



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA**

**“CONCENTRACIÓN SÉRICA DE PROGESTERONA Y  
17  $\beta$ -ESTRADIOL COMO RESULTADO DE LA SECCIÓN DEL  
NERVIO VAGO A LAS 09:00 H EN CADA ETAPA DEL CICLO  
ESTRAL DE LA RATA ADULTA CON O SIN OVARIECTOMÍA  
UNILATERAL”**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**B I Ó L O G O**

**P R E S E N T A:**

**ADRIANA ZÁRATE PÉREZ**

**DIRECTORA DE TESIS**

**M. en IBSH. Angélica Flores Ramírez**

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

**MÉXICO, D.F. 4 de Diciembre, 2012**



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
“ZARAGOZA”**

**CARRERA DE BIOLOGÍA**

**“CONCENTRACIÓN SÉRICA DE PROGESTERONA Y  
17  $\beta$ -ESTRADIOL COMO RESULTADO DE LA SECCIÓN DEL  
NERVIO VAGO A LAS 09:00 H EN CADA ETAPA DEL CICLO  
ESTRAL DE LA RATA ADULTA CON O SIN OVARIECTOMÍA  
UNILATERAL”**

**Tesis presentada por: Adriana Zárate Pérez**

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

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

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



## Dedicatoria

A mis padres Ángeles y Alejandro porque desde pequeña han sido para mí grandes y maravillosos, nunca encontraré la forma de agradecer el cariño comprensión y apoyo brindados en las derrotas y logros obtenidos, haciendo de éste, un triunfo más suyo que mío. Gracias por confiar y apoyar siempre cada una de mis decisiones, por alentarme a seguir adelante anhelando que siempre me prepare para enfrentar la vida, haciendo de mí una mujer independiente.

Con admiración respeto y cariño a mis hermanos Tania y Sergio que me han acompañado en el transcurso de mi vida, muy agradecida porque con su apoyo, esfuerzo y comprensión me han inspirado confianza impulsándome a obtener uno de mis principales objetivos, hoy les digo que, este es el fruto de una lucha constante y es para ustedes.

Como testimonio de mi infinito aprecio dedico este logro a mis tías Rosa, Lola y Lulú, mujeres siempre admirables que todo lo comprenden y dan lo mejor de sí mismas sin esperar nada a cambio, gracias por regalarme esta gran familia que me ha acompañado a lo largo de mi vida, por brindarme cariño y apoyo cuando más lo necesito, deseo de todo corazón que este triunfo lo sientan como suyo propio.

A “mechas” por acompañarme todos estos años, por estar a mi lado en mis noches de desvelo cualquiera que fueran las circunstancias, gracias por llenar de dicha y tranquilidad mi vida.



A Sandra y Julio, muy agradecida por encontrarnos en el camino, quizá no en el mejor momento de nuestras vidas, pero sí cuando más nos necesitábamos. A cada uno de ustedes gracias por estar a mi lado en esta etapa de mi vida, por llegar y alegrar mi camino con su compañía.

A Leidy y Laura, por brindarme un excelente equipo de trabajo, ya que con su incondicional ayuda hicieron más ligero mi camino.

A mi amigo Luis por su cariño y confianza que me brindó siempre que lo necesité y por regalarme momentos de alegría que me acompañaron durante toda la carrera.

A mis amigas Laura, Kenia, Vero y Guadalupe, sin duda alguna lo mejor que me llevo de labo es su valiosa amistad, tan agradecida con cada una de ustedes por regalarme sonrisas, alegría y tantos momentos divertidos que han ido construyendo nuestra amistad, pero también agradezco todas las palabras de aliento en los momentos más difíciles.

A Todos aquellos familiares y amigos que han puesto un poco de sí para culminar este logro, hoy les agradezco su incondicional compañía en este camino que se llama vida.

A mi universidad, por brindarme un espacio y encaminar mis pasos hacia el conocimiento, gracias mi querida UNAM.



## *Agradecimientos*

*A los miembros del jurado*

*M. en IBSH. Angélica Flores Ramírez:*

*Gracias por permitirme formar parte del equipo de laboratorio.*

*Biól. Pamela María Everardo Arévalo*

*Dra. Ma. Esther Cruz Beltrán*

*Dra. Leticia Morales Ledesma*

*Dra. Roberto Domínguez Casalá*

*Por todo el apoyo que me brindaron durante la revisión de esta tesis ya que su participación ha enriquecido el trabajo realizado. Muy agradecida por los acertados comentarios de cada uno de ustedes, debo destacar por encima de todo su disponibilidad, paciencia y valioso tiempo que me brindaron. Pero sobre todo mil gracias por demostrarme que son excelentes personas.*

*La verdadera sabiduría está en reconocer la propia ignorancia*

*Sócrates*

*Sube... Haz de los obstáculos escalones para aquello que quieras alcanzar, pero no te olvides de aquellos que no consiguieron subir en la escalera de la vida.*

*Charles Chaplin*

*Considero más valiente al que conquista sus deseos que al que conquista a sus enemigos, ya que la victoria más dura es la victoria sobre uno mismo.*

*Aristóteles*



**Índice**

<b>Resumen</b>	<b>1</b>
<b>Introducción</b>	<b>3</b>
<b>Marco teórico</b>	
I. Ovarios	4
☆ Anatomía	4
☆ Compartimiento folicular	6
☆ Compartimiento luteal	9
☆ Compartimiento intersticial	10
II. Esteroidogénesis ovárica	11
☆ Biosíntesis de progesterona	12
☆ Biosíntesis de andrógenos	12
☆ Biosíntesis de estrógenos	13
☆ Teoría de la doble célula doble hormona	15
☆ Excreción de las hormonas ováricas esteroideas	16
☆ Acción biológica de las hormonas ováricas esteroideas	17
III. Regulación endócrina de las funciones ováricas	17
☆ Ciclo estral	19
IV. Inervación del ovario	23
☆ Nervio vago	24
☆ Participación del nervio vago en las funciones ováricas	27
<b>Justificación</b>	<b>29</b>
<b>Hipótesis</b>	<b>30</b>



<b>Objetivos</b>	<b>31</b>
<b>Materiales y Método</b>	<b>32</b>
<b>Resultados</b>	<b>34</b>
<b>Análisis de resultados</b>	<b>43</b>
<b>Conclusiones</b>	<b>46</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>47</b>



## Resumen

El nervio vago, es una vía neural que participa en la regulación de la secreción de hormonas ováricas esteroides, por lo que en el presente estudio se analizó si la participación de esta vía neural, en la regulación de la secreción de progesterona y 17  $\beta$ -estradiol, depende del ciclo estral en estudio.

Para analizar esta participación, se utilizaron ratas hembra adultas vírgenes de la cepa CIIZ-V que a las 09:00 h del día del Diestro-1, Diestro-2, Proestro o Estro, fueron sometidas a uno de los siguientes tratamientos: Laparotomía ventral, sección unilateral del nervio vago seguida o no de la extirpación del ovario contralateral a la sección; ovariectomía unilateral seguida o no de la sección del nervio vago ipsilateral al ovario *In situ*. También se contó con un grupo testigo absoluto. Los animales fueron sacrificados una hora después a la cirugía o a las 10:00 h en el caso del grupo control. En el suero se cuantificó la progesterona y 17  $\beta$ -estradiol por RIA.

En animales con laparotomía realizada en el Diestro 1 o Estro, la concentración de progesterona fue mayor que en el grupo control.

La sección del nervio vago izquierdo (Nv-I), en el día del Estro, resultó en una mayor concentración de progesterona y 17  $\beta$ -estradiol, que en el grupo con laparotomía. La sección del nervio vago derecho, (Nv-D) en la etapa del Proestro, incrementó la concentración de progesterona.

La extirpación del ovario derecho en animales con Nv-I, (Nv-I + Ovx-D), en las etapas del Diestro-1 y Estro la concentración de progesterona fue menor que en el grupo con Nv-I.

En animales con ovariectomía derecha seguida de la sección del Nv-I, (Ovx-D+Nv-I), en la etapa de Estro, la concentración de progesterona fue mayor que en el grupo con Ovx-D, mientras que en el Diestro 1 la concentración de 17  $\beta$ -estradiol fue mayor.

En animales con Nv-I + Ovx-D, en la etapa de Diestro 1, Proestro y Estro la concentración de progesterona resultó en incremento y La concentración de 17  $\beta$ -estradiol resultó en disminución en el Diestro 1, en comparación con el grupo con Ovx-D+Nv-I.



Con base a los resultados obtenidos, sugerimos que la información neural que llega a los ovarios por el nervio vago, participa sobre los mecanismos que regulan la secreción de progesterona y 17  $\beta$ -estradiol, de manera asimétrica y varía en función de la etapa del ciclo estral que se analice.



## Introducción

La secreción de progesterona y 17  $\beta$ -estradiol por los ovarios, es regulada por la interacción de las gonadotropinas; hormona estimulante del folículo (FSH) y la hormona luteinizante (LH), sobre los folículos y cuerpos lúteos. La secreción de FHS y LH, es a su vez regulada por la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH), que es secretada por neuronas hipotalámicas (Halász, 2000; Kyeong-Hoon y Kaiser, 2006; Tresguerres, 2010).

La inervación simpática, parasimpática y sensorial del ovario modula la secreción de hormonas ováricas (Dissen y Ojeda 1999; Gerendai, 2002). La información parasimpática y sensorial viaja a través del nervio vago, cuyas fibras contienen: P (SP), somatostatina, péptido intestinal vasoactivo (VIP), acetilcolina y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) (Calka *et al.*, 1988; Gilbert *et al.*, 1980; Inyama *et al.*, 1986; Lewis y Travagli, 2001).

La sección unilateral del nervio vago a las 09:00 h del Proestro bloquea la ovulación espontánea y no la modifica cuando la sección se realizó entre las 11:00 y 19:00 h (Zárate *et al.*, 2011)

Con base en los resultados anteriores, en el presente estudio se analizó los efectos agudos (1 hora) de la sección unilateral del nervio vago, seguido o no de la extirpación del ovario contralateral, así como los efectos de la ovariectomía unilateral seguida o no de la sección ipsilateral al ovario *In situ*, sobre la secreción de progesterona y 17  $\beta$ -estradiol, en cada etapa del ciclo estral de la rata adulta. Los animales fueron sacrificados una hora después de la cirugía.

Los resultados me sugieren que la información vagal que llega a los ovarios a las 09:00 h, modula la esteroidogénesis ovárica de manera asimétrica y que depende de la etapa del ciclo estral en que se realice el estudio.



## Marco Teórico

Las gónadas femeninas producen las hormonas necesarias para la regulación de las funciones de los órganos reproductivos y liberan ovocitos viables para su fecundación, dichas funciones son reguladas por mecanismo endócrinos (Espey, 1999; Ganong, 2002; Paniagua *et al.*, 2002).

### I. Ovarios

Localizados en la región abdominal, los ovarios están unidos a la pared posterior del ligamento ancho mediante un pliegue peritoneal llamado mesovario. Los nervios, los vasos sanguíneos y los vasos linfáticos atraviesan el mesovario y penetran en el ovario a través del hilio (Yao y Bahr, 1999; Domínguez *et al.*, 1991). Además de liberar ovocitos capaces de ser fecundados, secretan hormonas proteicas, peptídicas y esteroides (Domínguez *et al.*, 1991).

#### ☆ Anatomía

La superficie del ovario está cubierta por epitelio simple cúbico o cilíndrico, por debajo del cual se observa una capa de tejido conectivo; fibroso, de poco espesor denominada albugínea. El estroma, ocupa toda la estructura del ovario que rodea a los folículos, el cuerpo lúteo y la glándula intersticial. En la parte central del estroma, se distingue la médula, constituida por tejido conectivo laxo, vasos sanguíneos, linfáticos y nervios (Figura 1). La médula se encuentra rodeada por la corteza, que contiene folículos ováricos y cuerpos lúteos (Colantuoni y Santangelo, 2005; Yao y Bahr, 1999).

Al folículo ovárico se le considera como la unidad anatómica funcional del ovario, ya que a partir de él se originan los compartimentos folicular (representado por los folículos en las diferentes etapas de maduración), luteal (representado por los cuerpos lúteos recién formados y maduros) y el intersticial (formado a partir de los folículos atrésicos que tuvieron diferenciada la teca interna) (Figura 1) (Domínguez *et al.*, 1991; Ying y Zhang, 1999).

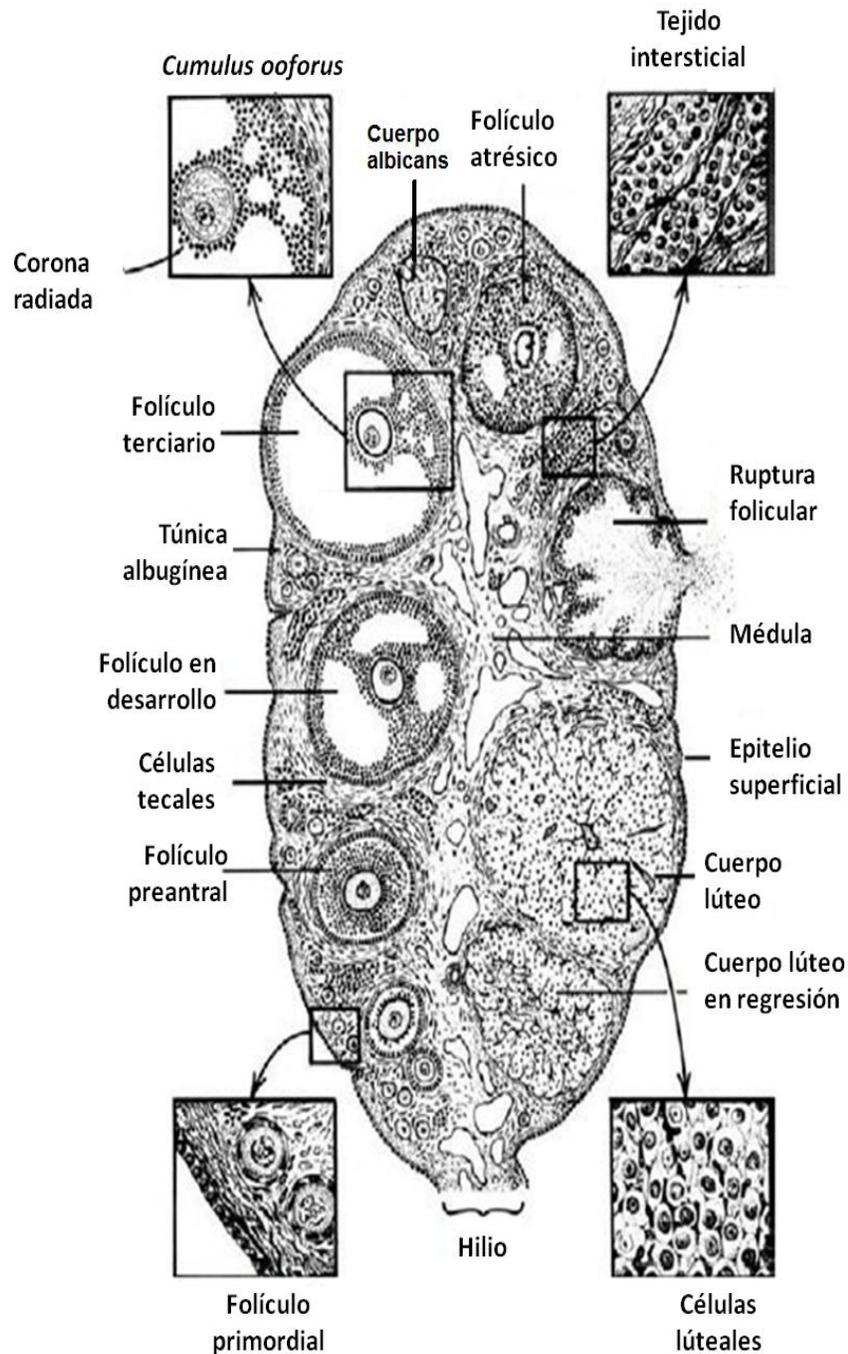


Figura 1. Ovario de mamífero donde se observa el compartimento folicular, luteal e intersticial (Modificada de Freeman, 1999).

☆ **Compartimiento folicular**

El desarrollo folicular, desde el folículo primordial hasta el folículo antral, (foliculogénesis), es un proceso dinámico que se lleva a cabo en la corteza ovárica (Casabiell, 2006; Domínguez *et al.*, 1991). Zhang *et al.* (2010) y Paniagua *et al.* (2002), (Figura 2) clasifican a los folículos de la rata en:

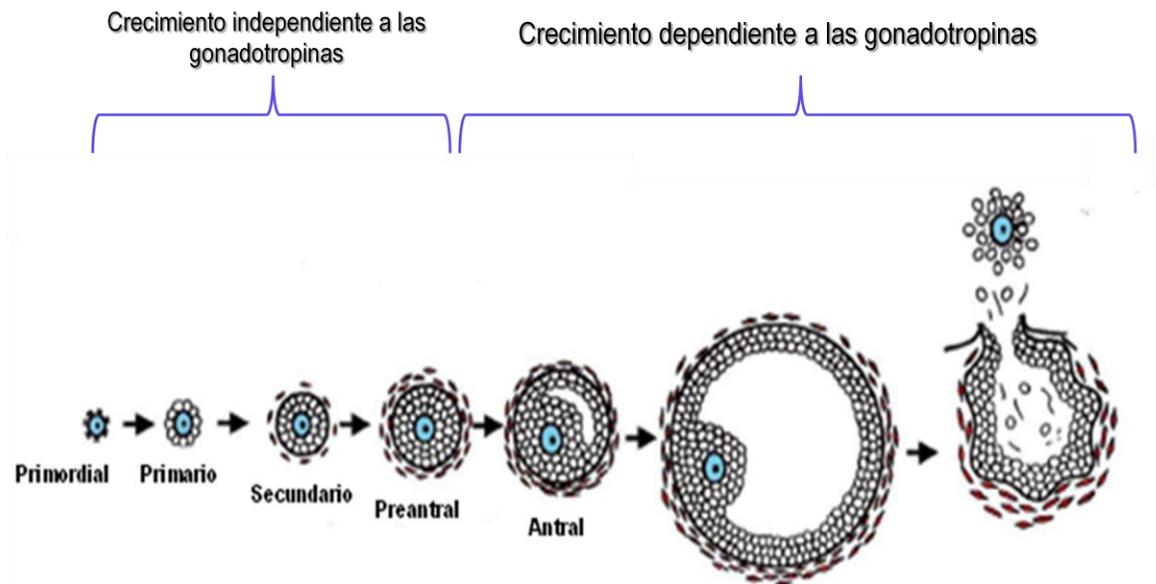


Figura 2. Los diferentes estadios de desarrollo del folículo ovárico de la rata, la dependencia del folículo ovárico a las gonadotropinas y la ovulación (Tomada de Orisaka *et al.*, 2009).

**Folículo primordial:** A las 24 horas iniciales de vida posnatal ocurre la formación masiva de folículos primordiales, que se almacenarán en la corteza del ovario y permanecerán inactivos hasta la pubertad (Mayerhofer *et al.*, 1997). La mayoría de estos folículos sufrirán atresi desde el nacimiento hasta la etapa senil reproductiva (Caravaca *et al.*, 2005). Contiene un ovocito primario, en estado de arresto meiótico, rodeado por una capa única de células epiteliales aplanadas. La lámina basal que rodea a esas células, aísla al folículo del resto del tejido ovárico, sin acceso directo al sistema vascular y, en consecuencia, al sistema endócrino (Figura 3 B) (Casabiell, 2006; Dole *et al.*, 2008). El factor neurotrófico derivado de células gliales (GDNF) y el factor ligando c-Kit (KL) estimulan el crecimiento folicular (Dole *et al.*, 2008).

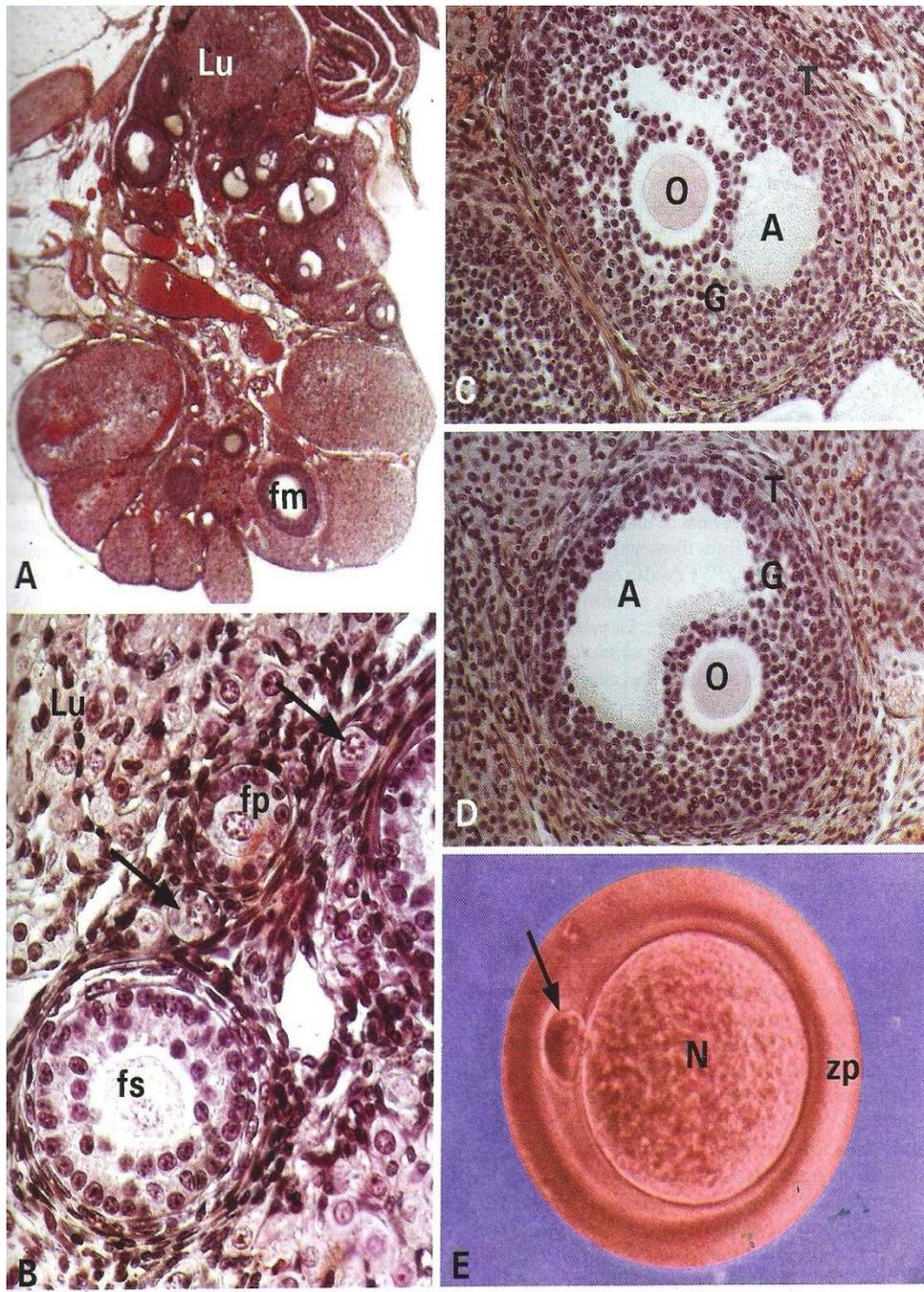


Figura 3. Ovario de rata teñido con tricrómico de Masson. **A:** Vista a pequeño aumento que permite observar varios folículos maduros (fm) y cuerpos lúteos (Lu). X20. **B:** Detalle del mismo ovario con varios folículos primordiales (flechas), folículos primarios (fp), un folículo secundario (fs) y parte de un cuerpo lúteo (Lu). X450. **C:** Folículo preantral con la teca (T), granulosa (G) y cavidades del antro en formación (A). O: ovocito. X250. **D:** Folículo antral, en el que el antro forma una única cavidad (A), rodeada por la granulosa (G). T: teca. O: ovocito. X200. **E:** Ovocito tras la ovulación rodeado por la zona pelúcida (zp) se aprecia el primer cuerpo pola (flecha) X800, (Tomada de Paniagua *et al.*, 2002).



**Folículo primario:** Los primeros folículos que inician su crecimiento son aquellos que se encuentran cerca del hilio ovárico (Hirshfield, 1991; Mayerhofer *et al.*, 1997). Su desarrollo comienza en el momento en que los folículos primordiales incrementan su tamaño, lo cual es estimulado por la inervación ovárica y factores de crecimiento sintetizados por el propio folículo, ya que en esta etapa no se cuenta con receptores a gonadotropinas (Flores *et al.*, 2005 (b); Mayerhofer *et al.*, 1997; Zhang *et al.*, 2010). El folículo contiene un ovocito rodeado por una sola capa de celulares cúbicas (Figura 3 B), y al dividirse, forman un epitelio estratificado columnar que dará origen al folículo secundario (Paniagua *et al.*, 2002; Yacobi *et al.*, 2003).

**Folículo secundario:** La segunda fase de desarrollo folicular inicia con la formación de la zona pelúcida, que separa al ovocito de las células foliculares, las que a su vez se multiplican y reciben el nombre de granulosa, las células de la granulosa contienen abundante retículo endoplásmico liso, rugoso y ribosomas. La capa más externa de la granulosa se encuentra limitada por la membrana basal, y esta a su vez por el tejido conjuntivo ovárico formando la teca indiferenciada (Figura 3 B) (Orisaka *et al.*, 2009; Paniagua *et al.*, 2002).

**Folículo preantral:** Contiene al ovocito con su nucléolo visible. Las células de la granulosa tienen más de cinco capas y aparece el espacio antral lo que hace que aumente rápidamente el diámetro del folículo (Elvin y Matzuk, 1998; Zhang *et al.*, 2010). En el tejido conjuntivo que rodea al folículo se ha formado la teca folicular definitiva formada por la teca interna (que contiene vasos sanguíneos y tienen la capacidad de sintetizar hormonas esteroideas) (Figura 3 C) y la teca externa (que contiene fibras musculares lisas) (Welsch, 2008). El factor de células madres (SCF), el de crecimiento similar a la insulina (IGF-I) y el de diferenciación-9 (GDF-9) estimulan la diferenciación de las células tecales. El GDF-9, promueve la supervivencia y estimula el crecimiento folicular durante la transición de la etapa preantral a la antral (Huang *et al.*, 2001; Orisaka *et al.*, 2006; Orisaka *et al.*, 2009).

**Folículo antral:** Es el último estadio de maduración folicular. El folículo experimenta un gran aumento de tamaño, el antro se hace más grande y el ovocito queda excéntrico dentro del líquido folicular, sostenido únicamente por una columna de células de la granulosa, la cual forma un anillo conocido como corona radiada. El ovocito y sus células de la granulosa adjuntas forman el *cúmulus oophorus* (Figura 3 D) (Elvin y Matzuk, 1998; Paniagua *et al.*, 2002). El GDNF se encuentra



en el citoplasma del ovocito, en las células de la granulosa y las de la teca de estos folículos (Dole *et al.*, 2008).

En la rata el crecimiento del folículo dura 19 días, desde que pasa del estado de reposo hasta que culmina con la ovulación, y durante este tiempo está expuesto por lo menos a cuatro picos preovulatorios de gonadotropinas (Domínguez *et al.*, 1991).

En la rata, la ovulación se produce 10 a 14 horas después de la liberación preovulatoria de las gonadotropinas (Espey, 1999). Unas horas antes, en la zona donde se produce la ruptura del folículo (opuesto al lugar donde está el ovocito) se pierde la túnica albugínea y degeneran las células de teca y de la granulosa. Disminuye la síntesis de andrógenos y aumenta la de progesterona. Cuatro a seis horas posteriores al inicio del proceso ovulatorio, los folículos comienzan a enrojecer, los capilares internos se dilatan y hay hiperemia en el tejido. El ápice del folículo maduro sobresale por encima de la superficie ovárica, el cual comienza a ser traslúcido y balonado. La pared folicular gradualmente se adelgaza por degradación de las fibras colágenas, inducida por la fibrinolisis sintetizada por las células de la granulosa, que es activada por el plasminógeno, producto de las células de la granulosa (Domínguez *et al.*, 1991; Gaytán *et al.*, 2002; Urroz 1991).

A partir del folículo que ha liberado su ovocito se forma el cuerpo lúteo, lo que lleva a cambios en la pared del folículo y en las relaciones entre las células tecales y de la granulosa (Colantuoni y Santangelo, 2005; Domínguez *et al.*, 1991).

#### ☆ **Compartimiento luteal**

Algunos cambios morfológicos precedentes a la ruptura folicular son la invaginación de la pared folicular y la desaparición de la membrana basal; que separaba a las células de la teca de las células de la granulosa (Freeman, 2006; Greenwald, 1999; Stouffer, 2006).

A las pocas horas de la liberación del ovocito, las células de la granulosa se diferencian a células lúteas grandes y las de la teca a células lúteas pequeñas. Ambos tipos celulares tienen la capacidad de producir progesterona, lo cual ocurre por el incremento en la expresión de enzimas



que convierten colesterol a progesterona y el decremento en la expresión de las que convierten progesterona a estrógenos (Freeman, 2006; Rosales y Guzmán, 2008; Stocco *et al.*, 2007).

La prolactina estimula la secreción de progesterona luteal, la cual permite la implantación del embrión temprano en el endometrio uterino y apoya a la hembra a proveer un ambiente óptimo que sostiene el desarrollo embrionario (Espey, 1999).

El cuerpo lúteo tiene una vida media de 12 a 14 días en la rata y después se somete a un proceso de regresión que conduce a su desaparición y permite el inicio de un nuevo ciclo. Este proceso se le denomina luteólisis y ocurre como resultado de la liberación pulsátil de prostaglandina F2- $\alpha$  (PGF2- $\alpha$ ) en el endometrio (Freeman, 2006; Stouffer, 2006).

En la rata, la luteólisis se lleva a cabo en dos fases; la primera es una regresión funcional que se encuentra asociada a una marcada disminución en la concentración de progesterona. La segunda fase es una regresión estructural que involucra la disminución de tamaño y peso de la glándula, las células luteales mueren por apoptosis y por último se observa la regresión del cuerpo lúteo (Freeman, 2006; Rosales y Guzmán, 2008; Stocco *et al.*, 2007; Stouffer, 2006). Este proceso es estimulado por “factores luteolíticos”, dentro de los que resaltan las prostaglandinas; que inhiben la síntesis de progesterona (Rosales y Guzmán, 2008). El cuerpo lúteo deja de funcionar al final del ciclo ovárico, cuando no se llevó a cabo la fecundación, o cuando su función ya no es necesaria en cierta etapa de la gestación (Stouffer, 2006).

#### ☆ **Compartimiento intersticial**

La glándula intersticial se forma a partir de células de la teca interna de los folículos atrésicos que tienen receptores a LH y se localiza en la parte interna de la corteza y médula ovárica (Domínguez *et al.*, 1991; Yao y Bahr, 1999).

La atresia folicular es un proceso sistemático de muerte celular por apoptosis y necrosis, por el cual se eliminan del ovario aquellos folículos que no culminan su proceso de crecimiento y diferenciación. Se presenta en cualquier etapa del desarrollo folicular y su inicio está determinado por alteraciones del ovocito, el cual pierde su capacidad para mantener el control metabólico del folículo (Domínguez *et al.*, 1991; Flores *et al.*, 2005 b; Orisaka *et al.*, 2006).



Los folículos atrésicos contienen células de la granulosa con núcleo picnótico y alejadas de la membrana basal, encogimiento del citoplasma y degeneración del ovocito (Freeman, 2006; Zhang *et al.*, 2010). La atresia folicular es estimulada o inhibida factores reguladores locales, como la testosterona, citocinas, GDNF KL (estimulantes) y el estradiol (inhibitorio) (Flores *et al.*, 2005 b).

## II. Esteroidogénesis Ovárica

En la gónada femenina, las hormonas esteroides se sintetizan en sus compartimientos endócrinos: folicular, luteal e intersticial (Domínguez *et al.*, 1991).

Las hormonas esteroides son compuestos lipídicos, que derivan del colesterol, constituido por 16 átomos de carbono dispuestos en tres anillos de seis átomos de carbono, un anillo de cinco átomos y una cadena lateral de seis átomos de C (Figura 4) (Lemus y Pérez, 2003). La célula obtiene el colesterol por síntesis de *novo* dentro del ovario a partir de acetilcoenzima A, el que se libera de los ésteres del colesterol almacenados en gotas lipídicas, y el que circula en la sangre como lipoproteínas (es la principal fuente de abastecimiento para la esteroidogénesis en el ovario). En el humano predomina el colesterol que proviene de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), mientras que en los roedores, el de lipoproteínas de alta densidad (HDL), que representa más del 90% del que es destinado a la producción de hormonas esteroides (Tresguerres, 2010; Van Voorhis, 1999; Ying y Zahang, 1999).

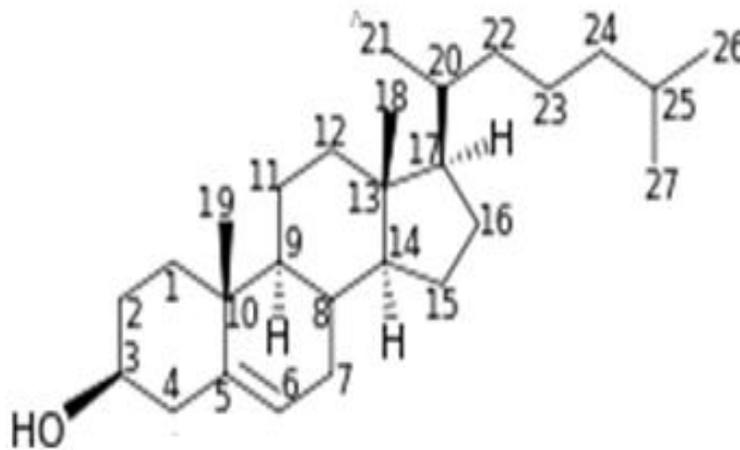


Figura 4. Estructura química del colesterol (Tomada de Smith, 1999).

### ☆ Biosíntesis de progesterona

El colesterol, sin importar su origen, se transporta a las membranas mitocondriales, por medio de la proteína esteroideogénica reguladora aguda (STAR), en donde se transforma en pregnenolona (Ganner, 2001).

La biotransformación de colesterol a progesterona, implica cambios estructurales en la molécula. El primer paso, es la conversión de colesterol a pregnenolona, por medio de la escisión de la cadena lateral del colesterol C20-C22, el cual es un paso limitante. La enzima que cataliza esta reacción se denomina enzima de clivaje de la cadena lateral de colesterol (P450<sub>sc</sub>) (Tresguerres 2010; Van Voorhis, 1999). La pregnenolona solo de la mitocondria y en el retículo endoplásmico liso, se transforma a 5-pregнено 3,20 diona, lo que requiere de la deshidrogenación del grupo alcohólico  $\beta$  en el C-3. Enseguida se lleva a cabo un proceso de isomerización de dicho compuesto, que implica la migración del doble enlace 5-6 a la posición 4-5, y se forma la progesterona. Estos dos procesos se catalizan mediante dos enzimas de localización microsómica, muy estrechamente relacionadas entre sí, que son la 3  $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3 $\beta$ -HSD) y  $\Delta^4$ - $\Delta^5$ -isomerasa (Figura 5) (Hu *et al.*, 2010; Lemus y Pérez, 2003).

La progesterona se produce y secreta en el cuerpo lúteo como una hormona de producto terminal, ya que estas células no contienen las enzimas necesarias para convertirla en otra hormona esteroide (Murray y Granner, 2009).

### ☆ Biosíntesis de andrógenos

Los andrógenos secretados por el ovario son la androstendiona y la testosterona. Su formación a partir de pregnenolona, puede proceder a través de dos diferentes vías metabólicas, denominadas " $\Delta^5$ " y " $\Delta^4$ ", que hace referencia al número del primer carbono que tiene doble enlace, ya sea en el primero o segundo anillo de la molécula (Van Voorhis, 1999).

En la vía  $\Delta^4$ , la primera secuencia metabólica a partir de la pregnenolona es su biotransformación a progesterona, por acción de la  $\Delta^5$ -3 $\beta$ -HSD  $\Delta^4$ - $\Delta^5$ -isomerasa. Posteriormente, la 17 $\alpha$ -hidroxilación de la progesterona y la subsecuente escisión de su cadena lateral, conducen a la formación de androstendiona, la cual es convertida a testosterona por acción de la 17  $\beta$ -HSD (Hu *et al.*, 2010; Lemus y Pérez, 2003).



En la secuencia biosintética de la vía  $\Delta^5$ , el primer paso es la 17 alfa-hidroxiación de la pregnenolona lo que origina la 17-OH pregnenolona, la cual se transforma en dehidroepiandrosterona por acción de la enzima 17, 20-liasa, localizada en el retículo endoplásmico (Lemus y Pérez, 2003; Tresguerres, 2010). La reducción del C-17 de la cetona de la dehidro da lugar a la formación del androstendiol, en una reacción enzimática reversible. El paso final lo constituye la biotransformación de androstenediona a testosterona, que se cataliza por medio del sistema enzimático  $\Delta^{5-3}$   $\beta$ -HSD y  $\Delta^4$   $\Delta^5$ - isomerasa, localizado en la fracción microsómica (Van Voorhis, 1999).

#### ☆ Biosíntesis de estrógenos

Los estrógenos son compuestos de 18 átomos de carbono, caracterizados por la presencia de un anillo A aromatizado, un hidroxilo en el C-3 y un grupo hidroxilo adicional o cetónico en el C-17 (Tresguerres, 2010; Smith, 1999).

La síntesis de estrógenos utiliza como intermediarios a la androstendiona y testosterona (Ganong, 2002; Lemus y Pérez 2003). Para ello, la enzima citocromo P450 aromatasa (P450 arom) cataliza la insaturación y aromatización del anillo A y produce estrona a partir de la androstendiona. La enzima 17  $\beta$ -OH-esteroide deshidrogenasa convierte la androstendiona a testosterona y la estrona en 17  $\beta$ -estradiol. Las enzimas se encuentran localizadas en el retículo endoplásmico de las células de la granulosa, por lo que estas células son capaces de transformar los andrógenos en estrógenos (Smith, 1999; Van Voorhis, 1999).

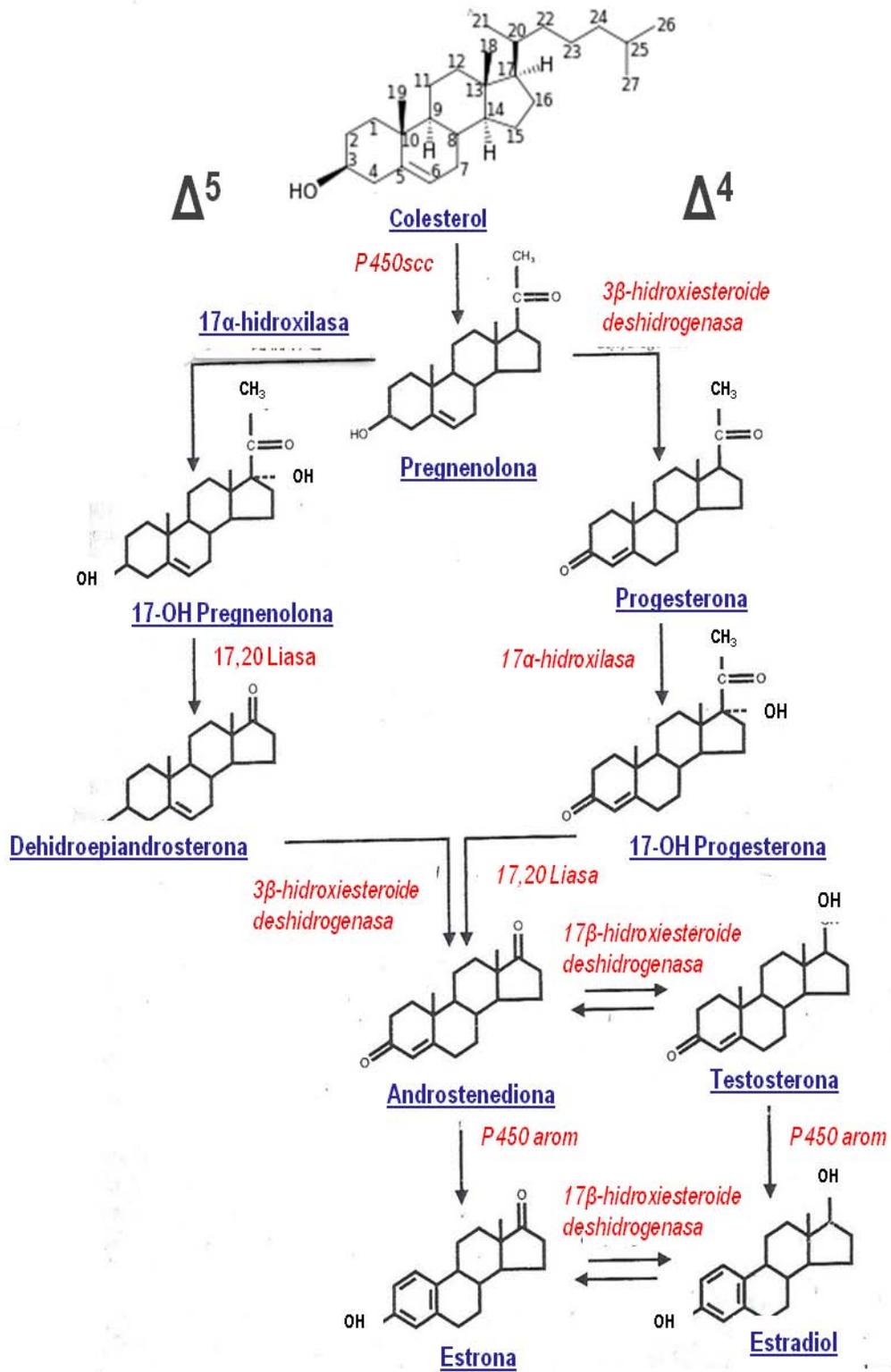


Figura 5. Síntesis de hormonas esteroides gonadales (Modificada de Van Voorhis, 1999).

☆ **Teoría de la doble célula doble hormona**

La síntesis de hormonas esteroideas en el ovario requiere la cooperación entre las células de la teca interna y las células de la granulosa, así como de la participación de la LH y la FSH, llamadas también gonadotropinas (Smith, 1999; Van Voorhis, 1999; Yen, 2001).

La LH estimula en las células de la teca interna la conversión de colesterol a androstendiona y testosterona, las cuales atraviesan la membrana basal y llegan a las células de la granulosa. Estas células, tienen receptores a FSH, y al unirse a ellas estimulan el complejo enzimático que dará lugar a la aromatización de los andrógenos para la síntesis de estrógenos (Ganong, 2002; Tortora y Derrickson, 2006; Ying y Zhang, 1999).

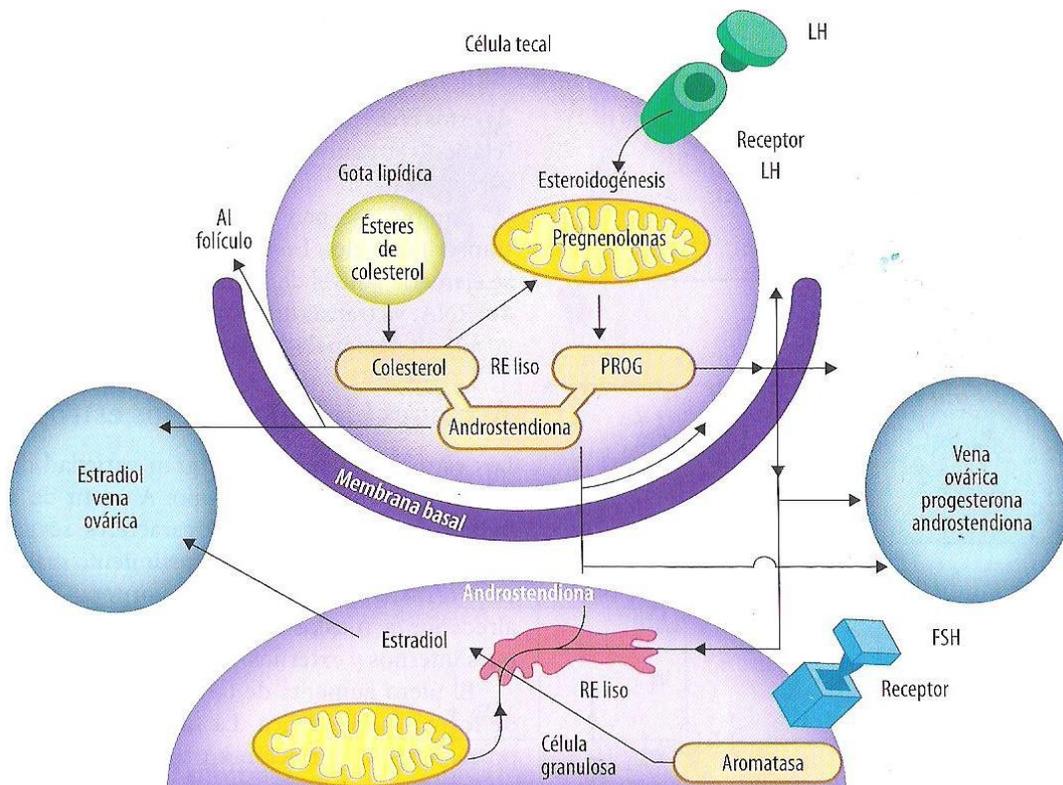


Figura 6. Teoría de la doble célula-doble hormona. La unión de la hormona luteinizante (LH) a su receptor localizado en las células tecales estimula la actividad del AMPc y la actividad enzimática que convierte el colesterol en androstenediona, la cual atraviesa la membrana basal para llegar a las células de la granulosa, en donde la hormona estimulante del folículo (FSH) se une a sus receptores, que estimulan la actividad enzimática de la aromatasa, encargada de convertir la androstenediona en estradiol (Tomada de Tresguerres, 2010).

Cuando las gonadotropinas se unen a sus receptores de membrana se activa la enzima adenilciclase, la cual estimula en el citoplasma la formación de Adenosín monofosfato cíclico (AMPc) a partir del Adenosín Trifosfato (ATP). El AMPc, actúa como segundo mensajero intracelular, debido a que no es capaz de inducir una respuesta celular por sí solo, necesita interactuar con enzimas dependientes, que se denominan proteínas cinasas (PKA), las cuales fosforilan otras proteínas modificando la actividad metabólica de la célula. De esta manera se activa o inactiva las reacciones enzimáticas responsables de la síntesis de hormonas ováricas esteroides (Hu *et al.*, 2010; Lemus y Pérez, 2003).

#### ☆ Excreción de las hormonas ováricas esteroides

Las hormonas esteroides suelen convertirse en productos metabólicos inactivos de excreción en el hígado y riñón, Entre el 20 y 30 % de estos metabolitos se secretan en la bilis y se excretan de manera subsecuente en las heces fecales, en tanto que el resto se descarga hacia la sangre y los filtra el riñón desde el plasma haciéndolos pasar por orina (Ying y Zhang, 1999). El estradiol se degrada en compuestos de menor actividad, tales como el estriol y la estrona (Figura 7), mientras que la progesterona es convertida por el hígado en varios compuestos, uno de los cuales es el pregnadiol inactivo que se excreta por la orina (Champe *et al.*, 2006).

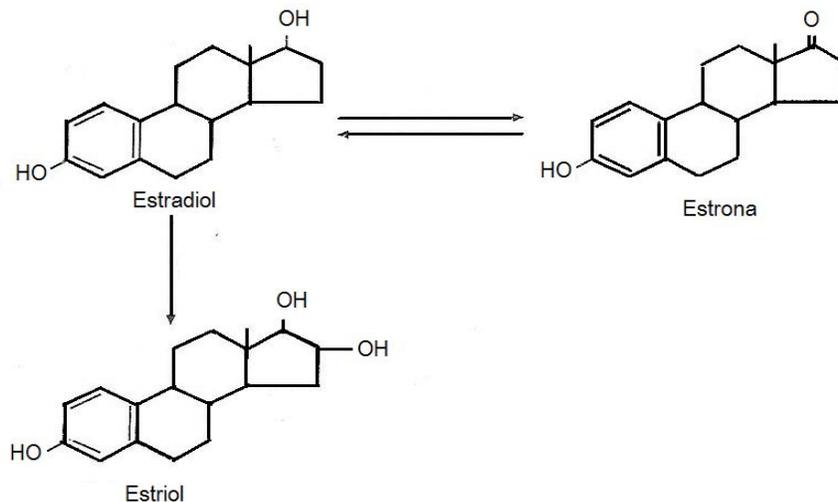


Figura 7. El estradiol, es metabolizado a estrona y estriol, para ser excretados por el hígado y el riñón (modificada de Ganner, 2001).



### ☆ **Acción biológica de las hormonas ováricas esteroideas**

Los principales órganos blanco de la progesterona son las glándulas mamarias, el cerebro y el útero. Estimula el ritmo de conversión de estradiol a estrógenos menos activos y disminuye la frecuencia de LH sin afectar a FSH (Tresguerres, 2010); regula la apoptosis en células de la granulosa en la etapa preovulatoria de la rata (Friberg *et al.*, 2009). Los andrógenos llegan a las células de la granulosa, en donde a partir de ellos se lleva a cabo la producción de estrógenos (Tresguerres, 2010).

Los estrógenos estimulan el crecimiento de los folículos ováricos, crecimiento y desarrollo del útero, incrementan el flujo sanguíneo uterino y sus contracciones espontáneas, regulan la secreción de gonadotropinas, inducen el comportamiento estral por efecto directo en ciertas neuronas del hipotálamo; en la rata aumentan la proliferación de las dendritas en las neuronas y el número de botones sinápticos en la rata (Ganong 2002; Tresguerres, 2010).

### **III. Regulación endócrina de las funciones ováricas**

La ovulación y la secreción de hormonas ováricas son reguladas por señales químicas que provienen del hipotálamo y la hipófisis.

La GnRH es un decapeptido cuya estructura primaria es pyroGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH<sub>2</sub> (peso molecular de 1182.4) (Gómez-Prieto y Velázquez-Paniagua, 2002). En los roedores se sintetiza en neuronas del área preóptica e hipotalámica anterior (POA-AHA) (Arimura, 2000; Brown, 1994; Halász, 2000).

La neurohormona es transportada a lo largo de axones y secretada de las terminales nerviosas dentro del sistema portal hipofisiario, donde existen capilares que forman el plexo primario. Continúa su recorrido a través de la *pars tuberalis* hacia el plexo secundario; compuesto por capilares ubicados en la parte distal de la adenohipófisis. Allí, la GnRH estimula en las células gonadotropas de la adenohipófisis, la secreción de gonadotropinas hacia el plexo venoso secundario, y por su intermedio pasan a la circulación general (Callejas, 2001; Guyton, 2006; Levy *et al.*, 2009).

La liberación de la GnRH desde el hipotálamo es de forma pulsátil y existe una sincronía notable entre los pulsos de GnRH en sangre portal y los pulsos de LH en sangre periférica, los cuales varían durante el ciclo estral (Kyeong-Hoon y Kaiser, 2006). El estradiol estimula la expresión de receptores gonadotrópicos en la membrana plasmática de las células foliculares. Un folículo maduro cuando está dotado de la población adecuada de receptores gonadotrópicos, es sensible a la LH y a la FSH (Espey, 1999).

La naturaleza pulsátil de la secreción de la GnRH resulta en la liberación pulsátil de la FSH y la LH (Gómez-Prieto y Velázquez-Paniagua, 2002). La FSH estimula el proceso de esteroidogénesis ovárica, crecimiento y la maduración folicular, mientras que, la LH estimula la esteroidogénesis ovárica, ovulación y la formación del cuerpo lúteo (Figura 8) (Callejas, 2001; Yao y Bahr, 1999).

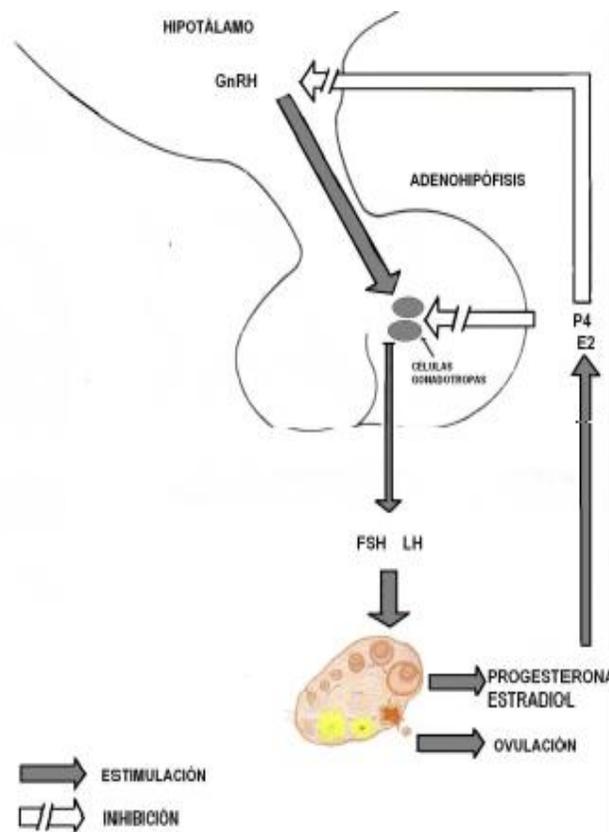


Figura 8. Eje hipotálamo-hipófisis-ovario. La síntesis y liberación de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH), estimula la secreción de la hormona estimulante del folículo (FSH) y de la hormona luteinizante (LH). Ambas gonadotropinas son liberadas al torrente sanguíneo y llegan a los ovarios donde estimulan la liberación de las hormonas ováricas y la ovulación (Tomada de Levy *et al.*, 2009).



### ☆ **Ciclo estral**

El ciclo estral se presenta a partir de la pubertad y durante la vida reproductiva de las hembras, y es regulado por el eje hipotálamo-hipófisis-ovario. En la rata hembra, la duración media del ciclo estral es de 4 a 5 días durante el cual se presentan cambios conductuales, morfofisiológicos, histológicos y bioquímicos del aparato genital (Álvarez *et al.*, 2009; Westwood, 2008). Durante el ciclo estral se distingue la fase folicular y la fase luteínica. La fase folicular consta a su vez de dos fases: Proestro y Estro, y la fase luteínica de Metaestro, llamado también Diestro-1 y el Diestro-2 (Caravaca *et al.*, 2005).

El estudio de la citología vaginal mediante la toma de frotis vaginal es una herramienta que se utiliza para monitorear el ciclo estral de la rata, debido a que el epitelio de la vagina responde a los cambios en las concentraciones de progesterona y estrógenos en suero que se presentan durante el ciclo estral (Killen y Schwartz, 1999). La caracterización de cada fase se basa en la proporción entre los tres tipos de células vaginal: células epiteliales, las células cornificadas y leucocitos (Figura 9) (Marcondes *et al.*, 2002).

La etapa del Proestro del ciclo estral se caracteriza por la presencia de células epiteliales nucleadas (Hernández, 2002). En la rata, los folículos del ciclo anterior que darán lugar a la ovulación han madurado y ya se consideran como folículos preovulatorios. Las células de la granulosa de dichos folículos comienzan a secretar grandes cantidades de estradiol, por ello, en la tarde de esta fase sus concentraciones son muy elevadas y declinan rápidamente a lo largo de la tarde del proestro hasta alcanzar concentraciones basales en la mañana del estro (Figura 10) (Blake, 1999).

La elevación en las concentraciones plasmáticas de estradiol estimula la secreción de GnRH hipotalámica así como las de gonadotropinas hipofisarias (Freeman, 2006). La frecuencia de secreción GnRH aumenta en la fase folicular tardía y como resultado, la secreción de LH y FSH incrementa en la circulación antes de la ovulación (Blake, 1999).

La secreción de LH y FSH comienza a incrementar simultáneamente entre las 14:00 y 15:00 h del Proestro y llegan a concentraciones máximas entre las 17:00 y 19:00 h, después de lo cual descienden. En la madrugada del Estro, la LH se secreta en concentraciones basales desde las primeras horas de esta etapa, mientras que la FSH presenta un segundo incremento y comienza a



disminuir en la tarde de este día. Ambas hormonas permanecen en concentraciones basales en los siguientes días del ciclo estral (Freeman, 1999).

El incremento de FSH que se presenta en la mañana del Estro, estimula la selección de los folículos que van a culminar su crecimiento hasta la etapa preovulatoria en el próximo ciclo. La selección de los folículos inducida por la FSH se da a partir de los folículos pequeños con anro presente en el Diestro. Una vez que se han seleccionado los folículos que alcanzarán la fase preovulatoria, estos serán más activos en su capacidad de secreción hormonal, principalmente de estrógenos (Dominguez *et al.*, 1991).

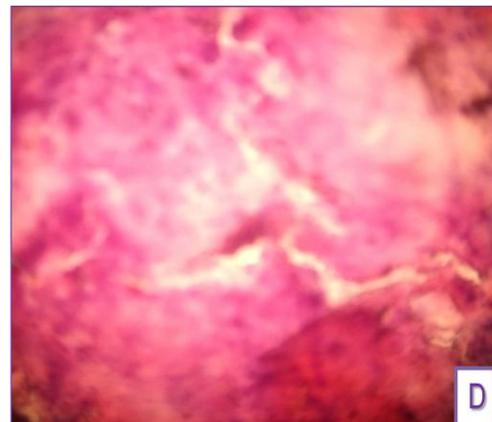
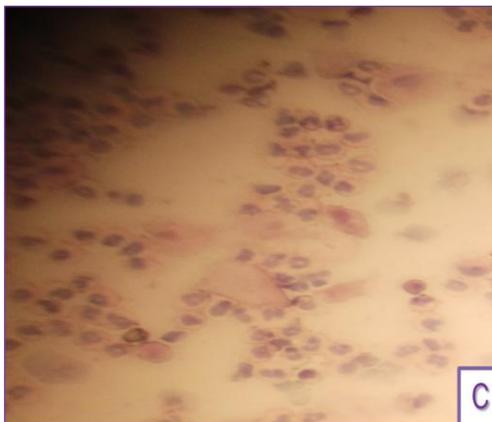
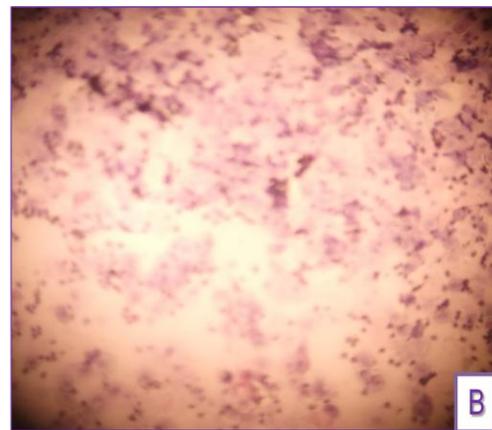
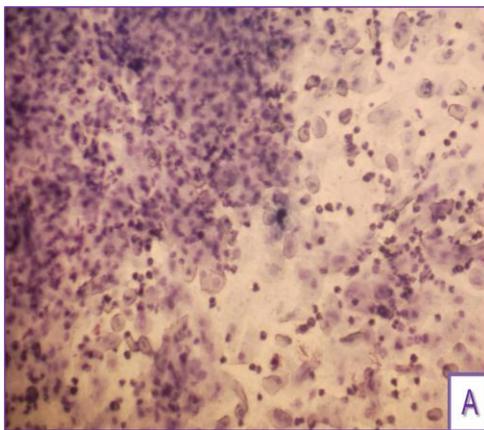


Figura 9. Diferentes tipos de células presentes en frotis vaginales de cada etapa del ciclo estral de la rata hembra. A) Diestro-1 con una proporción igual entre leucocitos y células nucleadas 20X B) Diestro-2 con predominio de leucocitos 20X C) Proestro con predominantes células nucleadas 20X D) Estro: contiene células cornificadas 20X.



En la etapa del Proestro, la concentración de progesterona se incrementa inmediatamente después de la oleada preovulatoria de gonadotropinas y regresa a concentraciones basales en la mañana del Estro. Este incremento de progesterona evita que las concentraciones de LH y FSH vuelvan a incrementar al siguiente día, además, induce el comportamiento de apareamiento en la noche del Proestro, relaja el cérvix uterino y permite que el líquido uterino sea liberado (Figura 10) (Killen y Schwartz, 1999).

La elevación de LH también actúa como un sistema de retroalimentación estimulante sobre la prolactina, que posteriormente inhibirá su secreción (Freeman, 2006). La prolactina que se libera por la tarde del Proestro; participa en la regresión del cuerpo lúteo del ciclo anterior (Freeman, 1999).

En la etapa del Estro predominan células epiteliales escamosas cornificadas, que carecen de núcleo y un citoplasma altamente granuloso y de forma irregular (Hernández y González, 2002). Durante la mañana del Estro, los estrógenos se encuentran en concentraciones basales (Freeman, 1999; Yao y Barh, 1999).

La etapa que sigue al Estro se conoce como Metaestro o Diestro-1. En el frotis vaginal se observan leucocitos, los cuales aparecen junto con un número significativo de células epiteliales nucleadas (Marconde *et al.*, 2002). En el ovario se observan folículos en crecimiento con antro pequeño (Westwood, 2008). Esta etapa se caracteriza por el desarrollo del cuerpo lúteo en el ovario (Hernández y González 2002; Urroz, 1991).

La última etapa se llama Diestro-2 y en el frotis vaginal se observa gran cantidad de leucocitos, y algunas células epiteliales nucleadas, en forma similar al Metaestro (Hernández y González, 2002). Los folículos ováricos continúan un proceso de desarrollo y aumenta el número de folículos con antro grande. La secreción de estrógenos es mayor, mientras que las concentraciones plasmáticas de FSH y LH son semejantes a las que se observan en el Metaestro. Las concentraciones séricas de progesterona disminuyen progresivamente hasta alcanzar una concentración relativamente baja (Figura 10), ya que durante esta fase se da la regresión del cuerpo lúteo (luteólisis) (Westwood, 2008). Esta etapa también se define como el periodo de quietud entre los ciclos estrales (Urroz, 1991).

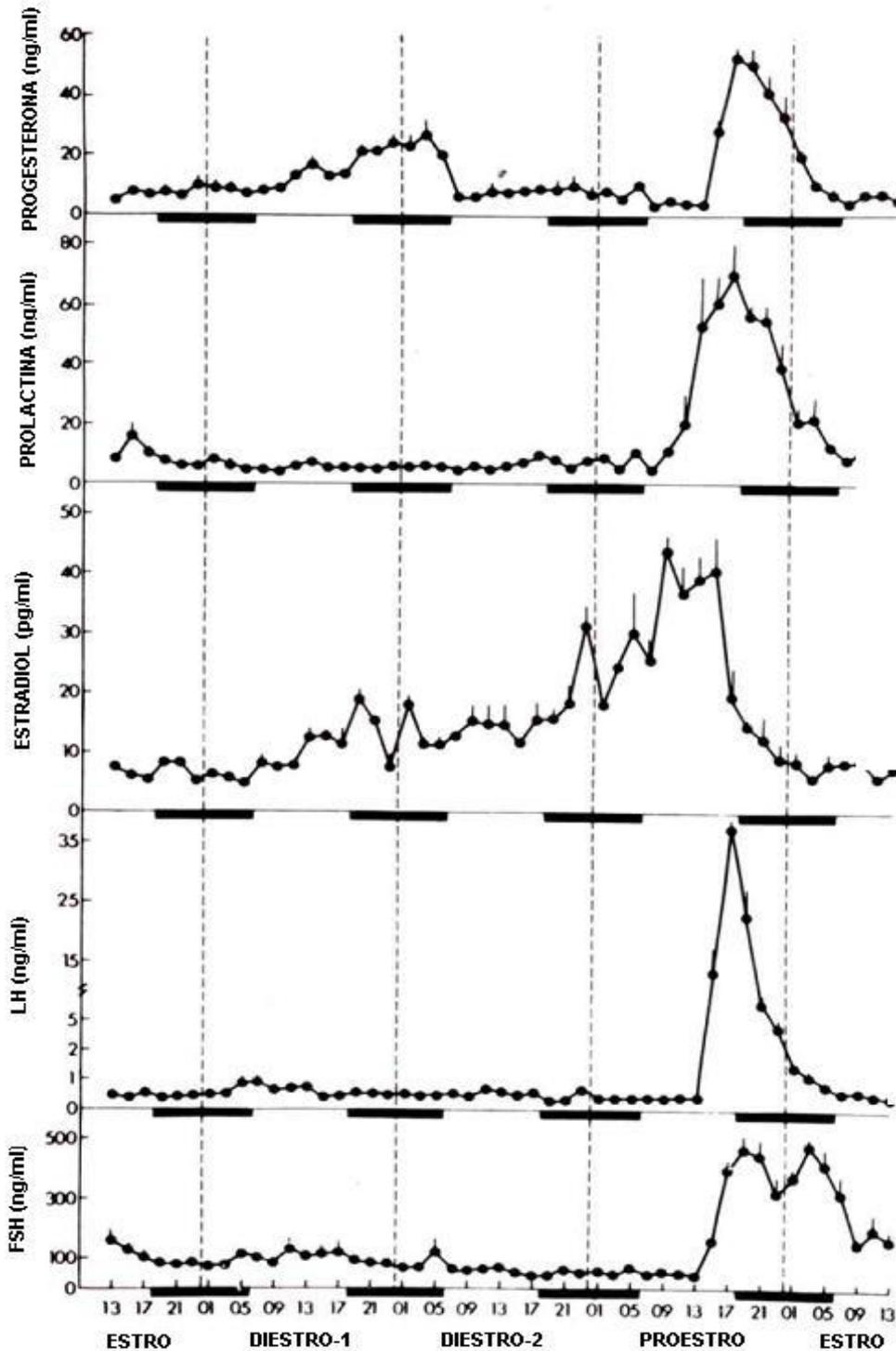


Figura 10. Concentración de progesterona, prolactina,  $17\beta$ -estradiol, la hormona estimulante del foliculo (FSH) y la hormona luteinizante (LH), obtenido del plasma periférico cada 2 horas de intervalo en cada día del ciclo estral de la rata. Cada punto representa la media  $\pm$  e.e.m. de la concentración de hormona de 5 a 6 ratas. Las barras negras representan las horas de oscuridad en el que se encuentran los animales (18:00 – 06:00 h) (Tomada de Freeman, 2006).

#### IV. Inervación del ovario

El ovario de la rata recibe inervación de tipo simpático, parasimpático, peptidérgica y sensorial. La inervación simpática llega a través del nervio del plexo ovárico [(NPO), el cual viaja a lo largo de la arteria ovárica e inerva el ovario, oviducto y del nervio ovárico superior [(NOS) que viaja por el músculo liso del ligamento suspensorio e inerva además de la gónada al oviducto y útero. Dichas fibras llegan a la teca folicular, la glándula intersticial y estructuras vasculares (Aguado y Ojeda, 1984; D' Alhora, 1996; Dissen y Ojeda, 1999; Lawrence y Burden, 1980) (Figura 11). Los somas neurales de estos nervios se encuentran en el ganglio celíaco, el ganglio mesentérico en los ganglios situados a lo largo del plexo aórtico cerca de las arterias renales y de los nervios espláncnicos lumbares (Dissen y Ojeda 1999; Gerendai, *et al.*, 2002).

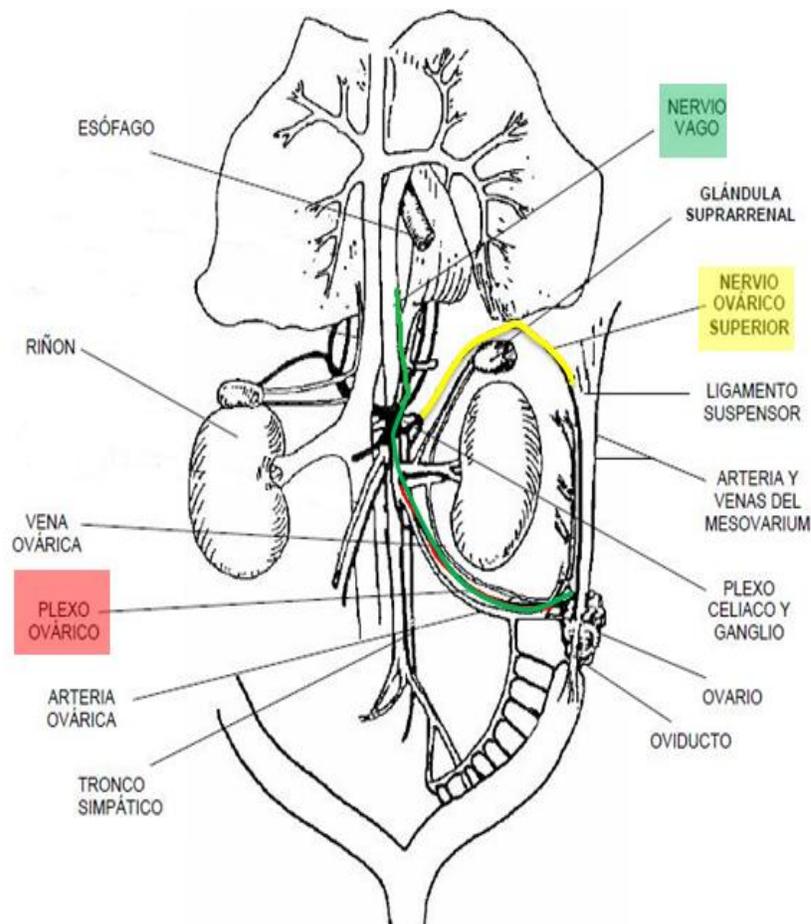


Figura 11. Inervación del ovario (Tomada de Lawrence y Burden, 1980).

### ☆ Nervio vago

La inervación parasimpática y sensorial llega a los ovarios por medio del nervio vago (Burden *et al.*, 1983; Gerendai *et al.*, 2000). El nervio vago o décimo par craneal tiene ramas que inervan estructuras a nivel cervical, torácico y abdominal (León *et al.*, 2003; Noback, 1993). Lleva la mayoría de las fibras nerviosas parasimpáticas que controlan las funciones de los órganos internos del cuerpo, por ejemplo la frecuencia cardíaca, secreción gástrica, el peristaltismo intestinal, entre otros (Guyton, 1989).

Los cuerpos celulares de los nervios parasimpáticos se encuentran en el núcleo ambiguo (motor branquial), núcleo motor dorsal del vago (motor visceral parasimpático), núcleo del tracto solitario (sensitivo visceral) y el núcleo espinal del Nervio Trigémico (sensitivo general) (Norgren y Smith, 1988; Pauwels *et al.*, 1998).

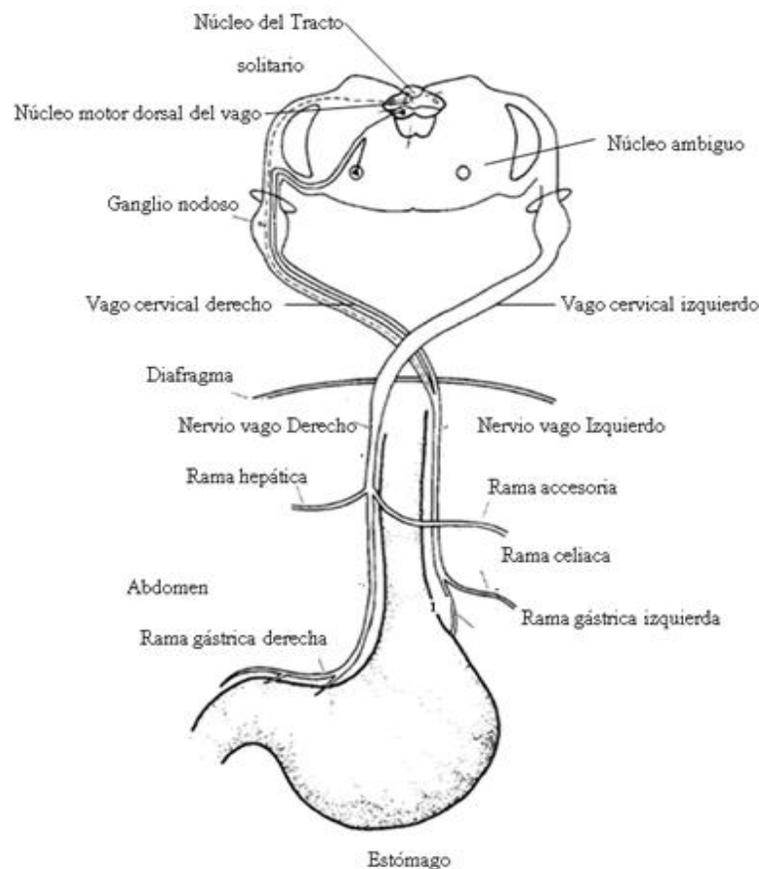


Figura 12. Se observa el origen del nervio vago y la distribución que siguen los troncos vagales a nivel subdiafragmático en la rata (Tomada de Norgren y Smith, 1988).



El nervio vago emerge del bulbo del tallo cerebral en varias raicillas que convergen en dos raíces, las cuales salen del cráneo a través del agujero yugular, para alcanzar los músculos constrictores de la faringe y los músculos intrínsecos de la laringe. En el cuello, el vago se halla entre la vena yugular interna y la arteria carótida interna y desciende verticalmente dentro de la vaina carótida. Desde la raíz del cuello hacia la región caudal, el nervio sigue una vía diferente en cada lado del cuerpo, para alcanzar los plexos cardiacos, pulmonares y esofágicos. De este último, se derivan cinco ramas principales: la gástrica derecha, gástrica izquierda, la celíaca, celíaca accesoria y la hepática (Figura 12) (Norgren y Smith, 1988).

Las fibras del nervio vago transportan neurotransmisores como la sustancia P (SP), VIP, la somatostatina (ST), neuropéptido Y (NPY), acetilcolina y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) (Calka *et al.*, 1988; Gilbert *et al.*, 1980; Inyama *et al.*, 1986; Lewis y Travagli, 2001).

En las capas adventicias de las arterias pequeñas del ovario de la rata, en el tejido intersticial y en células tecales del folículo en desarrollo, existen fibras nerviosas con SP y VIP (Dees *et al.*, 1986; Papka *et al.*, 1985). En el ovario de ratas juveniles y peripuberales se han localizado, fibras nerviosas que contienen SP, en la teca externa de los folículos, en el tejido intersticial y en mayor cantidad en la vasculatura ovárica (Dees *et al.*, 1985).

El VIP participa en la regulación de la secreción de esteroides ováricos. Su acción específica la ejerce en las células de la granulosa, en donde estimula la producción de progestinas y estrógenos (Davoren *et al.*, 1985; Garraza *et al.*, 2004). La estimulación del VIP sobre la producción de estrógenos, puede ser el resultado del incremento de la actividad de la aromatasa (Davoren *et al.*, 1985). Además se le relaciona con la regulación del crecimiento del folículo, maduración de ovocitos y la ovulación (Bruno *et al.*, 2011).

Según (Fritz *et al.*, (2001), es posible que la acetilcolina regule la proliferación celular y la producción de progesterona, ya que las células de la granulosa de los folículos antrales, contienen este neurotransmisor

El NPY se localiza en el ovario de la rata dentro de las fibras nerviosas que suministran los vasos sanguíneos y los folículo (Garraza *et al.*, 2004), en el tejido glandular, estroma ovárico, así

como en el oviducto y en el útero (Stjernquist *et al.*, 1983). Se relaciona con la secreción de progesterona por las células de la granulosa (Garraza *et al.*, 2004), y su concentración máxima se observa junto con la secreción preovulatoria de LH. (Jorgensen *et al.*, 1991).

El útero recibe información parasimpática y sensorial por medio del nervio vago (Figura 13). La inyección de marcadores retrógrados, peroxidasa de rábano, virus de la pseudorabia o fluorogold; en el cuello del útero y cuernos uterinos, resulta en aumento de células marcadas en el ganglio nodoso y núcleo motor dorsal del vago (Collings *et al.*, 1999; Ortega-Villalobos *et al.*, 1990). El marcador anterógrado, inyectado en el ganglio nodoso muestra la conexión del útero con el SNC y que las neuronas vagales contienen receptores a estrógenos (Collings *et al.*, 1999).

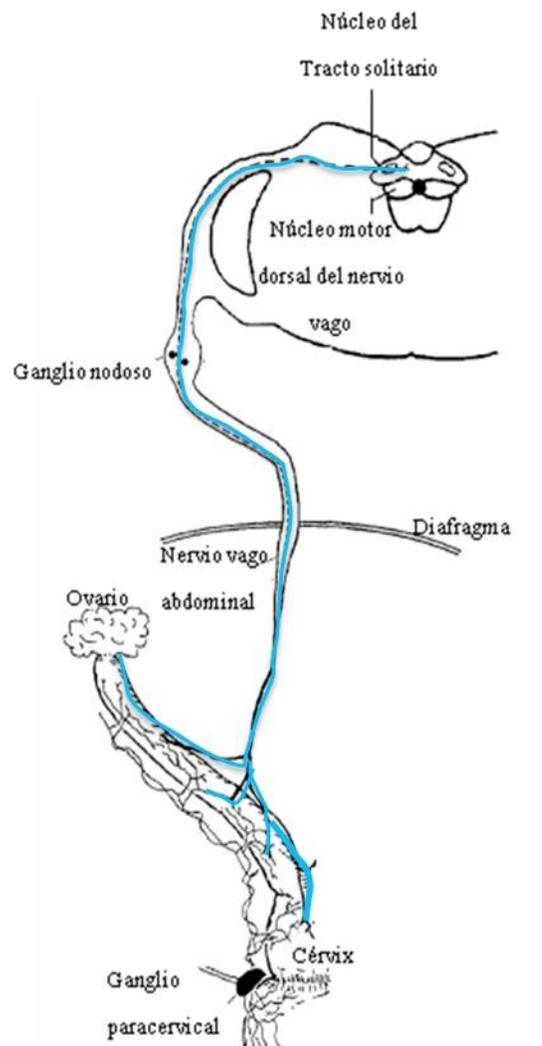


Figura 13. Posible trayecto del nervio vago al ovario (Tomada de Collins *et al.*, 1999).



La inyección del virus de la pseudorabia en ovario de ratas, resulta en la marca de diferentes estructuras del SNC, lo que no ocurre si se realiza la vagotomía, previo a la inoculación del virus (Gerendai *et al.*, 2002). El soma de las neuronas de los nervios vagos que inervan al ovario, se localizan en el ganglio nodoso y en las células ganglionares de la raíz dorsal de los segmentos T10-L2 (Burden *et al.*, 1983).

### ☆ Participación del nervio vago en la regulación de las funciones ováricas

#### *Efectos de la vagotomía en la rata adulta*

La vagotomía abdominal bilateral en ratas Sprague-Dawley realizada en la mañana del Proestro y Estro resulta en alteración del ciclo estral (Burden y Lawrence, 1977), que se caracteriza por prolongados días de diestro (de 10 a 20 días) (Allen *et al.*, 1985; Burden *et al.*, 1981), además resulta en disminución de la hipertrofia ovárica compensadora (HCO) y de las gonadotropinas (Burden y Lawrence, 1977; (Burden *et al.*, 1986).

El nervio vago participa sobre el aumento del número de folículos antrales en animales con ovariectomía unilateral y el ovario derecho es más dependiente que el ovario izquierdo. En ratas Sprague-Dawley, la sección del vago derecho a nivel cervical; la bilateral a nivel abdominal en el día de Estro, inhibe el número de folículos antrales en el ovario derecho y no en el izquierdo. (Burden *et al.*, 1986).

El nervio vago participa en la regulación del reclutamiento folicular. La sección bilateral del nervio vago en Proestro, incrementa la población de folículos medianos sanos, al evaluarse 24 y 28 horas después de la cirugía (Leonard *et al.*, 1984).

La inervación vagal modula de manera inhibitoria la respuesta de los ovarios a las gonadotropinas. En ratas de la cepa CIIZ-V, evaluadas tres ciclos posteriores a la cirugía, la sección bilateral del nervio vago resultó en menor concentración de las gonadotropinas en el suero en comparación con su grupo testigo. El número de ovocitos liberados incrementó significativamente, así como la población de folículos grandes. La sección del nervio vago izquierdo resultó en disminución de la tasa de animales ovulantes (TAO) y el porcentaje de folículos ovulatorios fue mayor en el ovario inervado que en el denervado (Cruz *et al.*, 1986).



La vagotomía bilateral realizada en la mañana del Diestro en ratas con ovariectomía, evaluadas a los 1, 4, 7, 14, 21 y 28 días después de las cirugías, la concentración de LH incrementó únicamente en aquellos animales evaluados a los 7 y 21 días (Allen *et al.*, 1985).

Al analizar los efectos simétricos de la inervación vagal, en ratas con ovariectomía unilateral de la cepa CIIZ-V, se observó que el ovario derecho tiene mejor respuesta, para regular su sistema compensador, que el ovario izquierdo. La sección bilateral del nervio vago, en ratas con ovariectomía derecha resulta en disminución de la HCO. La sección del nervio vago izquierdo en animales con ovariectomía derecha (Ovx-D+Nv-I) aumenta la TAO, la HCO y el número de ovocitos liberados. La sección del nervio vago derecho en animales ovariectomía izquierda o derecha disminuye la HCO (Chávez *et al.*, 1986).

La influencia vagal sobre HCO, es relevante únicamente durante un corto período posterior a la ovariectomía (Trkulja y Lackovic, 2001)

La vagotomía unilateral subdiafragmática realizada al comienzo del ciclo estral (Estro y Diestro 1), induce más cambios en la ciclicidad estral y la ovulación, que cuando se realiza en Diestro 2 o Proestro. La TAO desciende cuando se secciona el nervio vago izquierdo en el día del Estro (Chávez *et al.*, 1989).



## **Justificación**

La ovulación y la secreción de hormonas ováricas, son reguladas por el hipotálamo, la hipófisis y la inervación que llega a los ovarios. El nervio vago es un puente de comunicación entre los ovarios y el sistema nervioso central, hay evidencias, de que a las 09:00 h esta vía neural, modula la respuesta ovulatoria de ambas gónadas, lo que depende de la etapa del ciclo estral. Es por ello que en el presente estudio se analizaron los efectos agudos de la sección subdiafragmática del nervio vago, en animales con o sin ovariectomía contralateral, realizada a las 9.00 h de cada etapa del ciclo estral, sobre la concentración de progesterona y 17  $\beta$ -estradiol en el suero de los animales sacrificados una hora después de las cirugías.



### **Hipótesis**

Dado que el nervio vago es una vía de comunicación entre los ovarios y el SNC y modula su respuesta del ovario a las gonadotropinas, entonces, la denervación de un ovario producida por la sección del nervio vago afectará de manera diferente e inmediata la concentración sérica de progesterona y 17  $\beta$ -estradiol, lo que dependerá de la etapa del ciclo estral en que se realice la cirugía y de la presencia o no de ambos ovarios.



## Objetivos

### ☆ **Objetivo General**

Analizar la participación del nervio vago a las 9:00 h de cada etapa del ciclo estral de la rata adulta, sobre la secreción de progesterona y 17  $\beta$ -estradiol, en ratas con ovario izquierdo, derecho o ambos *In situ*.

### ☆ **Objetivos Específicos**

1. Analizar si la laparotomía ventral en cada etapa del ciclo estral es un factor estresante que altere de manera inmediata (una hora), las concentraciones de progesterona y 17  $\beta$ -estradiol en suero.
2. Analizar si el nervio vago participa en la regulación de la secreción de progesterona y 17  $\beta$ -estradiol en un animal con ambos ovarios *In situ* en cada etapa del ciclo estral.
3. Analizar el efecto de la ovariectomía unilateral sobre la concentración de progesterona y 17  $\beta$ -estradiol en cada etapa del ciclo estral.
4. Analizar el efecto de la sección del nervio vago izquierdo seguida o antecedida por la extirpación del ovario derecho en cada etapa del ciclo estral
5. Analizar el efecto de la sección del nervio vago derecho seguida o antecedida por la extirpación del ovario izquierdo en cada etapa del ciclo estral.



## **Materiales y Métodos**

Se utilizaron ratas hembra vírgenes, de tres meses de edad de la cepa CIIZ-V, mantenidas en condiciones de fotoperiodo controlado con 14 horas luz y 10 de oscuridad (luces encendidas de 05:00 a 19:00 h) y con libre acceso al agua y alimento (Purina rat chow).

El ciclo estral de los animales se monitoreó mediante la toma diaria de frotis vaginal, sólo se utilizaron aquellos que presentaron al menos dos ciclos consecutivos de cuatro días de duración: Diestro-1, Diestro-2, Proestro y Estro.

## **Grupos experimentales**

Los tratamientos experimentales (grupos de siete animales cada uno) se realizaron a las 09:00 h en cada etapa del ciclo estral.

- **Testigo absoluto.** Ratas sin ninguna manipulación (n=5) fueron sacrificadas a las 10:00 h en cada etapa del ciclo estral.
  
- **Laparotomía ventral.** Bajo anestesia con éter (aproximadamente 1 cm. por debajo de la última costilla) se realizó una incisión de la pared abdominal ventral, que incluyó piel músculo y peritoneo. Al finalizar se suturó la herida por planos.
  
- **Sección unilateral del nervio vago.** Este grupo de animales fueron sometidos a la laparotomía ventral, se exteriorizó el estómago, se desplazó el hígado y se expuso el esófago, se localizaron los troncos vagales y se procedió a seccionar el nervio vago izquierdo (Nv-I) o el derecho (Nv-D). Los órganos expuestos fueron colocados en su posición y finalmente se suturó la herida por planos.
  
- **Ovariectomía unilateral.** A los animales se les realizó la laparotomía ventral y enseguida se les extirpó el ovario izquierdo (Ovx-I) o derecho (Ovx-D). Al terminar la cirugía se suturó la herida por planos.



- **Sección del nervio vago y ovariectomía unilateral.** A los animales se les realizó una laparotomía ventral, se seccionó el nervio vago izquierdo o derecho y se extirpó el ovario contralateral, (Nv-I + Ovx-D) o (Nv-D + Ovx-I).

En otro grupo se realizó primero la ovariectomía unilateral seguida de la sección del nervio vago izquierdo o derecho (Ovx-D + Nv-I) o (Ovx-I + Nv-D).

### **Procedimiento de autopsia**

Los animales fueron sacrificados por decapitación una hora después del tratamiento (10:00 h). Se recolectó la sangre del tronco y se mantuvo durante 20 min. a temperatura ambiente. La muestra se centrifugó a 3000 rpm x15 min., se separó el suero y almacenó a -20° C hasta la cuantificación de las hormonas.

### **Cuantificación de progesterona y 17 $\beta$ -estradiol**

La cuantificación de progesterona y 17  $\beta$ -estradiol en suero se realizó por la técnica de radioinmunoanálisis de fase sólida, con un estuche obtenido (Coat-A-Count, USA), siguiendo la metodología habitual del laboratorio (Flores *et al.*, 2005). La concentración de los esteroides se expresó en ng/mL de suero para progesterona (Curva patrón: 0.00099, 0.08, 0.49, 1.88, 9.8, 18.7 y 40.0 ng/mL) y en pg/mL de suero para el caso de 17  $\beta$ -estradiol (Curva patrón: 12, 24, 53, 145, 269, 538, 925, 1850 y 3657 pg/mL).

### **Análisis estadístico**

Los resultados de las concentraciones hormonales fueron analizados mediante la prueba de "t" de Student cuando se compararon dos grupos y por análisis de varianza múltiple (ANOVA) seguida de la prueba de Tukey para comparaciones múltiples. Se consideraron como significativas aquellas diferencias con una probabilidad menor o igual a 0.05.

**Resultados****Concentración sérica de progesterona y 17  $\beta$ -estradiol en animales intactos**

En los animales intactos, la concentración de progesterona en el suero a las 10:00 h fue semejante en las etapas del Diestro y Proestro y menor en la etapa del Estro, mientras que la concentración de 17  $\beta$ -estradiol fue mayor en la etapa del Proestro (Figura 11).

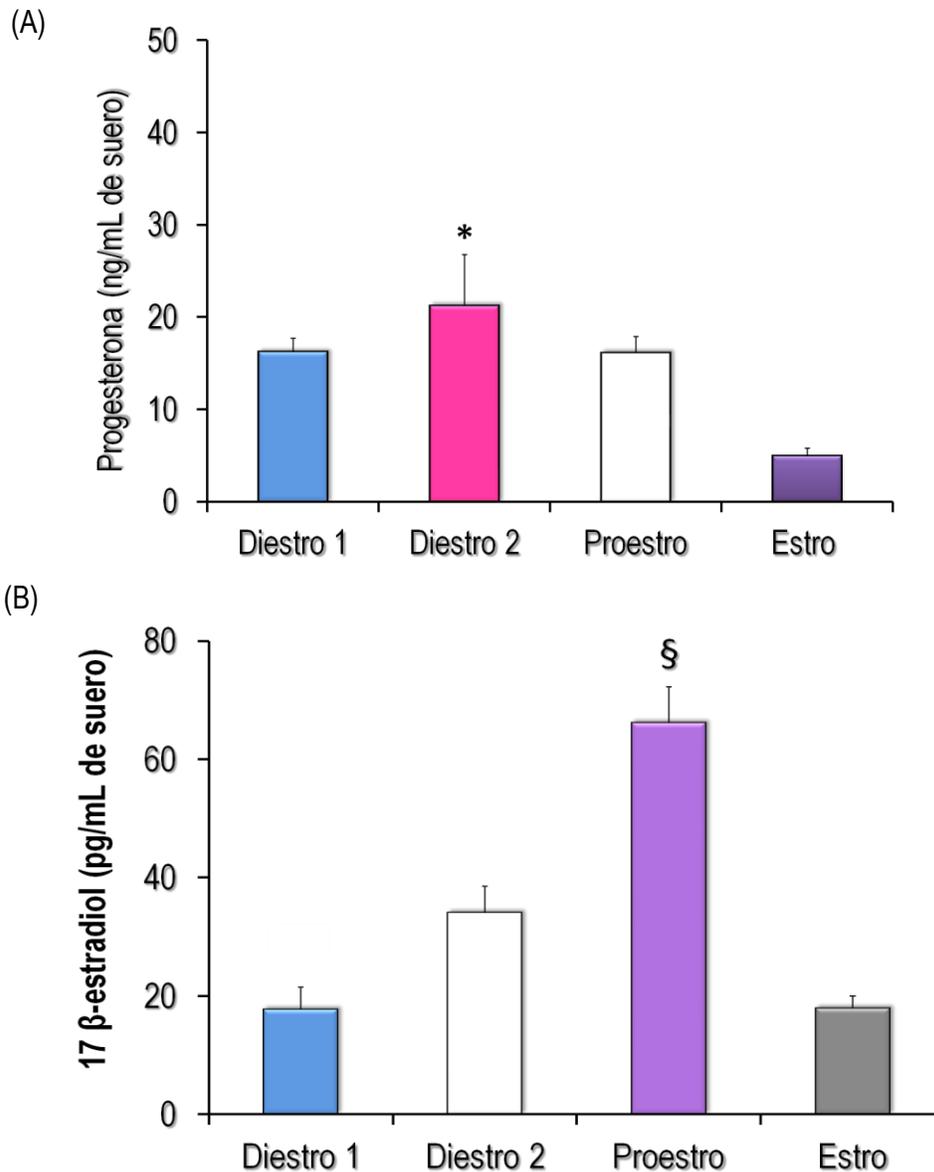
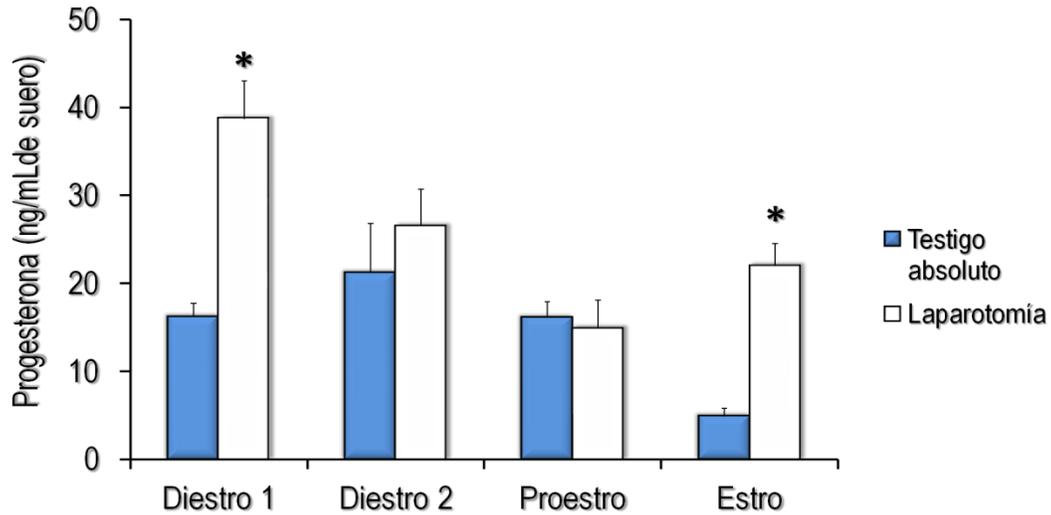


Figura 11. Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración de progesterona (A) y de la de 17  $\beta$ -estradiol (B) en el suero de animales intactos sacrificados a las 10:00 h en cada etapa del ciclo estral. \* $p < 0.01$  vs Estro § $p < 0.01$  vs. D1, D2 y E (ANDEVA seguida de Tukey).

### Concentración sérica de progesterona y 17 $\beta$ -estradiol en animales con laparotomía ventral

La laparotomía ventral en Diestro-1 y Estro resultó en mayor concentración de progesterona en relación a la observada en animales intactos (Figura 12 A). Mientras que la concentración 17  $\beta$ -estradiol no se modificó en ninguna de las etapas (Figura 12 B).

(A)



(B)

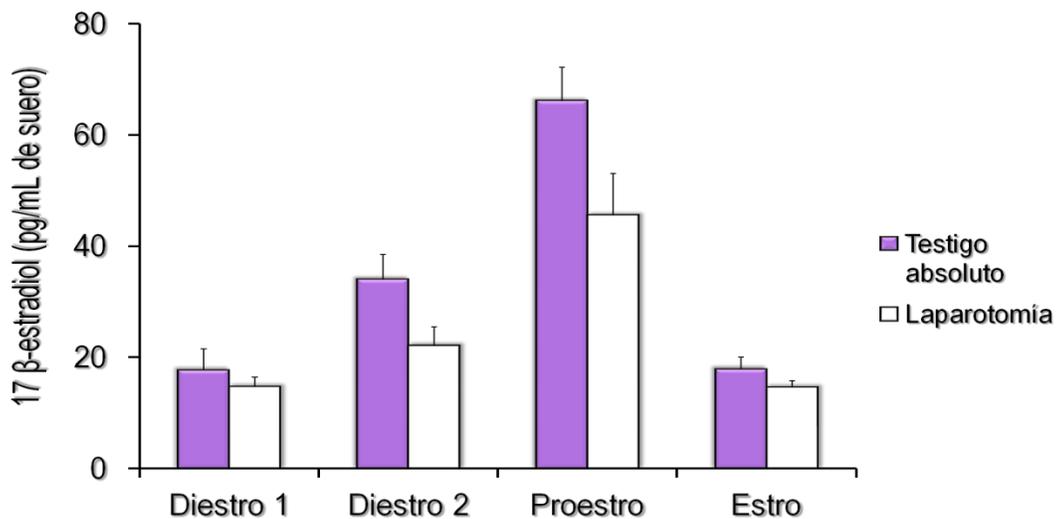


Figura 12. Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración de progesterona (A) y de 17  $\beta$ -estradiol (B) en el suero de animales con laparotomía a las 09:00 h en cada etapa del ciclo estral cuantificadas una hora después de la cirugía (10:00 h). \*  $p < 0.05$  vs grupo con laparotomía (prueba de “t” de Student).

### Concentración sérica de progesterona y 17 $\beta$ -estradiol en animales con denervación vagal unilateral

En los animales con ambos ovarios *in situ* y sección del nervio vago izquierdo sólo en el día del Estro, se observó mayor concentración de progesterona y 17  $\beta$ -estradiol en suero, respecto a la registrada en el grupo con laparotomía ventral (Figura 13 B). En contraste, la sección del nervio vago derecho únicamente en la etapa del Proestro resultó en mayor concentración de progesterona (Figura 13 A).

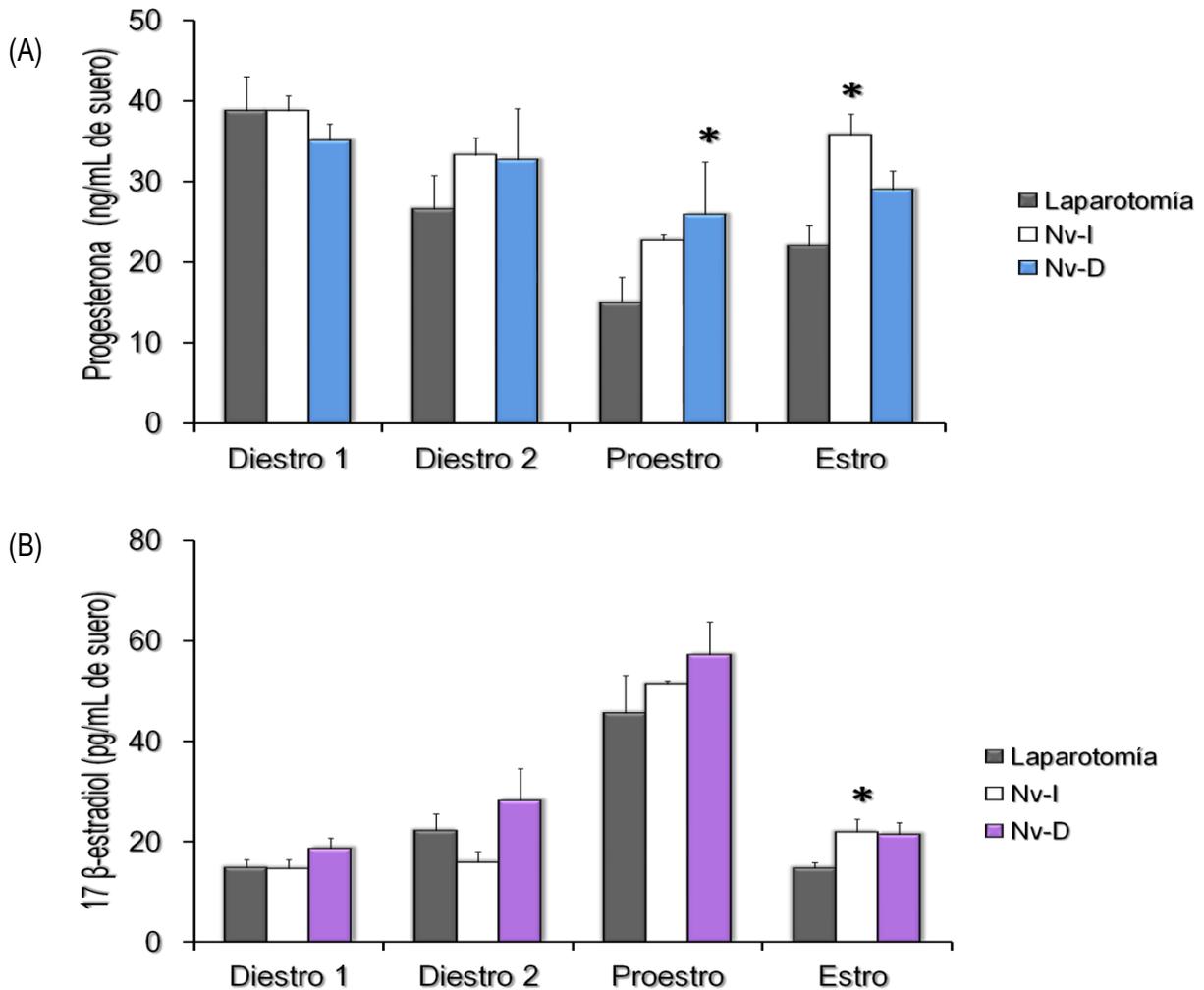


Figura 13. Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración de progesterona y la de 17  $\beta$ -estradiol en animales con laparotomía o sección unilateral del nervio vago a las 9:00 h en cada etapa del ciclo estral y cuantificados una hora después (10:00 h). \* $p < 0.05$  vs grupo con laparotomía ventral de la etapa respectiva (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey). Nv-I: sección del nervio vago izquierdo, Nv-D: sección del nervio vago derecho.



### Concentración sérica de progesterona y 17 $\beta$ -estradiol en animales con ovariectomía unilateral

La ovariectomía unilateral en cada etapa del ciclo estral resultó en similares concentraciones hormonales que las del grupo con laparotomía ventral (Cuadro 1).

**Cuadro 1. Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración de progesterona y de 17  $\beta$ -estradiol en el suero de en animales con laparotomía ventral u ovariectomía unilateral a las 9:00 h en cada etapa del ciclo estral y sacrificados una hora después.**

Tratamiento	n	Diestro-1	n	Diestro-2	n	Proestro	n	Estro
<b>progesterona (ng/mL de suero)</b>								
Laparotomía	7	38.7 $\pm$ 4.3	7	26.5 $\pm$ 4.2	7	14.9 $\pm$ 3.2	7	22.0 $\pm$ 2.5
Ovx-I	6	30.2 $\pm$ 4.4	7	23.2 $\pm$ 3.5	7	27.6 $\pm$ 4.6	7	23.9 $\pm$ 3.4
Ovx-D	7	29.3 $\pm$ 4.4	7	25.5 $\pm$ 2.9	7	22.7 $\pm$ 2.3	7	19.4 $\pm$ 2.4
<b>17 <math>\beta</math>-estradiol (pg/mL de suero)</b>								
Laparotomía	7	14.7 $\pm$ 1.7	7	22.1 $\pm$ 3.4	7	45.5 $\pm$ 7.6	7	14.6 $\pm$ 1.2
Ovx-I	7	16.3 $\pm$ 2.8	7	18.6 $\pm$ 3.0	5	41.3 $\pm$ 6.3	7	14.5 $\pm$ 2.8
Ovx-D	7	13.0 $\pm$ 1.4	7	21.4 $\pm$ 2.4	5	41.7 $\pm$ 6.6	7	19.5 $\pm$ 3.5

n= no. de animales

### Concentración sérica de progesterona y 17 $\beta$ -estradiol en animales con ovario izquierdo *In situ* y sección del nervio vago izquierdo

La sección del nervio vago izquierdo seguida de la extirpación del ovario derecho, (ovario izquierdo *In situ*), en las etapas del Diestro-1 y Estro resultó en menor concentración de progesterona en el suero (Figura 14 A), sin cambios significativos en la concentración de 17  $\beta$ -estradiol, respecto al grupo con sección del nervio vago izquierdo (Figura 14 B).

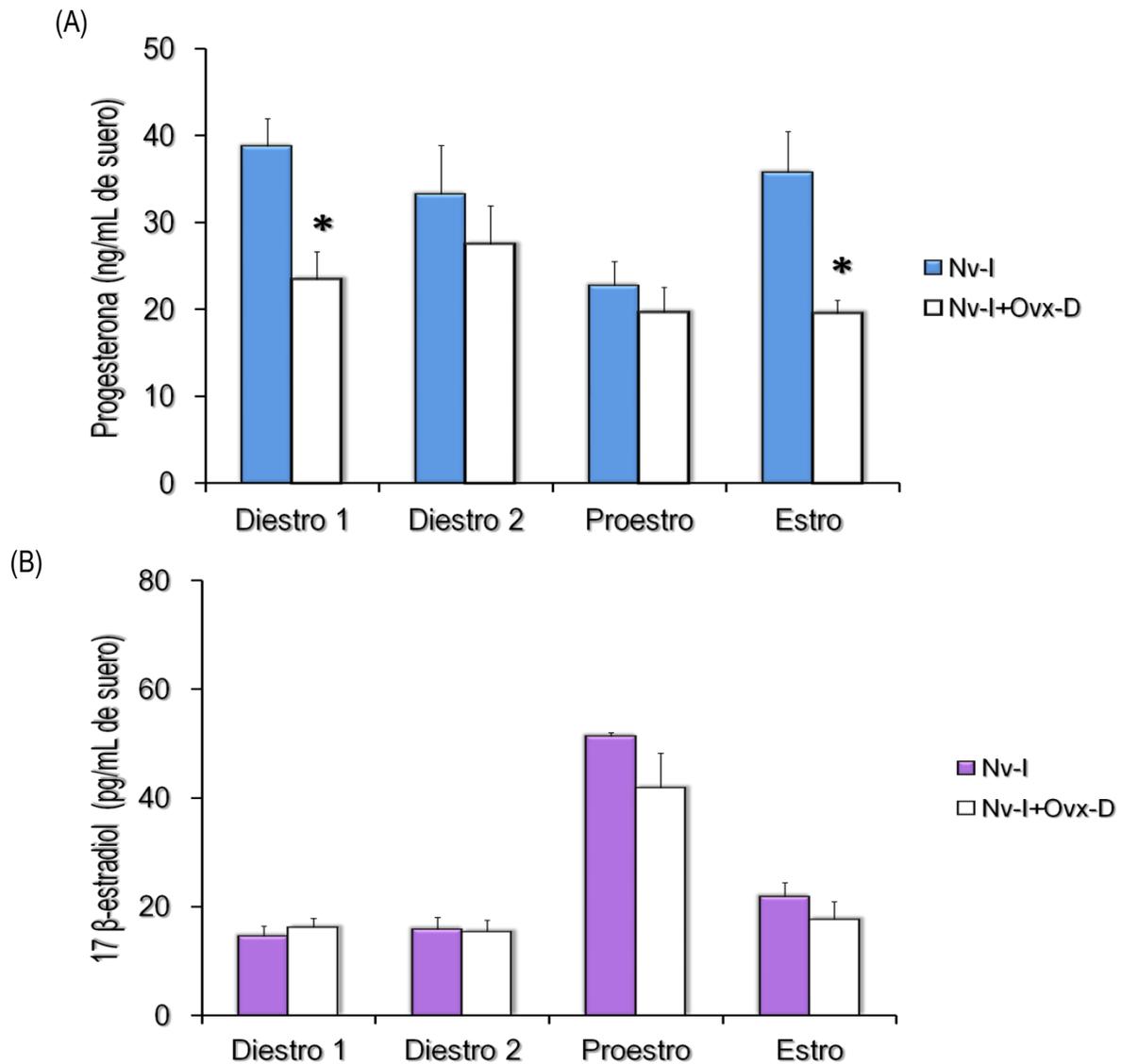
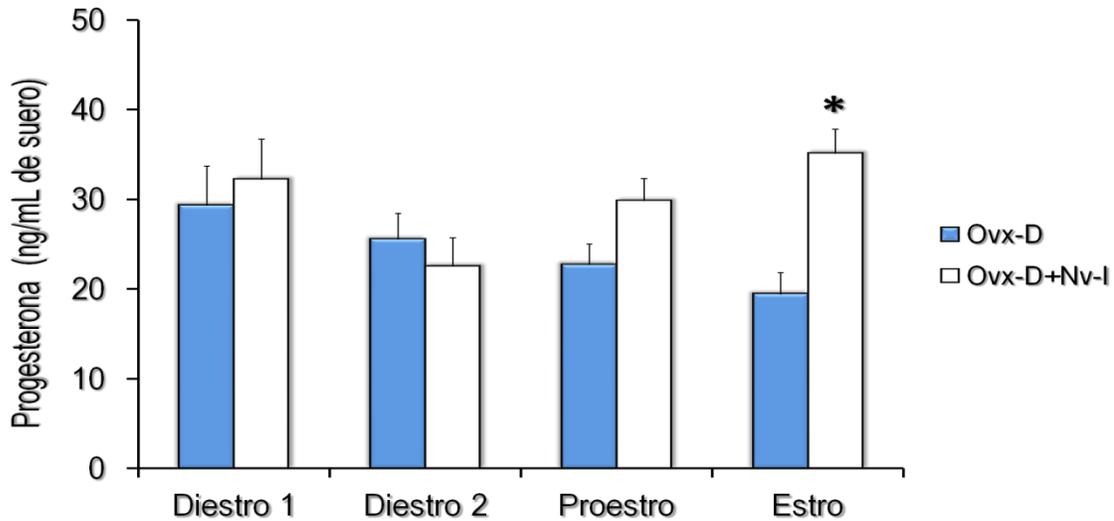


Figura 14. Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración de progesterona (A) y de la de 17  $\beta$ -estradiol en animales sección del nervio vago izquierdo con o sin ovariectomía derecha a las 9:00 h en cada etapa del ciclo estral y cuantificados una hora después (10:00 h). \* $p < 0.001$  vs grupo con Nv-I de la etapa respectiva. Nv-I: sección del nervio vago izquierdo, Nv-I+Ovx-D: sección del nervio vago izquierdo seguida de ovariectomía derecha.

En los animales que primero fueron sometidos a la ovariectomía derecha y enseguida a la sección del nervio vago ipsilateral al ovario *in situ*, solo en el día del Estro se observó mayor concentración de progesterona en el suero (Figura 15 A), mientras que únicamente en la etapa del Diestro-1 resultó en aumento de la concentración de 17  $\beta$ -estradiol en el suero, respecto al grupo con ovario izquierdo *In situ* (Figura 15 B).

(A)



(B)

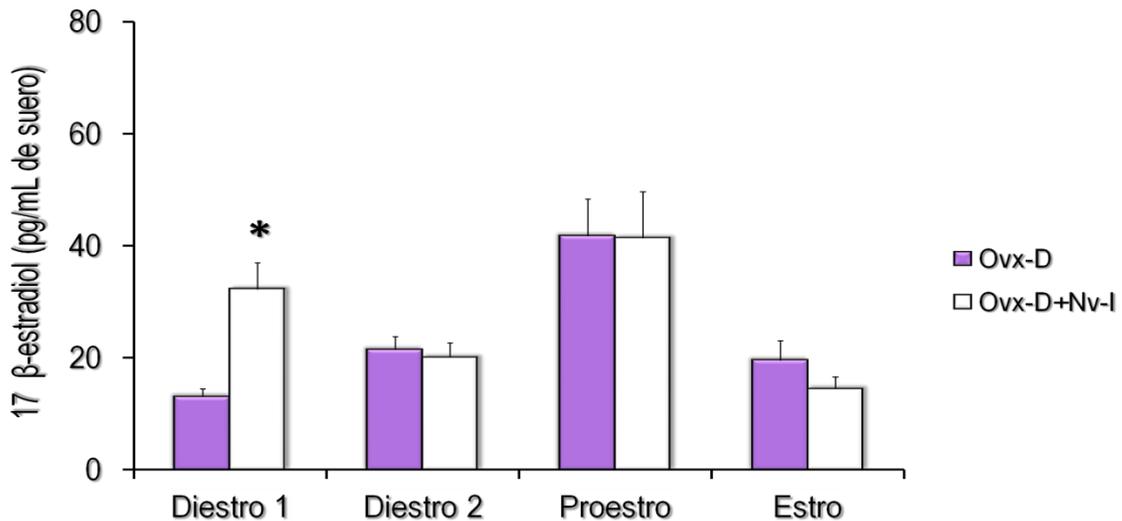
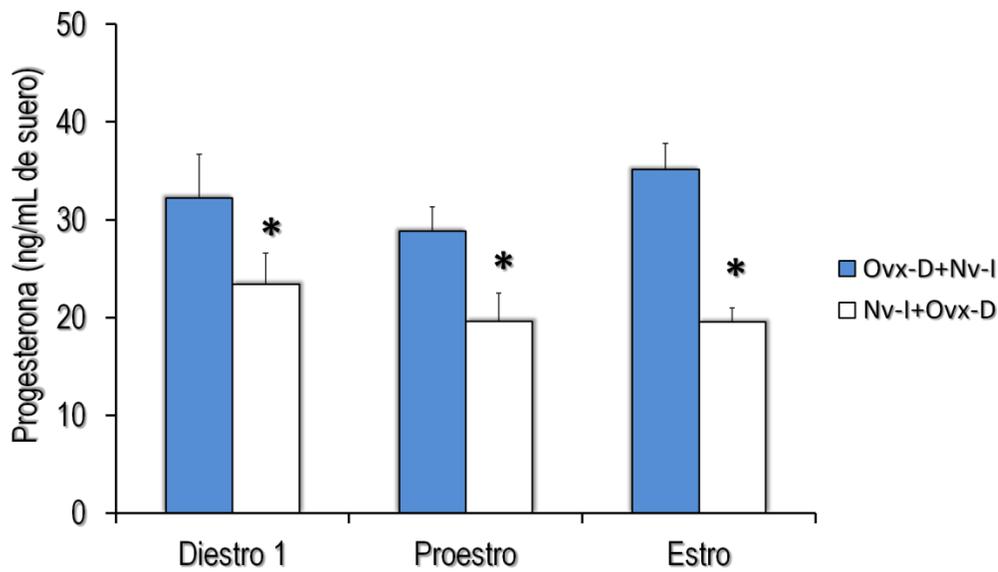


Figura 15. Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración de progesterona y de la de 17  $\beta$ -estradiol en animales con ovariectomía derecha seguida o no de la sección del nervio vago contralateral a las 9:00 h en cada etapa del ciclo estral cuantificadas una hora después (10:00h). \* $p < 0.05$  vs grupo con Ovx-D de la etapa respectiva (prueba de "t" de Student). Ovx-D: ovariectomía derecha, Ovx-D+Nv-I: ovariectomía derecha seguida de la sección del nervio vago izquierdo.

En cuanto a los grupos con ovariectomía unilateral seguida de la sección del vago derecho comparados con animales a los que primero se les seccionó el nervio vago izquierdo seguida de ovariectomía derecha. La concentración de progesterona resultó en disminución la concentración de progesterona en los días de Diestro 1, Proestro y Estro. La concentración de 17  $\beta$ -estradiol resultó en disminución en el día de Diestro 1.

(A)



(B)

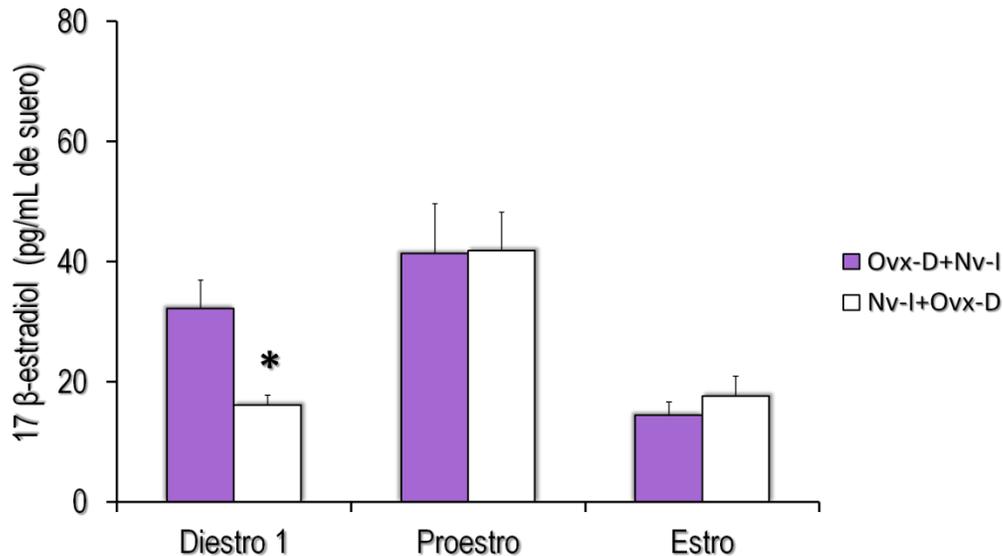


Figura 16. Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración de progesterona y de la de 17  $\beta$ -estradiol en animales con sección del nervio vago izquierdo seguida de la ovariectomía derecha a las 9:00 h en cada etapa del ciclo estral cuantificadas una hora después (10:00h). \* $p < 0.05$  vs grupo con Ovx-D + Nv-I de la etapa respectiva (prueba de "t" de Student). Ovx-D+Nv-I: ovariectomía derecha seguida de la sección del nervio vago izquierdo, Nv-I+Ovx-D: sección del nervio vago izquierdo seguida de la ovariectomía derecha.



### Concentración sérica de progesterona y 17 $\beta$ -estradiol en animales con ovario derecho *In situ* y sección del nervio vago derecho

En los animales con sección del nervio vago derecho seguido de ovariectomía izquierda (ovario derecho *In situ*) no se registró cambios significativos en las concentraciones séricas de las hormonas esteroides ováricas

**Cuadro 2. Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración de hormonas esteroides en el suero de animales con ovario derecho *In situ* con o sin sección del nervio vago ipsilateral a las 9:00 h en cada etapa del ciclo estral y sacrificados una hora después.**

Tratamiento	n	Diestro-1	n	Diestro-2	n	Proestro	n	Estro
<b>progesterona (ng/mL de suero)</b>								
Nv-D	7	35.0 $\pm$ 5.2	7	32.6 $\pm$ 3.5	7	25.8 $\pm$ 2.3	7	28.9 $\pm$ 2.8
Nv-D-Ovx-l	7	26.6 $\pm$ 3.1	7	29.4 $\pm$ 3.2	7	28.8 $\pm$ 1.9	7	27.6 $\pm$ 2.4
<b>17 <math>\beta</math>-estradiol (pg/mL de suero)</b>								
Nv-D	7	18.6 $\pm$ 2.1	7	28.1 $\pm$ 6.4	7	57.1 $\pm$ 6.6	5	21.4 $\pm$ 2.4
Nv-D+Ovx-l	7	14.5 $\pm$ 2.7	5	24.2 $\pm$ 4.3	5	37.6 $\pm$ 5.2	7	36.0 $\pm$ 11.3



En el grupo de animales con ovario derecho *In situ*, en los que primero se extirpó el ovario izquierdo y luego se seccionó el nervio vago derecho, no se registró cambios significativos en las concentraciones séricas de las hormonas esteroides ováricas (Cuadro 2).

**Cuadro 3. Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración de hormonas esteroides en el suero de animales con ovario derecho *In situ* con o sin sección del nervio vago ipsilateral a las 9:00 h en cada etapa del ciclo estral y sacrificados una hora después.**

Tratamiento	n	Diestro-1	n	Diestro-2	n	Proestro	n	Estro
<b>progesterona (ng/mL de suero)</b>								
Ovx-I	6	30.2 $\pm$ 4.4	7	23.2 $\pm$ 3.5	7	27.6 $\pm$ 4.6	7	23.9 $\pm$ 3.4
Ovx-I+Nv-D	7	35.0 $\pm$ 2.8	7	29.9 $\pm$ 2.6	7	25.0 $\pm$ 3.5	7	27.9 $\pm$ 3.3
<b>17 <math>\beta</math>-estradiol (pg/mL de suero)</b>								
Ovx-I	7	16.3 $\pm$ 2.8	7	18.6 $\pm$ 3.0	5	41.3 $\pm$ 6.3	7	14.5 $\pm$ 2.8
Ovx-I +Nv-D	7	12.2 $\pm$ 2.9	5	24.8 $\pm$ 4.5	7	30.8 $\pm$ 3.6	7	19.6 $\pm$ 3.1

n= no. de animales, Ovx-I: ovariectomía izquierda, Ovx-I+Nv-D: ovariectomía izquierda seguida de la sección del nervio vago derecho.

## Discusión de Resultados

Los resultados del presente estudio nos permiten sugerir que el nervio vago modula la acción de las gonadotropinas sobre la secreción de progesterona y 17- $\beta$  estradiol, lo que varía en función de la etapa del ciclo en que se evalúe.

Los cambios en la concentración de progesterona observados en los animales con laparotomía ventral, pueden ser explicados como una reacción al estrés agudo provocado por la anestesia y la cirugía. Los resultados confirman que los efectos del estrés dependen de la etapa y la hora del ciclo estral en que se realice la cirugía (Gallegos, 2005; Santiago, 2012). Los factores estresantes estimulan la secreción de la hormona liberadora de la corticotropina (CRH) hipotalámica, la cual estimula la secreción de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) por la adenohipófisis, la cual estimula la secreción de progesterona y glucocorticoides por las adrenales (Kalantaridou *et al.*, 2004). Otro factor que puede intervenir es la activación de la inervación de la pared abdominal y del peritoneo. El peritoneo parietal es inervado por fibras sensoriales, mientras que el peritoneo visceral recibe inervación por parte de los nervios espinales y vagos, vías de información que envían señales al sistema nervioso central (Tanaka *et al.*, 2002). Además, los nervios vago inervan las gónadas y glándulas adrenales, ambas secretoras de progesterona (Toth *et al.*, 2008)

Los efectos de la sección unilateral del nervio vago realizadas a las 09:00 h, son diferentes a los observados en animales con el mismo tratamiento realizado a otras horas y días del ciclo estral (Esparza *et al.*, 2011; Flores *et al.*, 2005). En la corteza adrenal se encuentran neuronas noradrenérgicas y que contienen NPY y VIP asociadas a células secretoras y a los vasos sanguíneos (Parker *et al.*, 1992; Gerendai y Halász, 1997). Algunas fibras vagales han sido observadas en los ganglios suprarrenal y celíaco (Gerendai y Halász, 1997; Tóth *et al.*, 1997). Tomados en conjunto, nuestros resultados y los publicados por otros autores, a partir de esos resultados se sugiere que la participación de la información que transcurre por los nervios vago en la regulación de la secreción hormonal por parte de los ovarios es asimétrica y varía en función de las horas y del día del ciclo estral en estudio.



La participación de la inervación vagal en la regulación de la ovulación también es asimétrica y varía en función del día y la hora del ciclo estral en estudio (Bonilla *et al.*, 2011; Everardo *et al.*, 2011; Pimentel *et al.*, 2010; Zárata *et al.*, 2011).

Los cambios en la respuesta de los diferentes órganos a señales neuroendocrinas en función de las horas del día, son explicadas por la existencia de un reloj biológico localizado en el núcleo supraquiasmático (NSQ) y de relojes biológicos localizados en los diferentes órganos que componen al organismo (Karatsoreos *et al.*, 2007; Yoshikawa *et al.*, 2009). La expresión de genes reloj se han observado en el eje hipotálamo hipófisis ovario, por ejemplo; en células del ovario, útero, oviducto, células tecales y de la granulosa. Dichos genes reloj podrían estar involucrados en la síntesis de esteroides ováricos (Boden y Kennaway, 2006; Sellix y Menaker, 2010; Yoshikawa *et al.*, 2009).

Los resultados obtenidos en los animales con ovariectomía unilateral nos permiten sugerir que en el horario de este estudio, cada ovario secreta la misma cantidad de progesterona y estradiol a la circulación. En contraste, los efectos de la ovariectomía unilateral realizada a otras horas de cada uno de los días del ciclo estral, dependen del ovario extirpado, la hora y el día del ciclo estral estudiado (Barco *et al.*, 2003; Gallegos, 2005; Montiel, 2005; Santiago, 2012). Los ovarios tienen diferente capacidad de reacción para el mismo tipo de estímulo y tales diferencias se atribuyen a la inervación ovárica (Barco *et al.*, 2003). En el ovario izquierdo existen mayor número de conexiones neurales con estructuras como el núcleo del tracto solitario, el núcleo dorsal del nervio vago, el grupo A5 noradrenérgico, los núcleos del rafé caudal, el núcleo paraventricular del hipotálamo y el hipotálamo lateral (Tóth *et al.*, 2007). En conjunto, los resultados de nuestro estudio y de otros, nos sugieren que la actividad secretora de cada ovario varía en función de la etapa del ciclo estral y de la hora en que se evalúe. Es posible que estas diferencias se relacionen con la expresión de genes reloj del ovario.

Resultados de Flores *et al.*, (2011), muestran que los cambios observados en la secreción hormonal en animales con sección unilateral del nervio ovárico superior seguida de la extirpación del ovario contralateral al nervio seccionado, son diferentes a los observados por la sección del nervio ovárico superior en animales a los que previamente se les extirpó un ovario. Un resultado similar observamos nosotros, los cambios en animales denervados y ovario izquierdo *in situ*, (Nv-I+Ovx-D),

fueron diferentes cuando se eliminó primero el aporte hormonal y posteriormente el neural, (Ovx-D+Nvx- I), lo que muestra que la regulación de la secreción de hormonas esteroide cuantificadas, también depende del orden en que se lleven a cabo las cirugías.

En conjunto, los resultados nos sugieren que se trata de dos modelos experimentales diferentes, por lo que sería de esperar que los efectos también fueran distintos. También es posible que en dichos cambios participen las adrenales, ya que neuronas del SNC contribuyen a la inervación transneuronal tanto de la adrenal izquierda como de la gónada izquierda, se sugiere así que existe interacción en los procesos de regulación de la actividad funcional de los dos órganos (Toth *et al.*, 2008). En nuestro caso, es posible que la sección del vago estimule la liberación de acetilcolina ovárica, la cual estimula la liberación de progesterona por parte de los folículos antrales (Fritz *et al.*, 2001; Mayerhofer *et al.*, 2003). Es importante considerar que el eje hipotálamo-hipófisis-gónada e hipotálamo-hipófisis-adrenal, se encuentran estrechamente conectados a diferentes niveles y se afectan entre sí (Toth *et al.*, 2008). Los nervios vagos establecen conexiones neurales con las glándulas adrenales a nivel del ganglio celíaco (Berthoud y Powley, 1993; Coupland *et al.*, 1989). La actividad del ganglio celíaco y la comunicación que establece con los ovarios, varía en función del día del ciclo estral y del ovario en estudio (Morán *et al.*, 2005).

Con base al conjunto de resultados y antecedentes mencionados la participación de los nervios vago en la regulación de las funciones de los ovarios es de forma asimétrica, varía durante los días del ciclo estral y de las horas de cada día. A las 09:00 h la participación del nervio vago izquierdo es mayor que el derecho. Por lo que sugiero que la información que llega a los ovarios por las fibras VIPérgicas y NPY positivas a esta hora del día tiene mayor frecuencia y amplitud en el vago izquierdo que en el derecho. Dado que al presente no hay datos experimentales sobre la simetría de los neurotransmisores que viajan por ésta vía neural (Thoth *et al.*, 2007), es necesario realizar estudios complementarios que involucren, la cuantificación de neurotransmisores, presentes en los nervios vago, con sus propios receptores localizados tanto en adrenales como en ovarios.



## Conclusiones

- La laparotomía ventral realizada a las 09:00 h, es un factor estresante que resulta en cambios en la concentración de progesterona en la etapa de Diestro 1 y Estro.
- El nervio vago izquierdo, en animales con ambos ovarios *In situ*, modula de manera inhibitoria la secreción de progesterona y 17  $\beta$ -estradiol en la etapa de Estro.
- El nervio vago derecho en animales con ambos ovarios *In situ* modula de manera inhibitoria la secreción de progesterona en el día de Proestro.
- El nervio vago izquierdo en animales con ovariectomía derecha, modula de manera inhibitoria la secreción de progesterona en el Estro y de 17  $\beta$ -estradiol en el Diestro 1.
- La ovariectomía derecha en animales con sección del nervio vago izquierdo, modula de manera estimulante la secreción de progesterona en el Diestro 1 y Estro.
- El Ovario derecho tiene diferente capacidad de respuesta a la falta de información neural proveniente del nervio vago izquierdo en el Diestro 1 Proestro y Estro.
- A las 09:00 h la participación de los nervios vago en la regulación de secreción de progesterona y 17  $\beta$ -estradiol es de forma asimétrica y varía durante los días del ciclo estral.



## Bibliografía

- **Advis J. P., C. E. Ahmed and S. R. Ojeda.** 1989. Direct hypothalamic control of vasoactive intestinal peptide (VIP) levels in the developing rat ovary. *Brain Res Bull.* 22:605-610
- **Aguado L. I. and S.R Ojeda.** 1984. Prepubertal ovarian function is finely regulated by direct adrenergic influences. Role of noradrenergic innervation. *Endocrinology* 114:1845-53
- **Allen I. G., I. E. Lawrence, H. W. Burden and C. A. Hodson.** 1985. Effects of abdominal vagotomy on serum LH concentrations in female rats. *Journals of Reproduction and Fertility.* 74:87-94
- **Álvarez D. A., E. Pérez H., H. De la Cruz T., T. Quincosa J. y A. Sánchez P.** 2009. *Fisiología Animal Aplicada.* Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. pp: 93 – 104
- **Arimura A.** 2000. Hypothalamic hormones. pp: 41-58 In: *Neuroendocrinology Physiology and Medicine.* Humana Press Inc. Totowa
- **Baranowska B., M. Radzikowska, M Borowiec, K. Roguski, E Wasilewska-Dziubinska.** 1999. Effects of neuropeptide Y (NPY), galanin and vasoactive intestinal peptide (VIP) on pituitary hormone release and on ovarian steroidogenesis. *Neuro Endocrinol Lett.* 20(6):385-389.
- **Barco A. I., A. Flores, R. Chavira, P. Damián-Matsumara, R. Domínguez and M. E. Cruz.** 2003. Asymmetric effects of acute hemiovariectomy on steroid hormone secretion by the in situ ovary. *Endocrine,* 21 (3):209–215.
- **Berthoud, H.R., and T. L. Powley.** 1993. Characterization of vagal innervation to the rat celiac, suprarenal and mesenteric ganglia. *Journal of the Autonomic Nervous System* 42:153-169.
- **Blake M.** 1999. Gonadotropin Secretion, Control of pp. 523-558. In: *The Physiology of Reproduction.* Raven Press (ed.). 2<sup>a</sup> ed. New York.
- **Boden M. J. and D. J. Kennaway** 2006. Circadian rhythms and reproduction. *Research for reproductive health.* 132:379-392
- **Bonilla E., J. Ramírez, M. G. Guzmán, K. A. Pimentel, A. Flores, M. E. Cruz y R. Domínguez.** 2011. Efectos de la sección del Nervio vago en los días del diestro a las 09:00 h o a las 13:00 h sobre la ovulación de la rata adulta con o sin ovariectomía unilateral.



Resultados preliminares del LIV Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas A.C.

- **Brown R. E.** 1994. Introduction to Neuroendocrinology. Cambridge University Press, Great Britain, pp:40-55
- **Bruno J. B., M. H. T. Matos, R. N. Chaves and J. R. Figueiredo.** 2011. Involvement of vasoactive intestinal peptide (VIP) on ovarian physiology. *Anim. Reprod.* 8:51-57
- **Burden H. W., E. Lawrence, M. T. Louis and A. C. Hodson.** 1981. Effects of abdominal vagotomy on the estrous cycle of the rat and the induction of pseudopregnancy. *Neuroendocrinology.* 33:218-222
- **Burden W. H. and I. E. Lawrence.** 1977. The effect denervation on compensatory ovarian hypertrophy. *Neuroendocrinology.* 23:368-378
- **Burden W. H., I. E. Lawrence, C. P. Smith, J. Hoffman, M. Leonard, J. D. Fletcher and C. A. Hodson.** 1986. The effects of vagotomy on compensatory ovarian hypertrophy and follicular activation after unilateral ovariectomy. *The Anatomical Record.* 214:61-66
- **Burden W. H., M. Leonard, C. O. Smith and J. E. Lawrence.** 1983. The sensory innervation of the ovary: A horseradish peroxidase study in the rat. *The Anatomical Record.* 207:623-627
- **Calka J., K. J. Mc Donald. and S. R. Ojeda.** 1988. The innervations of the immature rat ovary by calcitonin gene-related peptide. *Biology of Reproduction.* 39:1215-1223
- **Callejas S., S.** 2001. Fisiología Del Ciclo Estral. pp:37-60 *In: Biotecnología De La Reproducción.* Palma G. A. (ed.). Instituto Nacional De Tecnología Agropecuaria. Argentina.
- **Caravaca R., J. M. Castel, J. L. Guzmán, M. Delgado, Y. Mena, M. J. Alcalde y P. González.** 2005. Bases de la producción animal. Universidad de Sevilla. España. pp:77-92
- **Casabiell X.** 2006. Eje Hipotálamo-Hipófisis-Ovárico. pp:95-101 *In: Endocrinología.* Arce V. M., P. Catalina F. y F. Mallo. (ed.). Universidade de Santiago de Compostela y Universidad de Vigo. España.
- **Champe P. C., R. A. Harvey y D. R. Ferrier.** 2006. Bioquímica. pp:251-277. Mc Graw Hill. México D.F.
- **Chávez R., M. E. Cruz and R. Domínguez.** 1986. Differences in the rate of the right or left ovary in unilaterally ovariectomized rats: effect of ipsi-and contralateral vagus nerves on the remaining ovary. *Journal of Endocrinology.* 113:397-401



- **Chávez R., S. Sánchez, A. Ulloa-Aguirre and R. Domínguez.** 1989. Effects on oestrous cyclicity and ovulation of unilateral section of the vagus nerve performed on different days of the oestrous cycle in the rat. *Journal of endocrinology.* 123:141-144
- **Colantuoni A. y F. Santangelo.** 2005. Regulación de las funciones sexuales y reproductivas. pp:1378-1384. *In: Fiorenzo C. (ed.). Fisiología médica.* Milan Italia.
- **Collins J. J., C. E. Lin, H. R. Berthoud, and R. E. Papka.** 1999. Vagal afferents from the uterus and cervix provide direct connections to the brainstem. *Cell and tissue research.* 295:43-54
- **Coupland R. E., T. L. Parker, W. K. Kesse, and A. A. Mohamed.** 1989. The innervation of the adrenal gland. III. Vagal innervation. *J Anat.* 163:173-81
- **Cruz M. E., R. Chávez and R. Domínguez.** 1986. Ovulation, follicular growth and ovarian reactivity to exogenous gonadotropins in adult rats with unilateral or bilateral section of the vagi nerves. *La Revista de Investigación Clínica* 38:167-171
- **D'Albora H., G. Anesetti, P. Lombide, W. L. Dees and S. R. Ojeda.** 2002. Intrinsic neurons in the mammalian ovary. *Microsc Res Tech.* 15 (59):484-489
- **Davoren J. B. and J. W. Hsueh.** 1985. Vasoactive Intestinal Peptide: A novel stimulator of steroidogenesis by cultured rat granulosa cells. *Biology of reproduction.* 33:37-5.
- **Dees W. L., C. E. Ahmed, and S. R. Ojeda.** 1986. Substance P- and Vasoactive Intestinal Peptide- containing fibers reach the ovary by independent routes. *Endocrinology.* 119:638-641
- **Dees W. L., G. P. Kozlowski, R. Dey and S. R. Ojeda.** 1985. Evidence for the existence of Substance P in the prepubertal rat ovary. *Immunocytochemical localization.* *Biology of reproduction.* 33:471-476
- **Dissen G. A. and S. R. Ojeda.** 1999. Ovarian Innervations. pp:583-589. *In: Physiology of Reproduction.* Knobil E., y J.D. Neil. (ed.). 3° ed. Academic Press. United States of America.
- **Dole G., E. E. Niksson and M. K. Skinner.** 2008. Glial-derived neurotrophic factor promotes ovarian primordial follicle development and cell-cell interactions during folliculogenesis. *Reproduction.* 135:671-682



- **Domínguez R., R. Chávez and M. E. Cruz.** 1991. La regulación del crecimiento y del desarrollo del folículo ovárico. pp:162-183. In: Tópicos Selectos de Biología de la Reproducción. Domínguez R., R. Chávez, M. E. Cruz. (ed.). Miguel Angel Porrúa. México.
- **Esparza D.** 2011. Efectos comparativos de la sección unilateral del Nervio vago a las 07:00 h o a las 13:00 h, en cada etapa del ciclo estral sobre las concentraciones séricas de progesterona y estradiol. LIV Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas, León, Guanajuato, México.
- **Espey L. L.** 1999. Ovulation. pp. 605-614. In: Encyclopedia of Reproduction. Knobil E. y J. D. Neil. (ed.). Academic Press. 3° ed. vol 3. United States of America.
- **Everardo P., C. García, M. E. Cruz and R. Domínguez.** 2011. La participación del Nervio vago en la regulación neuroendocrina de la ovulación varía en función de la hora del día y del ciclo estral. Estudio comparativo en animales con y sin ovariectomía bilateral. Trabajo en extenso de la XXXVI Reunión anual de AIBIR.
- **Flores A., A. I. Gallegos, J. Velasco, F. Mendoza, C. Montiel, P. M. Everardo, M. E. Cruz and R. Domínguez.** 2008. The acute effects of bilateral ovariectomy or adrenalectomy on progesterone, testosterone and estradiol serum levels depend on the surgical approach and the day the estrous cycle when they are performed. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 6: 48
- **Flores A., G. Meléndez, M. Palafox, J. Rodríguez, A. I. Barco, R. Chavira, R. Domínguez and M. E. Cruz.** 2005. The participation of the cholinergic system in regulating progesterone secretion through the ovarian-adrenal crosstalk varies along the estrous cycle. *Endocrine*. 2: 145-151
- **Flores P., V. Rosas, P. Romano y M. Pérez.** 2005. Apoptosis y atresia folicular: Un binomio esencial en el desarrollo ovárico. *Vet. Méx.* 31:116-121
- **Freeman M. E.** 1999. The Neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat pp:613-647. In: *The Physiology of Reproduction..* Raven Press (ed.). 2ª. ed. New York.
- **Freeman M. E.** 2006. Neuroendocrine control of the ovarian cycle in the rat. 2327-2388. In: *Physiology of reproduction.* Knobil E. y J. D. Neil. (ed.). 3° ed. Academic Press. United States of America.
- **Friberg P. A., J. Larsson and H. Billig.** 2009. Dominant Role of Nuclear Progesterone Receptor in the Control of Rat Periovarian Granulosa Cell Apoptosis1 *Biology of Reproduction*. 80: 1160–1167



- **Fritz S., I. Wessler, R. Breitling, W. Rossmannith, S. R. Ojeda, G. A. Dissen, A. Amsterdam, and A. Mayerhofer.** 2001. Expression of muscarinic receptor types in the primate ovary and evidence for nonneuronal acetylcholine synthesis. *The journal of clinical endocrinology y metabolism.* 86:349-353
- **Gallegos A. I., Montiel C., Chavira R., Cruz M. E., Flores A. and Domínguez R.** 2005. Efectos de la sección unilateral del nervio ovárico superior (NOS) en el día del proestro (P), previo a la ovariectomía unilateral (ULOL) sobre la concentración de Estradiol (E2), Progesterona (P). *Memorias de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas.*
- **Ganner D. K.** 2001. Hormonas de las gónadas. pp:679-695. *In: Harper H. A. (ed.) Bioquímica de Harper. El manual moderno. 15° Ed. México D.F.*
- **Ganong W. F.** 2002. Fisiología médica. El manual moderno 19° ed. Santa Fe de Bogotá 449-495
- **Garraza M. H., L. E. Aguado and M. A. De Bortoli.** 2004. In vitro effect of neuropeptides on ovary or celiac ganglion affects the release of progesterone from ovaries in the rat. *Med Sci Monit.* 10:440-6
- **Gaytán F., E. Tarradas, C. Morales, C. Bellido and C. Sánchez.** 2002. Morphological evidence for uncontrolled proteolytic activity during the ovulatory process in indomethacin-treated rats. *Reproduction-* 123:639-649
- **Gerendai I. and B. Halász.** 1997. Neuroendocrine asymmetry. *Front Neuroendocrinology.* 18: 354-381
- **Gerendai I., I. E. Tóth, Z. Boldogkoi, I. Medveczky and B. Halász.** 2000. CNS structures presumably involved in vagal control of ovarian function. *Journal of the Autonomic Nervous System.* 80:40-45
- **Gerendai I., K. Kocsis and B. Halasz** 2002. Supraspinal connections of the ovary structural and functional aspects microscopy research and thecnique. 59:474-483
- **Gilbert R. F. T., P. C. Emson, J. Fahrenkrug, C. M. Lee and E. P. Wass.** 1980. Axonal transport of neuropeptides in the cervical vagus nerve of the rat. *Journal Neurochemistry* 34:108-113
- **Gómez-Prieto B. y M. Velázquez-Paniagua** 2002. Monografía fisiología de la reproducción: hormona liberadora de gonadotrofinas. *Rev. Fac. Med. UNAM.* pp:252-257
- **Guyton A. C.** 1989. anatomía y fisiología del sistema nervioso. (Ed.). Médica Panamericana Buenos Aires, Argentina. pp:938-940



- **Guyton A. C.** 2006. Tratado de fisiología médica. 11<sup>o</sup>ed. Elsevier. España. pp:1021-1030
- **Halász B.** 2000. The hypothalamus as an endocrine organ. *Neuroendocrinology In: Physiology and Medicine.* Humana Press Inc. Totowa, N.J. 3-21
- **Hernández G. y P. R. González.** 2002. Aspectos motivacionales de la conducta sexual. pp:127-151 In: *Motivación animal y humana.* Hernández G. M. (ed.). Manual moderno. México.
- **Hirota T. and Y. Fukada.** 2004. Resetting mechanism of central and peripheral circadian clocks in mammals. *Zoolog Sci.* 21:359-68.
- **Hirshfield, A. N.** 1991. Development of follicles in the mammalian ovary. *Int Rev Cytol,* 101:124-43
- **Hu J., Z. Zhonghua, S. Wen-Jun and S. Azhar.** 2010. Cellular cholesterol delivery, intracellular processing and utilization for biosynthesis of steroid hormones. *Nutrition and Metabolismo.* 7:47-60
- **Huang S., T. F. Chris, S. R. Weitsman, B. N. Dykes and D. A. Magoffin.** 2001. Stem cell factor and Insulin-Like Growth Factor-I Stimulate Luteinizing Hormone-Independent differentiation of rat ovarian theca cells. *Biology of reproduction.* 64:451-456
- **Inyama C. O., H. C. Wiliart and J. M. Polak.** 1996. CGRP-Immunoreactive nerves in the genitalia of the female rat originate from dorsal root ganglia Trk-L3 and L6-S1: A combined immunocytochemical and retrograde tracing study. *Neuroscience Letters.* 69:13-18
- **Jorgensen J., P. Kannisto, F. Liedberg, B. Ottesen, C. Owman, and G. Schmidt.** 1991. Influence of neuropeptide Y and norepinephrine on ovulation in the rat. *12:975-982*
- **Kalantaridou S. N., A. Makriganakis, E. Zoumakis and G. P. Chrousos.** 2004. Stress and the female reproductive system. *Journal of Reproductive Immunology* 62:61-68
- **Karatsoreos I. N., A. Wang, J. Sasanian, and R. Silver.** 2007. A role for androgens in regulating circadian behavior and the suprachiasmatic nucleus. *Endocrinology.* 148(11):5487-5495
- **Kilen S. M. and N. B. Schwartz.** 1999. Estrous Cycle. pp. 127-135. *In: Physiology of reproduction.* Knobil E., and J. D. Neil. (ed.). 3<sup>o</sup> ed. Academic Press. vol. 2. United States of America.



- **Kyeong-Hoon J. and U. B. Kaiser.** 2006. Gonadotropin-Releasing hormone regulation of gonadotropin biosynthesis and secretion. pp:1635-1700 *In: Physiology of Reproduction.* Knobil E. y J. D. Neil. (ed.). 3° ed. Academic Press. United States of America.
- **Lawrence I. E. and H. W. Burden.** 1980. The origin of the extrinsic adrenergic innervations to the rat ovary. *The Anatomical Record.* 196:51-59
- **Le Greves P., E. Nyberg, L. Terenius and T. Hokfelt.** 1985. Calcitonin gene-related peptide is a potent inhibitor of substance P degradation. *Eur. J. Pharmacology* 115:309-311
- **Lemus A. E. y G. Pérez.** 2003. Hormonas esteroides: Metabolismo. *In: Bioquímica.* Hicks G. pp:648-686. México D.F.
- **León X., C. Orús, M. López, S. Sainz and M. Quer.** 2003. Consecuencia de la sección bilateral del vago a nivel cervical. *Acta Otorrinolaringológica, España;* pp:157-160
- **Leonard M. J., C. P. Smith, C. A. Hodson, T. M. Louis, L. G. Lawrence and H. W. Burden.** 1984. The effect of vagotomy on ovarian follicular development. *Anatomic Record.* 208:471-472
- **Levy M. N., B. A. Staton y B. M. Koeppen.** 2009. El sistema endócrino y el aparato reproductor. pp:680-724. *In: Berne y Levy Fisiología.* 6° Ed. Elsevier. España.
- **Lewis M. W. and R. A. Travagli.** 2001. Effects of substance P on identified neurons of the rat dorsal motor nucleus of the vagus. *Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 28:164-72
- **Marcondes, F. K., F. J. Bianchi and A. P. Tanno.** 2002. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. *Journal of Biology.* 62:609-614
- **Mastorakos G., E. L. Webster, T. C. Friedman and G. P. Chrousos.** 1993. Immunoreactive corticotropin-releasing hormone and its binding sites in the rat ovary. *J Clin. Invest.* 92(2):961-968
- **Mayerhofer A., G. Dissen, M. E. Costa and S. R. Ojeda.** 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.* 138:3320-3329
- **Mayerhofer A., N. Dimitrijevic and L. Kunz.** 2003. The expression and biological role of the non-neuronal cholinergic system in the ovary *Life Sciences.* 72:2039-2045
- **Montiel C.** 2005. Efectos agudos de la sección del nervio ovárico superior en el día del diestro-1 sobre la concentración de hormonas esteroides. La rata ovariectomizada como modelo de estudio. *Servicio Social. Carrera de Biología. FES Zaragoza, UNAM.*



- **Morán, C., A. Franco, J. L. Morán, A. Handal, L. Morales, R. Domínguez.** 2005. Neural activity between ovaries and the prevertebral celiac-superior mesenteric ganglia varies during the estrous cycle of the rat. *Endocrine* 26(2):147-152.
- **Murray R. K. y D. K. Granner.** 2009. Membrana: Estructura y función pp:406-424 In Harper H. *El manual moderno*. 28° ed. México D.F.
- **Noback R. C.** 1993. Sistema Nervioso humano: Fundamentos de neurobiología. McGraw-Hill. 2ª ed. México. pp:232-237
- **Norgren R. and G. P. Smith.** 1988. Central distribution of subdiaphragmatic vagal branches in the rat. *The Journal of comparative neurology*. 273:207-223
- **Orisaka M., K. Tajima, B. Tsang and F. Kotsuji.** 2009. Oocyte-granulosa-theca cell interactions during preantral follicular development. *Journal of Ovarian Research*. 2:9
- **Orisaka M., S. Orisaka, J. Y. Jiang, J. Craig, Y. Wang, F. Kotsuji and B. Tsang.** 2006. Growth differentiation Factor 9 Is antiapoptotic during follicular development from preantral to early antral stage. *Molecular Endocrinology*. 20(10):2456-2468
- **Ortega-Villalobos M., M. García B., L. P. Solano F., J. G. Ninomiya A. and R. Guevara G.** 1990. Vagus nerve afferent and efferent innervation of the rat uterus: An electrophysiological and HRP Study. *Brain Research*. 25:365-371
- **Paniagua G., R. M. Nistal, M. P. Sesma, M. Álvarez-Uría, R. Anadón, B. Fraile y F. J. Sáez.** 2002. Gametogénesis y fecundación pp:371-405 *In: Citología e histología vegetal y animal*. McGraw-Hill Interamericana. España.
- **Papka R. E., J. P. Cotton and H. H. Trauring.** 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
- **Parker T. L., w. k. Kesse, A. A. Mohamed and M. Afework.** 1993. The innervation of the mammalian adrenal gland. *J Anat*. 183:265-276
- **Pauwels L. W., E. J. Akesson and P. A. Stewart.** 1998. Nervios craneanos. *Médica Panamericana*. Argentina. pp:126-130
- **Pimentel K., G. Guzmán, P. Everardo and A. Flores.** 2010. Efectos de la sección del Nervio vago en los días del Diestro-2 o Proestro sobre la ovulación. Sexto Foro de Investigación Escolar. Carrera de Biología. FES Zaragoza, UNAM, 11 al 13 de agosto.



- **Reppert, S. M. and R. Weaver.** 2002. Coordination of circadian timing in mammals. *Nature Publishing Group*. 418:935-941
- **Rosales T. y A. Guzmán.** 2008. Apoptosis en la atresia folicular y la regresión del cuerpo lúteo. *Tec. Pecu. Mex.* 46:159-182
- **Santiago C. M. L.** 2012. Efectos de la sección del Nervio Ovárico Superior a las 07:00 h en cada etapa del ciclo estral de la rata con o sin ovariectomía unilateral en la regulación de la secreción de progesterona y 17  $\beta$ -estradiol. TESIS de Licenciatura. FES Zaragoza, UNAM.
- **Sellix M. T. and M. Menaker.** 2010. Circadian clocks in the ovary. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. 21(10):628-636
- **Smith C. L.** 1999. Estrogens, Overview. pp:590-596 In: *Physiology of reproduction*. Knobil E., and J.D. Neil. (ed.). 3<sup>o</sup> ed. Academic Press. vol 2. United States of America.
- **Stjernquist M., P. Emson, Ch. Owman, N.-O. Sjöberg, F. Sundler and K. Tatemoto.** 1983. Neuropeptide y in the female reproductive tract of the rat. distribution of nerve fibres and motor effects. *Neuroscience Letters*. 39:279-284
- **Stocco C., C. Telleria and G. Gibori.** 2007. The molecular of corpus luteum formation, function, and regression. *Endocrine Reviews*. 28:117-149
- **Stouffer L. R.** 2006. Structure, function, and regulation of the corpus luteum. pp. 475-496 In: *Knobil and Neills Physiology of Reproduction*. (ed.) 3<sup>a</sup> ed., Academic Press, USA.
- **Tanaka K., T. Matsugami and T. Chiba.** 2002. The origin of sensory innervation of the peritoneum in the rat. *Anat. Embryol*. 205:307-313
- **Tórtora J. G., y B. Derrickson.** 2006. Principios de anatomía y fisiología. 11<sup>a</sup> ed., Médica Panamericana (Ed). México, pp:1078-1096
- **Tóth I. E., P. Banczerowski, J. S. Tóth, A. Szabó, B. Halász and I. Gerendai.** 2008. Cerebral neurons involved in the innervations of both the adrenal gland and the ovary: a double viral tracing study. *Brain Res Bull*. 77 (5):306-311
- **Tóth I. E., E. S. Vizi, J. P. Hinson and G. P. Vinson.** 1997. Innervation of the adrenal cortex, its physiological relevance, with primary focus on the noradrenergic transmission. *Micros Res Tech*. 36:534-545
- **Tóth I. E., Wiesel O., Boldogkői Z., Bálint K., Tapaszi Z. and I. Gerendai.** 2007. Predominance of supraspinal innervation of the left ovary. *Microscopy Research and Technique*. 70: 710-718



- **Tresguerres F.** 2010. Fisiología de eje Hipotálamo-Hipófisis-Ovario In: Fisiología humana fernandez T. J. 4° ed. editorial Mc Graw Hill Madrid España pp:1041-1058
- **Trkulja V. and Z. Lackovic.** 2001. Vagal influence on compensatory ovarian growth is important only briefly after hemicastration. *Exp Biol Med* 226:776-81
- **Urroz M. C.** 1991. Elementos De Anatomía y Fisiología Animal. Universidad Estatal a Distancia. San Joseacute. pp:201-212
- **Van Voorhis, B. J.** 1999. Follicular steroidogenesis. pp:389-395 In: Encyclopedia of reproduction. Knobil E., Neill J. D (ed.). Academic Press, USA.
- **Virendra B. and W. Darrell.** 1992. Interaction between ovarian and adrenal steroids in the regulation of gonadotropin secretion. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.* 41:495-513
- **Welsch S.** 2008. Histología. 2° ed. Edit. Médica Panamericana. España. pp:500-520
- **Westwood F. R.** 2008. The female rat reproductive cycle: a practical histological guide to staging. *Toxicological Pathology.* pp:375-384
- **Yacobi K., Z. Wojtowicz, A. Tsafiri and A. Gross.** 2003. Gonadotropins enhance caspase-3 and -7 activity and apoptosis in the teca-interstitial cells of rat preovulatory follicles in culture. *Endocrinology.* 145(4):1943-1951
- **Yao H. C. and J. M. Barh.** 1999. Ovary, Overview. pp:590-596 In: Physiology of reproduction. Knobil E., and J.D. Neil. (ed.). 3° ed. Academic Press. vol 2. United States of America.
- **Yen J. E.** Ciclo ovárico pp:164-202 In: Endocrinología de la reproducción. Samuel S.C. Yen, M.D. Sci, Robert B. Jaffe. Robert L. Barbieri. Edit. médica panamericana, 4 ed. 2001 Buenos aires, Argentina.
- **Ying S. Y. and Z. Zhang.** 1999. Ovarian hormones. Overview. pp:578-582. In: Physiology of Reproduction. Knobil E., and J. D. Neil. (ed.). 3° ed. Academic Press. vol 2. United States of America
- **Yoshikawa T., M. Sellix, P. Pezuk and M. Menaker.** 2009. Timing of the ovarian circadian clock is regulated by gonadotropins. *Endocrinology.* 150:4338-4347
- **Zárate P. A.** 2011. La participación del nervio vago en la regulación de la ovulación es asimétrica y varía durante el día del proestro. LIV Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas, León, Guanajuato, México.



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