

Cambios en la estructura ovárica y en la fertilidad de la rata tras diversas neurectomías ováricas*

M.^o L. Pérez de Obanos y L. M.^o Gonzalo **

Departamento de Investigaciones Fisiológicas
Sección de Neurobiología. C.S.I.C.
Universidad de Navarra
31080 Pamplona (España)

(Recibido el 26 de marzo de 1984)

M.^o L. PEREZ DE OBANOS and L. M.^o GONZALO. *Changes in the Ovaric Structure and Fertility of the Rat Following Different Ovaric Neurectomies*. Rev. esp. Fisiol., 41, 235-242. 1985.

The changes undergone by the ovary 30 days after different unilateral neurectomies were investigated in 45 rats. Fertility modification were observed in a second group of 40 rats that, after the same neurectomies, were placed with a male for a period of 20 days. The only significant change in the ovarian sympathectomized rats was a decrease in the nuclear area of the luteal cells. In the rats with an additional ovariectomy a significant compensatory hypertrophy appeared in the luteal cells. Vagotomy provoked a significant nuclear hypertrophy in the interstitial and luteal cells, as well as in the corpora lutea. In the cases with contralateral ovariectomy this hypertrophy was considerably reduced. Pelvicectomy only provoked a significant decrease of the nuclear size in the luteal cells. Subsequent contralateral ovariectomy was followed by an additional atrophy of the luteal cells and corpora lutea. These results indicate that the parasympathetic system, in normal conditions, plays an inhibitory role, while the sympathetic has a light stimulatory effect, principally on the luteal cells. In relation to fertility, 50 % of the neurectomized rats, 75 % of the control ones and 100 % of the neurectomized and contralaterally ovariectomized rats were found pregnant. The average of the embryos implanted in the uterine horn of the neurectomized ovary was significantly smaller than in the control side. On the contrary, in the ovariectomized rats, especially in the case of sympathectomy, the average of the embryos implanted in the uterine horn of the ovariectomized side was significantly higher than in the control animals.

Key words: Fertility, Ovaric neurectomy, Rat.

* Trabajo realizado con una Ayuda de la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica. Proy. 174/81.

** A quien debe dirigirse toda la correspondencia.

La innervación ovárica ha sido frecuentemente investigada, sobre todo desde que las técnicas histoquímicas y citoimmunológicas han facilitado considerablemente su estudio (1, 2, 4, 5, 15, 21).

Estos trabajos han puesto de manifiesto una rica inervación ovárica que no queda limitada solamente a los vasos, sino que se extiende también al tejido intersticial, teca interna y zona periférica de los cuerpos amarillos (1, 2, 4). Esto hace suponer que el sistema nervioso autónomo desempeña un importante papel en el control de la función ovárica. Sin duda, ha sido la ovulación el aspecto de la función ovárica donde se ha estudiado con más detenimiento la influencia del simpático (8, 9, 13, 14, 23). En cambio, las modificaciones que experimenta la estructura ovárica y la fertilidad tras la supresión de su inervación simpática o parasimpática han sido mucho menos estudiadas y los resultados no siempre coincidentes.

Material y métodos

El estudio se ha realizado en 85 ratas Wistar vírgenes, de 180 a 220 g, situadas en jaulas en una habitación con temperatura constante, con agua y pienso compuesto *ad libitum*.

En 45 de estas ratas (experimento 1), se estudiaron los cambios ováricos provocados por diferentes neurectomías. En otras 40 (experimento 2), se estudiaron las modificaciones que sufre la fertilidad según la neurectomía practicada.

Para el experimento 1 se hicieron los siguientes grupos de 15 ratas: A) simpatectomía en el ovario izquierdo; B) sección del nervio vago izquierdo a su entrada en el abdomen; y C) sección del nervio esplácnico pélvico. En cada uno de ellos, a 5 ratas se practicó también ovariectomía derecha. Para el experimento 2, se hicieron los mismos grupos A, B y C con simpatectomía, vagotomía y pelviecectomía, con 10 ratas cada uno, y en 5 de ellas con ovariectomía derecha. Otro grupo D, de 10 ratas, sirvió de control.

Las operaciones quirúrgicas se realizaron bajo anestesia con pentotal (1,25 mg/100 g) y siguiendo las técnicas habituales en este tipo de intervenciones (6, 12, 22).

Además de la sección del correspondiente nervio, se extirpó éste en una pequeña longitud (2 mm) para dificultar su posible regeneración. En el caso de la simpatectomía, la sección del nervio simpático del ovario se realizó distal al ganglio ovárico y proximal a su unión a la arteria ovárica. Además, se seccionó el ligamento suspensorio del ovario por donde discurre un buen número de fibras nerviosas (15, 19).

Las ratas del experimento 1 fueron sacrificadas a los 30 días de la operación, y las del 2, a los 50 días, después de haber convivido con un macho 20 días.

En la necropsia de las ratas del experimento 1, se fijaron los ovarios en formol al 10 % y, después, se procesaron para su inclusión en parafina. Se seccionaron seriamente a 7 μ y, en su mayor parte, los cortes se tiñeron con hematoxilina eosina.

Para el estudio cariométrico de las células lúteas e intersticiales, se dibujaron los contornos nucleares a 3,800 x, con la ayuda de un microscopio con cámara clara.

Sus áreas se calcularon mediante un digitizador acoplado a un computador Hewlett-Packard que, con el programa utilizado, proporcionaba, además de las áreas, los principales cálculos estadísticos.

El análisis estadístico se ha realizado según el método de variables en pares (pares de t) y en el caso de comparar los tres grupos A, B y C con el grupo control, se ha utilizado la t de Student simple; la probabilidad de error máximo que se ha admitido ha sido 5 %.

En la necropsia de las ratas del experimento 2 se recogieron ambos cuernos uterinos, se abrieron y se hizo el recuento de los embriones implantados en cada uno de ellos.

Resultados

EXPERIMENTO 1: CAMBIOS OVÁRICOS TRAS DIFERENTES NEURECTOMÍAS

Grupo A: Simpatectomía ovárica izquierda. Macroscópicamente y tras el examen histológico, los ovarios operados y los controles no presentaron diferencias apreciables. El estudio cariométrico sólo evidenció diferencias estadísticamente significativas en las células lúteas (CL). El recuento de los folículos (F) y cuerpos lúteos (CpL) no dio diferencias significativas (tabla I). En los casos en que, además de la simpatectomía izquierda, se practicó una ovariectomía contralateral, se apreció una hipertrofia compensadora en el ovario simpatectomizado, tanto en lo que se refiere al área nuclear de las CL y de las CI como en el número de F y CpL (tabla I).

Grupo B: Vaguetomía izquierda. Los ovarios privados de inervación vagal mostraron, macroscópicamente, un aumento global de su volumen. Los estudios histológicos y cariométricos, confirmaron la impresión anterior. La cariometría puso de manifiesto un aumento estadísticamente muy significativo, tanto del área nuclear de las CI como de las CL. Por su parte, la medida de las áreas de los cuerpos lúteos, también dio un aumento significativo.

En el subgrupo de ratas en el que además se añadió la ovariectomía derecha, la hipertrofia fue mucho menor que en las ratas con simple vaguetomía, hasta el punto que sólo resultó significativo el aumento del área nuclear de las CI (comparada con la que se obtuvo en el ovario derecho en el momento de la extirpación). El número de folículos y de cuerpos lúteos aumentaron significativamente (tabla I).

Grupo C: Pelvicectomía izquierda. La observación macroscópica e histológica

no evidenciaron cambios entre los ovarios neurectomizados y los controles. El estudio cariométrico sólo mostró una disminución estadísticamente significativa del área nuclear de las CL.

Cuando a la pelvicectomía se sumó la ovariectomía contralateral, en el ovario con neurectomía pélvica apareció una disminución muy significativa del área nuclear de las CL y del área de los CpL. En cambio, aumentó significativamente el número de F y de CpL (tabla I).

EXPERIMENTO 2: CAMBIOS EN LA FERTILIDAD TRAS DIFERENTES NEURECTOMÍAS

Grupo A: Simpatectomía ovárica izquierda. Solamente dos de las cinco ratas que componían este subgrupo quedaron preñadas y la media de embriones implantados fue de dos en el cuerno uterino izquierdo y de 9,5 en el derecho. En el subgrupo en el que además se practicó una ovariectomía derecha, los resultados fueron distintos: las 5 ratas quedaron preñadas y, por lo que respecta a la implantación y al número de embriones, no apareció ninguno en el cuerno uterino del lado de la ovariectomía; en el de la simpatectomía la media fue de 11,2 embriones (tabla II).

Grupo B: Vaguetomía izquierda. En este subgrupo, 3 de las 5 ratas quedaron grávidas y la media de embriones fue de 6,3 en el cuerno uterino del lado de la vaguetomía y 8,3 en el control. Las 5 ratas, que además de la vaguetomía izquierda sufrieron una ovariectomía derecha, quedaron preñadas y la media de embriones fue de 8,2 en el cuerno uterino izquierdo. En el derecho no hubo ninguna implantación.

Grupo C: Pelvicectomía izquierda. El número de ratas gestantes fue de 3 y la media de embriones, 4 en el cuerno ute-

Tabla I. Cambios en el área nuclear de las células intersticiales, células lúteas y cuerpos lúteos, así como en el número de folículos y cuerpos lúteos, tras diversas neurectomías.

Experimento	N.º ratas	CI (μ^2)	CL (μ^2)	CpL (μ^2)	N.º F	N.º Cpl
Simpatectomía izquierda	10	I. 17,15 $\pm$ 0,3 D. 18,14 $\pm$ 1,1	41,9 $\pm$ 4,5 44,3 $\pm$ 3,5	726,6 687,4	15,7 $\pm$ 6,2 16,5 $\pm$ 5,8	8,5 $\pm$ 3,7 9,2 $\pm$ 3,4
Simpatectomía izquierda + Ovariectomía derecha	5	I. 20,50 $\pm$ 2,5 D.* 19,70 $\pm$ 1,2	48,2 $\pm$ 3,5 46,7 $\pm$ 2,6	616,1 709,6	18,5 $\pm$ 9,3 20,6 $\pm$ 8,3	12,1 $\pm$ 5,1 10,3 $\pm$ 4,3
Vagotomía izquierda	10**	I. 31,30 $\pm$ 4,2 D. 29,10 $\pm$ 3,1	67,4 $\pm$ 5,8 62,4 $\pm$ 6,4	1.160,5 890,9	15,7 $\pm$ 4,8 16,5 $\pm$ 4,6	13,3 $\pm$ 3,2 18,6 $\pm$ 6,4
Vagotomía izquierda + Ovariectomía derecha	5	I. 23,10 $\pm$ 3,7 D.* 20,60 $\pm$ 0,2	46,4 $\pm$ 3,3 45,1 $\pm$ 2,5	715,4 701,4	22,0 $\pm$ 5,6 17,0 $\pm$ 4,2	26,2 $\pm$ 5,3 12,6 $\pm$ 3,6
Pelvicectomía izquierda	10	I. 19,40 $\pm$ 1,5 D. 20,00 $\pm$ 2,4	43,8 $\pm$ 7,9 46,5 $\pm$ 5,8	688,9 632,6	16,1 $\pm$ 6,6 12,9 $\pm$ 3,6	9,9 $\pm$ 3,3 12,1 $\pm$ 2,4
Pelvicectomía izquierda + Ovariectomía derecha	5	I. 20,30 $\pm$ 1,2 D.* 18,90 $\pm$ 1,0	39,1 $\pm$ 1,3 44,0 $\pm$ 2,5	604,7 708,6	23,6 $\pm$ 4,8 18,2 $\pm$ 3,6	19,5 $\pm$ 3,5 11,2 $\pm$ 2,6

*: Valores obtenidos del ovario extirpado.

** : Ratas correspondientes a otra cepa Wistar, su área nuclear es aproximadamente 1/3 mayor que en la otra cepa.

Tabla II. *Ratas preñadas y número de embriones implantados en cada uno de los cuernos uterinos.*

	Experimento	N.º de ratas		N.º de embriones	
		Operadas	Preñadas	Cuerno uter. D.	Cuerno uter. I.
A	Simpatectomía	5	2	9,5	2,0
	Simpatectomía + Ovariectomía	5	5	0,0	11,2
B	Vaguetomía	5	3	8,3	6,3
	Vaguetomía + Ovariectomía	5	5	0,0	8,4
C	Pelvicetomía	5	3	6,3	4,0
	Pelvicetomía + Ovariectomía	5	5	0,0	9,2
D	Control	12	9	6,7	6,9

rino izquierdo y 6 en el derecho. En el subgrupo de ovariectomía, todas las ratas quedaron preñadas siendo la media de embriones implantados en el cuerno uterino izquierdo 9,2. En el cuerno uterino derecho no apareció ningún embrión (tabla II).

Grupo D: Ratas control, no operadas. Las 12 ratas de este grupo, de la misma edad que las de los grupos precedentes, permanecieron, lo mismo que las anteriores, 20 días con el macho, nueve de ellas, quedaron preñadas y la media de implantaciones fue de 6,9 en el cuerno uterino izquierdo y de 6,7 en el derecho.

Discusión

Fertilidad de las ratas neurectomizadas. Las ratas que han resultado gestantes después de haber permanecido 20 días con un macho, han sido de un 50 % en las neurectomizadas, y de un 75 % en las control. Esto indica que tanto la simpatectomía como la parasimpatectomía influyen poco en la gestación. Sin embargo, existe una diferencia clara en cuanto al número de embriones implantados en el cuerno uterino izquierdo (lado de la neurectomía) y en el derecho (lado control). La máxima diferen-

cia se ha obtenido en las ratas simpatectomizadas y la mínima de las ratas con vagotomía. El menor número de implantaciones en el lado de la neurectomía está parcialmente compensado con el mayor número de embriones implantados en el cuerno uterino contralateral, superior al de los animales control. Sumando el número de embriones recogidos en ambos cuernos uterinos resulta un valor inferior al de los animales control por lo que puede hablarse de una disminución de la fertilidad.

En relación con la gestación, todas las ratas que además de la neurectomía, fueron sometidas a la ovariectomía contralateral fueron gestantes. Por otra parte, el número de embriones implantados en el cuerno uterino izquierdo (lado de la neurectomía) fue muy superior al promedio de los animales control. En el cuerno uterino derecho (lado de la ovariectomía) no hubo ninguna implantación, ya que en la rata ambos cuernos del útero terminan independientemente en la vagina.

El aumento del tanto por ciento de ratas gestantes en los casos de ovariectomía unilateral hay que interpretarlo como consecuencia del aumento de la secreción de gonadotropinas (11, 18, 20, 24). Un dato que apoya esta interpretación es el aumento significativo del nú-

mero de folículos y de cuerpos lúteos del ovario contralateral a la ovariectomía.

La disminución del número de embriones, en los casos de neurectomía ovárica simple, en el lado de la operación, no se puede imputar a cambios en el nivel de gonadotropinas, ya que éstos, han actuado por igual sobre ambos ovarios. En el caso de la simpatectomía, que es donde las diferencias han sido más notables, pudiera pensarse en una disminución del número de ovulaciones. En efecto, diversos autores (14, 16) han observado que, bloqueando la acción de las catecolaminas, se retarda, e incluso se impide, la ovulación. Apoyaría esta posibilidad el hecho de que el número de folículos terciarios y de Graff en el ovario simpatectomizado es similar al del lado control, pero también lo es el número de cuerpos lúteos, por lo que, aunque el número de ovulaciones haya sido igual, en el lado operado ha habido menos implantaciones. La única diferencia significativa (dentro de los parámetros utilizados en este estudio) entre el ovario simpatectomizado y el testigo, está en el tamaño nuclear de las células lúteas, menor en el lado de la simpatectomía que en el normal. Ahora bien, ¿es esta diferencia la responsable del diferente número de implantaciones en el cuerno uterino izquierdo y en el derecho, o es otra consecuencia más de la neurectomía? Teniendo en cuenta que en la vaguectomía ha aumentado significativamente el área nuclear de las células lúteas con respecto al lado control y, no obstante, el número de embriones implantados en el cuerno uterino del lado de la neurectomía fue inferior al del lado testigo, parece lógico pensar que los cambios en las células lúteas no sean responsables. De todas formas, las alteraciones provocadas por las neurectomías ováricas, responsables del menor número de embriones implantados en el cuerno uterino del lado operado, no son irreversibles, ya

que esos mismos animales, al practicarles una ovariectomía contralateral, presentaron en el lado neurectomizado un número mayor de embriones que los testigos.

Cambios en la estructura ovárica. Otros cambios que se deben considerar son los que han tenido lugar en la estructura ovárica tras las diversas neurectomías practicadas. La simpatectomía es la que menos cambios ha provocado y, una confirmación parece ofrecerla la hipertrofia compensadora que tuvo lugar en los ovarios simpatectomizados tras la ovariectomía contralateral. Apoyan esta afirmación los resultados obtenidos por otros autores (7, 17), según los cuales, tras la simpatectomía ovárica, no se altera el ciclo ovárico.

En el caso de la vaguectomía, en cambio, han aparecido modificaciones importantes, apreciándose una clara hipertrofia tanto de las células lúteas e intersticiales como de los cuerpos amarillos, la cual parece que produce un aumento en la secreción de andrógenos tras la administración de CGnT, que es mucho mayor en los vagotomizados que en el control (20). Sin embargo, la secreción de estradiol, más directamente relacionado con las células de la granulosa, está disminuida, según estos mismos autores.

Tomando como término de comparación los valores obtenidos en la vaguectomía simple, la ovariectomía produce una atrofia tanto de CL y CI como de CpL. Este resultado no es fácil de interpretar y la única explicación que podría admitirse es que esa relativa atrofia sea consecuencia del notable aumento del número de F y de CpL.

La pelvitectomía simple dio unos resultados similares a los obtenidos en la simpatectomía simple, pero cuando la pelvitectomía fue seguida de ovariectomía contralateral, los resultados fueron superponibles a los obtenidos en la vaguectomía con ovariectomía contralateral.

Resumen

Se estudian en 45 ratas las modificaciones estructurales del ovario tras diversas neurectomías unilaterales de este órgano. En otras 40 se investigan las modificaciones que experimenta su fertilidad al ser sometidas a las mismas neurectomías que en el grupo anterior. La simpatectomía ovárica no produce cambios significativos en el ovario y tampoco se modifica su capacidad de hipertrofia compensadora cuando va acompañada de ovariectomía contralateral. Tras la vaguectomía se aprecia una hipertrofia ovárica muy significativa que la ovariectomía contralateral reduce. La pelvitectomía no modifica el tejido intersticial y produce una atrofia significativa de las células lúteas, que es aún más acusada si además hay ovariectomía contralateral. En relación con la fertilidad quedan preñadas el 50 % de las ratas neurectomizadas, el 75 % de las control y el 100 % de las ovariectomizadas. El número de fetos implantados en el cuerno uterino del ovario neurectomizado, en especial en el caso de simpatectomía, es significativamente menor que en el cuerno del lado control. En las ratas ovariectomizadas, el número de embriones implantados en el cuerno uterino del lado de la neurectomía es significativamente más alto que en los animales control.

Bibliografía

1. ABRAMOVITZ, J., IYENGAR, R. y BORNBAUMER, L.: *Endocrinology*, 110, 336-346, 1982.
2. AGUADO, L. J., PETROVIC, S. L. y OJEDA, S. R.: *Endocrinology*, 110, 1124-1132, 1982.
3. BURDEN, H. L.: *Am. J. Anat.*, 97, 286-290, 1977.
4. BURDEN, H. L.: *Anat. Rec.*, 190, 233-242, 1978.
5. BURDEN, H. L.: *Neuroendocrinology*, 37, 288-290, 1983.
6. CARLSON, R. R. y DE FEO, V. J.: *Endocrinology*, 77, 1014-1022, 1965.
7. CASTREN, O. y SAARIKOSKI, S.: *Experientia*, 29, 576-578, 1973.
8. CLARK, J. H. y ZARROW, M. X.: *Am. J. Gynec.*, 109, 1083-1092, 1971.
9. DAVIDSON, J. M. y SMITH, V.: *Endocrinology*, 93, 1185-1192, 1973.
10. EDGREN, R. A., PARLOV, A. F., PETERSON, D. L. y JHONS, R. C.: *Endocrinology*, 76, 97-102, 1965.
11. GREEF DE, W. J., DULLART, J. y ZEILMAKER, G. H.: *J. Endocr.*, 66, 249-256, 1975.
12. ISOMURA, C., IWATA, S. y CHIBA, M.: *Neurosci. Letters. Abstracts 5.º Ann. Meet. Japan Neurosc. Soc. Suppl. 9*, 1982.
13. JACOBOWITZ, D. y WALLACH, E. E.: *Endocrinology*, 86, 921-924, 1970.
14. JIMÉNEZ-VARGAS, J., TEJERA, V. y GONZÁLEZ, B. J.: *Rev. Med. Univ. Nav.*, 14, 123-127, 1970.
15. LAWRENCE, I. E.: *Anat. Rec.*, 196, 51-59, 1980.
16. MARCÓ, J. y JIMÉNEZ-VARGAS, J.: *Rev. esp. Fisiol.*, 35, 63-74, 1979.
17. MARCÓ, J. y JIMÉNEZ-VARGAS, J.: *Rev. esp. Fisiol.*, 35, 75-84, 1979.
18. McDONALD, E. J. y AIRAKSINEN, M. M.: *J. Pharm. Pharmac.*, 29, 291-296, 1983.
19. MIZUNUMA, L. R., DE PALATIS, M. y McCANN, S. M.: *Neuroendocrinology*, 37, 291-296, 1983.
20. MUSGROVE, C., GROSLING, J. A. y DIXON, J. S.: *Acta Anat.*, 100, 419-427, 1978.
21. OJEDA, S., SMITH, S., WHITE, T. y ANDERSEN, J.: *Neuroendocrinology*, 36, 261-267, 1983.
22. PAYER, A. F.: *Anat. Rec.*, 190, 47-64, 1978.
23. PRECHTL, J. L. y POWLEY, T. L.: *Neurosci.*, 9, 110 (Abstr.), 1983.
24. WALLES, B., EDVINSON, L. y OWMAN, Ch.: *J. Pharmac. Exp. Ther.*, 193, 460-473, 1975.
25. WELSCHEN, R.: *J. Endoc.*, 63, 421-422, 1974.

