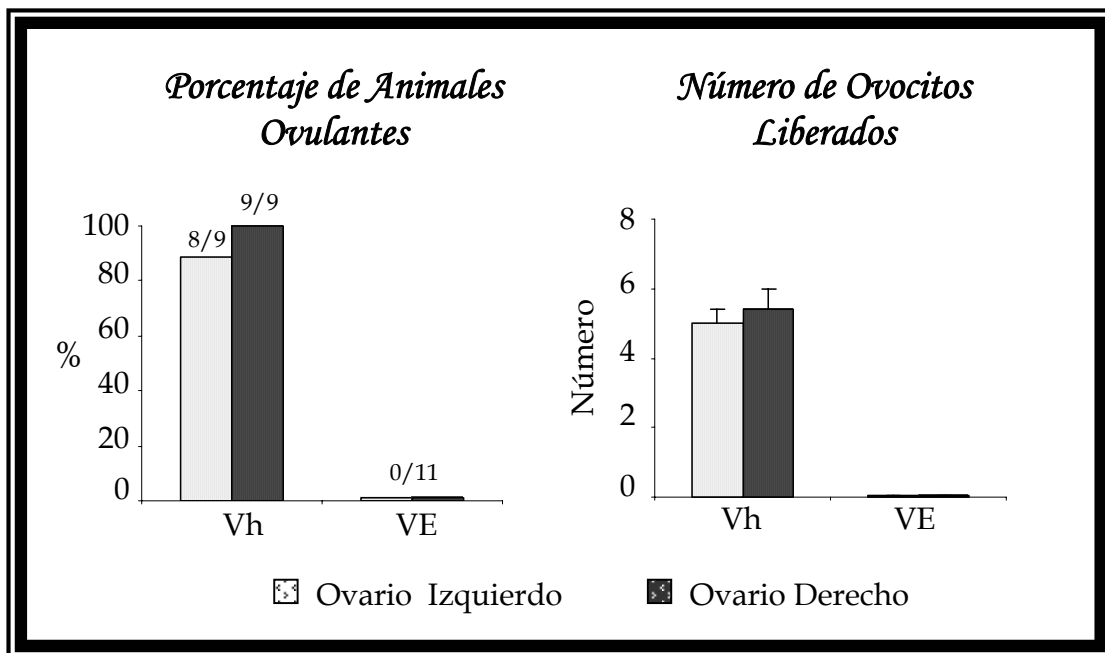
SNOI, Sección del Nervio Ovárico Superior Izquierdo; SNOD, Sección del Nervio Ovárico Superior Derecho; PC, peso corporal; EAV, Edad de Apertura Vaginal; TAO, Tasa de Animales Ovulantes; NA, Noradrenalina; P₄, Progesterona; An, Androstenediona; T, Testosterona; E₂, Estradiol; R, Retraso; OI, Ovario Izquierdo; OD, Ovario Derecho. Los incrementos o disminuciones son en comparación con su respectiva operación simulada izquierda (OSI) o derecha (OSD).

EXPERIMENTO 3

Efecto de la Administración de Valerato de Estradiol, sobre la Respuesta Ovulatoria

La administración de VE a ratas hembras de 10 días de edad que fueron sacrificadas a los 90 días, resultó en un bloqueo total de la ovulación, en comparación con el grupo tratado con el vehículo (datos tomados de Rosas, 2006) (Figura 11).

Figura 11. Porcentaje de animales ovulantes y número de ovocitos liberados, de hembras tratadas con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) a los 10 días de edad y autopsiadas a los 90 días de edad.



EXPERIMENTO 4

Efecto de la Sección Unilateral o Bilateral del NOS, en Ratas Tratadas con Valerato de Estradiol, sobre el Inicio de la Pubertad y las Funciones Ováricas

Inicio de la Pubertad

Los animales tratados con VE a los que se les seccionó el NOS derecho, mostraron un mayor peso corporal, que los animales que sólo fueron tratados con VE con o sin operación simulada derecha (Cuadro 3).

En los animales tratados con VE a los que se les seccionó uni o bilateralmente el NOS el inicio de la pubertad y la aparición del primer estro vaginal fue posterior que en el grupo tratado con VE (Cuadro 3). Un efecto similar se observó en los animales tratados con VE a los que se realizó la operación simulada derecha respecto al grupo sometido a la operación simulada izquierda (Cuadro 3).

Cuadro 3. Media \pm e.e.m. del **peso corporal**, **edad de apertura vaginal (EAV)** y **primer estro vaginal (PEV)** de animales tratados con valerato de estradiol (VE) a los 10 días de edad y sometidos a la operación simulada izquierda (OSI), derecha (OSD) o sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o bilateral (SBNO) a los 24 días de edad y autopsiados a los 90 días de edad.

Grupo	n	Peso Corporal (gramos)	EAV (días)	PEV (días)
VE	11	235.8 \pm 5.2	25.4 \pm 0.2	27.0 \pm 0.5
VE OSI	8	251.4 \pm 9.1	26.1 \pm 0.2	28.3 \pm 0.4
VE SNOI	9	247.9 \pm 11.1	33.6 \pm 1.0 *♠	36.1 \pm 0.8 *♠
VE OSD	9	236.0 \pm 11.8	30.3 \pm 0.6 *♠	33.4 \pm 0.9 *♠
VE SNOD	10	259.2 \pm 3.7 ♦♣	30.2 \pm 0.9 *	33 \pm 1.4 *
VE SBNO	9	245.4 \pm 10.5	32.0 \pm 1.7 *	35.8 \pm 1.5 *

♦ p < 0.05 vs. VE; ♣ p < 0.05 vs. VE OSD (prueba "t" de Student). * p < 0.05 vs. VE; ♠ p < 0.05 vs. VE OSI (prueba de Kruskal-Wallis seguida por la prueba de U de Mann-Whitney).

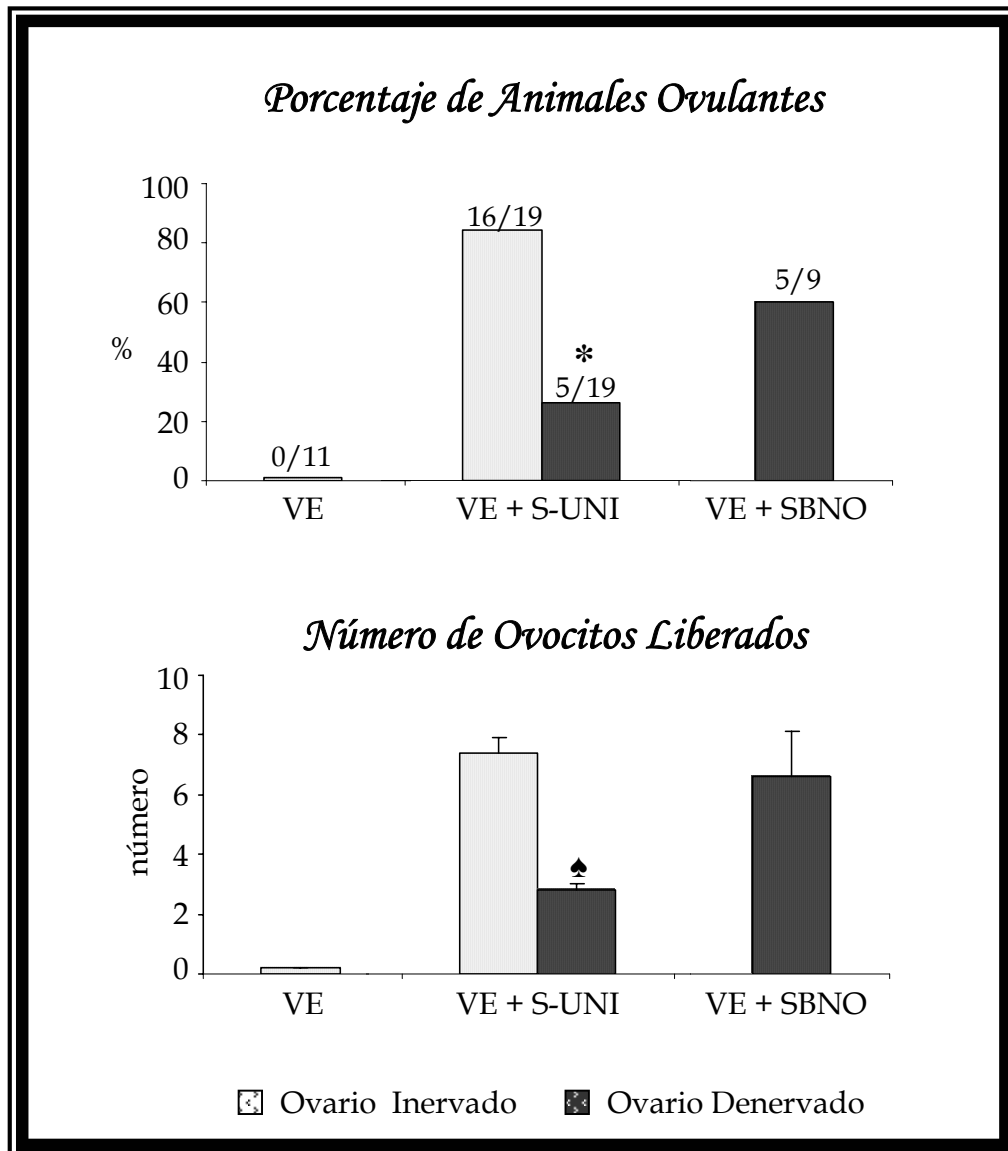
Respuesta Ovulatoria

En los animales tratados con VE a los que se les seccionó un nervio ovárico se observó la recuperación de la ovulación por parte del ovario inervado, lo cual no ocurrió en el ovario denervado (cuadro 4). En cambio, la sección bilateral del NOS a ratas tratadas con VE resultó en un incremento significativo de la ovulación por parte de ambos ovarios denervados. No se observaron diferencias significativas entre la ovulación de los ovarios inervados de los animales con sección unilateral y los ovarios denervados de los animales con sección bilateral (Figura 12).

Cuadro 4. Proporción de animales ovulantes de animales tratados con valerato de estradiol (VE) a los 10 días de edad y sometidos a la operación simulada izquierda (OSI), derecha (OSD) o sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o bilateral (SBNO) a los 24 días de edad y autopsiados a los 90 días de edad.

Grupo	Proporción de animales ovulantes por ovario		Número de ovocitos liberados por ovario	
	Izquierdo	Derecho	Izquierdo	Derecho
VE + SNOI	2/9	7/9	(3) (3)	6.7±0.8
VE + SNOD	9/10	2/10	7.9±0.9	(3) (2)

Figura 12. Porcentaje de animales ovulantes y número de ovocitos liberados, de hembras tratadas valerato de estradiol (VE) a los 10 días de edad y sometidas a la sección unilateral (S-UNI) o bilateral (SBNO) del nervio ovárico superior a los 24 días de edad y autopsiadas a los 90 días de edad.



* $p < 0.05$ vs. su ovario inervado (prueba de Fisher). ♠ $p < 0.05$ vs. su ovario inervado (prueba de U de Mann-Whitney).

Peso Relativo de los Ovarios, las Adrenal y el Útero

El peso del ovario izquierdo de los animales tratados con VE sometidos a la operación simulada derecha, la sección del nervio derecho o de ambos nervios, fue mayor que el peso del ovario izquierdo de los animales inyectados sólo con VE; cuando se seccionó el nervio izquierdo el peso del ovario derecho fue mayor que en los animales con operación simulada izquierda. El peso del ovario derecho de los animales con SBNO fue menor que el de los animales tratados con VE. Los animales con sección del nervio derecho presentaron un menor peso adrenal y del útero que aquellos a los que se les realizó una operación simulada derecha (Cuadro 5).

Cuadro 5. Media \pm e.e.m. del **peso relativo (mg/100g de peso corporal)** del ovario izquierdo, derecho, masa adrenal y el útero de animales tratados con valerato de estradiol (VE) a los 10 días de edad y sometidos a la operación simulada izquierda (OSI), derecha (OSD) o sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o bilateral (SBNO) a los 24 días de edad y autopsiados a los 90 días de edad.

Grupo	n	Ovarios		Masa	Útero
		Izquierdo	Derecho	Adrenal	
VE	11	12.4 \pm 0.8	12.8 \pm 0.8	21.6 \pm 1.4	153.9 \pm 6.5
VE OSI	8	9.4 \pm 0.7	9.6 \pm 0.9	19.1 \pm 1.1	133.6 \pm 10.4
VE SNOI	9	11.1 \pm 1.4	15.3 \pm 1.4 ♠	18.7 \pm 1.5	130.1 \pm 10.6
VE OSD	7	15.1 \pm 0.6 ♦	11.1 \pm 1.9 *	27.1 \pm 2.6	149.7 \pm 1.9
VE SNOD	10	18.4 \pm 0.6 ♦♣	11.9 \pm 0.9 *	18.1 \pm 1.6 ♣	127.7 \pm 2.8 ♦♣
VE SBNO	9	22.9 \pm 2.1 ♦	5.9 \pm 0.6 *♦	18.9 \pm 1.5	146.5 \pm 10.8

♦ p < 0.05 vs. VE; ♣ p < 0.05 vs. VE OSD; ♠ p < 0.05 vs. VE OSI (Prueba de ANDEVA seguida por la prueba de Tukey). * p < 0.05 vs. su ovario izquierdo (Prueba "t" de Student).

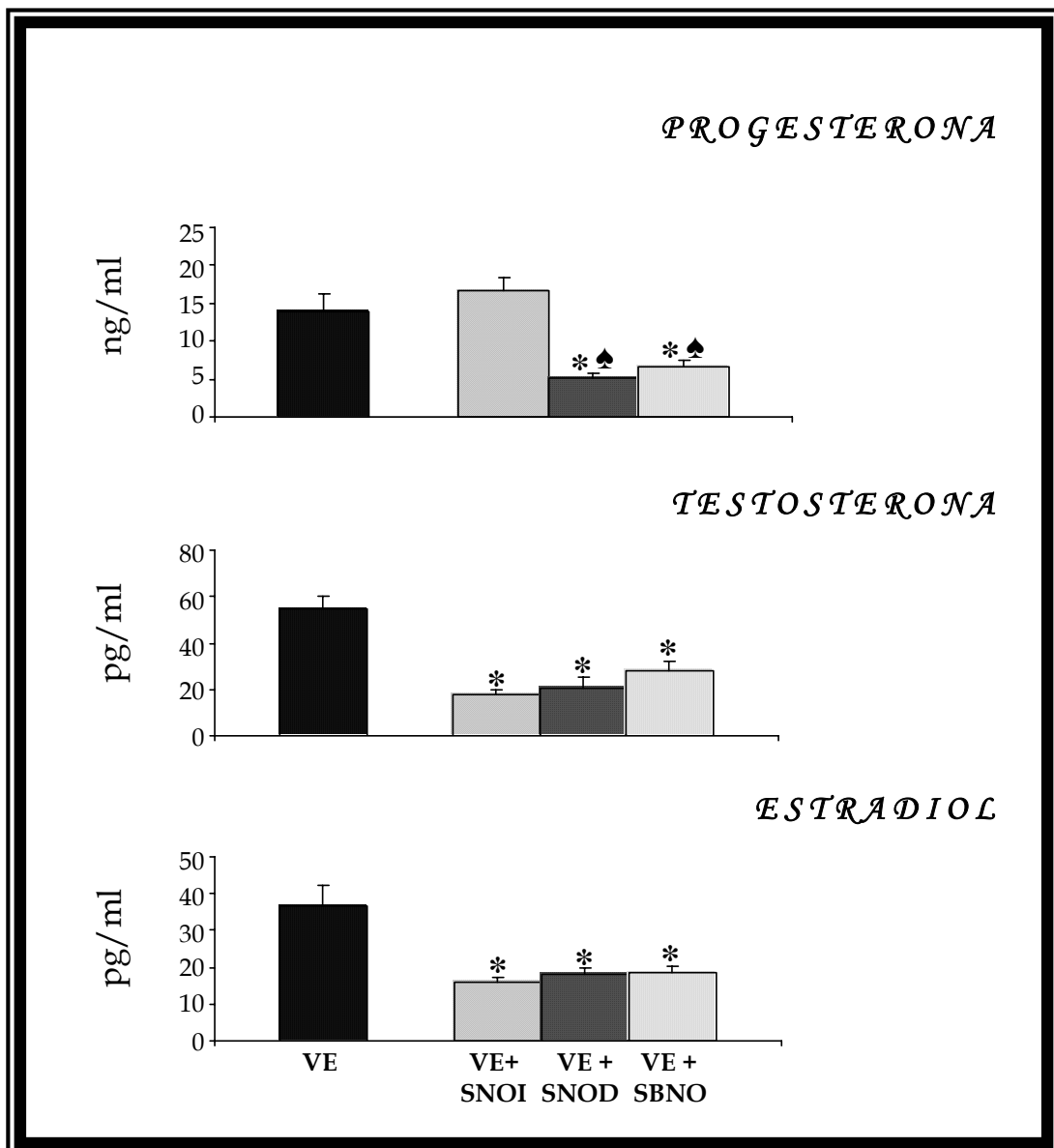
Hormonas Esteroides

La concentración sérica de **progesterona** en animales tratados VE a los que se les realizó la sección del NOS derecho o bilateral fue menor que en los animales con sección del nervio izquierdo y que en el grupo de animales tratados únicamente con el VE (Figura 13).

La concentración sérica de **testosterona** en animales tratados con VE y sección unilateral o bilateral del NOS, fue menor que en los animales tratados sólo con el VE (Figura 13).

La concentración sérica de **estradiol** en animales tratados con VE y sección del NOS izquierdo, derecho o bilateral fue menor que en los animales tratados sólo con el VE (Figura 13).

Figura 13. Media \pm e.e.m. de la concentración sérica de **progesterona**, **testosterona** y **estradiol**, de animales tratados con valerato de estradiol (VE) a los 10 días de edad y sometidos a la sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o bilateral (SBNO) a los 24 días de edad y autopsiados a los 90 días de edad.



* $p < 0.05$ vs. VE; ♠ $p < 0.05$ vs. VE SNOI (Prueba "t" de Student).

Resumen de Resultados

<i>Parámetros</i>	<i>SNOI</i>	<i>VE + SNOD</i>	<i>SBNO</i>
PC	↑	=	=
EAV	R	R	R
TAO	↑	↑	↑
P ₄	=	↓	↓
T	↓	↓	↓
E ₂	↓	↓	↓

VE, Valerato de Estradiol; SNOI, Sección del Nervio Ovárico Superior Izquierdo; SNOD, Sección del Nervio Ovárico Superior Derecho; SBNO, Sección Bilateral del Nervio Ovárico Superior; PC, peso corporal; EAV, Edad de Apertura Vaginal; TAO, Tasa de Animales Ovulantes; P₄, Progesterona; T, Testosterona; E₂, Estradiol; R, Retraso. Los incrementos o disminuciones son en comparación con el grupo de animales inyectados sólo con VE.

D I S C U S I Ó N

Con base en la hipótesis de que el SOPQ es el resultado de una hiperactividad de las fibras simpáticas aportadas por el NOS (Lara y col., 1993; 2000) postulamos que al denervar uno de los ovarios por la sección unilateral del NOS, el ovario denervado debería ovular normalmente. Dado que en los animales con SOPQ inducido por la inyección de VE que fueron sometidos a la sección unilateral del NOS, el ovario inervado fue el que ovuló en la mayoría de los casos, lo que no ocurrió en el ovario denervado, nuestra hipótesis de trabajo queda rechazada.

Estudios clínicos muestran que mujeres con SOPQ recuperan temporalmente la función gonadal después de la resección bilateral de un fragmento de ovario (Vaitukaitis, 1983; Nakamura, 1990). También se ha mostrado que la sección bilateral del NOS a ratas a las que se les indujo el SOPQ por la inyección de VE restablece la ovulación y disminuye la hiperactividad del sistema noradrenérgico del ovario (Lara y col., 1993; Barria y col., 1993; Rosa-E-Silva y col., 2003). Lo mismo ocurre cuando ratas adultas con SOPQ son sometidas a electroacupuntura (Stener-Victorin y col., 2000). Los resultados obtenidos en el presente estudio confirman que la eliminación total de la inervación simpática restablece parcialmente la capacidad ovulatoria en animales con SOPQ, lo que apoya la idea sobre el papel de la inervación noradrenérgica del ovario en el desarrollo de esta patología.

El hecho de que en los animales con sección unilateral del NOS se restableciera la ovulación en el ovario inervado, nos lleva a sugerir que el SOPQ es más que el resultado de un mayor tono noradrenérgico, ya que en las hembras tratadas con VE y con sección del nervio ovárico derecho, la concentración de noradrenalina en el ovario inervado fue similar al del grupo tratado únicamente con el VE (VE= 4.9 ± 0.8 ; VE+SNOD 4.85 ± 0.6 NS) y aún así la gónada ovuló de manera normal, mientras que en el ovario denervado la concentración de la amina fue menor y el ovario no ovuló (VE+SNOD 0.97 ± 0.2 ; VE= 5.5 ± 0.7). Con base en estos resultados sugerimos que en el ovario inervado hay un reacomodo en la actividad de diversas fibras nerviosas, por ejemplo las que contienen VIP, y de las neuronas intrínsecas del ovario todo lo cual mediaría la nueva respuesta esteroidogénica y la ovulación.

Lara y colaboradores (2000) mostraron que cuando se cultivan ovarios de ratas adultas con SOPQ que son sometidas a una sección bilateral del NOS, incrementa el contenido de NGF y su receptor de baja afinidad (p75-NGFR), lo que favorece la disponibilidad del factor en las neuronas y la diferenciación de nuevas neuronas intrínsecas que regulan la función del ovario de manera independiente a la inervación extrínseca. Esta podría ser otra vía por la cual se regula la ovulación en los animales con sección unilateral del NOS. Aunque no podemos descartar que en estos animales el restablecimiento de la función ovárica por parte del ovario inervado, se deba a la comunicación interovárica dada por el plexo ovárico o por el mismo NOS.

El hecho que la sección uni o bilateral del NOS restablece el ciclo estral en todas las hembras con SOPQ provocado por el VE, indica que la denervación del ovario restableció la secreción cíclica de estradiol. En apoyo a ésta interpretación, algunos estudios clínicos han mostrado que el uso de un antagonista estrogénico (citrato de clomifeno) en mujeres con esta patología, permite normalizar el ciclo menstrual (Franks y col., 1985; Hull, 1992).

En pacientes con SOPQ la maduración prematura del eje hipotálamo-hipófisis-gónada se asocia con el inicio precoz de la pubertad (Yen, 1991; Apter y col., 1994; García y col., 1998). Evidencias experimentales de otros investigadores y de nuestro laboratorio han mostrado que la administración de VE en ratas de 14 días de edad, ocasiona un adelanto en el inicio de la pubertad, como resultado de una elevada concentración de estrógenos (Rosa-E-Silva y col., 2003; Rosas, 2006). En el presente estudio, la sección unilateral o bilateral del NOS en el modelo del animal con SOPQ restablece el inicio de la pubertad, lo cual podría atribuirse a la disminución en la concentración sérica de estradiol.

En el modelo del animal con SOPQ, la sección del NOS derecho o la de ambos nervios resultó en una menor concentración sérica de progesterona. Con estas evidencias sugerimos que el NOS derecho participa de manera estimulante en la regulación de la secreción de progesterona mediante la activación de los receptores β -adrenérgicos. En apoyo a esta hipótesis Weiss y colaboradores (1982) mostraron que la estimulación eléctrica del NOS resulta en un incremento de la concentración sérica de progesterona y sugieren que el NOS puede regular la producción directa de progesterona de manera estimulante, mediante la activación de receptores beta, o inhibitoria, por medio de la estimulación de receptores alfa.

En las hembras con SOPQ la sección unilateral o bilateral del NOS, realizada a los 24 días de edad, resultó en una menor concentración sérica de testosterona y estradiol al alcanzar la etapa adulta. Esto podría ser explicado por el hecho de que las células de la teca al no tener la información noradrenérgica, aportada por el NOS, no se presenta el efecto amplificador sobre las acciones de las gonadotropinas y como resultado final hay una menor tasa de síntesis de las hormonas esteroideas. Aunque existen evidencias de nuestro laboratorio que indican que la participación del NOS en la regulación de la esteroidogénesis depende del período transcurrido entre la denervación y la autopsia (Morán y col., 2000).

A diferencia de lo que se ha reportado en el animal con sección bilateral del NOS, donde el inicio de la pubertad no se modifica (Aguado y Ojeda, 1984, Morales y col., 1993), en el presente estudio observamos que con la sección izquierda del NOS se retrasa la edad de la canalización de la vagina sin cambios en la concentración sérica de estradiol, lo que podría indicar que los mecanismos neuroendocrinos que culminan con la canalización de la vagina dependen de la información simpática que transporta el NOS y no sólo de la concentración de estradiol.

Tal como ya se ha mostrado en estudios previos de nuestro laboratorio, la sección bilateral del NOS realizada a ratas prepúberes o adultas (Chávez y col., 1991; Morales y col., 1993;) no modifica la capacidad ovulatoria. Sin embargo se ha observado que la eliminación de uno de los nervios ocasiona una disminución del número de ovocitos liberados por el ovario denervado (Chávez y col., 1991; Morales y col., 1993), que no se explica por una disminución en la sensibilidad del folículo a las gonadotropinas, ya que la estimulación con PMSG o PMSG+hCG no restablece la ovulación (Morales y col., 1998). En el presente estudio se observó que cuando la sección del nervio se realiza en la etapa juvenil y se evalúa su efecto en la etapa adulta, el NOS sigue modulando la respuesta ovulatoria de una manera asimétrica, donde al parecer el ovario derecho es más eficiente que el izquierdo. Esto podría ser explicado por el mayor número de fibras simpáticas que recibe la gónada derecha (Klein y Burden 1988).

Debido a que la sección del NOS izquierdo resultó en una menor concentración sérica de progesterona y una mayor concentración de androstenediona y testosterona, mientras que la eliminación del nervio derecho no modificó la concentración de dichas hormonas, sugerimos que la regulación de la secreción de hormonas esteroideas depende más de la integridad de la información neural que transcurre por el NOS izquierdo que de la que llega por el nervio derecho.

Morán y colaboradores (2000) mostraron que 12 días después de realizada la sección del nervio izquierdo la concentración de estradiol es menor, sin embargo a los 16 días después de la cirugía se observa una mayor concentración de esta hormona. Estas evidencias nos llevan a sugerir que la participación de la información neural que transcurre por el NOS en la regulación de la secreción de estradiol varía con la edad del animal y es asimétrica. Es posible que los efectos de la sección del NOS sobre la secreción de estradiol son de tipo agudo, y después de transcurrido cierto tiempo se compensan los cambios (homeostasis) y cuando el animal llega a la etapa adulta no se observan modificaciones en la concentración sérica de estradiol.

La disminución de la concentración de noradrenalina en el ovario denervado, y su aumento en el ovario inervado de aquellos animales a los que se le realizó la sección unilateral del NOS concuerda con lo observado por Chávez y colaboradores (1994) y dan soporte a la idea de la existencia de una comunicación nerviosa entre los ovarios.

Tomados en conjunto, los resultados del presente estudio indican que la regulación que ejerce el NOS sobre las funciones ováricas, es diferente en el animal normal y en el que tiene un SOPQ.

CONCLUSIONES

- ☞ La inervación simpática aportada por el NOS participa de manera estimulante en el desarrollo del SOPQ.
- ☞ La sección unilateral del NOS en el modelo del animal con SOPQ restablece la función ovárica en el ovario inervado.
- ☞ La eliminación total de la información simpática en hembras con SOPQ, resulta en el restablecimiento del inicio de la pubertad, el ciclo estral, la respuesta ovulatoria y la concentración sérica de hormonas esteroides.
- ☞ En el animal sin el SOPQ, la participación del NOS izquierdo, en la regulación de la secreción de progesterona, es estimulante.
- ☞ La regulación que ejerce el NOS, sobre la secreción de andrógenos y estradiol varía con la edad del animal y es asimétrica.

REFERENCIAS

- ⌘ Abdel G.A, Khatim M.S, Mowafi R.S, Alzaid H.G.N, Sham R.W. (1991) "Polycystic Ovaries: Do These Represent a Specific Endocrinopathy?". *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 98: 300-305.
- ⌘ Adashi E.Y, Hsueh A.J. (1981) "Stimulation of β_2 -Adrenergic Responsiveness by Follicle-Stimulating Hormone in Rat Granulosa Cells *in vitro* and *in vivo*". *Endocrinology.* 108: 2170-2178.
- ⌘ 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.
- ⌘ Andrews W.W, Ojeda S.R. (1981) "A Quantitative Analysis of the Maturation of Steroid Negative Feedbacks Controlling Gonadotropin Release in the Female Rat: Transition From an Androgenic to a Predominantly Estrogenic Control". *Endocrinology* 108: 1313-1320.

- ✂ Anesetti G, Lombide P, D'Albora H, Ojeda S.R. (2001) "Intrinsic Neurons in the Human Ovary". *Cell and Tissue Research*. 306: 231–237.
- ✂ Apter D, Butzow T, Laughlin G.A, Yen S.S.C. (1994) "Accelerate 24-hour Luteinizing Hormone Pulsatile Activity in Adolescent Girls with Ovarian Hiperandrogenism: Relevance to the Developmental phase of Polycystic Ovarian Syndrome" *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 79: 119-125.
- ✂ Arias P. (2003) "Endocrinología de la Reproducción". En: Dvorkin MA, Cardinali DP (Eds.) *Bases Fisiológicas de la Práctica Médica*. 13ª edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. Cap. 38. pp. 659-681.
- ✂ Baljet B, Drukker J. (1980) "The Extrinsic Innervation of the Pelvic Organs in the Female Rat". *Acta Anat.* 107: 241-267.
- ✂ Barria A, Lara H.E. (1991) "Polycystic Ovary. Changes in Ovarian Steroids Secretion. Role of Sympathetic Innervation". *Arch Biol. Med. Exp.* 24: R-154.
- ✂ Barria A, Leyton V, Ojeda S, Lara H.E. (1993) "Ovarian Steroidal Response to Gonadotropins and β -Adrenergic Stimulation is Enhanced in Polycystic Ovary Syndrome: Role of Sympathetic Innervation". *Endocrinology*. 133: 2696-2703.
- ✂ Becu-Villalobos D, Lacau-Mengido M. (1990) "Control Hormonal del Desarrollo Puberal en la Rata Hembra". *Acta Physiology Pharmacology Latinoamerican*. 40: 1-17.

- ⌘ Bergman R.A, Afifi A.K, Heidger P.M. (1998) "Sistema Reprodutor Femenino". En: *Histología*. Editorial McGraw-Hill•Interamericana. México. Cap. 16. pp. 307-320.
- ⌘ Braw R.H, Tsafiriri A. (1980) "Follicles Explanted from Pentobarbitone-treated Rats Provide a Model for Atresia". *Journal of Reproduction and Fertility*. 59: 259-265.
- ⌘ Brawer J.R, Munoz M, Farookhi R. (1986) "Development of the Polycystic Ovarian Condition (PCO) in the Estradiol Valerate-Treated Rat". *Biol. Reprod.* 35: 647-655.
- ⌘ Brawer J.R, Naftolin F, Martin J, Sonnenschein C. (1978) "Effects of a Single Injection of Estradiol Valerate on the Hypothalamic Arcuate Nucleus and on Reproductive Function in the Female Rat". *Endocrinology*. 107: 274-279.
- ⌘ Burden H.W. (1978) "Ovarian Innervation". En: Jones R.E. (ed.) *The Vertebrate Ovary Comparative Biology*. Plenum Press. New York. pp. 615-628.
- ⌘ Burden H.W. (1985) "The Adrenergic Innervation of Mammalian Ovaries". En: Ben-Jonathan N, Barh J.M, Weiner R.I. (Eds.) *Catecholamines as Hormone Regulator*. Raven Press. New York. pp. 261-278.
- ⌘ Byskov A.G, Lintern-Moore S. (1973) "Follicle Formation in the Immature Mouse Ovary: The Role of the rete Ovarii". *J Anat.* 116: 207-217.

- ✂ Byskov A.G.S. (1978) "Follicular Atresia". En: Jones R. E. (ed.) *The Vertebrate Ovary*. Plenum Press. New York. pp. 533-562.
- ✂ Castro M. (1999) "Cambios en la Maduración y Crecimiento del Folículo Ovárico, Secreción de Gonadotropinas, esteroides Ováricos y Monoaminas Hipotálamicas durante el Desarrollo Prepuberal de la Rata. *Tesis de Licenciatura*. UNAM, FES Zaragoza.
- ✂ Chávez R, Domínguez R. (1994) "Participation of the Superior Ovarian Nerve in the Regulation of Compensatory Ovarian Hypertrophy: The Effects of its Section Performed on Each Day of the Oestrous Cycle". *Journal of Endocrinology*. 140: 197-201.
- ✂ Chávez R, Carrizosa L, Domínguez R. (1991) "Effects of Superior Ovarian Nerve Section on Spontaneous and Induced Ovulation in Adult Rat". *Medical Science Research*. 19: 41-42.
- ✂ Convery M, McCarthy G.F, Brawer J.R. (1990) "Remission of the Polycystic Ovarian Condition (PCO) in the Rat Following Hemiovariectomy". *Anat. Rec*. 226: 328-336.
- ✂ D'Albora H, Anesetti G, Lombide P, Dees L.W, Ojeda S.R. (2002) "Intrinsic Neurons in the Mammalian Ovary". *Microscopy Research and Technique*. 59: 484-489.

- ✂ D'Albora H, Lombide P, Ojeda S.R. (2000) "Intrinsic Neurons in the Rat Ovary: an Immunohistochemical Study". *Cell and Tissue Research*. 300: 47-56.
- ✂ Davoren J.B, Hsueh A.J.W. (1985) "Vasoactive Intestinal Peptide: A Novel Stimulator of Steroidogenesis by Cultured Rat Granulosa Cells". *Biol Reprod*. 33: 37-52.
- ✂ Dees 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.
- ✂ Dees W.L, Kozlowski G.P, Dey R, Ojeda S.R. (1985) "Evidence for the Existence of Substance P in the Prepubertal Rat Ovary. II. Immunocytochemical Localization". *Biol. Reprod*. 33: 471-476.
- ✂ Dissen G, Ojeda S.R. (1999) "Ovarian Innervation". En: Knobil E, Neill J (Eds.) *Encyclopedia of Reproduction*. Academic Press. USA. 3: 583-589.
- ✂ Dissen G.A, Lara H.E, Leyton V, Paredes A, Hill D.F, Costa M.E, Martínez-Serrano A, Ojeda S.R. (2000) "Intraovarian excess of Nerve Growth Factor increases Androgen secretion and disrupts Estrous Cyclicity in the Rat". *Endocrinology*. 141: 1073 - 1082.
- ✂ Döhler K.D, Whuttke W. (1974) "Serum LH, FSH, Prolactin and Progesterone from Birth to Puberty in Female and Male Rats". *Endocrinology*. 94: 1003-1008.

- ✂ Domínguez R, Riboni L. (1971) "Failure of Ovulation in Autografted Ovary of Hemispayed Rat". *Neuroendocrinology*. 7: 164-170.
- ✂ Duorkin M, Cardinali D. (2003) "Sistema Nervioso Autónomo". En: Bases *Fisiológicas de la Práctica Médica*. 13a edición. Editorial Panamericana. Buenos Aires. Cap. 50. pp. 1017-1022.
- ✂ Dyer C, Erickson G. (1985). "Norepinephrine Amplifies Human Chorionic Gonadotropin-Stimulated Androgen Biosynthesis by Ovarian Theca-Interstitial Cells". *Endocrinology*. 116: 1645–1652.
- ✂ Farookhi R, Hemmings R, Brawer J.R. (1985) "Unilateral Ovariectomy restores Ovulatory Cyclicity in Rats with a Polycystic Ovarian Condition". *Biology of Reproduction*. 32: 530-540.
- ✂ Fawcett D.W. (1995) "Sistema Reproductor Femenino". En: *Tratado de Histología*. 12ª edición. Editorial Interamericana•McGraw-Hill. New York. Cap. 32. pp. 885-904.
- ✂ Flerko B. (1977) "Sympathetic Nerve Function in the Ovary". In *Endocrinology, Vol. 1: Proceedings of the V International Congress of Endocrinology*, ed. V. H. T. James. Excerpta Medica. Amsterdam: 210-214.
- ✂ Forneris M.L, Aguado L.I. (2002) "Neonatal Superior Ovarian Nerve Transection Disturbs the Cyclic Activity of the Female Rats". *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*. 82: 75-82.

- ✂ Franks S, Adams J, Mason H, Polson D. (1985) "Ovulatory disorders in Women with Polycystic Ovaries and Male pattern baldnes". *Clin. Obstet Gynaecol* 12: 605-632.
- ✂ Franks S, Mason H, White D, Willis D. (1996) "Mechanisms of Anovulation in Polycystic Ovary Syndrome". En: Filicori M, Flamigni C. (Eds.) *The Ovary: Regulation, Dysfunction and Treatment*. Editorial Elsevier. Amsterdam. pp. 183-186.
- ✂ Freeman M.E. (1994) "The Neuroendocrine Control of the Ovarian Cycle of The Rat". En: Knobil E, Neill J. D. (Eds.) *The Physiology of Reproduction*. 2a Edición. Volúmen 2. Editorial Raven Press. New York. pp: 615-620.
- ✂ García R.C, Armando I, Levin G, Escobar M.E, Barontini M. (1998) "Peripheral Catecholamine Alterations in Adolescents with Polycystic Ovary Síndrome. *Clin. Endocrinol.* 49: 221-228.
- ✂ Geneser F. (2000). "Órganos de la Reproducción". En: *Histología sobre Bases Moleculares*. 3a edición. Editorial Médica • Panamericana. Buenos Aires. Cap. 22. pp. 613-638.
- ✂ George F.W, Ojeda S.R. (1987) "Vasoactive Intestinal Peptide enhances Aromatase Activity in the Neonatal Rat Ovary before Development of Primary Follicles or Responsiveness to Follicle-Stimulating Hormone". *Proc Natl Acad Sci.* 84: 5803-5807.

- ↳ Gerendai I, Marchetti B, Maugeri S, Amico R.M, Scapagnini U. (1978) "Prevention of Compensatory Ovarian Hypertrophy by Local Treatment of the Ovary with 6 – OHDA". *Neuroendocrinology* 27 : 193.
- ↳ Goldfien A, Monroe S.E. (1998) "Ovarios". En: Greenspan F.S, Strewler G.J. (Eds.) *Endocrinología Básica y Clínica*. 4a edición. Editorial El Manual Moderno. México D.F. Cap. 13. pp. 497-554.
- ↳ Gore-Langton R.E, Armstrong D.T. (1994) "Follicular Steroidogenesis and its Control". En: Knobil E, Neill JD. (Eds.) *The Physiology of Reproduction*. Second edition. Editorial Raven Press. New York. Vol. 2. Cap. 11. pp. 571-611.
- ↳ Gougeon A. (1986) "Dynamics of Follicular Growth in the Human: A Model from Preliminary Results". *Human Reproduction*. 1: 81-87.
- ↳ Greenwald G.S, Roy S.K. (1994) "Follicular Development and its Control". En: Knobil E y Neill J.D. (Eds.) *The Physiology of Reproduction*. 2ª edición. Raven Press Ltd. Vol. 2 Cap. 12. New York. pp. 629-724.
- ↳ Grob H.S. (1974) "Follicle Growth in Denervated Ovaries of Hypophysectomised Mice". *Fed Proc*. 33 : 213.
- ↳ Guyton AC, Hall JE. (2001) "Fisiología Femenina antes de la Gestación y Hormonas Femeninas". En: *Tratado de Fisiología Médica*. 10a edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. México. Cap. 81. pp. 1117 - 1133.

- ✂ Hay M.F, Moor R.M. (1978) "Changes in the Graafian Follicle Population During the Follicular Phase of the Oestrous Cycle". En: Crighton D.B, Foxcroft G.R, Haynes N.B, Lamming G.E. (Eds.) *Control of ovulation*. Butterworth. London. pp: 177-196.
- ✂ Hemmings R, Farookhi R, Brawer J.R. (1983) "Pituitary and Ovarian Responses to Luteinizing Hormone Releasing Hormone in a Rat with Polycystic Ovaries". *Biology of reproduction* 29: 239-248.
- ✂ Hernández E.R, Jiménez J.L, Payne D.W, Adashi E.Y. (1988) "Adrenergic Regulation of Ovarian Androgen Biosynthesis is Mediated Via β_2 -Adrenergic Theca Interstitial Cell Recognition Sites". *Endocrinology*. 122: 1592-1602.
- ✂ Hirshfield A.N. (1983) "Compensatory Ovarian Hypertrophy in the long-term Hemicastrate rat: size distribution of growing and atretic follicles". *Biology of Reproduction*. 28: 271-278.
- ✂ Hirshfield A.N. (1991) "Development of Follicles in the Mammalian Ovary". *Int Rev. Cytol*. 124: 43-101.
- ✂ Hoyt K.L, Schmidt M.C. (2004) "Polycystic Ovary (Stein-Leventhal) Syndrome: Etiology, Complications, and Treatment". *Clin Lab Sci*. 17 (3): 155-163.
- ✂ Hsueh A.J.W, Adashi E.Y, Jones P.B.C, Wels T.H.J. (1984) "Hormonal Regulation of the Differentiation of Cultured Ovarian Granulosa Cells". *Endocr. Rev*. 5: 76-127.

- ⌘ Hsueh A.J.W, Billig H, Tsafiriri A. (1994) "Ovarian Follicle Atresia: A Hormonally Controlled Apoptotic Process". *Endocr. Rev.* 15: 707-724.
- ⌘ Hull M.G.R. (1992) "The causes of Infertility and Relative Effectiveness of Treatment" En: Tepleton A.A. Drife J.O. (Eds.) *Infertility*. London: Springer-Verlag. pp. 33-62.
- ⌘ Isomura G, Iwata S, Chiba M, Shimizu N. (1985) "Constitution of the Greater Splanchnic Nerve in the Rat". *Anat. Anz.* 159: 159-171.
- ⌘ Iversen S, Iversen L, Saper C.B. (2001) "Sistema Nervioso Autónomo e Hipotálamo". En: Kandel E.R, Schwartz J.H, Jessell T.M. (Eds.) *Principios de neurociencia*. Editorial McGraw-Hill•Interamericana de España. USA. España. pp. 960-982.
- ⌘ Iwashita M, Mimuro T, Watanabe M, Setoyama T, Matsuo A, Adashi T, Takeda Y, Sakamoto S. (1990) "Plasma Levels of Insulin-Like Growth Factor-I and its Binding Protein in Polycystic Ovary Syndrome" *Horm. Res.* [suppl 2] 33: 21-26.
- ⌘ Jorgensen J.C, Kannisto P, Liedberg K, Ottesen B, Owman C, Schmidt G. (1991) "The Influence of Neuropeptide y and Norepinephrine on Ovulation in the Rat Ovary". *Peptides* 12: 975-982.

- ⌘ Kannisto P, Ekblad E, Helm G, Owman Ch, Sjöberg N.O, Stjernquist M, Sundler F, Walles B. (1986) "Existence and Coexistence of Peptides in Nerves of the Mammalian Ovary and Oviduct Demonstrated by Immunocytochemistry". *Histochemistry* 86: 25-34.
- ⌘ Kapia A, Hsueh A.J.W. (1997) "Regulation of Ovarian Follicle Atresia". *Annu. Rev. Physiol.* 59: 349-363.
- ⌘ Klein C.M, Burden H.W. (1988) "Anatomical Localization of Afferent and Postganglionic Sympathetic Neurons Innervating the Rat Ovary". *Neuroscience Letters.* 85: 217-222.
- ⌘ Lamprecht S.A, Kohen F, Ausher J, Zor U, Lindner H.R. (1976) "Hormonal Stimulation of Oestradiol-17 β Release from the Rat Ovary During Early Postnatal Development". *Journal Endocrinology.* 68: 343-344.
- ⌘ Lara H.E, Dees W.L, Hiney J.K, Dissen G.A, Rivier C, Ojeda S.R. (1991) "Functional Recovery of the Developing Rat Ovary after Transplantation: Contribution of the Extrinsic Innervation". *Endocrinology.* 129: 1849-1860.
- ⌘ Lara H.E, Dissen G.A, Leyton V, Paredes A, Fuenzalida H, Fiedler J.L, Ojeda S.R. (2000) "An Increased Intraovarian Synthesis of Nerve Growth Factor and its Low Affinity Receptor is a Principal Component of Steroid-induced Polycystic Ovary in the Rat". *Endocrinology.* 141: 1059-1072.
- ⌘ Lara H.E, Ferruz J.I, Luza S, Bustamante D.A, Borges Y, Ojeda S.R. (1993) "Activation of Ovarian Sympathetic Nerves in Polycystic Ovary Síndrome". *Endocrinology.* 133: 2690-2695.

- ✂ Lara H.E, Hill D.F, Katz K.H, Ojeda S.R. (1990a) "The Gene Encoding Nerve Growth Factor is Expressed in the Immature Rat Ovary: Effect of Denervation and Hormonal Treatment". *Endocrinology*. 126: 357-363.
- ✂ Lara H.E, McDonald J.K, Ahmed C.E, Ojeda S.R. (1990b) "Guanethidine-Mediated Destruction of Ovarian Sympathetic Nerves Disrupts Ovarian Development and Function in Rats". *Endocrinology*. 127: 2199-2209.
- ✂ Lawrence I.E, Burden H.W. (1980) "The Origin of Extrinsic Adrenergic Innervation to the Rat Ovary". *Anat. Rec.* 196: 51.
- ✂ Malamed S, Gibney J.A, Ojeda S.R. (1992) "Ovarian Innervation Develops Before Initiation of Folliculogenesis in the Rat". *Cell and Tissue Research*. 270: 87-93.
- ✂ Mayerhofer A, Dissen G.A, Costa M.E, Ojeda S.R. (1997) "A Role for Neurotransmitters in Early Follicular Development: Induction of Functional Follicle-Stimulating Hormone Receptors in Newly Formed Follicles of the Rat Ovary". *Endocrinology*. 138 (8): 3320-3329.
- ✂ McDonald J.K, Dess W.L, Ahmed C.E, Noe B.D, Ojeda S.R. (1987) "Biochemical and Immunocytochemical Characterization of Neuropeptide γ in the Immature Rat Ovary". *Endocrinology*. 120: 1703-1710.
- ✂ McNeill D.L, Burden H.W. (1986) "Neuropeptide γ and Somatostatin Immunoreactive Perikarya in Preaortic Ganglia Projecting to the Rat Ovary". *J. Reprod. Fertil.* 78: 727-732.
- ✂ McNeill D.L, Burden H.W. (1987) "Neuropeptides in Sensory Perikarya Projecting to the Rat Ovary". *Am. J. Anat.* 179: 269-276.

- ✂ Morales L, Chávez R, Ayala M.E, Domínguez R. (1998) "Effects of Unilateral or Bilateral Superior Ovarian Nerve Section in Prepubertal Rats on the Ovulatory Response to Gonadotrophin Administration". *Journal of Endocrinology*. 158: 213-219.
- ✂ 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.
- ✂ Morán C, Morales L, Quiróz U, Domínguez R. (2000) "Effects of Unilateral or Bilateral Superior Ovarian Nerve Section in Infantile Rats on Follicular Growth". *Journal of Endocrinology*. 166: 205-211.
- ✂ Nakamura Y. (1990) "Treatment of Polycystic Ovary Syndrome : An Overview" *Horm. Res.* [Suppl 2] 33: 31.
- ✂ Ojeda S.R y Urbanski H.F. (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.
- ✂ Ojeda S.R, Andrew W.W, Advis J.P, Smith-White S. (1980) "Recent Advances in the Endocrinology of Puberty". *Endocrine Reviews*. 1: 228-257.
- ✂ Ojeda S.R, Lara H.E, Ahmed C.E. (1989) "Potencial Relevante of Vasoactive Intestinal Peptide to Ovarian Physiology". *Semen. Reprod. Endocrinol.* 7: 52-60.

- ✂ Ojeda S.R, Lara H.E. (1989) "Role of the Sympathetic Nervous System in the Regulation of Ovarian Function". En: Pirke K.M, Wuttke W, Schweiger U (Eds.) *The menstrual cycle and its disorders*. Springer-Verlag. Berlin. pp. 26-32.
- ✂ Ojeda S.R, Urbanski H.F. (1988) "Puberty in the Rat". En: Knobil E, Neill J. M. (Eds.) *The physiology of reproduction*. Raven Press. Nueva York. pp. 1699-1737.
- ✂ Oliver R.H, Chen G.D, Yeh J. (1999) "Follicular Atresia". En: Knobil E, Neill J.D. (Eds.) *Encyclopedia of Reproduction*. Academic Press. San Diego. Vol. 2. pp. 373-375.
- ✂ Papka R.E, Cotton J.P, Traurig H.H. (1985) "Comparative Distribution of Neuropeptide Tyrosine, Vasoactive Intestinal Polypeptide, Substance P Immunoreactive, Acetylcholinesterase Positive and Noradrenergic Nerves in the Reproductive Tract of the Female Rat". *Cell. Tissue Res.* 242: 475-490.
- ✂ Peters H. (1979) "Some Aspects of Early Follicular Development". En: Midgley A.R, Sadler W.A, (Eds.) *Ovarian Follicular Development and Function*. Raven Press. New York. pp. 1-13.
- ✂ Rajah R, Hirshfield A.N. (1991) "The Changing Architecture of the Rat Ovary During the Immediate Postpartum Period: A Three Dimensional (3D) Reconstruction". *Biology Reproduction*. 44-152.

- ↳ Ramírez VD. (1973) "Endocrinology of Puberty". En: Greep RO, Astwood EB. (Eds.) *Handbook of Physiology*. Washington: American Physiological Society. Vol. 2. Sec. 7. pp. 1 - 28.
- ↳ Raynaud J.P. (1973) "Influence of Rat Estradiol Binding Plasma Protein (EBP) on Uterotrophic Activity". *Steroids*. 21: 249-258.
- ↳ Raynaud JP. (1973) "Influence of Rat Estradiol Binding Plasma Protein (EBP) on Uterotrophic Activity". *Steroids*. 21: 249 - 258.
- ↳ Romero C, Paredes A, Dissen G.A, Ojeda S.R. (2002) "Nerve Growth Factor Induces the Expression of Functional FSH Receptors in Newly Formed Follicles of the Rat Ovary". *Endocrinology*. 143(4): 1485-1494.
- ↳ Rosa-E-Silva A, Guimaraes M.A, Padmanabhan V, Lara H.E. (2003) "Prepubertal Administration of Estradiol Valerate Disrupts Cyclicity and Leads to Cystic Ovarian Morphology During Adult Life in the Rat: Role of Sympathetic Innervation". *Endocrinology*. 144: 4289-4297.
- ↳ Rosas G. (2006) "Efecto de la Inducción del Síndrome del Ovario Poliquístico en la Rata Infantil, sobre la Dinámica del Crecimiento Folicular y la Secreción de Hormonas Esteroides". *Tesis de Licenciatura*. UNAM, FES Zaragoza.
- ↳ Ross G.T, Vande-Wiele R.L. (1981) "Ovarios". En: Williams R. H. (Ed.) *Tratado de Endocrinología*. 4a edición. Editorial Salvat. Barcelona. Cap. 7. pp. 468-475, 487-494.

- ↳ 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.
- ↳ Schulster A, Farookhi R, Brawer J.R. (1984) "Polycystic Ovarian condition in Estradiol Valerate-Treated Rats: Spontaneous Changes in Characteristics Endocrine Features". *Biology of Reproduction*. 31: 587-593.
- ↳ 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.
- ↳ Semonova II. (1969) "Adrenergic Innervation of Ovaries in Stein-Leventhal Syndrome". *Vesyn. Akad Med Nauk SSSR*. 24: 58-62.
- ↳ Smith-While S, Ojeda S.R. (1981) "Changes in Ovarian Luteinizing (LH) and Follicle Stimulating Hormone (FSH) Receptor Content and in Gonadotropin-Induced Ornithinedecarboxylase Activite During Prepubertal and Pubertal Development of the Rat". *Endocrinology*. 109: 152-161.
- ↳ Speroff L. (1983) "Ovario". En: Felig P, Baxter J.D, Broadus A.E, Frohman L.A. (Eds.) *Endocrinología y Metabolismo*. Editorial McGraw-Hills. México. Cap. 17. pp. 711-725.

- ⌘ Stener-Victorin E, Lundeberg T, Waldenstrom U, Manni L, Aloe L, Gunnarsson S, Olof P. (2000) "Effects of Electro-Acupuncture on Nerve Growth Factor and Ovarian Morphology in Rats with Experimentally Induced Polycystic Ovaries". *Biology of Reproduction*. 63: 1497-503.
- ⌘ Vaitukaitis J.L. (1983) "Polycystic-Ovary-Syndrome-What is it?". *N. Engl. J Med*. 309: 1245-1246.
- ⌘ Van Voorhis B.J. (1999) "Follicular Development". En: Knobil E, Neill J.D. (Eds.) *Encyclopedia of Reproduction*. Academic Press. San Diego. Vol. 2. pp. 376-389.
- ⌘ Vander A, Sherman J, Luciano D. (2001) "Reproducción". En: *Human Physiology the Mechanisms of Body Function*. 8a edición. Editorial McGraw-Hill. New York. Cap. 19. pp. 653.
- ⌘ Weiss G.K, Dail W.G, Ratner A. (1982) "Evidence for Direct Neural Control of Ovarian Steroidogenesis in Rats". *J. Reprod. Fertil*. 65: 507-511.
- ⌘ Williams C.L, Stancel G.M. (1996) "Estrógenos y Progestágenos". En: Goodman & Gilman (Eds.) *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 9a edición. Editorial McGraw-Hill•Interamericana. México. Sección XIII. Cap. 57. pp. 1497-1529.
- ⌘ Wylie S.N, Roche P.J, Gibson W.R. (1985) "Ovulation after Sympathetic Denervation of the Rat Ovary Produced by Freezing its Nerve Supply". *J. Reprod. Fertil*. 213: 369-372.
- ⌘ Yen S.S.C. (1980) "The Polycystic Ovary Syndrome". *Clin. Endocrinol (Oxf)* 12: 177-208.
- ⌘ Yen S.S.C. (1991) "Chronic Anovulation Caused by Peripheral Endocrine Disorders". En: Yen S.S.C, Jaffe R.B. (Eds.) *Reproductive Endocrinology: Physiology, Pathophysiology and Clinical Management*. Saunders. Philadelphia. Vol 3: 576-630.