



## Denervación y poliquistosis ováricas

Rodrigo Ayala Yáñez,\* Enrique Foyo Niembro,\*\* Isabel Alvarado Carrera,\*\*\* Julio García Hernández\*\*

### RESUMEN

**Antecedentes:** la inervación ovárica alcanza el pedículo superior y la arteria ovárica localizadas en el hilio ovárico, para perderse posteriormente en el músculo liso del parénquima gonadal. Se ignora cómo el ovario es capaz de preservar su comunicación reguladora con el hipotálamo y la hipófisis. Se carece de precisión acerca de las estructuras y mecanismos que intervienen en la génesis de la poliquistosis.

**Objetivo:** conocer el papel de la inervación concomitante con estímulo hormonal y su influencia en el desarrollo de ovarios poliquísticos.

**Material y métodos:** se asignaron ratas Sprague Dawley a tres grupos: grupo 1 (control): recibieron vehículo (aceite de maíz); grupo 2: recibió valerianato de estradiol (valerianato de estradiol) y grupo 3: expuesto a fenol con fines de denervación y posteriormente se les suministró valerianato de estradiol (D + valerianato de estradiol). Después de sacrificarlas y congelarlas se les extrajeron los ovarios y se colocaron en formol hasta el momento de la preparación y tinción con hematoxilina-eosina y reacción inmunoquímica con anticuerpos monoclonales específicos para tejido nervioso (PS-100 & GFAP).

**Resultados:** se consideró que hubo respuesta biológica al estímulo con valerianato de estradiol cuando al microscopio se demostró dilatación folicular. Los ovarios con mayor desarrollo folicular fueron los del grupo 2 y los que preservaron la actividad nerviosa folicular intrínseca según se vio con la inmunorreacción positiva a PS-100 & GFAP. El grupo 3, correspondiente a ratas denervadas expuestas a valerianato de estradiol, no demostró cambios significativos en el tamaño folicular.

**Conclusiones:** la actividad neural parece emanar de las células del ovario (intrínseca) y juega un papel decisivo en la formación de quistes.

**Palabras clave:** ovario poliquístico, estradiol, denervación, nervio ovárico.

### ABSTRACT

**Background:** Ovarian innervation is limited to the superior pedicle and ovarian artery to loose itself within the gonadal smooth muscle. Hence, it is far from clear how is it that the ovary preserves its communication with hypothalamic and pituitary structures for feedback regulation. There is a lack of precision concerning structures and mechanisms involved in the genesis of polycystic disease.

**Objective:** To know the role of innervation associated to hormone stimuli in developing polycystic ovaries.

**Material and methods:** Groups of Sprague Dawley rats were studied: group 1, whom received cornoil (vehicle) served as controls; group 2 had estradiol valerianate (EV) and group 3 was exposed to phenol for denervation and also received estradiol valerianate (EV). After sacrifice, ovaries were exposed and saved in a formol solution until preparation and staining with hematoxilin-eosin and for immunochemical reaction using specific monoclonal antibodies for nerve tissue (PS-100 & GFAP).

**Results:** Biologic response was considered when follicle dilation was seen under microscopy evaluation. The ovaries with higher follicle development belonged to group 2 (EV) while preserving intrinsic follicular nervous activity as shown by a positive immunoreaction to PS-100 & GFAP. Those denervated and exposed to EV (group 3) did not show significant changes in follicular size resembling controls.

**Conclusions:** The presence of neural activity is vital for development of cysts and the neural mechanisms involved seemed to lie within the ovarian cells.

**Key words:** polycystic ovary, estradiol, denervation, ovarian nerve.

### RÉSUMÉ

**Antécédents :** l'innervation ovarienne atteint le pédicule supérieur et l'artère ovarienne localisés dans l'ilium ovarien pour se perdre, postérieurement, dans le muscle lisse du parenchyme gonadique. On ignore, donc, comment l'ovaire est capable de préserver sa communication régulatrice avec l'hypothalamus et l'hypophyse. On manque de précision à propos des structures et mécanismes qui interviennent dans la genèse de la poly-kystose.

**Objectif :** connaître le rôle de l'innervation associée au stimulus hormonal et son influence sur le développement d'ovaires poly-kystiques.

**Matériel et méthodes :** des rats Sprague Dawley ont été assignées à trois groupes : Groupe 1 (contrôle) : a reçu véhicule (huile de maïs). Groupe 2 : a reçu valérianate d'œstradiol (valérianate d'œstradiol) et Groupe 3 : exposé à phénol à des fins de dénervation et postérieurement on lui a administré valérianate d'œstradiol (D+valérianate d'œstradiol). Après les avoir sacrifiées et gelées on leur a extrait les ovaires et on les a placés dans formol jusqu'au moment de la préparation et coloration avec hématoxilin-eosine et réaction immunochimique avec des anticorps monoclonaux spécifiques pour tissu nerveux (PS-100 & GFAP).



**Résultats :** on a estimé qu'il y a eu réponse biologique au stimulus avec valérianate d'œstradiol lorsqu'au microscope on a démontré dilatation folliculaire. Les ovaires avec plus de développement folliculaire ont été ceux du groupe 2 et ceux qui ont préservé l'activité nerveuse folliculaire intrinsèque selon s'est vue avec l'immunoréaction positive à PS-100 & GFAP. Le groupe 3, concernant les rats dénervées exposées à valérianate d'œstradiol n'a pas démontré des changements significatifs dans la taille folliculaire.

**Conclusions :** l'activité neurale semble émaner des cellules de l'ovaire (intrinsèque) et joue un rôle décisif dans la formation de kystes.

**Mots-clé :** ovaire poly-kystique, œstradiol, dénervation, nerf ovarien.

## RESUMO

**Antecedentes:** a inervação ovárica alcança o pedículo superior e a artéria ovárica localizadas na trompa ováriana para perder-se, posteriormente, no músculo liso do parênquima gonadal. Ignora-se, então, como é que o ovário é capaz de preservar sua comunicação reguladora com o hipotálamo e a hipófise. Não existe precisão ao respeito das estruturas e mecanismos que intervêm na geração de poli - cistos.

**Objetivo:** conhecer o papel da inervação associada ao estímulo hormonal e a sua influência no desenvolvimento de ovários poli - císticos.

**Material e métodos:** atribuíram-se ratas Sprague Dawley a três grupos: Grupo 1 (controle): receberam veículo (azeite de milho); grupo 2: recebeu valerianato de estradiol (valerianato de estradiol) e grupo 3: exposto ao fenol com fins de denervação e posteriormente ministrou-se-lhes valerianato de estradiol (D + valerianato de estradiol). Depois de sacrificá-las e congelá-las seus ovários foram retirados e colocados em formol até o momento da preparação e tingimento com hematoxilina - eosina e reação imunoquímica com anticorpos monoclonais específicos para tecido nervoso (PS-100 & GFAP).

**Resultados:** considerou-se que teve resposta biológica ao estímulo com valerianato de estradiol quando no microscópio demonstrou-se dilatação folicular. Os ovários com maior desenvolvimento folicular foram aqueles do Grupo 2 e os que preservaram a atividade nervosa folicular intrínseca segundo o observado com a imunoreação positiva a PS-100 & GFAP. O Grupo 3 correspondente a ratas denervadas expostas ao valerianato de estradiol não apresentou mudanças significativas em relação ao tamanho folicular.

**Conclusões:** a atividade neural parece emanar das células do ovário (intrínseca) e tem um papel decisivo na formação de cistos.

**Palavras chave:** ovário poli - cístico, estradiol, denervação, nervo ovariano.

**E**l síndrome de ovarios poliquísticos descrito por Stein y Leventhal en 1935<sup>1</sup> es, quizás, una de las anomalías más complejas del sistema endocrino a la que gradualmente se le han relacionado mecanismos distintos para su desarrollo y ligados al funcionamiento normal de la gónada femenina. En una Conferencia de Consenso de los Institutos Nacionales de Salud de Estados Unidos<sup>2</sup> se establecieron los criterios definidos y probables para síndrome de ovarios poliquísticos que incluyen irregularidades menstruales y exceso de andrógenos, excepto la hiperplasia suprarrenal y otras causas de hiperandrogenismo. Los criterios posibles de resistencia a la insulina se definieron como: relación elevada de

hormona luteinizante, salvo la de folículo estimulante y los signos ultrasonográficos. Con todo, la fisiopatología del síndrome de ovarios poliquísticos sigue ignorándose y hasta ahora las alteraciones hormonales registradas no permiten dilucidar con claridad la causa. Tampoco queda claro si la alteración en la función hipotálamo-hipofisaria se debe a un factor intrínseco del síndrome de ovarios poliquísticos o a cambios en las concentraciones circulantes de hormonas esteroideas.

Los patrones de liberación de la hormona luteinizante y hormona folículo estimulante son inconsistentes entre las pacientes con síndrome de ovarios poliquísticos, el eje hipotálamo-hipofisis-gónada mantiene su respuesta a una retroalimentación positiva o negativa de estradiol y puede reiniciar una función cíclica después del tratamiento hormonal. Con lo anterior podría pensarse que el defecto se localiza en algún otro punto.<sup>3-5</sup> Hace poco Barria y su grupo<sup>6</sup> establecieron que el estado anovulatorio en pacientes con síndrome de ovarios poliquísticos no se debe a un defecto del eje hipotálamo-hipofisis-ovario sino a una variedad de factores y sitios ajenos al eje reproductivo. Entre éstos está un estado hiperreactivo del ovario a

\* Departamento de Biología de la Reproducción, Dirección de Investigación y Enseñanza, Hospital Juárez de México, SSA.

\*\* Bioterio y Cirugía Experimental.

\*\*\* Hospital de Oncología.

Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, México, DF.

Correspondencia: Dr. Rodrigo Ayala Yáñez. Félix Berenguer núm. 150-7, Lomas Virreyes, 11000 México, DF.  
Recibido: junio, 2004. Aceptado: noviembre, 2004.

La versión completa de este artículo también está disponible en internet: [www.revistasmedicasmexicanas.com.mx](http://www.revistasmedicasmexicanas.com.mx)

las catecolaminas y gonadotropinas; las ratas tratadas con valerianato de estradiol para inducir síndrome de ovarios poliquísticos aumentaron su capacidad ovárica para incorporar y liberar norepinefrina. Al seccionarse el nervio ovárico superior (que aporta la mayor estimulación de catecolaminas al ovario) disminuyeron de manera muy importante las concentraciones de esteroides y se restableció el funcionamiento normal de los ovarios.<sup>7,8</sup> Esto apoya el papel que pudiera tener el sistema nervioso en la fisiología ovárica y en la aparición de poliquistosis.

Desde el punto de vista anatómico e histológico es difícil establecer la participación directa del sistema nervioso. En la literatura se describen las estructuras nerviosas que alcanzan a la gónada exclusivamente por el pedículo superior y la arteria ovárica.<sup>9</sup> Su origen se ubica a la altura de los ganglios semilunares, mesentéricos superiores y aórtico renales. Los nervios que van al ovario constituyen un plexo periarterial denso en que se anastomosan y en su trayecto tienen pequeñas masas ganglionares (nervios vasomotores y sensitivos). Los nervios penetran el ovario por el hilio, en compañía de los vasos para dividirse en cortes vasculares y motores que se pierden entre los elementos musculares lisos coexistentes en el ovario.<sup>10</sup> Además, se han observado estructuras sensitivas que incluyen nervios foliculares y epiteliales que llegan a las capas superficiales del ovario y, por medio de otras técnicas, se ha reconocido la inervación adrenérgica asociada con los folículos.<sup>11,12</sup> Algunos estudios han dejado ver una proximidad, incluso de 20 a 25 nm de estructuras nerviosas del simpático y parasimpático, con células de tipo endocrino dentro del ovario. Esas estructuras contienen neurotransmisores, como noradrenalina, acetilcolina, norepinefrina, sustancia P y péptido intestinal vasoactivo.<sup>13</sup> Estos estudios, incluso, muestran que la remoción del tono adrenérgico ovárico conlleva decremento de las concentraciones de la hormona hipotalámica liberadora de gonadotropinas (GnRH) dentro del ovario.<sup>13,14</sup> Con ello se ha estipulado que la inervación ovárica contiene fibras simpáticas, sensoriales y parasimpáticas tomando en cuenta sus respectivos neurotransmisores y colocando al péptido intestinal vasoactivo en una categoría especial, pues se ha visto que realiza una función mixta entre simpática y sensorial.<sup>15</sup> Es

importante señalar que la inervación en el ovario es anterior a la foliculogénesis y que aquélla está circunscrita a la porción medular del ovario, antes de que surja foliculogénesis efectuada en el mismo sitio.<sup>16</sup> Está demostrado que el mismo sistema nervioso podría participar en la selección de folículos, pues en los monos *Rhesus* hay fibras que contienen péptido intestinal vasoactivo dirigidas exclusivamente a un grupo selecto de folículos que deja a los vecinos sin aporte nervioso.<sup>17</sup> En otros estudios de inervación ovárica se ha visto que los neurotransmisores y ciertos neurofactores juegan un papel importante en el desarrollo folicular y la función ovárica normal (sólo comprobado en ratas). Como ejemplo, se tiene que la inmunosímpatectomía con anticuerpos contra el factor de crecimiento nervioso retrasa el desarrollo y ciclicidad del ovario.<sup>18</sup> En otros sistemas se bloquea el estímulo nervioso mediante guanetidina y bloqueadores β-adrenérgicos, con los que se han obtenido efectos similares.<sup>19-21</sup>

La interacción de varias sustancias reconocidas como neurotrofinas,<sup>22</sup> junto con sus respectivos receptores, ha permitido suponer cómo se podría realizar la comunicación de tipo nervioso en el ovario, como en los monos *Rhesus*, donde está demostrada la existencia de una subpoblación de nervios característicos de la especie y que al utilizar p75 NGF (un anticuerpo monoclonal para factor de crecimiento nervioso humano) se le han reconocido receptores (propios del factor de crecimiento nervioso) en estructuras vasculares, tejido intersticial, folículos en desarrollo y células endocrinas del ovario (específicamente células de la teca), asumiéndose la existencia de una red de comunicación entre la corteza y la médula del ovario.<sup>21</sup> Las neurotrofinas también parecen intervenir en el inicio de la foliculogénesis bajo la influencia del péptido intestinal vasoactivo y la norepinefrina durante el inicio de la foliculogénesis (independiente de gonadotropinas), lo que facilita el proceso de diferenciación celular que conduce a la dependencia de gonadotropinas.<sup>22</sup> La estimulación del AMP cíclico o la exposición a norepinefrina o isoproterenol incrementan las concentraciones del factor de crecimiento nervioso en las células de Schwann.<sup>20,21</sup> Así, se ha propuesto que p75 NGF podría actuar como un mensajero entre las terminales de tejido nervioso y

las células blanco.<sup>21</sup> Esto plantearía la posibilidad de que la respuesta de una célula blanco sería directamente proporcional a la cantidad de receptores coexistentes, como puede ser el caso del folículo ovárico, que modifica su respuesta en maduración celular y secreción hormonal.<sup>22</sup> Todos estos conceptos son aplicables al síndrome de ovarios poliquísticos en su regulación neuroendocrina, donde el incremento de norepinefrina en el ovario también se acompaña de disminución en la actividad de los receptores β adrenérgicos en las células de la teca, lo que sugiere que la alteración de la actividad simpática en el ovario pudiera contribuir al desarrollo de poliquistosis.<sup>19-22</sup> Aún así, no ha sido posible determinar si el sistema nervioso pudiera provocar suficientes alteraciones como para ser el responsable del síndrome de ovarios poliquísticos o si la carencia de inervación es suficiente para contrarrestar la acción hormonal y prevenir la formación de quistes. Por ello, se realizó un estudio microscópico con técnicas especiales para identificar tejido nervioso en los ovarios de ratas y la inducción de poliquistosis de manera artificial<sup>23</sup> en gónadas previamente denervadas. Este estudio tuvo como objetivos: 1) determinar la existencia de tejido nervioso vista al microscopio en médulas y corteza ovárica; 2) identificar los cambios morfológicos entre ovarios sanos y ovarios poliquísticos en tejidos y células; 3) identificar alteraciones histológicas en ovarios de ratas previamente denervadas y 4) establecer si la inervación es necesaria para el desarrollo del ovario poliquístico.

## MATERIAL Y MÉTODO

El estudio se dividió en dos partes: preexperimental y experimental y se utilizaron 46 ratas hembras, tipo Sprague Dawley, cuyos pesos fluctuaron de 200-250 g, con dieta de componentes purina (*ad libitum*) y preservándolas con patrones circadianos de luz-oscuridad.

### Reactivos

Para anestesiar a los animales se usó ketamina y droperidol a la dosis de 90 mg/kg,<sup>24-26</sup> los ovarios extraídos se colocaron en recipientes previamente etiquetados, según los grupos de estudio que contenían formol al 10.0% y en los lavados de tejido se utilizó solución fisiológica.

### Tinción de hemotoxilina-eosina

Las muestras de tejido ovárico se incluyeron en parafina y se realizaron cortes de 8 μm. La parafina se extrajo mediante dos baños de xilol durante cinco minutos, cada uno seguido de dos baños de alcohol absoluto y cuatro baños de alcohol al 96%, cuatro baños en agua destilada para rehidratación del tejido y un baño de 5 a 15 minutos en colorantes de hematoxilina. Posteriormente se lavaron con agua corriente durante cinco minutos, colocando las muestras en alcohol ácido (HCl 1.0% y alcohol -70%) durante diez segundos. Despues del baño con agua caliente corriente durante tres minutos se tiñeron con eosina "Y" durante diez minutos y deshidratación con alcohol al 96.0% (4 baños), alcohol absoluto (2 baños), xilol (4 baños); estos últimos fueron para aclaramiento.<sup>27,28</sup>

### Técnicas de inmunohistoquímica de alta especificidad para tejido nervioso

Proteína S-100: para esta técnica se utilizó: DAKO Rabbit Anti-Cow S-100 (código Z-311) y el Universal DAKO Streptavidin Biotin 2 System, Horseradish Peroxidase (DAKO LSAB2 System, HRP).<sup>29</sup>

Proteína ácido glio fibrilar (GFAP): para esta técnica se utilizó DAKO Monoclonal Mouse anti-Human Gliol Fibrillary Acidic Protein Clone FG2 (código M761) y Universal DAKO Streptavidin-Biotin 2 System, Horseradish proxidase, DAKO LSAB2 System, HRP.<sup>30-32</sup> Se prescindió de las técnicas argénticas por presentarse múltiples artefactos y defectos de visualización.

### Inducción de la poliquistosis

Para este procedimiento se utilizó valerianato de estradiol inyectable donado por Schering Mexicana. Se incluyeron 100 mg de valerianato de estradiol en 1.0 mL de etanol absoluto hasta disolverse, enseguida se diluyeron el etanol y su contenido en 10.0 mL de aceite de maíz que luego se trajeron en agua (40°C) con fines de vaporización y para alcanzar una concentración de valerianato de estradiol en solución de 10 mg/mL de aceite.<sup>23</sup>

### Grupo animal y técnicas de estudio

*Fase preexperimental* (estudio de ovarios sanos y denervados) para evaluar posibles artefactos, validez del procedimiento quirúrgico, del lavado y posibles

efectos del tiempo. Grupo A. Se les realizó laparotomía transabdominal a las ratas ( $n = 5$ ) para extraerles los ovarios. Grupo B. Se les realizó ( $n = 6$ ) una incisión en V de apófisis xifoides y bordes costales bilaterales. El corazón se tomó con pinzas de disección y se realizó un corte en el ápice cardiaco, se colocó una sonda en la aorta y se lavaron con 40.0 mL de solución fisiológica, maniobra que se repitió después de incidir la aurícula derecha. Las ratas sacrificadas se preservaron en refrigeración durante 24 horas.<sup>33,34</sup> Posteriormente se les efectuó una laparotomía transabdominal para extraerles los ovarios. Grupo C. A este grupo ( $n = 5$ ) se le practicó laparotomía transabdominal, se les localizaron los ovarios e inició su denervación: se colocaron varias gotas de fenol al 15%<sup>34</sup> en pinzas de anillos estériles hasta cubrir toda la superficie de contacto con el fenol durante cinco minutos con las pinzas curadas. Transcurrieron diez días antes de que los animales se sacrificaran y se efectuaran los procedimientos de incisión y lavado citados para el grupo B (evaluación del tiempo).

*Fase experimental.* A todas las ratas se les injectó una dosis única de 2 mg de aceite de maíz (vehículo) (grupo 1) en un mismo día ( $n = 10$ ); el grupo 2 ( $n = 10$ ) recibió 2 mg de valerianato de estradiol y al grupo 3 ( $n = 10$ ) se le administraron 2 mg de valerianato de estradiol luego de la denervación previa con fenol;<sup>34-36</sup> en este último grupo sólo se denervó uno de los ovarios y el contralateral sirvió de control (cinco ratas denervadas del ovario derecho y cinco del izquierdo). Como medida complementaria se incluyeron cinco ratas que no se evaluaron, tratadas como el grupo 2 para evaluar el desarrollo de ovarios poliquísticos y los cambios que se observaron se tomaron como referencia.

Como control de la observación de tejido nervioso por las técnicas histológica y de inmunohistoquímica se efectuó un corte medial en el glúteo para extraer una muestra de nervio ciático y utilizarla como control de tejido nervioso. Las muestras de tejido ovárico se observaron a través del microscopio de luz (10x y 40x) con la finalidad de evaluar la existencia de folículos dilatados y característicos del síndrome de ovarios poliquísticos. Se estudiaron las laminillas por completo y se seleccionó por medición directa al folículo más grande en que se apreciaran bordes nítidos y completos. Se recopilaron las medidas de los folículos

representativos de cada ovario (derecho e izquierdo). La observación y mediciones se efectuaron con un microscopio Carl Zeiss, con un objeto 10x con cámara digital en tiempo real conectada a una computadora Compaq-Presario 1060, con software Image Data Base 61.4.001.

#### **Significado estadístico**

El análisis estadístico de los resultados se efectuó con la aplicación de las pruebas de Fieller para obtener la relación de límites fiduciarios entre resultados de los diferentes grupos y de Behrens para distribución, covariancia y regresión. Las diferencias con  $p < 0.05$  se consideraron con significado estadístico.<sup>37</sup>

## **RESULTADOS**

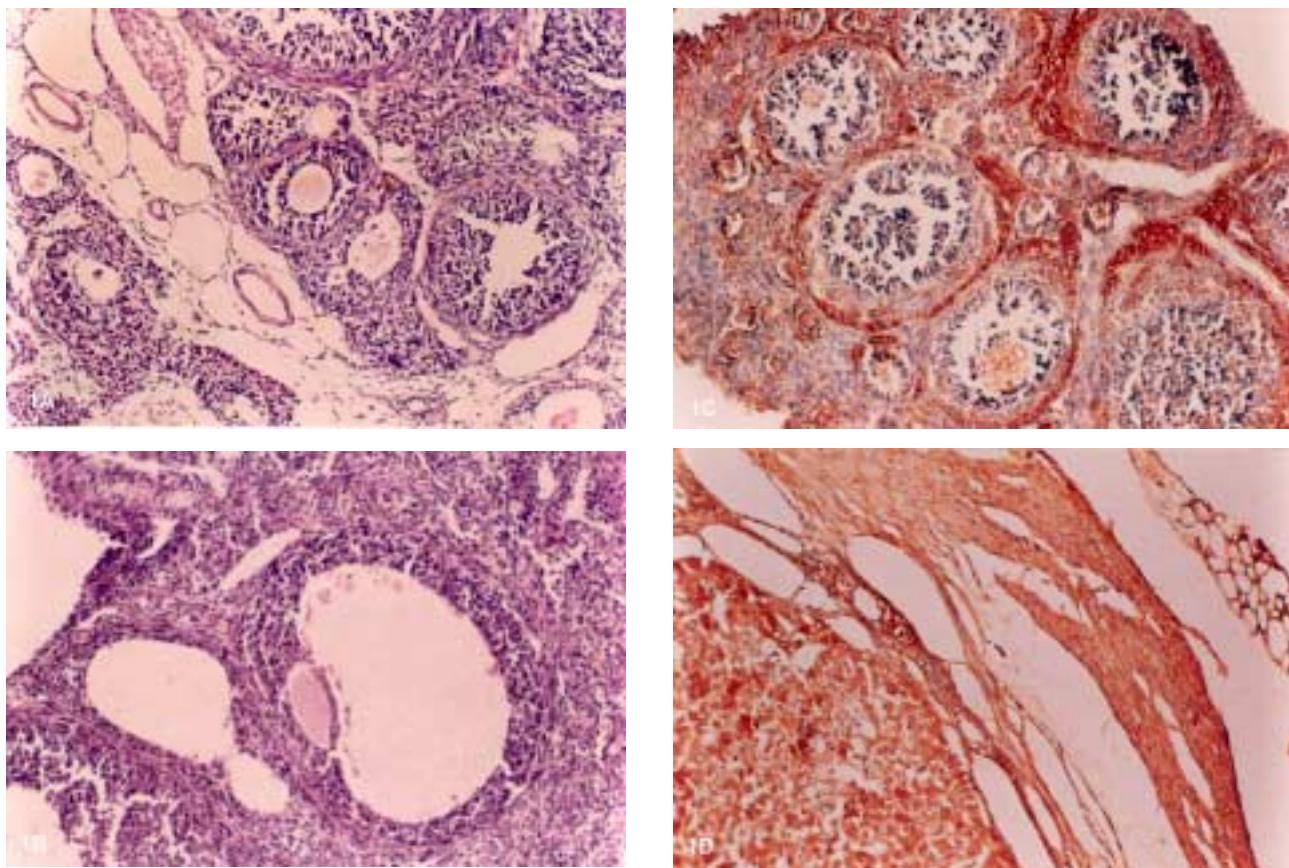
En la fase preexperimental se examinaron todas las muestras obtenidas de los tres grupos. En ninguno de ellos la tinción con hematoxilina demostró que hubiera tejido nervioso dentro del parénquima ovárico, excepto en la región próxima al hilio y en la cercanía de estructuras vasculares, donde se apreciaron fibras nerviosas de tamaño considerable. Con el uso de la inmunohistoquímica se encontró que ambas proteínas, S-100 & GFAP, tuvieron afinidad importante con células de la teca, cuerpos lúteos y ovocitos (figura 1). Estas estructuras eran de color negro-azuloso (tono oscuro), característico de las estructuras que reaccionan positivamente al GFAP. En los cuerpos lúteos con la proteína S-100 prevaleció un tono marrón amarillento y las células de la teca que rodeaban a los folículos. En congruencia con los controles utilizados para nervio ciático se confirmó la reacción a la proteína S-100 y GFAP, éstas son altamente específicas para tejido nervioso.

Los resultados de la fase experimental se resumen en la figura 2. En el grupo 1 (control): se registraron dilataciones mínimas en cinco ovarios, una de las dilataciones sólo se observó en uno de los ovarios de la misma rata, mientras que el ovario contralateral mostró aspecto normal. Los sacrificios de este grupo control se realizaron en fechas similares a los demás grupos. Se observaron ovarios predominantemente normales, con folículos primarios, secundarios y cuerpos lúteos congruentes con la fase del ciclo

reproductivo de cada rata. En este grupo, el tamaño folicular promedio observado fue de 976.14 micrómetros cuadrados ( $\mu\text{m}^2$ ). Grupo 2 (valerianato de estradiol): se observaron dilataciones quísticas en 16 de 20 ovarios luego de 100 días de haberles suministrado valerianato de estradiol. La morfología de los quistes coincidió con la descrita en la literatura.<sup>23</sup> El tamaño folicular promedio fue de 1490.70  $\mu\text{m}^2$ . Grupo 3: (valerianato de estradiol + denervación). Se correlacionaron los resultados de los ovarios previamente denervados con los que se habían dejado intactos en cada una de las ratas, sólo uno de los ovarios denervados mostró dilatación quística y uno de los ovarios intactos no tuvo dilatación alguna, el resto mostró los resultados previstos por grupo. El tamaño folicular promedio de los ovarios denervados fue de 879.39  $\mu\text{m}^2$ , mientras que el de los intactos fue de 1,890  $\mu\text{m}^2$ .

## DISCUSIÓN

En la fase preexperimental, por medio de las técnicas utilizadas, no se observó tejido nervioso dentro del parénquima ovárico, las fibras nerviosas más próximas se relacionaban con estructuras vasculares y cerca del hilio. Aún así, los datos obtenidos por las técnicas de inmunohistoquímica mostraban una reacción positiva a tejidos propios del ovario con reacciones similares a las células de la glía o de las estructuras nerviosas. Los anticuerpos utilizados tienen alta especificidad con el tejido nervioso, aunque también se ha visto positividad a una serie de tumores, la mayor parte de ellos de tejido nervioso o altamente indiferenciados.<sup>30</sup> El ovocito podría explicar su reactividad por su indiferenciación o estado de “célula inmadura”, las demás células (teca y cuerpo lúteo) podrían tener

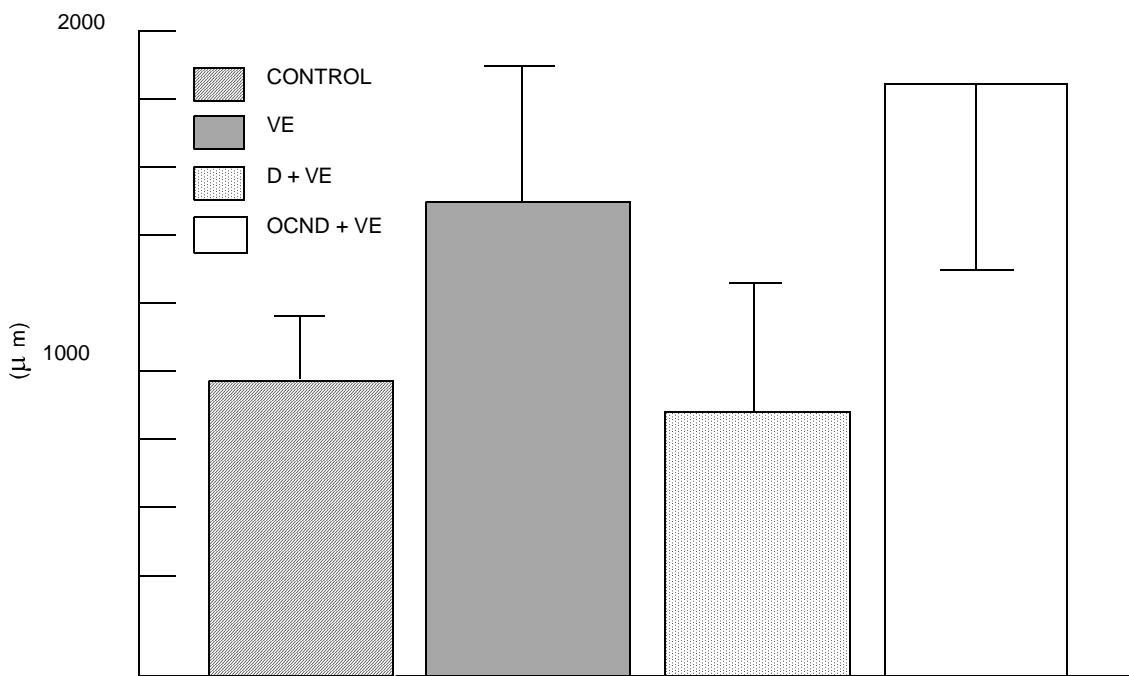


**Figura 1.** Imágenes microscópicas del ovario de ratas normales (A), con desarrollo folicular importante posterior al estímulo con valerenato de estradiol (B) e inmunohistoquímica positiva de las células tecales, cuerpo lúteo y ovocitos (C), así como en la fibra nerviosa de control (D).

alguna función similar a la de las de la glía y sufrir una metamorfosis o bien ejercer una función de tipo nervioso dentro del ovario, lo que explicaría la carencia de tejido neural de dicho órgano. La evolución de estructuras en el desarrollo embrionario quizás sufra una alteración funcional y preserve simultáneamente su función, puesto que en algunos estudios se ha observado que la inervación ovárica precede al inicio de la foliculogénesis.<sup>16</sup> Los neurotransmisores encontrados en el ovario<sup>38,39</sup> podrían tener como célula blanco a algunos folículos, células tecales y de la granulosa, aunque estas podrían ser capaces de expresar las proteínas neurales (SP-100 & GFAP positivas) en una parte del ciclo reproductor secundario a un estímulo hormonal.

En la fase experimental se hizo evidente lo que varios estudios previos habían confirmado. Aunque el grupo control mostró algunas alteraciones, tuvo una población en la que predominaban los folículos sin cambios; los pocos ovarios que demostraron alteraciones pudieron ser fruto de un error en la

observación de los folículos que, aunque su morfología era de gran tamaño, no eran compatibles con la de un quiste. En el grupo 2 se consiguió el desarrollo de ovarios poliquísticos, pero en un tiempo mayor al mencionado en la literatura.<sup>16,23</sup> La estirpe de ratas también fue diferente a la mencionada por Brower y col.<sup>23</sup> y, de acuerdo con las observaciones realizadas con el grupo de precaución, no hubo quistes hasta después del día 100. Otra causa para estos hallazgos pudieron haber sido las condiciones en las que se encontraban las ratas, los estímulos ambientales o la elaboración y calidad del valerianato de estradiol. Por último, el grupo 3 mostró marcada diferencia entre el grupo de ovarios denervados y los intactos. Durante la extracción de algunos de estos ovarios denervados aumentó la cantidad de grasa circundante y, pese a ello, su coloración era igual a la del ovario contralateral sin registrarse datos de atrofia o isquemia. Puesto que uno de los ovarios denervados se dilató, ello hace pensar en la precisión del procedimiento de denervación de este caso en particular o por la



**Figura 2.** Diferencias obtenidas de medición folicular ( $X \pm DE$ ) entre grupos de ratas donde se destaca mayor crecimiento ( $p < 0.01$ ) en las que recibieron valerianato de estradiol únicamente (VE). Las ratas sometidas a denervación y expuestas a estradiol (D + VE) no exhibieron diferencias respecto a los controles. Destacó en las ratas con denervación ovárica unilateral (OCND + VE) que el crecimiento folicular del ovario contralateral no denervado haya sido mayor ( $p < 0.05$ ) al de las expuestas a valerianato de estradiol únicamente.

concentración utilizada del valerianato de estradiol. Otro punto podría ser el hecho de que la técnica de denervación no produzca un efecto permanente y que, de alguna suerte, se restituye la función nerviosa.<sup>24</sup> Es importante determinar el efecto del fenol sobre el tejido nervioso, ya que su utilidad en el tratamiento del dolor es bien reconocida, al igual que su efecto en este tejido.<sup>24,26</sup> Del mismo modo, en una sola rata con ovario intacto que no desarrolló dilatación quística podría atribuirse a manipulación inapropiada del órgano durante las intervenciones quirúrgicas o, simplemente, falta de reactividad al estímulo hormonal.

Se concluye que el factor nervioso tiene un papel determinante en el desarrollo del síndrome de ovarios poliquísticos y la preservación de la función gonadal, incluso en ovarios privados de todo estímulo simpático.

## REFERENCIAS

1. Stein IF, Leventhal ML. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. *Am J Obstet Gynecol* 1935;29:131-91.
2. De Leo V, la Marca A, Petraglia F. Insulin lowering agents in the management of polycystic ovary syndrome. *Endocr Rev* 2003;24:633-67.
3. Insler V, Lunenfeld B. Pathophysiology of polycystic ovarian disease: new insights. *Human Reprod* 1991;6:1025-9.
4. CD-ROM Up to date. Diagnosis in polycystic ovary. MA. 1998;6:2.
5. Ayala AR. Medicina de la Reproducción Humana. 1<sup>a</sup> ed. México: Grupo Azabache, 1993;pp:87-88.
6. Barria A, Leyton V, Ojeda S R, Lara HE. Ovarian steroid response to gonadotropins and beta adrenergic stimulation is enhanced in polycystic ovary syndrome: Role of sympathetic innervation. *Endocrinology* 1993;133:2696-703.
7. Knobil E, Neil JD. The physiology of reproduction. New York: Raven Press, 1988;pp:447-59.
8. Owman CH, Sjöberg NO, Svensson KG, Walles B. Autonomic nerves mediating contractility in the human graafian follicle. *J Reprod Fert* 1975;45:553-56.
9. Testut L, Latarjet A. Tratado de anatomía humana. 9<sup>a</sup> ed. Madrid, 1992;p:1188.
10. Contran RS, Kumar V, Robbins SL. Patología estructural y funcional. 4<sup>a</sup> ed. Madrid: McGraw Hill Interamericana, 1990;pp:14-15.
11. Sporrong B, Kannisto P, Owman C, Sjöberg NO, Walles B. Histochemistry and ultrastructure of adrenergic and acetylcholinesterase-containing nerves supplying follicles and endocrine cells in guinea-pig ovary. *Cell Tissue Res* 1935;240:505-11.
12. Owman C, Stjernquist M, Helm G, Kannisto P, Sjöberg NO, Sundler F. Comparative histochemical distribution of nerve fibers storing noradrenaline and neuropeptide Y (NPY) in human ovary, fallopian tube, and uterus. *Med Biol* 1986;64: 2-3, 57-65.
13. Kannisto P, Ekblad E, Helm G, Owman C, Sjöberg NO, Stjernquist M, et al. Existence and coexistence of peptides in nerves of the mammalian ovary and oviduct demonstrated by immunocytochemistry. *Histochemistry* 1986;86(1):25-34.
14. Stefenson A, Owman C, Sjöberg NO, Sporrong B, Walles B. Comparative study of the autonomic innervation of the mammalian ovary, with particular regard to the follicular system. *Cell Tissue Res* 1981;215:1:47-62.
15. Burden HW. Ovarian innervation. In: Jones RE, ed. The vertebrate ovary: comparative biology and evolution. New York: Plenum Press, 1978;pp:615-38.
16. Malamed S, Gibney JA, Ojeda SR. Ovarian innervation develops before initiation of folliculogenesis. *Cell Tissue Res* 1992;270:87-93.
17. Schulte TD, Dess WL, Ojeda SR. Postnatal development of sympathetic and sensory innervation of rhesus monkey ovary. *Biol Reprod* 1992;47:760-7.
18. Okamura H, Virutamasen P, Wright K, Wallach EE. Ovarian smooth muscle in the human being, rabbit and cat. Histochemical and electron microscopic study. *Am J Obstet Gynecol* 1972;11:183-91.
19. Owman CH, Rosegren E, Sjöberg NO. Adrenergic innervation of the human female reproductive organs: A histochemical and chemical investigation. *Obstet Gynecol* 1987;30(6):763-73.
20. Johnson EM Jr, Taniuchi M, DiStefano PS. Expression and possible function of nerve growth factor receptors on Schwann cell. *Trends Neurosci* 1988;11:299-304.
21. Wyatt S, Shooter ERM, Davies AM. Expression of the NGF receptor gene in sensory neurons and their cutaneous targets prior to and during innervation. *Neuron* 1990;2:421-7.
22. Marchetti B, Cioni M, Badr M, Follea N, Pelletier G. Ovarian adrenergic nerves directly participate in the control of luteinizing hormone releasing hormone and beta adrenergic receptor during puberty: A biochemical and autoradiographic study. *Endocrinology* 1987;121:219-26.
23. Brawer RJ, Muñoz M, Farookhi R. Development of the polycystic condition (PCO) in estradiol valerate treated rat. *Biol Reprod* 1986;35:647-55.
24. Nathan PW, Sears TA. Effects of phenol on nervous conduction. *J Physiol (Lond)* 1960;150:565-80.
25. Cucchiaro G, Yamaguchi Y, Mills E, Kuhn CM, Anthony DC, Branum GD, et al. Evaluation of selective liver denervation methods. *Am J Physiol* 1990;259:781-5.
26. Mori H, Pisarri TE, Aldea GS, Husseini WK, Dae MW, Stevens MB, et al. Usefulness and limitations of regional cardiac sympathectomy by phenol. *Am J Physiol* 1989;257:1523-33.
27. Bancroft JD. Theory and practice of histological techniques. 3<sup>rd</sup> ed. New York: Churchill-Livingstone, 1990;pp:111-2.
28. Prohet EB, Mills B, Arrington JB, Sabin LH. Laboratory methods in histotechnology. Washington: Armed Forces Institute of Pathology, 1994;pp:81-108.
29. Moore BW. A soluble protein characteristic of the nervous system. *Biochem Biophys Res Commun* 1965;19:739-44.
30. Royds JA, Ironside JW, Taylor CB, Graham DI, Timperley WR. An immunohistochemical study of glial and neuronal markers in primary neoplasms of the central nervous system. *Acta Neuropathol* 1986;70:320-6.
31. Debus E, Weber W, Osborn M. Monoclonal antibodies specific

- for glial fibrillary acidic (GFA) protein and for each of the neurofilament triplet polypeptides. *Differentiation* 1983;25:193-203.
32. Notohara K, Hsue CL, Awai M. Glial fibrillary acidic protein immunoreactivity of chondrocytes in immature and mature teratomas. *Acta Pathol Jpn* 1990;40:335-42.
  33. Mayerhofer A, Dissen GA, Costa ME, Ojeda SR. A role for neurotransmitters in early follicular development: Induction of functional follicle-stimulating hormone receptors newly formed follicles of the rat ovary. *Endocrinology* 1997;138:3320-29.
  34. Nathan PW, Sear TA. Effects of phenol on nervous conduction. *J Physiol* 1960; 150:565-80.
  35. Hidezo M, Pissarri TE, Aldea GS, Hussein WK, Dae MW, Stevens MB, et al. Usefulness and limitations of regional cardiac sympathectomy by phenol. *Am J Physiol (Heart Circ Physiol 26)* 1989;257:H1523-33.
  36. Morales L, Chavez R, Ayala ME, Domínguez R. Effects of unilateral or bilateral superior ovarian nerve section in prepuberal rats on the ovulatory response to gonadotropin administration. *J Endocrinol* 1998;158(2):213-9.
  37. Finney DJ. Statistical method in biological assay. 2<sup>nd</sup> ed. London: Griffin, 1971.
  38. Van Why KJ, Lund DD, Martins JB. Postsynaptic  $\alpha$ - and  $\beta$ -adrenergic supersensitivity of recovery properties in the canine ventricle. *Am J Physiol* 1990;258:H1339-47.