



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**EL HIPOCAMPO Y LOS OVARIOS ¿UNA ASOCIACIÓN
DISCRETA? EVIDENCIAS REPRODUCTIVAS Y
COGNITIVAS EN LA RATA ADULTA**

PRESENTA:

YAREY MALDONADO CALIXTO

TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO
LICENCIATURA EN BIOLOGIA

DIRECTOR DE TESIS

Dr. UBALDO QUIROZ LOPEZ

CODIRECTORA DE TESIS

M. en C. ESTRELLA DEL MAR CASTILLO LOPEZ



NOVIEMBRE 2025

El amor es luz, dado que ilumina a quien lo da y lo recibe. El amor es gravedad, porque hace que unas personas se sientan atraídas por otras. El amor es potencia, porque multiplica lo mejor que tenemos, y permite que la humanidad no se extinga en su ciego egoísmo. El amor revela y desvela. Por amor se vive y se muere. El amor es Dios, y Dios es amor.

Esta fuerza lo explica todo y da sentido en mayúsculas a la vida. Esta es la variable que hemos obviado durante demasiado tiempo, tal vez porque el amor nos da miedo, ya que es la única energía del universo que el ser humano no ha aprendido a manejar a su antojo.

Para dar visibilidad al amor, he hecho una simple sustitución en mi ecuación más célebre. Si en lugar de $E= mc^2$ aceptamos que la energía para sanar el mundo puede obtenerse a través del amor multiplicado por la velocidad de la luz al cuadrado, llegaremos a la conclusión de que el amor es la fuerza más poderosa que existe, porque no tiene límites.

Tras el fracaso de la humanidad en el uso y control de las otras fuerzas del universo, que se han vuelto contra nosotros, es urgente que nos alimentemos de otra clase de energía. Si queremos que nuestra especie sobreviva, si nos proponemos encontrar un sentido a la vida, si queremos salvar el mundo y cada ser sintiente que en él habita, el amor es la única y la última respuesta.

–Albert Einstein–

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, quiero agradecer a **Dios**, por ponerme en este camino y darme la fe, la paciencia y fortaleza para concluir esta etapa de mi vida.

A mi **mamá**, gracias, este logro ha sido fruto también de su esfuerzo, por apoyarme incondicionalmente, no hay palabras que describan lo grata que estoy por ello. A mis hermanas, **Blanca Flor & Lorena**, sus ánimos, su apoyo y su sabiduría han sido clave para persistir y acabar lo que inicie. Gracias por demostrarme su fe en mi y ser siempre mi respaldo ante la vida. Admiro tanto las mujeres que son, espero ser como ustedes algún día. Mi corazón no cabe de lo agradecida que estoy con Dios por tener la dicha que ustedes sean mi familia, las amo sumamente.

A mis amigos, **Daniel, Sandra, Andrea y Esther**. ¿Cómo les explico que su cariño y acompañamiento emocional fueron importantes para este proceso?, la verdad me es difícil encontrar las palabras exactas. Pero de todo corazón, gracias por estar. Han enriquecido mi vida y mis conocimientos. Estudiar biología es bello, pero hacerlo a lado de ustedes la ha convertido en unas de las mejores experiencias. Gracias Esther, porque pese a la distancia, tus llamadas siempre terminaban animándome. Su pasión para hacer lo que aman me ha inspirado a seguir en este camino. Espero ser de apoyo cuando lo necesiten y atestiguar sus éxitos. Soy afortunada por tenerlos, ¡Son los mejores!

A mi codirectora, la **M. en C. Estrella del Mar Castillo López**, gracias por darse el tiempo para enseñarme y estar al pie de la letra conmigo, su guía ha sido fundamental para la culminación de este proyecto y en mi formación académica. Su destreza e ímpetu para hacer ciencia me han motivado a ser mejor estudiante y abrazar más esta profesión. Le agradezco enormemente por permitirme ser parte de este proyecto. Estoy convencida que le espera grandes éxitos en su carrera profesional.

A mi director de tesis al **Dr. Ubaldo Quiroz López**, por permitirme ser parte de su laboratorio, darme las herramientas para desenvolverme en la investigación y colaborar con ustedes. Valoro sus enseñanzas y los mantendré en cuenta para mi carrera profesional. Le admiro por la gran persona y científico que es. Aprendí y disfruté bastante mi estancia en su laboratorio y por ello gracias nuevamente.

A mis sinodales, a la **Dra. Dolores López Morales** y al **Dr. Rubén Vázquez Roque**, por sus observaciones y revisión del proyecto.

Por último, gracias a la **Facultad de Biología de la BUAP**.

ÍNDICE GENERAL

<i>AGRADECIMIENTOS</i>	2
<i>ABREVIATURA</i>	6
<i>INDICE DE FIGURAS</i>	7
<i>RESUMEN</i>	8
1. <i>INTRODUCCIÓN</i>	9
1.1. APARATO REPRODUCTOR FEMENINO.....	10
1.1.1 OVARIO	10
1.1.2. INERVACIÓN OVÁRICA	11
1.2. FOLÍCULOS OVÁRICOS	12
1.2.1. FOLICULOGÉNESIS.....	13
1.3. HORMONAS SEXUALES.....	15
1.3.1. PROGESTERONA.....	16
1.3.2. ESTRÓGENOS	17
1.3.3. ANDRÓGENOS.....	17
1.4. CICLO ESTRAL.....	18
1.5. EJE HIPOTÁLAMO- HIPÓFISIS- OVÁRICO.....	20
1.6. HIPOCAMPO.....	22
1.6.1. CIRCUITO TRISINÁPTICO	23
1.7. MEMORIA Y APRENDIZAJE.....	25
1.7.1. ESPINAS DENDRÍTICAS	27
1.7.2. POTENCIACIÓN A LARGO PLAZO.	30
2. <i>ANTECEDENTES</i>	31
3. <i>JUSTIFICACIÓN</i>	34
4. <i>PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN</i>	35
5. <i>HIPÓTESIS</i>	35
6. <i>OBJETIVOS</i>	36
6.3. <i>OBJETIVO GENERAL</i>	36
6.4. <i>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</i>	36
7. <i>MATERIAL Y MÉTODOS</i>	36
7.3. ANIMALES	36

7.4.	CIRUGÍA ESTEREOTÁXICA	37
7.5.	PRUEBAS CONDUCTUALES.....	37
7.5.1.	PRUEBAS DE RECONOCIMIENTO DE OBJETOS (NORT)	37
7.5.2.	ACTIVIDAD LOCOMOTORA.....	39
7.5.3.	PRUEBA DE ANSIEDAD	39
7.6.	CICLICIDAD VAGINAL	40
7.7.	PRUEBA DE FERTILIDAD	40
7.8.	SACRIFICIO.....	40
7.9.	ANÁLISIS HISTOLÓGICO DE LOS OVARIOS Y DEL CRECIMIENTO FOLICULAR	41
7.10.	PROTOCOLO DE LA TINCIÓN DE GOLGI-COX.....	42
7.10.1.	PROTOCOLO DE REVELADO DE LA TINCIÓN GOLGI-COX.	43
7.11.	DENSIDAD Y TIPIFICACIÓN DE ESPINAS DENDRÍTICAS.....	44
7.12.	ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	44
8.	<i>RESULTADOS</i>	45
8.1.	PESOS OVÁRICOS	45
8.2.	CICLICIDAD VAGINAL.....	46
8.3.	PARÁMETROS DE PUBERTAD.....	46
8.4.	PRUEBAS DE RECONOCIMIENTO DE OBJETOS.....	47
8.4.1.	PARÁMETROS DE MEMORIA.....	47
8.4.	PRUEBAS DE FERTILIDAD	49
8.6.	MORFOLOGIA OVARICA	50
8.6.2.	CRECIMIENTO FOLICULAR.	51
8.6.3	CUERPOS LÚTEOS.....	52
8.6.4	QUISTES.....	53
8.7.	EFFECTO DE LAS LESIONES SOBRE LA NEUROPLASTICIDAD ESTRUCTURAL EN REGIONES DEL HIPOCAMPO EN RATAS ADULTAS.	55
9.	<i>DISCUSION</i>	60
10.	<i>CONCLUSION</i>	67
11.	<i>PERSPECTIVAS</i>	68
12.	<i>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</i>	69

ABREVIATURA

ACh	Acetil colina
AChE	Acetilcolinoesterasa
AHN	Núcleo hipotalámico anterior
AMPA	Ácido γ -amino-3-hidroxi-5-metil-4isoxasol propiónico
AMPc	Adenosín monofosfato cíclico
CA	Cuerno de Amón
E₂	Estradiol
FSH	Hormona del folículo estimulante
GABA	Acido gamma aminobutírico
GD	Giro dentado
GnRH	Hormona liberadora de la gonadotropina
HD	Hipocampo dorsal
HPG	Eje hipotálamo-hipófisis-gonadal
HV	Hipocampo ventral
IBO	Acido iboténico
LH	hormona Luteinizante
LS	Septum lateral
LTP	Potenciación a largo plazo
MB	Cuerpo mamilar
MPN	Núcleo preóptico medial
NAc	Núcleo accumbens
NMDA	N-metil-D-aspartato
NORT	Pruebas de reconocimiento de objetos
POMC	Neuronas pro-opiomelanocortina
PVZ	Zona periventricular hipotalámica
Sham	Grupos con lesión falsa
VIP	Péptido intestinal vasoactivo
VMH	Núcleo hipotalámico ventromedial

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Anatomía del aparato reproductor de la rata hembra.....	10
FIGURA 2. Inervación ovárica. Origen y la distribución del PNO en la rata hembra.....	12
FIGURA 3. Desarrollo folicular	15
FIGURA 4. Síntesis de hormonas sexuales	16
FIGURA 5. Fluctuaciones del estradiol, progesterona y la hormona luteinizante durante el ciclo estral.....	19
FIGURA 6. Características morfológicas de las células epiteliales vaginal de la rata hembra durante el ciclo estral	20
FIGURA 7. Eje hipotálamo–hipofisiario–ovárico.	21
FIGURA 8. Ejes hipocampales.	22
FIGURA 9. Circuito trisináptico del hipocampo	23
FIGURA 10. Eferencias del hipocampo al septum lateral (LS) y al hipotálamo.....	25
FIGURA 11. Tipos de espinas dendríticas de acuerdo con su morfología	28
FIGURA 12. Potenciación a largo plazo.	31
FIGURA 13. Pruebas NORT, consta de una prueba de habituación y 3 fases de reconocimiento de objetos.....	38
FIGURA 14. Representación de la prueba de actividad locomotora.	39
FIGURA 15. Proceso del sacrificio de los animales..	41
FIGURA 16. Peso ovárico relativo (mg/100 g p,v), en ratas hembras adultas con diferentes tratamientos. Se observa un mayor peso en el ovario derecho del grupo HD.	45
FIGURA 17. Ciclicidad vaginal.....	46
FIGURA 18. Comparación de los parámetros de pubertad entre los grupos tratados.....	47
FIGURA 19. Comparación de los parámetros de memoria de los grupos lesionados en el hipocampo ventral.	47
FIGURA 20. Parámetros de memoria de los grupos lesionados en el hipocampo dorsal.	48
FIGURA 21. La actividad Locomotora es mayor en el grupo lesionado con IBO en el hipocampo ventral.....	49
FIGURA 22. Comparación de la fertilidad entre los grupos tratados.	50
FIGURA 23. Población folicular en la etapa adulta en los grupos sometidos a diferentes tratamientos.....	51
FIGURA 24. Crecimiento folicular de ratas adultas con diferentes tratamientos.....	52
FIGURA 25. Número de cuerpos lúteos del ovario izquierdo y derecho en los diferentes grupos evaluados.....	53
FIGURA 26. Cantidad de quistes en el ovario izquierdo y derecho en los diferentes grupos analizados.....	53
FIGURA 27. Microfotografías de la histología ovárica en ratas adultas pertenecientes a diferentes grupos experimentales con distintos tratamientos.....	54

RESUMEN

El hipocampo participa en la regulación de procesos cognitivos. Tanto el estradiol de origen ovárico como el hipocampal regulan la densidad de las espinas dendríticas de neuronas piramidales hipocampales. Previamente, hemos mostrado que, en la rata de 21 días de edad, la lesión en el hipocampo provoca irregularidades tanto en procesos reproductivos como en procesos de memoria y aprendizaje en la rata en edad púber. Por tanto, el objetivo de este trabajo es determinar si las lesiones en HV (hipocampo ventral) y HD (hipocampo dorsal) realizadas a los 21 días de edad en ratas hembras, afecta el desarrollo gonadal, la fertilidad y los procesos cognitivos de la rata adulta, así como el papel de la plasticidad sináptica en este proceso. Para la metodología se usaron ratas hembras de la cepa CII-ZV, las lesiones con ácido iboténico se realizaron en el hipocampo ventral (grupo HV) y dorsal (grupo HD) a los 21 días de edad. Además, se incluyó un grupo intacto y dos grupos control a los que se les administró solución salina en el HD (grupo HD-Sham) y HV (grupo HV-Sham), que funcionaron como controles respectivos para los grupos HD y HV. Se registró la edad de apertura vaginal y se llevó a cabo el monitoreo del ciclo estral. A los 90 días de edad se sometieron a pruebas NORT y posteriormente se efectuaron los sacrificios. Se observó que los grupos HD y HV mostraron retraso en la pubertad y aciclicidad vaginal, el grupo HD presentó un aumento en el peso del ovario derecho y una menor tasa de fertilidad a comparación de los demás grupos. Los grupos HD y HV presentaron una elevación de folículos atrésico y preantrales. La lesión con IBO en el HV aumentó la actividad locomotora en las ratas adultas. La administración de IBO en HD y HV redujo significativamente la densidad de espinas dendríticas acompañado por una disminución de espinas dendríticas tipo hongo y aumentaron las de tipo grueso en neuronas hipocampales con respecto al grupo intacto y los grupos Sham. Nuestros resultados refuerzan la idea de que el hipocampo a través de sus proyecciones hacia centros hipotalámicos puede modular el eje HPG, influyendo tanto en procesos reproductivos y cognitivos donde su neuroplasticidad tiene un rol fundamental.

Palabras clave: *Hipocampo, neuroplasticidad, HPG, fertilidad, memoria, aprendizaje*

1. INTRODUCCIÓN

Las funciones gonadales de los mamíferos dependen de la vía neuroendocrina hipotálamo-hipófisis-gonadal y una vía neural bidireccional entre los ovarios y otras estructuras del Sistema Nervioso Central (SNC) (Gerandai *et al.*, 2005). En los procesos reproductivos, hormonas como los andrógenos y estrógenos son esenciales, si bien, sabemos que se sintetizan en las gónadas, también se ha documentado que el estradiol se sintetiza en el hipocampo a partir del GnRH proveniente del Hipotálamo, cabe destacar que uno de los papeles principales del estradiol es la regulación de la memoria (Prange-kiel *et al.*, en 2008). De acuerdo con Saphier & Feldman, 1987, La estimulación del hipocampo dorsal inhibe las neuronas PVN que proyectan la eminencia mediana. El GnRH además participa en la regulación de la vía hipotálamo-hipófisis-gonadal, que proviene del hipotálamo siendo de mayor concentración en el hipotálamo medio basal (HMB). (kang *et al.*,2003). En cuanto a la inervación del ovario, se tiene registrado que hay mayor conexión neural en el ovario izquierdo que en el derecho, provocando así una asimetría reproductiva (Toth *et al.*, 2007). En 1998, Gerandai y colaboradores por primera vez dieron a conocer que el sistema nervioso central proyectaba a los ovarios de los cuales el núcleo paraventricular, los núcleos parabraquiales, el locus ceruleus, los núcleos reticulares y del rafe, el núcleo del tracto solitario, el núcleo motor dorsal, el núcleo ambiguo y el área postrema están involucrados. Sin embargo, Gould et al., 1990, publicaron que al realizar ovariectomía en ratas, obtuvieron la reducción de la densidad las espinas dendrítica de las neuronas de CA1 del hipocampo, dicho resultado también se observó en el trabajo de Castillo López, 2020, en donde desnervo con Capsaicina los ovarios de las ratas, obteniendo así cambios morfológicos en las espinas dendríticas de las neuronas hipocampales; y Santos, 2017, en donde bloqueó la vía neural derecha, entre el testículo derecho y el SNC; por medio de una orquiectomía unilateral que provoco una disminución de la arborización dendrítica de las neuronas piramidales de la región CA3 del hipocampo. Debido a estos resultados de diversos investigadores se cree que existen otras funciones, como procesos reproductivos, en las cuales el hipocampo puede relacionarse además de las establecidas.

1.1. APARATO REPRODUCTOR FEMENINO

El sistema reproductivo femenino consiste en los ovarios y el tracto genital. El tracto genital incluye los oviductos, úteros, cérvix & la vagina. En las ratas, existe una membrana que rodea los ovarios y el infundíbulo oviductual llamada bursa ovárica, su fin es facilitar el transporte de los ovocitos al oviducto. Los oviductos son pequeños tubos enrollados que están sobrepuestos en los ovarios. El útero tiene dos cuernos uterinos, lo que permite a los roedores tener varias crías en una misma camada. En cuanto a la vagina, este se abre directamente al exterior (Kent y Carr, 2001)

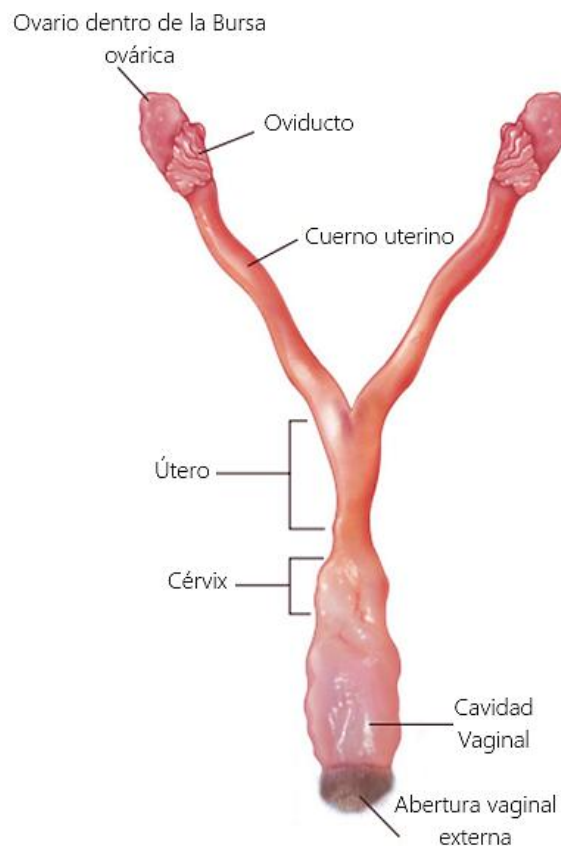


FIGURA 1. Anatomía del aparato reproductivo de la rata hembra (Modificado de Rendi *et.al.*, 2012)

1.1.1 OVARIO

El ovario es un conjunto de folículos, tejido lúteo, vasos sanguíneos, nervios y tejido conectivo. Anatómicamente la superficie de los ovarios está cubierta por una capa cubica reposando en una membrana denominada como epitelio germinal y es continua con el peritoneo. Debajo del epitelio

seroso hay una capa de tejido conectivo denso denominado túnica albugínea. El ovario está organizado en dos partes principales: La zona central, la medula que está rodeada por una zona periférica llamada corteza. Los folículos están ubicados en la corteza conteniendo a los ovocitos. El tamaño y el número de los folículos fluctúan dependiendo de la edad y el estado reproductivo de la hembra (Erickson & Chang, 2007).

1.1.2. INERVACIÓN OVÁRICA

La inervación ovárica está compuesta por el plexo ovárico que parte del plexo celiaco el cual proviene de los nervios espláncnicos mayor y menor, y de los nervios vagales que a su vez se originan del noveno y décimo ganglio torácico del tronco simpático (Baljet y Drukker, 1980; Isomura *et al.*, 1985); y del nervio ovárico superior cuyo origen está en el ganglio celiaco. También hay otros ganglios involucrados como aquellos ubicados cerca del origen de las arterias renal y ovárica (McNeill y Burden, 1986, 1987).

Las inervaciones hacia el ovario pueden ser tanto extrínsecas como intrínsecas. La inervación extrínseca está constituida por el nervio ovárico superior y el nervio del plexo ovárico, estas inervaciones se caracterizan por transmitir las catecolaminas como la noradrenalina ya que se han detectado en el tejido ovárico (Aguado y Ojeda, 1984; Ben Jonathan *et al.*, 1984); y está involucrado con la regulación del desarrollo folicular, la esteroidogénesis y la ovulación (Baljet y Drukker, 1980; Lawrence y Burden, 1980; Doganay *et al.*, 2010).

En cuanto a la inervación intrínseca, en las ratas Long Evans CII-ZV las neuronas están asociadas con las células de la teca interna y la lámina basal, además, tanto ovarios adultos jóvenes como senescentes, la mayor parte de las neuronas están asociadas en grupos en todas las estructuras de la corteza ovárica (Bravo *et al.*, 2022). Los neurotransmisores que se han registrado en las terminaciones nerviosas de los ovarios son peptidérgicas, el péptido intestinal vasoactivo (VIP), la sustancia p y el ácido gamma aminobutírico (GABA) (Dissen y Ojeda, 1999; Davoren y Hsueh, 1985; Erdő *et al.*, 1985; Laszlo *et al.*, 1989).

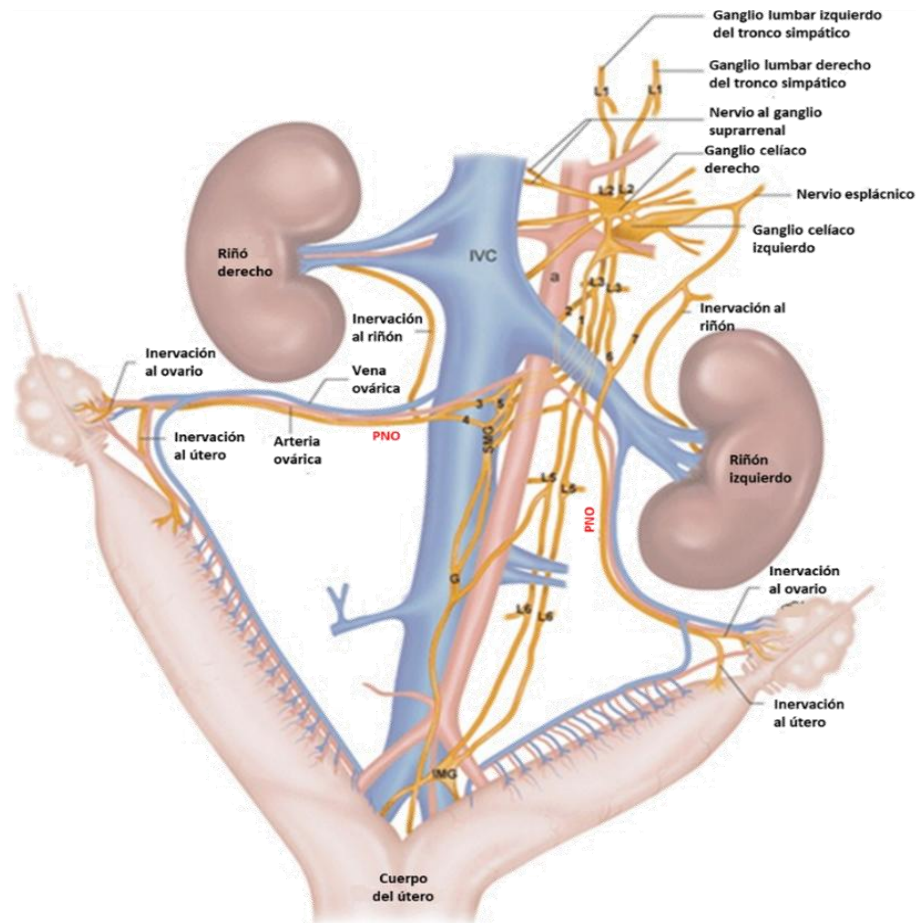


FIGURA 2. Inervación ovárica. Origen y la distribución del PNO en la rata hembra. a, aorta; IVC, vena cava inferior; SMG, ganglio mesentérico superior; G, ganglio; IMG, ganglio mesentérico inferior; L (1,2,3,4,5,6) Ganglio lumbar del tronco simpático. 1: rama celíaca, 2: rama lumbar, 3: rama anastomótica, 4: rama mesentérica superior, 5: plexo mesentérico, 6: rama anastomótica del ganglio lumbar del tronco simpático, 7: rama anastomótica del nervio esplácnico (Modificado de Pastelín *et al.*, 2017).

1.2. FOLÍCULOS OVÁRICOS

Los folículos ováricos son estructuras fundamentales en el ovario, encargadas de albergar los óvulos en sus distintas etapas de desarrollo. Cada folículo está compuesto por un óvulo rodeado de células somáticas, principalmente las células de la granulosa, que desempeñan un papel crucial en la maduración del óvulo y en la producción de hormonas, como los estrógenos. Los folículos se desarrollan en varias etapas, desde el folículo primordial, que es la forma más temprana e inactiva, hasta el folículo terciario o antral, que está cerca de la ovulación (Albertini & Mrosovsky, 2018). Este proceso de crecimiento folicular está regulado principalmente por las

hormonas luteinizante (LH) y folículo estimulante (FSH), que inducen el desarrollo y la maduración de los folículos en el ciclo reproductivo femenino (Hsueh & Tapanainen, 1999).

En las etapas iniciales de la vida, las ratas y otros mamíferos poseen una reserva de folículos primordiales, la cual disminuye con el paso del tiempo, especialmente con la edad avanzada, lo que está relacionado con la disminución de la fertilidad y la llegada de la menopausia (Walters & Handelsman, 2018). La calidad y cantidad de los folículos ováricos, por lo tanto, son factores determinantes en la fertilidad femenina, ya que sólo los folículos maduros pueden liberar óvulos viables para la fecundación.

1.2.1. FOLICULOGÉNESIS

El proceso por el cual el folículo crece y madura recibe el nombre de foliculogénesis e implica estadios secuenciales como la iniciación, crecimiento, selección, ovulación y luteinización. Cuando ocurre la fragmentación de los cordones sexuales del ovario embrionario se da el inicio de este proceso a partir de la meiosis en la región medular, los ovocitos mantienen una capa de células epiteliales, posteriormente se dividen por mitosis dos o tres veces, inician la meiosis específicamente a la primera profase meiótica y forman una segunda generación de folículos primordiales que se caracterizan por el ovocito rodeado por una capa simple de epitelio en forma cúbica, después estos comienzan a engrosarse hasta formar un epitelio columnar, en esta etapa el ovocito está detenido en diploteno de la profase meiótica (Barrios *et al.*, 2012; Merchant, 1984; Freeman, 1994; Speroff *et al.*, 1989). En el siguiente estadio llamado folículo secundario el epitelio columnar simple comienza a dividirse formando un epitelio cubico llegando a organizarse en ocho capas que rodean al ovocito, aquí las células de epitelio columnar son reconocidas como células granulosas. Tanto las células de la granulosa como las de la teca continúan proliferando, dando inicio al estadio preantral es decir que el ovocito aumenta de tamaño, está rodeado por la zona pelúcida y se han desarrollado dos capas de células granulosas. Las células en el folículo preantral sintetizan tres clases de esteroides: estrógenos, andrógenos y progestinas. La FSH junto con los estrógenos ejercen sinérgicamente una acción mitótica en las células de la granulosa y

estimulan su proliferación. Bajo la influencia del estradiol (E_2) y la FSH, hay un incremento en la producción del líquido folicular, el cual se acumula progresivamente formando la cavidad antral o antro; a este estadio se le conoce como folículo antral, en el cual los receptores para la LH (lutropina) se encuentran exclusivamente en las células de la teca, mientras que los receptores para la FSH (FSHR) se encuentran en las de la granulosa (Speroff *et al.*, 1989). En respuesta a la LH las células de la granulosa producen y secretan los estrógenos mediante la aromatización de los andrógenos. Luego el ovocito de estar céntrico procede a ser excéntrico siendo encapsulado por la corona radiada y formándose el cumulus oophorus, en este momento se le reconoce al folículo como preovulatorio (también llamado como folículo de Graff). Entre más cercano sea la ovulación el líquido folicular aumenta su volumen, se presenta el ensanchamiento de la capa de las células de la granulosa y se desarrolla la teca. Esta última capa está constituida por la teca interna (se caracteriza por tener células poligonales con un citoplasma vacuolada y un núcleo vesicular) y la teca externa (constituida por fibras contráctil) (Freeman, 1994). Al aumentarse la concentración de las gonadotropinas se desencadena el incremento intrafolicular de las concentraciones de plasmina que junto con las proteasas degradan el tejido conectivo de la pared del folículo rompiéndolo y permitiendo la liberación del ovocito (Barrios *et al.*, 2012).

Tras la ruptura del folículo las células granulosas transformadas, más las células tecales y los vasos, se entremezclan para dar lugar al cuerpo lúteo, que será el responsable de la secreción de progesterona durante la fase postovulatoria del ciclo. Así mismo los folículos nuevamente inician a desarrollarse teniendo dos destinos: La ovulación o la atresia. La atresia folicular es la degeneración y reabsorción de los folículos, puede ocurrir en cualquier etapa del desarrollo folicular (Uribe *et al.*, 2006). Es importante destacar que el pico máximo de FSH de un ciclo permite la selección de aquellos folículos que ovularan en el siguiente ciclo (este parámetro también rescatara algunos folículos de la atresia para que sigan con su desarrollo normal) (Hirschfield & Midgley 1978; Barrios *et al.*, 2012).

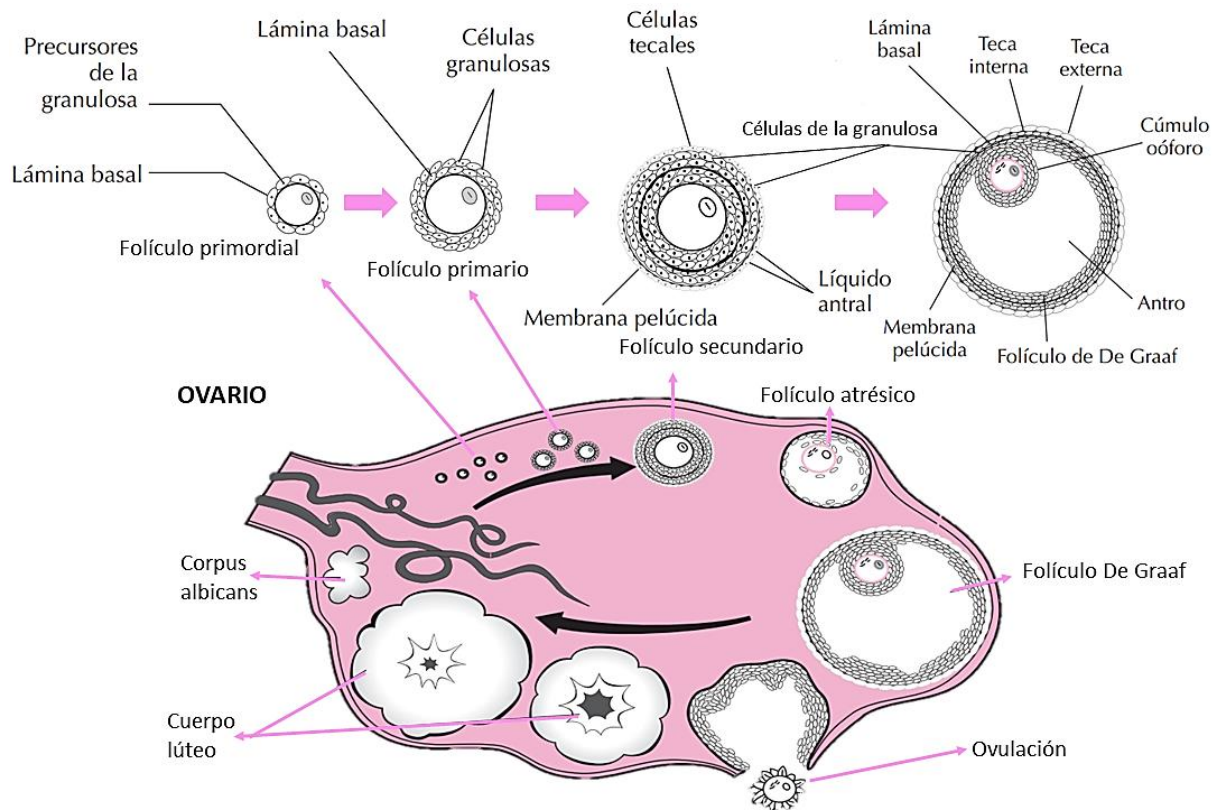


FIGURA 3. Desarrollo folicular. La foliologénesis implica de estadios secuenciales como: folículo primordial, primario, secundario, terciario y de Graaf. Además de la ovulación y la luteinización (Modificado de Tres guerras y Castillo, 2005).

1.3. HORMONAS SEXUALES

Las hormonas sexuales son aquellas que regulan el comportamiento sexual y la reproducción, aunque con el tiempo también se les ha atribuido otras funciones. Estas son de tipo esteroideas y entre ellas se encuentran la testosterona, la androsterona, estrona, estradiol y la progesterona (Tres guerras & Castillo, 2005).

Las hormonas esteroideas son sintetizadas a partir del colesterol que circula en la sangre en la forma de lipoproteínas mediante la enzima coenzima A y el que se libera de los esteres del colesterol almacenados en las gotas lipídicas. La cadena lateral del colesterol se rompe para formar Δ^5 - pregnenolona. La pregnenolona se convierte directamente en progesterona por la acción de dos enzimas citoplasmáticos, la 3β -ol deshidrogenasa y la $\Delta^{4,5}$ - isomerasa. Posteriormente, la progesterona es transformada en testosterona por la acción de la 17-

deshidrogenasa. La pregnenolona puede seguir una ruta alternativa para producir dehidroepiandrosterona, dicho compuesto se transforma en 17β -estradiol a través del sistema del enzima aromatasa y la acción de las 17 -reductasa. Asimismo, el estradiol se genera a partir de la testosterona por acción del sistema de la aromatasa (Devlin, 2000). Estas hormonas se caracterizan por una estructura básica común de ciclopentano-perhidro-fenantreno, un complejo policíclico de 17 átomos de carbono que forman un sistema de cuatro anillos. Según el número de átomos de carbono, los esteroides sexuales se dividen en tres grupos: progestinas, caracterizadas por átomos de 21 carbonos; andrógenos, caracterizados por átomos de 19 carbonos; estrógenos, caracterizados por átomos de 18 carbonos (Taraborelli, 2015). Son producidas en los ovarios, principalmente en las estructuras foliculares y en el cuerpo; igualmente en los testículos, en las glándulas suprarrenales o en la placenta (Tres guerras & Castillo, 2005).

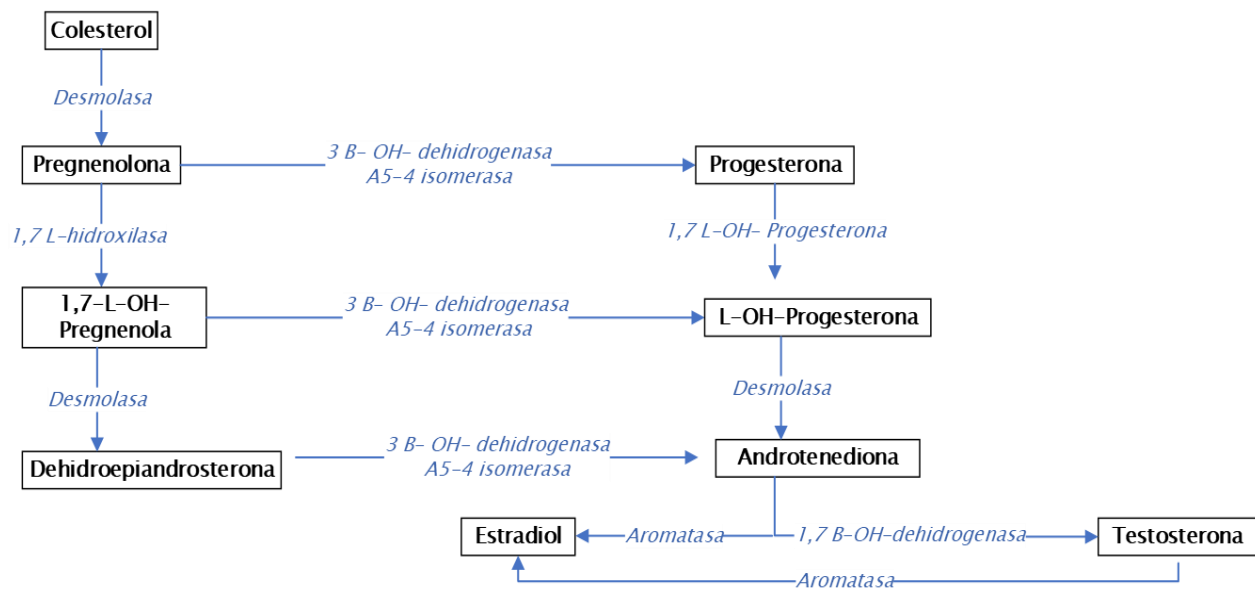


FIGURA 4. Síntesis de hormonas sexuales

1.3.1. PROGESTERONA.

El rol de la progesterona se caracteriza por inducir junto con los estrógenos la secreción de FSH y sensibilizar los receptores de LH en las células de la granulosa, permitir la transición del endometrio de la fase proliferativa a la secretora. Durante la fase proliferativa, hay un predominio de receptores de estrógenos localizados en las células epiteliales estromales y miometriales, pero

durante la fase ovulatoria esta concentración disminuye rápidamente debido a la acción supresora de la progesterona. Por el contrario, los receptores de progesterona (RP), localizados principalmente en las células epiteliales endometriales, aumentan exponencialmente en la fase ovulatoria, como resultado de la acción del estradiol, y luego disminuyen drásticamente en la fase lútea tardía. El folículo preovulatorio es capaz de sintetizar estrógenos y progesterona que actúan directamente sobre las células de la granulosa promoviendo el crecimiento folicular e inhibiendo genes apoptóticos, a través de la interacción con un receptor de membrana. La progesterona también es conocida como la hormona del embarazo debido a que disminuye el peristaltismo de las trompas de Falopio para que suceda la fertilización del óvulo y su transporte al útero, así mismo inhibe la contracción del miometrio, induce un cambio en la respuesta inflamatoria mediada por células T, disminuye la actividad de las células NK y aumenta la producción de anticuerpos asimétricos no citotóxicos bloqueando los antígenos fetales, sin activar la respuesta humoral para que haya una implantación exitosa (Tucker, 2007).

1.3.2. ESTRÓGENOS

Los estrógenos son conocidos por estimular el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios femeninos como el crecimiento mamario junto con la estimulación de los conductos galactóforos y el desarrollo de los genitales externos e internos. Induce el crecimiento de las trompas de Falopio y del útero, incrementa la cornificación de las células superficiales de la mucosa vaginal, en el cuello aumenta la cantidad de mucosa lo que facilita la entrada de los espermatozoides. En el músculo uterino se hacen más frecuentes las contracciones espontáneas, incrementándose la excitabilidad a la oxitocina. En el hipotálamo modulan la secreción de la hormona liberadora de la gonadotropina (LHRH) y dopamina; estimulan también la aparición de receptores para FSH en el folículo (Torres & Castillo, 2005).

1.3.3. ANDRÓGENOS.

Los andrógenos son reconocidos por su papel en el desarrollo sexual masculino. Es de importancia en la diferenciación sexual cerebral, en el desarrollo de los conductos de Wolff y de

los genitales externos masculinos. Incrementa la vascularización de los tejidos sexuales, determina el desarrollo de las vesículas seminales y la próstata, aumentando su función secretora. Se ha demostrado que la 5-dihidrotestosterona favorece el desarrollo de los túbulos seminíferos y posibilita la acción de la FSH sobre el epitelio germinal, y es capaz por sí sola y a altas dosis de mantener la espermatogénesis en animales hipofisectomizados. Junto con los andrógenos suprarrenales estimula también la libido y la potencia sexual (Torres & Castillo, 2005).

Si bien, se ha descrito perfectamente el papel de los andrógenos en caracteres sexuales masculinos también se ha revelado que regulan directamente el crecimiento de los folículos preantrales, previene la atresia folicular y favorecen la formación de los folículos antrales. Se ha planteado su participación en el reclutamiento de los folículos primordiales y en el proceso de ovulación. El exceso de andrógenos aumenta el desarrollo folicular y la formación disfuncional de folículos antrales en el síndrome de ovario poliquístico (Soutelo & Faraj, 2015; Gervásico *et al.*, 2014)

1.4. CICLO ESTRAL

El ciclo estral es un proceso relacionado con las fluctuaciones de esteroides sexuales circulantes que repercute el estado del útero, los ovarios y de la apariencia de las células epiteliales vaginales, este último es indicador del estado reproductivo de las hembras (Goldman *et al.*, 2007). El ciclo estral de las ratas tiene una duración de 4 y 5 días. Consta de 4 fases: proestro, estro, metaestro y diestro. Este ciclo es dependiente del nivel de estradiol, ya que en diestro el estradiol va aumentando hasta alcanzar su punto máximo en el proestro y en el estro empieza a disminuir poco a poco concluyendo en la queratinización de las células epiteliales vaginales (Fig. 5) (Goldman *et al.*, 2007; Eva & Long, 1922).

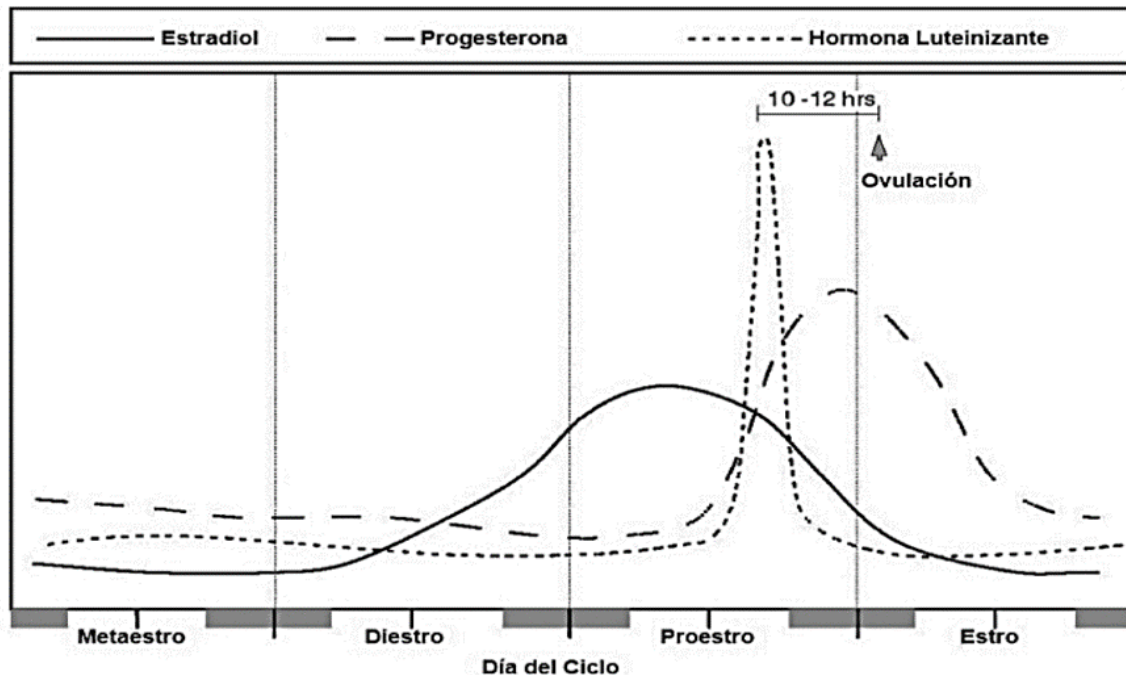


FIGURA 5. Fluctuaciones del estradiol, progesterona y la hormona luteinizante durante el ciclo estral. Las tres hormonas se encuentran en su pico de concentración durante el proestro, mientras que disminuyen durante el estro (Goldman *et al.*, 2007).

Proestro: Es la fase en donde se da la ovulación y se presenta antes del estro, tiene una duración aproximada de 12 a 18 horas. Las células del epitelio vaginal en ratas se caracterizan por ser nucleadas, angulares y bordes definidos sin presencia de leucocitos (Goldman *et al.*, 2007).

Estro: Tiene una duración entre 9 y 12 horas, la citología vaginal presenta células de descamación, sin núcleo, translúcidas y sin presencia de leucocitos (Goldman *et al.*, 2007).

Metaestro: Esta fase presenta una gran cantidad de leucocitos específicamente neutrófilos y con algunas células escamosas. El metaestro es la fase de transición entre el estro y el diestro con una duración de 10 a 14 horas (Goldman *et al.*, 2007)

Diestro: El diestro es la fase que más permanece ya que dura de 55 a 72 horas y se caracteriza por que las células parabasales (células esféricas con núcleos grandes que regularmente se tiñen de azul) y los leucocitos predominan, estos se organizan como racimos de uvas (Goldman *et al.*, 2007; Hernández *et al.*, 2023).

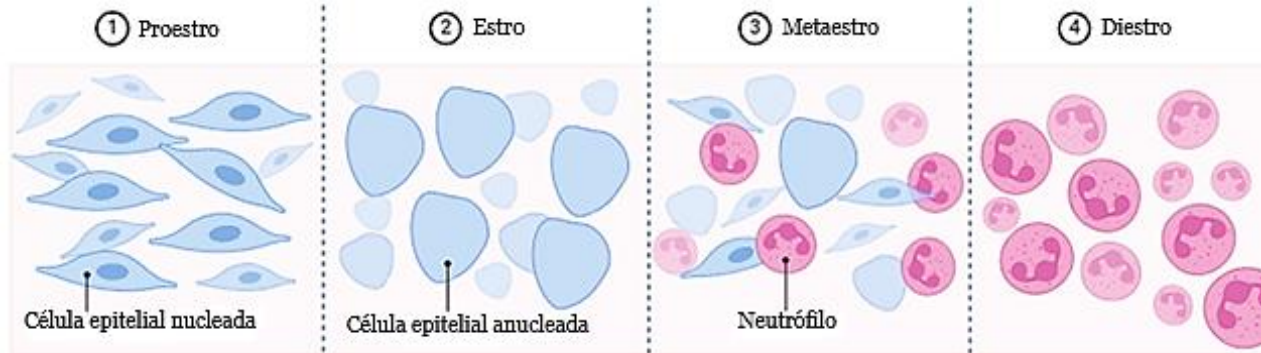


FIGURA 6. Características morfológicas de las células epiteliales vaginal de la rata hembra durante el ciclo estral (modificado de Hong K *et al.*, 2018).

1.5. EJE HIPOTÁLAMO– HIPÓFISIS– OVÁRICO

El eje hipotalámico–hipofisario–gonadal (HHG) es un sistema endocrino complejo que regula la función reproductiva en los mamíferos. Este eje involucra tres glándulas principales: el hipotálamo, la hipófisis y las glándulas gonadales (ovarios en las hembras y testículos en los machos). El funcionamiento adecuado de este eje es crucial para el inicio y la regulación de la pubertad, la ovulación, la espermatogénesis y la producción de hormonas sexuales. Este eje inicia en el hipotálamo específicamente en el núcleo paraventricular (NPV) en donde se secreta de manera pulsátil la hormona liberadora de la gonadotropina (GNRH), este viaja a la hipófisis a través de la eminencia media para estimular la liberación al torrente sanguíneo la hormona luteinizante (LH) y la hormona del folículo estimulante (FSH) (Griffin & Ojeda, 2004; Södersten, 2015). Estas gonadotropinas viajan hacia las gónadas (ovarios o testículos) para regular la producción de hormonas sexuales y la maduración de los gametos. En cuanto a los ovarios se posee exclusivamente receptores de FSH en las células de la teca permitiendo así la inducción del desarrollo folicular y síntesis del estradiol a expensas de la androstendiona sintetizada en las células locales bajo el estímulo de la LH. Inicialmente, la FSH interviene también en el proceso de reclutamiento folicular, crecimiento folicular y desarrollo del folículo dominante. Cuando hay altos niveles de estradiol también hay un incremento de receptores para la FSH lo que posibilita el continuo desarrollo de los folículos, en presencia cada vez niveles más bajos de FSH dando lugar a la atresia de otros folículos que no son tan sensibles. La LH actúa sobre el folículo ya

maduro generando la ovulación. También actúa sobre las células de la teca y de las granulosas luteinizandolas transformando el folículo en cuerpo lúteo e incrementando éste la producción de progesterona (Tres guerras & Castillo, 2005; Moore, Persaud y Torchia, 2008). Este eje está finamente regulado mediante retroalimentación negativa y positiva. Por ejemplo, cuando los niveles de hormonas sexuales (estrógenos, progesterona o testosterona) aumentan, envían señales al hipotálamo y a la hipófisis para reducir la liberación de GnRH, FSH y LH. Este mecanismo asegura que los niveles hormonales se mantengan dentro de un rango óptimo para la función reproductiva (Jara, 2001; Hoffman *et al.*, 2009; Södersten, 2015).

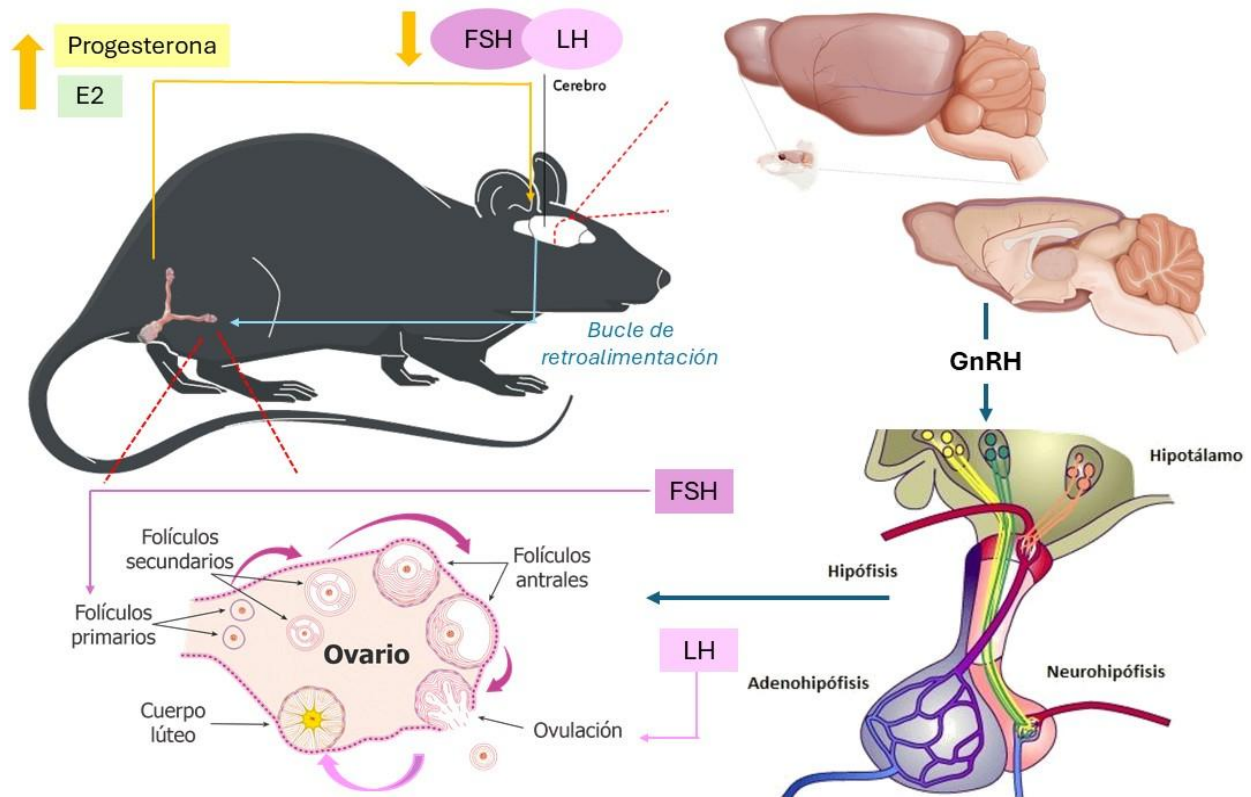


FIGURA 7. Eje hipotálamo-hipofisiario-ovárico. Se puede visualizar el corte sagital donde se muestra el eje hipotalámico adenohipofisario ovárica de la rata, el hipotálamo segrega GnRH sobre la hipófisis, a su vez este genera FSH Y LH que promueven la síntesis de esteroides en el ovario que ayudan a estimular el crecimiento folicular. Este eje está regulado por un bucle de retroalimentación (Modificado de Geraque, 2020). GnRH: Hormona liberadora de gonadotropina, LH: Hormona luteinizante, FSH: Hormona foliculoestimulante.

1.6. HIPOCAMPO

El hipocampo es una estructura curva de la corteza plegada hacia la superficie medial del lóbulo temporal, que ocupa el piso de asta inferior o temporal del ventrículo lateral. Forma parte del sistema límbico y se divide en tres regiones: hipocampo ventral (HV), hipocampo dorsal (HD) e intermedio. Anatómicamente, está organizado en el cuerno de Amón (hipocampo propio) y el giro dentado (separados por la fisura hipocampal); y el complejo subicular. A su vez el cuerno de Amón está constituido por cuatro campos CA1, CA2, CA3 y CA4 (Lavenex, Lavenex y Amaral, 2007; Amaral y Lavenex, 2007; Hernández, Aguilar y García, 2015). En cuanto a su citoarquitectura, este está organizado por una capa de células piramidales que contiene a los somas de dichas células, una capa molecular en el que están presentes las dendritas apicales de las células piramidales y una capa polimórfica que está compuesta de interneuronas y células en cesta. (Schultz y Engelhardt, 2014; Giap *et al.*, 2000; Benavides-Piccione *et al.*, 2020). Las funciones que desempeña el hipocampo están relacionadas con la memoria declarativa, espacial, a largo plazo y a corto plazo, el aprendizaje y el estrés (Olivares *et al.*, 2015).

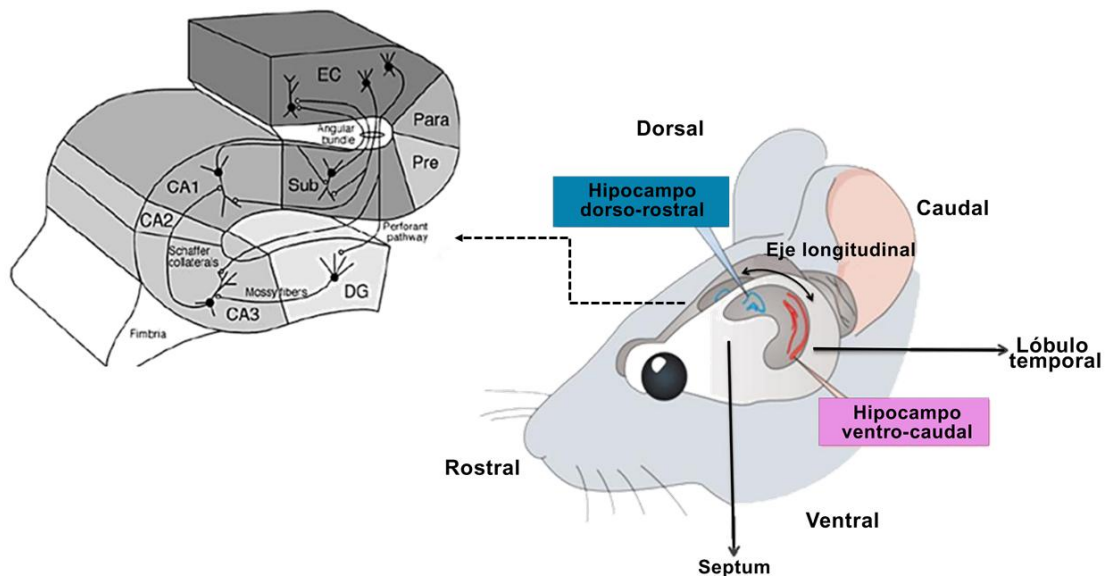


FIGURA 8. Ejes hipocampales. El eje longitudinal se extiende desde el septum (dorso-rostral) al lóbulo temporal del cerebro (ventro-caudal), entre estos ejes se encuentra el hipocampo dorsal y el ventral (modificado de Suarez, 2015). En la esquina superior izquierda se visualiza a través del eje septotemporal los componentes de la formación hipocámpica (SUB, Subículo; GD, giro dentado; CA1, CA2 y CA3) (Modificado de Amaral y Lavenex, 2007).

1.6.1. CIRCUITO TRISINÁPTICO

Las proyecciones de las neuronas piramidales de la región CA3 se dirigen hacia las dendritas de las neuronas piramidales de las CA1 mediante los colaterales de Schaffer. Los axones provenientes de la región CA3 proyectan hacia todo el hipocampo mediante proyecciones comisurales, entre hemisferios y/o asociativas, en el mismo hemisferio. Mientras que las neuronas granulares del giro dentado proyectan sus axones hacia las dendritas proximales de las neuronas piramidales de la región CA3, atravesando el hilus. La corteza parahipocampal es la región que mayor proyección de fibras dirige hacia el hipocampo siendo la principal vía de entrada de aferencias neocorticales de procesamiento provenientes de distintas áreas dorsales, como la corteza parietal posterior, la corteza retrosplenial, la corteza prefrontal dorsolateral o de la parte dorsal del surco temporal superior estructuras estrechamente asociadas en la codificación de la localización espacial de los estímulos. Estas aferencias son distribuidas hacia la corteza entorrinal. Las células de las capas II y III de esta corteza envían sus axones hasta el giro dentado y el hipocampo a través de la vía perforante, atravesando la capa de células piramidales del subiculum (Olivares *et al.*, 2015). En roedores se ha visualizado que la neocorteza manda proyecciones al hipocampo dorsal y las proyecciones del hipocampo ventral vienen de la corteza prefrontal, la amígdala, otros núcleos subcorticales y el hipotálamo (Camacho *et al.*, 2020).

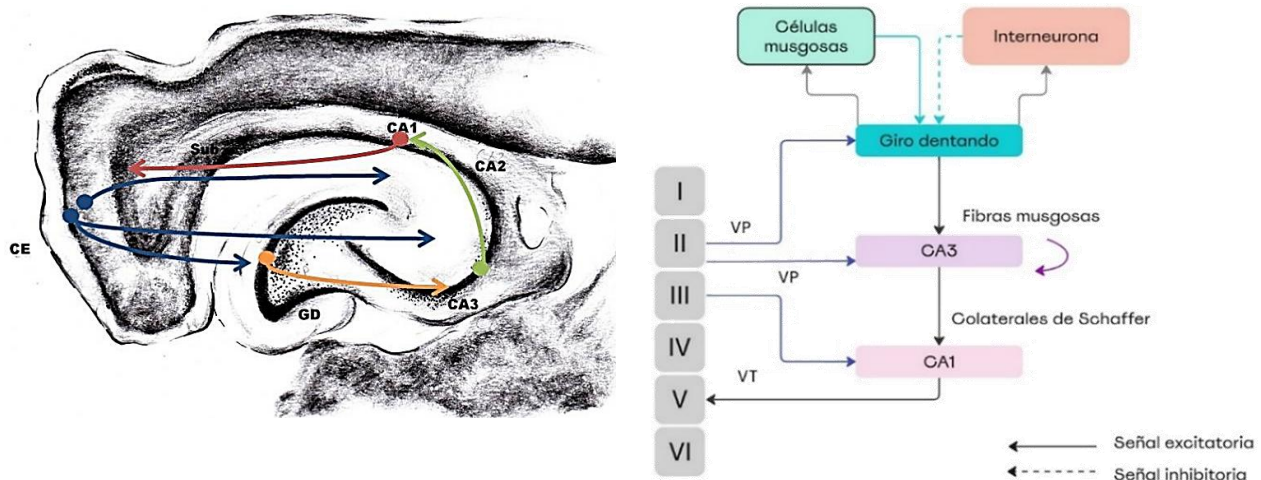


FIGURA 9. Circuito trisináptico del hipocampo. La tradicional vía excitatoria trisináptica es descrita por las flechas (flecha azul: vía perforante; flecha naranja: vía de fibras musgosas; flecha verde: colaterales de Schaffer; flecha roja; proyecciones de CA1 a la CE) (modificado de Olivares *et al.*, 2015).

1.6.2. AFERENCIAS Y EFERENCIAS DEL HIPOCAMPO

Las aferencias al hipocampo provienen de la corteza entorrinal, el área septal, de la corteza prefrontal y de la porción anterior del giro cíngulo; siendo las dos principales la de la corteza entorrinal y del septum medial. Las neuronas del sistema septohipocampal se encuentra en el cerebro basal anterior, específicamente en la región medial septal y la banda diagonal de Broca (BDB). Estas neuronas se proyectan principalmente al hipocampo ipsilateral y son fibras colinérgicas y GABAérgicas (Schwegler *et al.*, 1996; Peterson, 1989; Dutar *et al.*, 1995). Las aferencias colinérgicas llevan impulsos a las células piramidales y a las interneuronas GABAérgicas del hipocampo, produciendo desinhibición de las células piramidales. Las conexiones que provienen de la corteza entorrinal se originan en la capa dos y proyectan hacia CA1 y CA3, estas fibras son pequeñas y glutamatérgicas (Colbert & Levy, 1992; Freud & Antal, 1988; Gulyás *et al.*, 2003).

Respecto a las eferencias del hipocampo, este tiene conectividad con el área septal (fórnix precomisural), núcleo anterior del tálamo, cuerpos mamilares del hipotálamo (fórnix postcomisural), corteza entorrinal, corteza prefrontal, hipocampo contralateral. Específicamente, la mitad dorsal del hipocampo se proyecta hacia una parte dorsal muy pequeña del septum lateral (LS), mientras que las partes progresivamente más ventrales del hipocampo inervan progresivamente partes más grandes del LS más ventralmente. Las áreas adyacentes del hipocampo a lo largo del eje longitudinal inervan regiones distintas pero superpuestas del LS. Por lo tanto, aunque las neuronas LS individuales reciben entradas de un "parche" dorsoventral de células piramidales del hipocampo, la proyección en su conjunto tiene una organización topográficamente graduada. De manera crucial, esta organización topográficamente graduada se conserva en las proyecciones LS al hipotálamo. Esto implica que las diferentes regiones del hipocampo a lo largo del eje longitudinal se mapean topográficamente en diferentes regiones hipotalámicas involucradas en el comportamiento, el sistema endocrino y las respuestas autonómicas asociadas a conductas específicas orientadas a objetivos. La conectividad del hipocampo con el núcleo accumbens (NAc) y la amígdala también sigue un patrón topográfico,

con porciones hipocampales progresivamente más ventrales que se proyectan a partes progresivamente más mediales de ambas estructuras subcorticales (Strange *et al.*, 2014).

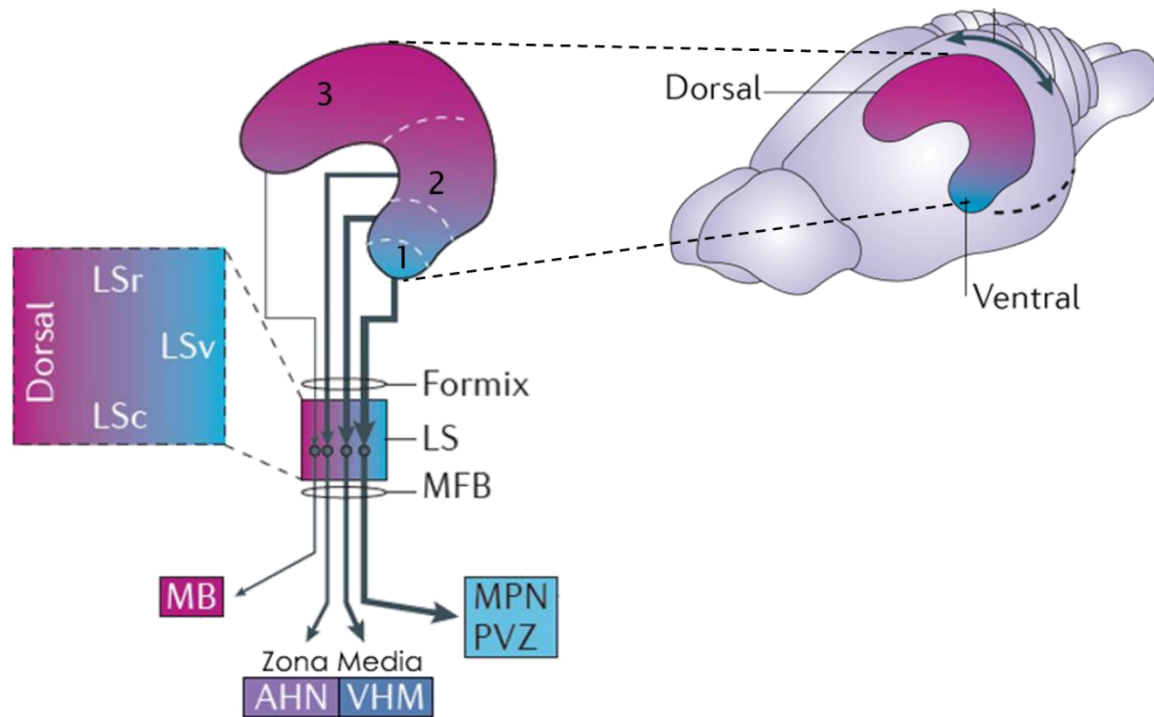


FIGURA 10. Eferencias del hipocampo al septum lateral (LS) y al hipotálamo. El LS se puede dividir en partes rostral (LSr), caudal (LSc) y ventral (LSv). La punta más ventral del subículo CA1 (azul) se proyecta hacia el LSv, que se proyecta hacia el núcleo preóptico medial (NMP) y la zona periventricular hipotálamica (ZPV). Más partes dorsales del campo CA1-subículo se proyectan hacia el LSr, que a su vez se proyecta hacia los núcleos de la zona media hipotálamica, incluyendo el núcleo hipotálamico anterior (AHN) y el núcleo hipotálamico ventromedial (VMH). El subículo dorsal envía una pequeña proyección al LS dorsal, que se transmite al cuerpo mamar (MB). El grosor de las flechas indica la densidad de proyección (tomado y modificado de Strange *et al.*, 2014)

1.7. MEMORIA Y APRENDIZAJE.

El aprendizaje y la memoria son procesos cognitivos vitales para los organismos. El aprendizaje se considera como una modificación estructural y funcional del sistema nervioso que resulta en el cambio de la conducta a lo largo del tiempo, permitiendo que las especies puedan adaptarse a su medio ambiente. La información de experiencias pasadas es recuperada, aprendida, retenida o almacenada en los circuitos neuronales que forman el cerebro y constituye lo que denominamos memoria (Bjorklund, Schneider y Hernández Blasi, 2003; Crowder, 1976; Roediger & McDermott, 2013). Actualmente, se han descritos tres tipos de memoria en los mamíferos de acuerdo con las

características conductuales y las estructuras cerebrales implicadas, que son: memoria de trabajo, memoria implícita y la explícita (Bjorklund, Schneider y Hernández Blasi, 2003). La memoria de trabajo o cognición ejecutiva aborda la capacidad para utilizar la información retenida para realizar operaciones cognitivas complejas, como el aprendizaje, la comprensión del lenguaje o el razonamiento. Las áreas implicadas en este tipo de memoria son las áreas sensoriales primaria, del lóbulo prefrontal, núcleo dorso-mediano tálamo y neoestriado. Acerca de la memoria implícita o no declarativa, se trata de la memoria de las cosas que hacemos rutinariamente. Se le considera automática, inconsciente y difícil de verbalizar. Su obtención es gradual y se perfecciona con la práctica, este se da a través de la habituación, el aprendizaje perceptivo y motor. En la memoria implícita, los ganglios basales, el cerebelo y la amígdala son reguladores (Squire & Dede, 2015; Ashby *et al.*, 2010; Timmann *et al.*, 2010; Duvarci & Pare, 2014). Por último, la memoria explícita o declarativa puede clasificarse en memoria semántica, es decir el almacenamiento cerebral de los hechos; y memoria episódica, lo que es la información retenida de eventos. Un ejemplo de la memoria declarativa es la memoria espacial, siendo el hipocampo la estructura cerebral quien la regule (Squire & Wixted, 2011; Eichenbaum, 2011; Routtenberg *et al.*, 1980).

Se conoce que los andrógenos, estrógenos y progestágenos están asociados a funciones reproductivas, sin embargo, estos también ejercen un rol importante en procesos de aprendizaje y memoria. Siendo el de más estudiado, el 17 β -estradiol (E₂), que actúa en comportamientos reproductivos, es un potencializador en la plasticidad sináptica excitatorio del hipocampo y protege a las neuronas hipocampales de la excitotoxicidad inducida por fármacos (Gould *et al.*, 1990; Wolley *et al.*, 1997; Li *et al.*, 2004). El E₂ también participa en la regulación del estado de ánimo y funciones cognitivas basadas en el hipocampo, así, el cambio impulsivo en los niveles de estradiol al inicio de la menopausia en mujeres ha sido considerado como un factor de riesgo para el desarrollo de trastornos neurocognitivos, trastornos en el estado de ánimo, depresión y ansiedad. Se conoce que los síntomas mencionados anteriormente también se pueden manifestar durante la menstruación, el embarazo y en el postparto (Bebbington *et al.*, 1998, Jenkins, 1987;

Weissman & Klerman, 1977; Greendale *et al.*, 2011). En el estudio realizado por Dalton en 1959, registraron que casi la mitad de las mujeres ingresadas en hospitales psiquiátricos por una variedad de síntomas fueron admitidas inmediatamente antes o durante la menstruación, y la incidencia de suicidio fue mayor en estos momentos. Algunos estudios, pero no todos, informan una mayor incidencia de suicidio entre las mujeres durante la fase lútea, en comparación con la folicular (Baca-García *et al.*, 2000). Sin embargo, otros estudios en aves, roedores, monos y humanos han encontrado que el E₂ también se produce en el cerebro masculino y femenino, con altas concentraciones en el hipotálamo, amígdala, hipocampo y la corteza cerebral debido a la expresión de la enzima aromatasa que convierte la testosterona en E₂ (Stoffel-Wagner *et al.*, 1999; Hojo *et al.*, 2004). Las ratas con lesiones en el hipocampo han mostrado déficits en la formación y retención de numerosos tipos de recuerdos, incluidos los utilizados para la navegación espacial, el reconocimiento de objetos y recuerdos asociados con el miedo. También, tanto en animales experimentales como humanos con daño hipocampal presentan amnesia retrograda de grado temporal (TGRA), por lo que la memoria reciente y remota se ven afectadas (Kapur & Brooks, 1999; Takehara *et al.*, 2003; Ocampo *et al.*, 2017).

1.7.1. ESPINAS DENDRÍTICAS

Las espinas dendríticas son pequeñas y delgadas prominencias de las dendritas de las neuronas (Ramon & Cajal, 1888), son estructuras postsinápticas que forman parte de las comunicaciones sinápticas ya que son importantes en las sinapsis excitatorias. Su morfología y densidad es crucial en la plasticidad sinápticas y por ende en procesos de memoria y aprendizaje (Gray & Guillery, 196; Nimchinsky *et al.*, 2002).

Las espinas dendríticas están constituidas principalmente de un citoesqueleto de actina, siendo la F-actina la de mayor proporción, mientras que la G-actina contribuye aproximadamente el 12% del contenido total de la actina. La polimerización y despolimerización de la actina determina la motilidad, el crecimiento y la forma de las espinas dendríticas durante el proceso de maduración (Honkura *et al.*, 2008; Blanchoin *et al.*, 2014; Pollard & Cooper, 2009). Poseen receptores NMDA,

AMPA y receptores metabotrópicos en su membrana. Los receptores NMDA se encuentran centralmente dentro de la región de densidad postsináptica (PSD) y regulan la dinámica de la elevación intracelular postsináptica del CA^{2+} . Su activación media las alteraciones morfológicas de las espinas dendríticas. Los receptores AMPA se localiza en los bordes de PSD, de ellos dependen el tamaño y la fuerza de los estímulos sinápticos de las espinas dendríticas (Kharazia & Weinberg, 1997; Kasai *et al.*, 2003; Matsuzaki *et al.*, 2001; Matsuzaki *et al.*, 2004). Las GTPasa también son útiles para la morfología de las espinas dendríticas (Ishikawa *et al.*, 2003). Otros componentes que forman parte de la estructura de las espinas dendríticas son el micro ARN, las proteínas de unión al ARNm, los factores de transcripción, matriz extracelular y moléculas de adhesión (Chidambaram *et al.*, 2019).

Las espinas dendríticas se clasifican en 4 tipo de acuerdo con su morfología, que son:

- Espinas de tipo hongo: se caracterizan por tener una cabeza grande y un cuello estrecho.
- Espinas delgadas o largas: poseen una cabeza pequeña con un cuello estrecho.
- Espinas gruesas: no hay ninguna diferenciación entre la cabeza y la unión al eje.
- Espinas bifurcadas: son espinas ramificadas con dos cabezas unidas a un solo cuello estrecho.
- Espinas sin clasificación: aplica para aquellas en las que no hay un patrón morfológico específico.

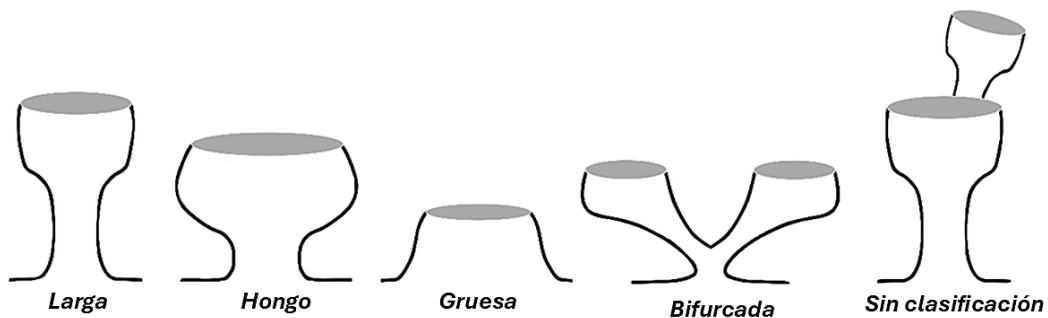


FIGURA 11. Tipos de espinas dendríticas de acuerdo con su morfología (tomado de Bello-medina *et al.*, 2018).

La densidad de las espinas dendríticas está involucrada con la cantidad de conectividad que hay entre las neuronas con espinas dendríticas y los axones de otras neuronas que establecen

contacto sináptico. Sin embargo, las espinas dendríticas asimismo están implicadas en el compartimento del calcio y otros componentes de señalización; debido a esto, también desempeñan un papel en la plasticidad neuronal (Fiala *et al.*, 2002). La forma y el tamaño de las espinas dendríticas se correlacionan con la capacidad de cambio estructural, por lo que las espinas con cabezas grandes, es decir las de tipo hongo, son estables y contribuyen a fuertes conexiones sinápticas, puesto que contienen una mayor área de PSDs resultando en mayor contenido de receptores AMPA (Takumi *et al.*, 1999); mientras que las espinas con cabezas pequeñas como las de tipo delgada, son móviles e inestables relacionándose con conexiones sinápticas débiles o silenciosas dando como consecuencia un flujo excesivo de Ca^{2+} dentro de la región sináptica, detalle que no pasa con las de tipo hongo debido al que el cuello está definido y diferenciado morfológicamente (Kasai *et al.*, 2003; Nimchinsky, Sabatini & Svoboda, 2002). Muchas investigaciones reportan que la morfología dendrítica es dinámica, dichos cambios dependen de la fuerza de los estímulos sinápticos (calabrese *et al.*, 2006). A partir de esta capacidad cambiante de las espinas dendríticas, se han establecidos dos tipos de plasticidad, la plasticidad a corto plazo y plasticidad a largo plazo.

La plasticidad a corto plazo consiste en la fase de formación y desarrollo de nuevas espinas. Estas nuevas espinas tienden a ser largas, muchas veces pueden tardar horas o un solo día para madurar estructural y funcionalmente (Segal, 2005; Chidambaram *et al.*, 2019). En la plasticidad a largo plazo, se da la maduración y estabilización de las espinas recién formadas, hay un aumento en la densidad de las espinas dendríticas y el tamaño de la cabeza de las espinas conjuntamente se presenta una disminución en su longitud media general, el número de filopodios dendríticos y la motilidad de la espina (Dunaevsky *et al.*, 1999). La maduración de las espinas dendríticas continúa hasta que estas hacen contacto sináptico. Los cambios morfológicos de las espinas dendríticas pueden inducir diversas patologías, por ejemplo, las alteraciones en la morfología (disminución del tamaño, cambio de forma, hipertrofia del aparato espinoso, incremento de la densidad del citoplasma, aumento del volumen y formación de sinapsis aberrantes) conduce a un retraso mental, al abuso de alcohol, epilepsia, encefalitis espongiiformes

y enfermedades neurodegenerativas. La disminución en la densidad de las espinas dendríticas provocó Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Huntington, epilepsia, alteraciones metabólicas, trastornos de ansiedad y depresivo (Fiala, Space & Harris, 2002).

1.7.2. POTENCIACIÓN A LARGO PLAZO.

Uno de los mecanismos de la plasticidad neuronal está mediada por la potenciación a largo plazo (LTP por sus siglas en inglés). La LTP, se refiere al incremento prolongado de los estímulos sinápticos que se dan entre una neurona pre y post sináptica induciendo cambios funcionales y morfológicos de las neuronas (calabrese *et al.*,2006; Bear *et al.*,2020). Este fenómeno se presenta en distintas regiones del cerebro, pero ha sido estudiado extensamente en el hipocampo; su funcionalidad depende de la actividad glutamatérgica que a su vez puede clasificarse en dos fases:

- Fase temprana: hay activación de las neuronas pre y post sinápticas que liberan glutamato en la neurona presináptica provocando la apertura de receptores AMPA (ácido γ -amino-3-hidroxi-5-metil-4isoxasol propiónico), que permite la entrada de los iones Na^+ y despolarizando la membrana postsináptica. Cuando el glutamato se une a los receptores de NMDA da paso al ingreso de Ca^{2+} que despolariza la membrana que a su vez desencadena enzimas dependientes de calcio como la proteína cinasa C (PKC) y la proteína quinasa (calmodulina/ CamKII) (Lamprecht & LeDoux, 2004; Lisman, Yasuda & Raghavachari, 2012).
- Fase tardía: El aumento de los iones de calcio dentro de la célula postsináptica activa moléculas cíclicas de monofosfato de adenosina (AMPC), esto a su vez activa varios enzimas como la proteína cinasa A (PKA) promoviendo la translocación de una de sus subunidades catalíticas al interior del núcleo, así mismo, la subunidad de PKA activa a la proteína de unión responsiva a AMPC (CREB) para encender una serie de genes que expresen síntesis de proteínas como la neurotropina que estimula el crecimiento de la

sinapsis y los elementos estructurales, estabilizando una mayor sensibilidad a los neurotransmisores (Figura 12) (Lambroso & Ogren, 2009; Meinkoth *et al.*, 1993).

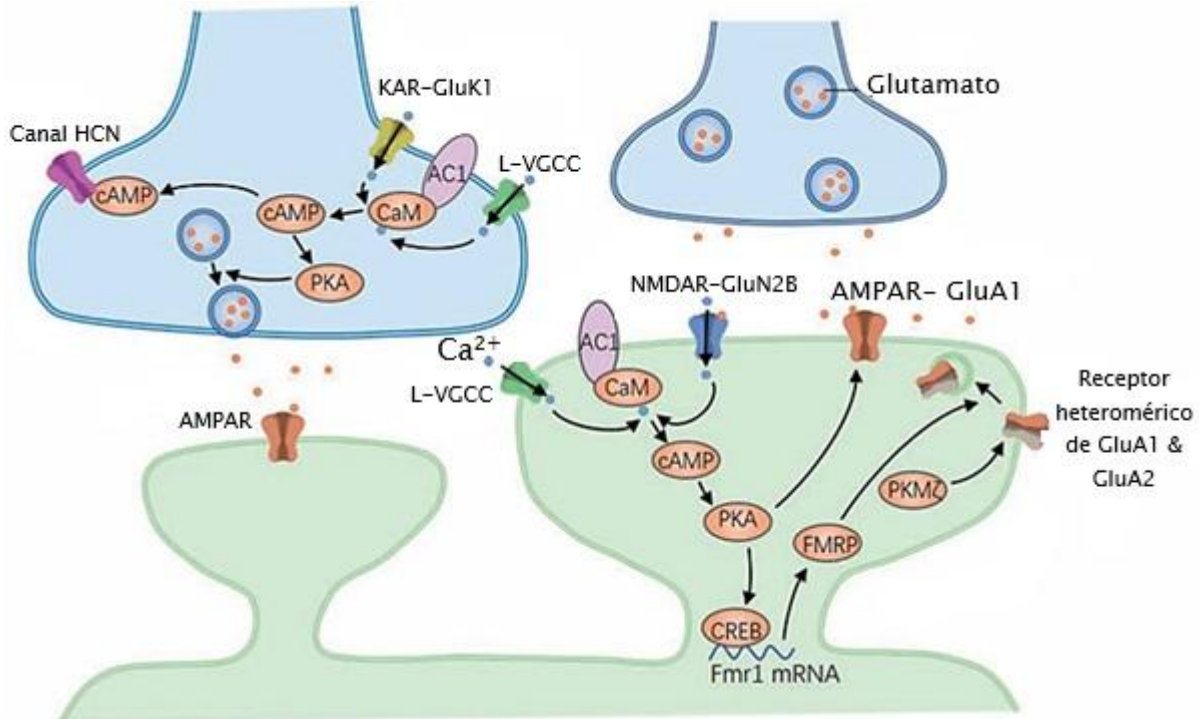


FIGURA 12. Potenciación a largo plazo. La LTP consta de dos fases: fase temprana y fase tardía (tomado y modificado de Chen *et al.*, 2021).

2. ANTECEDENTES

Se tiene establecido que el eje hipotálamo- pituitario-gonadal es el encargado de producir hormonas como la GnRH, LH y FSH, que son indispensables en la fisiología reproductiva en mamíferos. El hipotálamo libera GnRH que actúa sobre la adenohipófisis a través de venas portales liberando y regulando hormonas gonadotropas como LH y FSH (Gómez y Paniagua, 2002). Ambas hormonas repercuten sobre las gónadas, en el ovario, durante la fase preovulatoria la FSH empieza la maduración de los folículos ováricos y a la expulsión de los ovocitos. La LH estimula y produce estrógenos mediante la aromatización de los andrógenos en las células de los gránulos. Los niveles circulantes de progesteronas y estrógenos regulan por retroalimentación la liberación de las gonadotropinas adenohipofisarias (Adashi, 1994). La apertura vaginal, un parámetro clave para determinar el inicio de la pubertad y la maduración sexual en ratas hembras,

se alcanza aproximadamente entre los 35 y 40 días de edad (Lipska *et al.*, 1992; Brady, 2016). Este evento es inducido por un aumento preovulatorio de las gonadotropinas, que provoca una concentración de aproximadamente 50 picogramos/ml de E₂. Este aumento en los niveles hormonales desencadena el inicio del ciclo endocrino del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal (Ojeda y Skinner, 2006; Fernández *et al.*, 2021). Además, el sistema colinérgico, a través de los receptores muscarínicos, juega un papel fundamental en el momento exacto de la pubertad femenina y en el desarrollo del crecimiento ovárico en la rata (Trkulja & Lacković, 1996). Cabe destacar que la apertura vaginal también puede verse influenciada por los cambios endocrinos diurnos que ocurren durante el periodo puberal (Hashizume & Ohashi, 1984; Albrecht, 1984). El ciclo estral que también está bajo control del hipotálamo-hipofisario, cuando estimulan la producción de los estrógenos en los ovarios también estimulan el epitelio vaginal y su queratinización (Gorbman *et al.*, 1983; Hebel & Stromberg, 1986; Martin, 1979). Se ha registrado que los estrógenos, además de su rol en procesos gonadales, es esencial para procesos de memoria y aprendizaje. Gould *et al.*, (1990) realizaron ovariectomía a ratas adultas, esto causo que la densidad de las espinas dendríticas en las neuronas piramidales de CA1 del hipocampo disminuyeran, sin embargo, cuando trataron a las ratas ovariectomizadas con estradiol observaron que este evito la disminución de la densidad de espinas dendríticas en esa misma región del hipocampo, por lo que postularon que los esteroides gonadales son de relevancia para el mantenimiento de las neuronas piramidales de CA1 del hipocampo. Mas adelante Wolley *et al.*, (1990), se dieron a la tarea de determinar si los cambios en la densidad de las espinas dendríticas a lo largo del ciclo estral se dan de manera natural en ratas adultas, ellos observaron que durante la etapa proestro la densidad de las espinas dendríticas en CA1 del hipocampo era mayor a comparación que en la etapa estro, concluyeron que en efecto la densidad de las espinas dendríticas de CA1 del hipocampo dependen de esteroides gonadales respaldando así los hallazgo del estudio anterior. Sin embargo, en 2008, Prange-kiel y colaboradores, expusieron que la densidad de las espinas dendrítica del hipocampo resulta de la regulación cíclica de la síntesis del E₂ en respuesta a la liberación de GnRH desde el hipotálamo, dando a entender que la GnRH sincroniza la síntesis del E₂ gonadal como la del hipocampo. En 1998 Gerendai y

colaboradores, mediante el marcaje transneuronal inyectando el virus de la pseudorrabia en los ovarios de las ratas, dieron a conocer por primera vez que el sistema nervioso central proyectaba a los ovarios de los cuales el núcleo paraventricular, los núcleos parabraquiales, el locus ceruleus, los núcleos reticulares y del rafe, el núcleo del tracto solitario, el núcleo motor dorsal, el núcleo ambiguo y el área postrema están involucrados.

Los estudios anteriores dieron hincapié a que otros autores exploraran la posibilidad de que el hipocampo pudiese participar en procesos reproductivos, tal es el caso de Santos, 2017, en el que al realizar una hemiorquidectomía unilateral izquierda en ratas prepúber desencadena en la etapa adulta un aumento en la arborización dendrítica y en la longitud dendrítica por número de orden de las neuronas piramidales del hipocampo de CA1, además de un aumento en la producción de espermatozoides en el testículo derecho, empero la orquiectomía unilateral derecha desciende notablemente los parámetros mencionados anteriormente; Kandasamy et al., 2019, cautelosamente proponen un ciclo de retroalimentación molecular específico entre el hipotálamo, la hipófisis y el hipocampo (HPH), debido a que GnRH, LH & FSH provenientes del hipotálamo-hipófisis repercuten en la síntesis de estradiol en los neuroblastos facilitando la regulación de la neurogénesis en el hipocampo, al ser este un bucle de retroalimentación significa que estas hormonas no solo afectan al hipocampo, sino que también reciben señales de vuelta para ajustarse. Por esa razón, dan a entender que esta red de comunicación podría ser el responsable de la regulación de nuevas neuronas y la plasticidad del cerebro en adultos, y que al comprenderla se podría proponer un manejo terapéutico neurodegenerativo para los cambios de humor, la depresión y el deterioro cognitivo en la menopausia y los trastornos neurocognitivos; Castillo, 2020, llevó a cabo la administración de Acetil L-carnitina (ALCAR) en diferente dosis a ratas hembras desnervadas sensorialmente con capsaicina. Como resultado, las ratas tratadas con ALCAR tuvieron un adelanto de la apertura vaginal, un incremento de la población de folículos en crecimiento y rescate de folículos atrésicos, un incremento en la arborización y longitud dendrítica en la región CA1 del hipocampo a comparación de las que fueron desnervadas sensorialmente. El autor propone que el aumento de la arborización y longitud dendrítica de CA1

en hipocampo y la mejora en los parámetros morfológicos folicular por el tratamiento con ALCAR pudiese darse por una vía entre el ovario– hipotálamo–hipocampo. Lo expuesto previamente condujo a que el autor realizara cirugías estereotáxicas en el hipocampo dorsal y ventral utilizando ácido iboténico, con los controles correspondientes de solución salina, en ratas de 21 días de edad, con el objetivo de evaluar su impacto en los procesos gonadales y determinar si esta estructura participa en el eje HPG. Los resultados obtenidos fueron reveladores: los animales con lesiones en el hipocampo causadas por el ácido iboténico mostraron un retraso en la pubertad, aciclicidad vaginal, alteraciones en la memoria a corto y largo plazo. Además, se observó un aumento en el número de folículos atrésicos, así como una reducción en las concentraciones séricas de hormonas gonadotropas, estradiol y progesterona, mientras que los niveles de testosterona se incrementaron. Finalmente, se evidenció una disminución en la densidad dendrítica en las áreas CA1, CA3 y GD en comparación con los controles respectivos y el grupo control. Estos resultados permitieron al autor concluir de manera contundente que el hipocampo desempeña un papel crucial en los procesos cognitivos y gonadales (Castillo *et al.*, 2025). La cuestión que ahora surge es cómo las lesiones estereotáxicas en el hipocampo, realizadas a los 21 días de edad en ratas hembras, afectan su desarrollo en la etapa adulta, así como el papel de la plasticidad sináptica en este proceso. Esta es la problemática que abordaremos en la presente investigación.

3. JUSTIFICACIÓN

El eje hipotálamo–pituitario–gonadal (HPG), es de relevancia en la regulación de procesos reproductivos y endocrinos en mamíferos. Las hormonas asociadas a este eje, como la GnRH, LH y FSH además de influir en la maduración sexual y en el ciclo reproductivo, también tienen impacto en estructuras límbicas como el hipocampo, región clave para la memoria, el aprendizaje y la plasticidad neuronal.

Estudios previos han demostrado que los esteroides gonadales, como el estradiol, impactan directamente en la densidad de las espinas dendríticas de las neuronas piramidales del

hipocampo (Gould *et al.*, 1990; Woolley *et al.*, 1990), sugiriendo una interacción dinámica entre las funciones reproductivas y la plasticidad neuronal. Además, investigaciones recientes han revelado un posible bucle de retroalimentación molecular entre el hipotálamo, la hipófisis y el hipocampo (Kandasamyse *et al.*, 2019), lo que subraya la complejidad y relevancia de esta interconexión. Trastornos en el eje HPG están asociados con problemas de infertilidad, en la desregulación del ciclo hormonas y en las alteraciones cognitivas. Investigar aspectos adicionales más allá de las funciones reproductivas del eje HPG y la plasticidad del hipocampo inducida por señales hormonales, podría abrir nuevas perspectivas en tratamientos de desórdenes neuroendocrinos, así mismo desarrollar estrategias para mejorar la salud cognitiva y reproductivas tanto de humanos como de modelos animales. Este enfoque contribuirá a explicar cómo los cambios hormonales asociados al ciclo reproductivo influyen en la función cerebral que tendrá implicaciones prácticas tanto para la biología reproductiva como para la neurología.

4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Las lesiones en el hipocampo ventral y dorsal afectan los procesos reproductivos y cognitivos de la rata adulta?

5. HIPÓTESIS

Las lesiones en el hipocampo ventral y dorsal en las ratas a los 21 días de edad, provoca en la rata hembra adulta retraso en el inicio de la pubertad, reduce la densidad de las espinas dendríticas de las neuronas piramidales del hipocampo y afecta el número de folículos ováricos. Además, los procesos cognitivos y de fertilidad se ven comprometidos en la etapa adulta de la rata. La plasticidad hipocampal regula tanto los procesos gonadales como cognitivos en la rata adulta.

6. OBJETIVOS

6.3. OBJETIVO GENERAL

Determinar la participación del hipocampo en procesos cognitivos y gonadales a través de las lesiones estereotáxicas hipocampales en regiones ventral y dorsal a los 21 días edad y como afectara en la etapa adulta de las ratas hembras.

6.4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar los efectos de la lesión del hipocampo ventral y/o dorsal en el inicio de la pubertad en ratas hembras.
- Medir la memoria a corto y a largo plazo de las ratas lesionadas y el grupo control en la etapa adulta de la rata hembra.
- Registrar la ciclicidad vaginal de las ratas adultas.
- Determinar el porcentaje de la fertilidad de las ratas lesionadas y el grupo control en la etapa adulta.
- Identificar el número y el tipo de folículos ováricos (sanos, atrésicos, preantrales y antrales) de las ratas lesionadas y el grupo control.
- Caracterizar los parámetros morfológicos dendríticos de las neuronas piramidales de las áreas hipocampales de las ratas lesionada y el grupo control.

7. MATERIAL Y MÉTODOS.

7.3. ANIMALES

Los animales para el presente proyecto son ratas hembra de la cepa CII-ZV proporcionadas por el Bioterio Claude Bernard de la BUAP el cual están en condiciones de ambientes de temperatura y humedad controladas, con ciclo de luz oscuridad de 12 horas. Las consideraciones en el manejo de los animales están basadas en la NOM-062-ZOO 1999. Se utilizaron 25 ratas hembra, el cual se les dividió en 5 grupos de 5 individuos. Los grupos fueron clasificados de la siguiente manera: HV (Lesión en el hipocampo ventral con ácido iboténico), HV-SHAM (lesión en el hipocampo

ventral con solución salina), HD (lesión en el hipocampo dorsal con ácido iboténico), HD-SHAM (lesión en el hipocampo dorsal con solución salina) y grupo control (grupo sin ningún tratamiento)

7.4. CIRUGÍA ESTEREOTÁXICA

La cirugía estereotáxica de las ratas se les realizó a los 21 días de nacido. Antes de dicho procedimiento se les administró a los animales ketamina-xilacina con una dosis de 0.20 ml por cada 100 g de peso en vivo por vía intraperitoneal, posteriormente se realizó un corte quirúrgico para descubrir el cráneo, se colocó al animal en el aparato estereotáxico, se hace una trepanación en el cráneo, luego con las coordenadas AP - 5,2 mm, ML \pm 5,0 mm, DV -6,5 mm y AP - 4,2 mm, ML \pm 2,6 mm, DV -3,0 mm se hace una administración de 0.3 μ l de ácido iboténico (IBO) y solución salina durante dos minutos con una cánula de acero inoxidable de 23-ga de grosor de acuerdo al tratamiento de cada grupo. Después se realiza la saturación y se les proporciona dosis de antibiótico enrofloxacina y de analgésico ketoprofeno (0.10 ml por cada 100g de p.v. vía subcutánea) y se dejarán recuperar bajo el calor indirecto de una lámpara para recuperar su temperatura. Posteriormente se sigue administrando antibiótico y analgésico durante 3 días. Una vez realizado lo anterior se registra la apertura vaginal y el primer estro vaginal que sucede alrededor de los 35-40 días (Lipska *et al.*, 1992; Brady, 2016). Desde que se observa la apertura vaginal se registra el ciclo estral hasta que los animales cumplen 90 días de edad.

7.5. PRUEBAS CONDUCTUALES

7.5.1. PRUEBAS DE RECONOCIMIENTO DE OBJETOS (NORT)

Se ha observado que los roedores dedican más tiempo a explorar un estímulo novedoso del que habían explorado anteriormente y menos tiempo a explorar el estímulo novedoso por segunda vez (Berlyne, 1950; Vidal *et al.*, 2017). Este rasgo de comportamiento se ha utilizado para estudiar el aprendizaje y la memoria en roedores y, por lo tanto, predice el estado de los procesos cerebrales que subyacen a dicha conducta.

La prueba NORT, es de mucha utilidad para comprender mejor la capacidad de reconocimiento y memoria, se realiza en una caja de 60 cm de ancho por 60 cm de largo con paredes oscuras, con recuadros marcados de 20 cm de ancho por 20 cm de largo cada uno, se realizó en un cuarto oscuro con luz roja de 30 luxes, la prueba se divide en 3 fases (Figura 12):

1. **La primera fase (día 1):** consiste en la habitación, en esta fase se coloca al individuo en la caja (área de estudio), sin un objeto por un periodo de 10 min, pasado este tiempo es regresado a su jaula.

2. **La segunda fase (día 2):** consiste en familiarizar al individuo con dos objetos iguales, el animal se coloca nuevamente en la caja en que se colocan los objetos durante 6 minutos, al término de este tiempo se regresa al individuo a su jaula.

3. Se deja descansar un tiempo (mínimo 2 horas) y se vuelve a la caja al individuo, pero en esta tercera fase (mismo día 2) se le pone uno de los objetos ya familiarizados y un nuevo objeto, de igual modo se deja por 6 min y el individuo es regresado a su jaula.

4. **Día 3:** 24 horas después de la tercera fase, se deberá colocar a la rata en la caja con un objeto familiarizado y con otro objeto novedoso que no se le haya presentado con anterioridad. Los intervalos de tiempo de retención son; después de la fase de familiarización, se retiene al individuo por 2hr y 24hr, estos intervalos de tiempo evalúan la memoria a corto y a largo plazo respectivamente (Reger y cols., 2009).

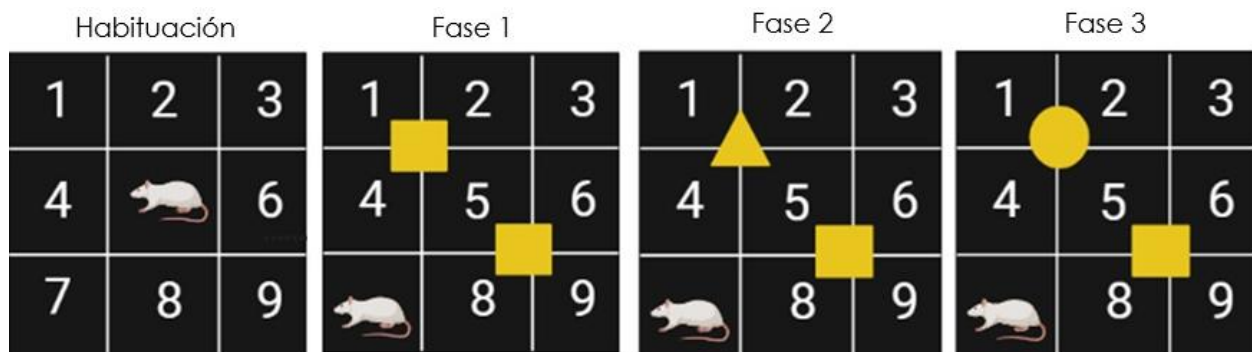


FIGURA 13. Pruebas NORT, consta de una prueba de habituación y 3 fases de reconocimiento de objetos.

Al final de la prueba, se calcula el índice de reconocimiento o discriminación (IR), utilizando la siguiente fórmula que consiste en obtener la relación del tiempo de permanencia del roedor con el objeto novedoso más tiempo de permanencia con el objeto conocido.

$$\text{Índice de discriminación} = \frac{\text{Tiempo de interacción con el objeto novedoso}}{\text{Tiempo de interacción con el objeto novedoso} + \text{Tiempo de interacción con el objeto familiarizado}}$$

7.5.2. ACTIVIDAD LOCOMOTORA

La prueba de actividad locomotora inicio con la colocación del animal en el cuadro 7 de una caja de madera (60 × 60 × 60 cm), previamente higienizada y subdividida en nueve cuadros de 20 × 20 cm cada uno (Figura 13a). Durante 10 minutos, el observador registró el número de cuadros visitados, siguiendo el criterio de considerar una visita únicamente cuando las cuatro patas del animal se encontraban completamente dentro del cuadro (Muñoz-Arenas *et al.*, 2020). Finalizada la prueba, el animal fue retirado y se llevó a cabo un procedimiento de limpieza para evitar posibles influencias en la conducta de los roedores debido a residuos olfativos.

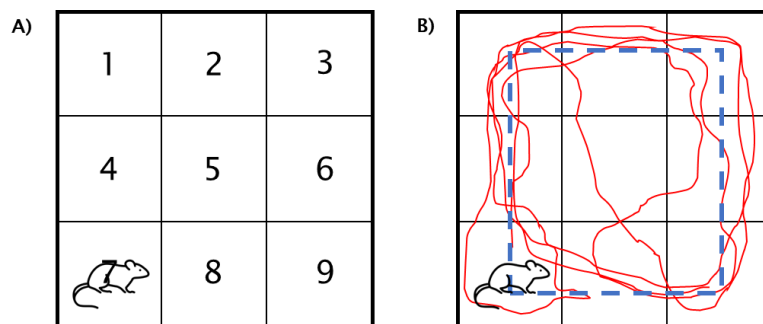


FIGURA 14. Representación de la prueba de actividad locomotora. A) esquema de la caja usada para la prueba de actividad locomotora en campo abierto. B) recorrido de exploración del centro/periferia de la arena (Castillo López, 2023).

7.5.3. PRUEBA DE ANSIEDAD

Para la prueba de ansiedad, se emplearon las mismas grabaciones de cada uno de los sujetos evaluados en la prueba de actividad locomotora, utilizando un campo abierto (60 × 60 × 60 cm) con paredes oscuras, durante un periodo de 10 minutos, según lo descrito previamente. Se registró en video la actividad de cada animal, y posteriormente, los videos obtenidos fueron

analizados para determinar el tiempo de permanencia en el centro y la periferia del área experimental (Figura 13b).

7.6. CICLICIDAD VAGINAL

Para la determinación del ciclo estral en ratas, se obtuvieron muestras vaginales utilizando el total de 25 ratas de 75 días de edad, distribuidas en cinco grupos experimentales: TA, HV-Sham, HV, HD-Sham y HD. En la toma de muestras de células epiteliales vaginales, se coloca a la rata en posiciones de decúbito supino, posteriormente se introdujo un asa bacteriológica estéril en la cavidad vaginal con el fin elaborar frotis. Los frotis resultantes fueron teñidos inmediatamente con hematoxilina-eosina (Marcondes *et al.*, 2002). La determinación de la etapa del ciclo estral se realizó mediante el monitoreo de tres ciclos completos, con una duración de cuatro a cinco días cada uno, tomando una muestra diaria a las 9:00 a. m.

7.7. PRUEBA DE FERTILIDAD

Cuando las ratas cumplen 90 días de edad se les considera como adulta, a partir de ese día se registra que esté en la fase proestro para colocarla con un macho durante 24 horas, posteriormente se debe observar que haya tapón espermático para proseguir a realizar frotis vaginal y examinar la presencia de material espermático, con esto se asegura que la hembra quedó preñada. Después de 21 días (duración de la preñez) se registra la fecha del nacimiento de la camada, se cuenta el número de crías hembras y machos, se sexan y se pesan. Posteriormente se va monitoreando a las crías para registrar la apertura vaginal y cuando sucede esto se hace el frotis vaginal hasta el registrar el primer estro.

7.8. SACRIFICIO

Los animales fueron sacrificados a los 100 días edad, después del destete de sus crías, en el Laboratorio de Histofisiología de la Facultad de Ciencias Biológicas, mediante anestesia con ketamina-xilacina en dosis de 0.20 ml/ 100 g peso vivo i.p. (acatada a la NOM-062-ZOO 1999).

Cuando los animales ya no presentan reflejos se abren quirúrgicamente para extraer sangre del corazón específicamente de la aurícula derecha, la sangre se centrifuga a 3000 revoluciones por 12 minutos y obtenemos el suero para futuras pruebas ELISA. Después se hace una perfusión en el corazón con solución Hartmann por el ventrículo izquierdo del corazón, pero antes se corta la vena cava superior. Por último, se extraen órganos como el cerebro, ambas glándulas adrenales, el ganglio celíaco, los ovarios, oviducto, útero y vagina (todos se pesan en balanza analítica excepto el cerebro). Los órganos se preservan en Bouin (ovarios, oviducto, útero y vagina), en formol al 10% (glándulas adrenales y ganglio celíaco) y en Golgi cox (cerebro).

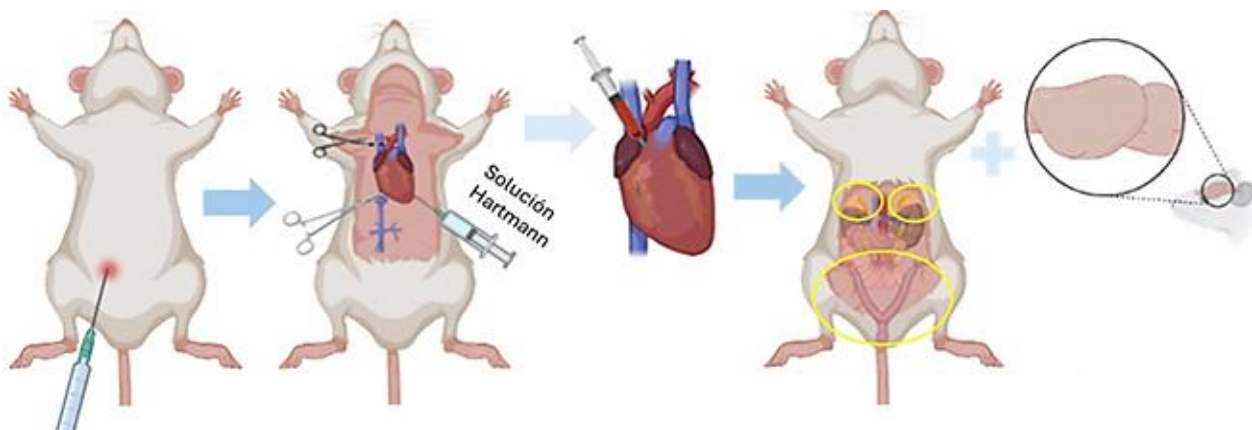


FIGURA 15. Proceso del sacrificio de los animales. El sacrificio inicia con la administración de analgésico vía intraperitoneal posteriormente se extrae sangre de la aurícula derecha del corazón continuamente se realiza la perfusión y se concluye con la extracción de ovarios, oviductos, útero, adrenales y el cerebro (Creado con BioRender.com).

7.9. ANÁLISIS HISTOLÓGICO DE LOS OVARIOS Y DEL CRECIMIENTO FOLICULAR

Una vez sacrificados los animales se fijaron los ovarios en solución Bouin durante 24 h y posteriormente se lavaron con una solución de etanol al 70% v/v. Una vez eliminado el exceso del Bouin, se iniciará la deshidratación con cambios crecientes de alcohol y cloroformo. Pasadas 16 h se realizó un cambio de la solución Bouin por alcohol al 70%, con respectivos lavados sucesivos de alcohol al 70%, con la finalidad de disminuir los excesos de Bouin en los órganos. Posteriormente, los órganos se sometieron a deshidratación, realizando los siguientes cambios crecientes de alcohol y cloroformo.

- 1/2 h de alcohol al 96%
- 1 1/2 h de alcohol al 96%

- 1 1/2 h de alcohol al 100%
- 2 h de alcohol al 100%
- Dejar toda la noche en cloroformo usado
- 2 h de cloroformo puro
- 2 h de parafina líquida primer baño
- Colocar en bloques por 24 h
- Una vez deshidratados, los órganos fueron incluidos en parafina durante 2 h.

Después de ser incluidos los órganos en parafina, se realizaron cortes histológicos de 10 µm de espesor con ayuda de un microtomo manual. Para los cortes ováricos se utilizó la técnica de tinción Hematoxilina–Eosina, que consiste en los siguientes pasos:

- 1.5 min Xilol
- 1.5 min. Xilol
- 1.5 min. –OH 100%
- 1.5 min. –OH 96%
- 1.5 min. Agua destilada
- 1.5 min. Hematoxilina de Meyer
- 5 min. Agua
- 5 min. Agua
- 5 min. Agua
- 15 s. Eosina
- 1.5 min. –OH 96%
- 1.5 min. –OH 100%
- 1.5 min. Carbol–Xilol
- 1.5 min. Xilol

Al término de la tinción, los cortes histológicos fueron cubiertos con resina sintética para su análisis mediante un microscopio óptico. A todos los folículos ováricos primarios, secundarios y terciarios se les analizó los siguientes aspectos: a) folículos totales, b) folículos sanos, c) folículos atrésicos, d) folículos preantrales y) folículos antrales.

7.10. PROTOCOLO DE LA TINCIÓN DE GOLGI–COX

La tinción de Golgi–Cox sirve para analizar la morfología neuronal. Los cerebros obtenidos, se colocan en solución de Golgi–Cox (K₂Cr₂O₇ 170mM, HgCl₂ 200mM, K₂CrO₄200mM), y se almacenan por 30 días en total oscuridad. Transcurrido este tiempo, se reemplaza la solución de

Golgi-Cox por una solución de sacarosa al 30%, para otorgarle flexibilidad al tejido, los cuales deben permanecer en esta solución durante un periodo de 5 días en total oscuridad. Transcurrido este tiempo, se procede a realizar cortes coronales de 200 µm en el vibratomo montando el cerebro en la parte más dorsal a la platina de la cisterna del vibratomo utilizando pegamento de cianoacrilato, sumergiendo completamente el cerebro en solución de sacarosa al 6% para seguir manteniendo viable y flexible el tejido durante el corte. Las rebanadas obtenidas se colocan en laminillas previamente gelatinizadas al 2% y se mantienen en una cámara húmeda hasta la realización del revelado.

Los cerebros destinados al estudio morfológico fueron sometidos a la tinción de Golgi-Cox.

7.10.1. PROTOCOLO DE REVELADO DE LA TINCIÓN GOLGI-COX.

Todo el procedimiento se realizó en total oscuridad.

- 1- Inicialmente se realizó un lavado en agua destilada durante un minuto.
- 2- Se mantuvieron sumergidas las laminillas en hidróxido de amonio durante 30 minutos.
- 3- Se realizó un lavado con agua destilada durante un minuto.
- 4- A continuación, se sumergieron durante 30 minutos en fijador rápido de Kodak para película fotográfica, se utilizó una dilución 1:2 con agua destilada.
- 5- Se lavó con agua destilada durante 1 minuto.
- 6- Se deshidrato con concentraciones crecientes de etanol:
 - ✓ 1 minuto con alcohol al 70%.
 - ✓ 1 minuto con alcohol al 95%.
 - ✓ 5 minutos con alcohol al 100%.
 - ✓ 5 minutos con alcohol al 100%.
 - ✓ 15 minutos en xileno.
- 7- Se montaron las laminillas con cubreobjetos con resina sintética en los cortes ya revelados.
- 8- Fueron conservados en oscuridad para su secado y observación posterior. Análisis de las neuronas contrastadas con la tinción de Golgi-Cox.

7.11. DENSIDAD Y TIPIFICACIÓN DE ESPINAS DENDRÍTICAS

Se localizaron neuronas piramidales de la región CA1, CA3, GD del hipocampo, se usó como guía el atlas estereotáxico de (Paxinos y Watson, 2007). De cada animal por cada región se analizaron 10 segmentos dendríticos (5 por hemisferio), analizándose un total de 750 neuronas. Para cuantificar el número de espinas dendríticas se utilizó un microscopio óptico con una cámara lúcida acoplada (Leica modelo DMSL) y se trazó un segmento de 5.4 cm (1000X), equivalente a 30 μm , de la dendrita más distal de las neuronas (árbol dendrítico basal de las neuronas piramidales), se contaron las espinas en dicho segmento y se obtuvo un promedio del número de espinas por cada 10 μm . De los mismos segmentos dendríticos, se realizó la clasificación morfológica de las espinas dendríticas. Para este propósito, utilizando un magnificador 2X (aumento total: 2000X) se clasificaron cien espinas consecutivas según la forma de su cabeza y su cuello en cinco grupos:

- ✓ Espinas delgadas. Aquellas que presentaban una cabeza pequeña y un cuello largo.
- ✓ Espinas tipo hongo. Aquellas que presentaban una cabeza de gran tamaño y un cuello pequeño.
- ✓ Espinas gruesas. Se caracterizan por ser pequeñas en tamaño, su cuello y cabeza son cortos y menos conspicuos que las espinas hongo.
- ✓ Espinas bifurcadas. Aquellas que se encuentren bifurcadas.
- ✓ Espinas sin clasificación. Aquellas que no entren en las clasificaciones anteriores.

7.12. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Para el análisis estadístico se utilizó el programa GraphPad Prism versión 8.0. Los parámetros de peso ovárico, morfología ovárica, la memoria a largo y a corto plazo fueron analizados mediante un ANOVA de dos vías ($P < 0.05$) seguido de la prueba post hoc de Tukey.

Para el análisis de los parámetros de fertilidad y parámetros de pubertad se empleó un ANOVA de una vía, seguido de la prueba post hoc de Tukey. Asimismo, los parámetros relacionados con la actividad locomotora, la densidad de espinas dendríticas y la tipificación se analizaron mediante un ANOVA de una vía, complementado con la prueba post hoc de Bonferroni. Para

analizar la cantidad de cuerpos lúteos y de quistes ováricos entre los grupos, se aplicó ANOVA de una vía y para comparaciones múltiples la prueba post hoc de Tukey, posteriormente también se empleó la prueba de T pareada para comparar al ovario izquierdo con el derecho.

8. RESULTADOS

Los animales inducidos con ácido iboténico en el hipocampo ventral o dorsal a los 21 días de edad, en su etapa adulta provocó una alteración en los procesos cognitivos y gonadales en donde la neuroplasticidad hipocampal juega un rol importante.

8.1. PESOS OVÁRICOS

De acuerdo con el peso ovárico de cada individuo en relación con su peso corporal, expresado por cada 100 g p.v., los resultados indican que las ratas lesionadas con ácido iboténico en el hipocampo dorsal a los 21 días, en su etapa adulta presentan un aumento de peso en el ovario derecho a comparación con el grupo tratado con solución salina y el grupo control ($F_{(1, 40)} = 78.20$; $p < 0.0001$) (Control: 9.248 ± 3.242 vs HD: 13.91 ± 1.531 vs HD-Sham 9.237 ± 3.475). No se observaron diferencias significativas en los pesos ováricos entre los grupos del ovario izquierdo. Sin embargo, se evidenció una diferencia significativa entre los pesos del ovario izquierdo y derecho de los grupos: control ($p = 0.0009$), HV ($p = 0.0002$) y HD-Sham ($p = 0.0003$) (figura 16).

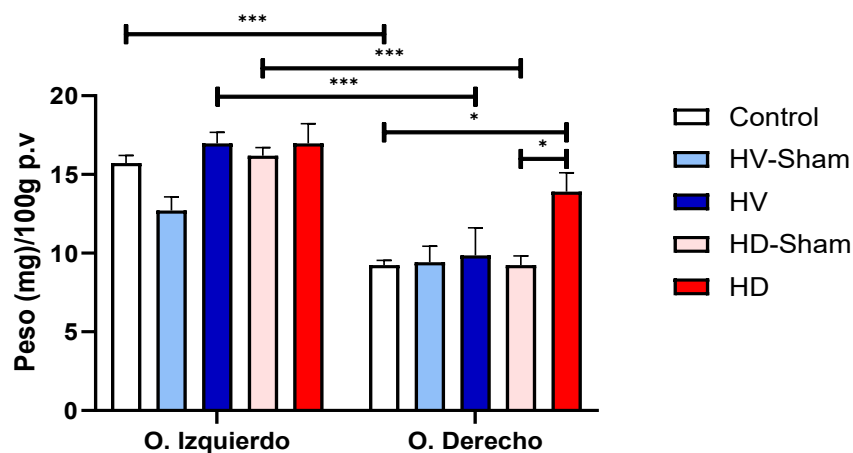


FIGURA 16. Peso ovárico relativo (mg/100 g p.v), en ratas hembras adultas con diferentes tratamientos. Se observa un mayor peso en el ovario derecho del grupo HD. Datos expresados como media \pm SEM con una $n = 5$ ratas por grupo (ANOVA de dos vías, prueba de Tukey para comparaciones múltiples: Control vs HD: $*p = 0.0412$; HD-Sham vs HD: $*p = 0.0404$) (Control HV: Hipocampo ventral, HD: Hipocampo dorsal; Sham: Control).

8.2. CICLICIDAD VAGINAL

De acuerdo con el análisis diario de las células epiteliales vaginales, obtenido a partir de los frotis vaginales realizados en cada rata de los diferentes grupos, se determinó la fase del ciclo estral correspondiente a cada una de ellas, esto durante 3 ciclos. Los animales del grupo control presentaron de dos a tres ciclos completos, mientras que los grupos que fueron tratados con solución salina mostraron un ciclo completo, sin embargo, aquellos que fueron lesionados con ácido iboténico no completaron ningún ciclo (figura 17).

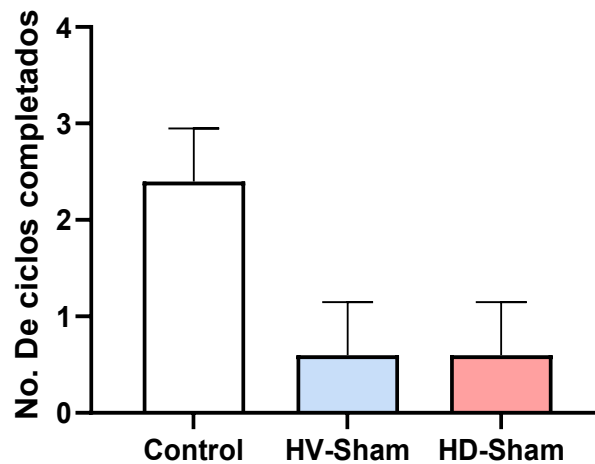


FIGURA 17. Ciclicidad vaginal. Grupos lesionados con ácido iboténico no completaron ningún ciclo estral, grupos tratados con solución salina presentaron un ciclo, el grupo control completaron de 2-3.

8.3. PARÁMETROS DE PUBERTAD

De acuerdo con la ANOVA unifactorial, los grupos a los que se les administro ácido iboténico tanto en el hipocampo dorsal como ventral retrasaron significativamente la apertura vaginal a comparación de los demás grupos (Tratamiento: $F_{(1.335, 5.339)} = 25.76$, $P=0.0025$; Individuos: $F_{(4, 16)} = 1.510$, $P=0.2462$). De igual manera, hubo una demora significativa en la aparición del primer estro en los grupos lesionados con ácido iboténico (Tratamiento: $F_{(1.383, 5.533)} = 26.30$, $P=0.0020$; Individuos: $F_{(4, 16)} = 1.559$, $P=0.2331$). El grupo HV, presento diferencias significativas con el grupo HV-Sham y el grupo control (Control: 37.6 ± 0.9797 Vs Hv: 48 ± 0.5477 Vs HV-Sham: 41.6 ± 1.4696). En el caso de los lesionados en el hipocampo dorsal, se encontraron diferencias significativas entre HD y el grupo control, pero no, con el grupo Sham. (Control: 37.6 ± 0.9797 vs HD: 54.2 ± 1.11355) (figura 18).

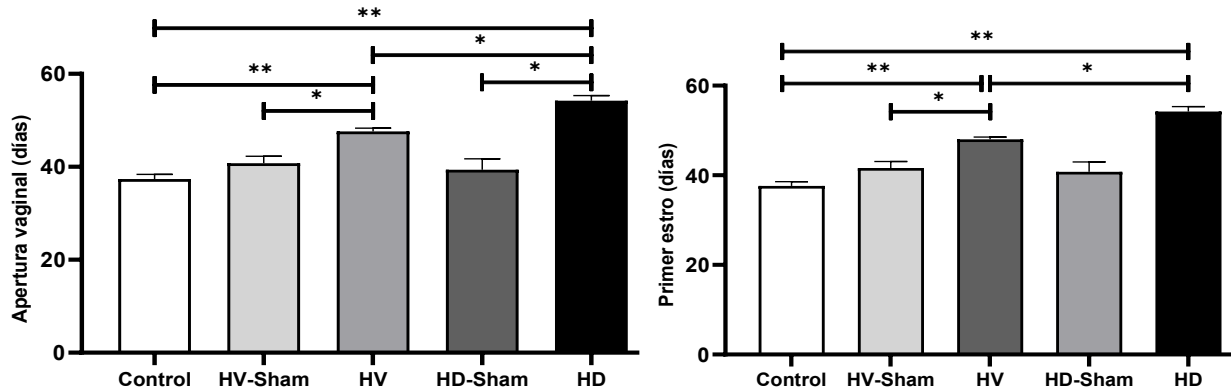


FIGURA 18. Comparación de los parámetros de pubertad entre los grupos tratados. Hay retraso en la apertura vaginal y en el primer estro en los grupos lesionados con ácido iboténico en el hipocampo dorsal y ventral. Se presentan las medias \pm SEM con una $n=5$ ratas por grupo. (ANOVA de una vía, prueba de Tukey para comparaciones múltiples: $**p=0.0058$, $*P=0.0418$. Control, HV: hipocampo ventral; HD: hipocampo dorsal; Sham: controles con solución salina).

8.4. PRUEBAS DE RECONOCIMIENTO DE OBJETOS.

8.4.1. PARÁMETROS DE MEMORIA

Las lesiones en el hipocampo ventral inducidas por ácido iboténico a los 21 días de edad, en la etapa adulta afectan significativamente la memoria a corto plazo y a largo plazo en comparación con su grupo control y el grupo intacto. Además, el daño en el hipocampo ventral con ácido iboténico afecta de manera diferencial la memoria a corto plazo y la memoria a largo plazo (Memoria: $F(2, 36) = 58.19$, $P < 0.0001$, Lesión: $F(2, 36) = 32.38$, $P < 0.0001$, Lesión x Memoria: $F(4, 36) = 8.134$, $P < 0.0001$) (Control: 0.6757 ± 0.08022 vs HV: 0.5427 ± 0.01693 vs HV-Sham: 0.6335 ± 0.06238) (figura 19).

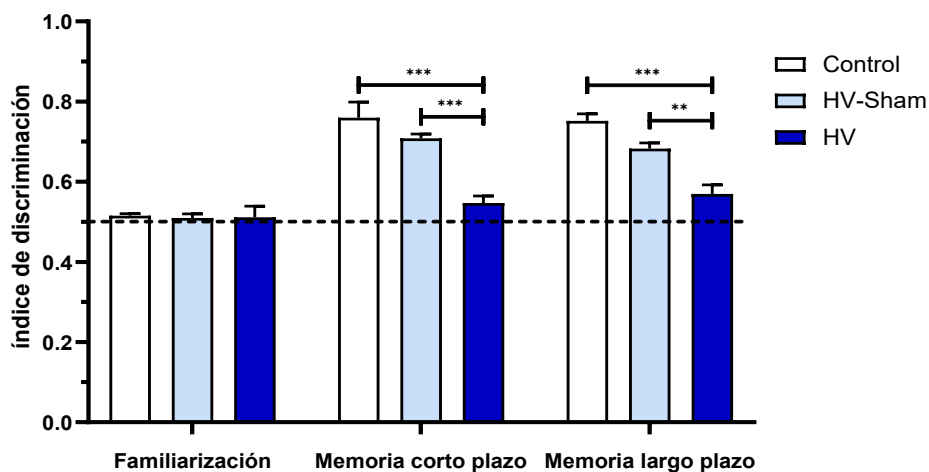


FIGURA 19. Comparación de los parámetros de memoria de los grupos lesionados en el hipocampo ventral. Las lesiones con ácido iboténico afectan significativamente la memoria a largo y a corto plazo a comparación de su grupo control y el grupo intacto. Se presentan las medias \pm SEM con una $n=5$ ratas por grupo (ANOVA de dos vías, prueba de Tukey para comparaciones múltiples: $***p < 0.0001$, $**p = 0.0013$)

Los grupos que recibieron lesiones el hipocampo dorsal con ácido iboténico mostraron un deterioro significativo tanto en la memoria a corto plazo como a largo plazo, en comparación con los grupos tratado con solución salina y el grupo control. Por otro lado, este daño afectó de manera diferencial ambos tipos de memoria (Memoria: $F_{(2, 36)} = 17.74, p < 0.0001$; Lesión: $F_{(2, 36)} = 87.86, p < 0.0001$; Lesión x Memoria: $F_{(4, 36)} = 21.92, p < 0.0001$) (Control: 0.6695 ± 0.07717 vs HD: 0.4375 ± 0.03915 vs HD-Sham: 0.6174 ± 0.05387) (figura 20).

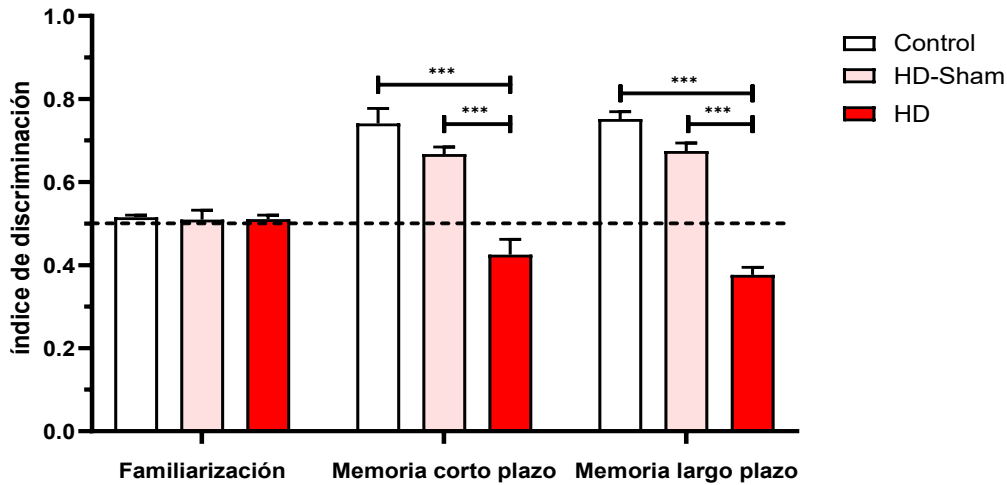


FIGURA 20. Parámetros de memoria de los grupos lesionados en el hipocampo dorsal. Las lesiones con IBO afectan significativamente la memoria a largo y a corto plazo a comparación de HD-Sham y el grupo intacto. Se presentan las medias \pm SEM con una $n=5$ ratas por grupo (ANOVA de dos vías, prueba de Tukey para comparaciones múltiples: $***p < 0.0001$)

8.4.2. ACTIVIDAD LOCOMOTORA

El análisis de varianza evidenció diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados ($F_{(1.528, 6.111)} = 5.912, p = 0.0422$). El grupo lesionado con ácido iboténico en el hipocampo ventral a los 21 días de edad, en su etapa adulta mostraron mayor actividad locomotora en comparación con su grupo control, el grupo intacto y los grupos tratados en el hipocampo dorsal (Control: 2046 ± 199.4 vs HV: 3096 ± 85.42 vs HD: 2272 ± 157.9). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los sujetos individuales dentro de los grupos, lo que sugiere que la variabilidad observada se atribuye principalmente a los efectos del tratamiento (Individual: $F_{(4, 16)} = 0.7005, p = 0.6029$) (figura 21).

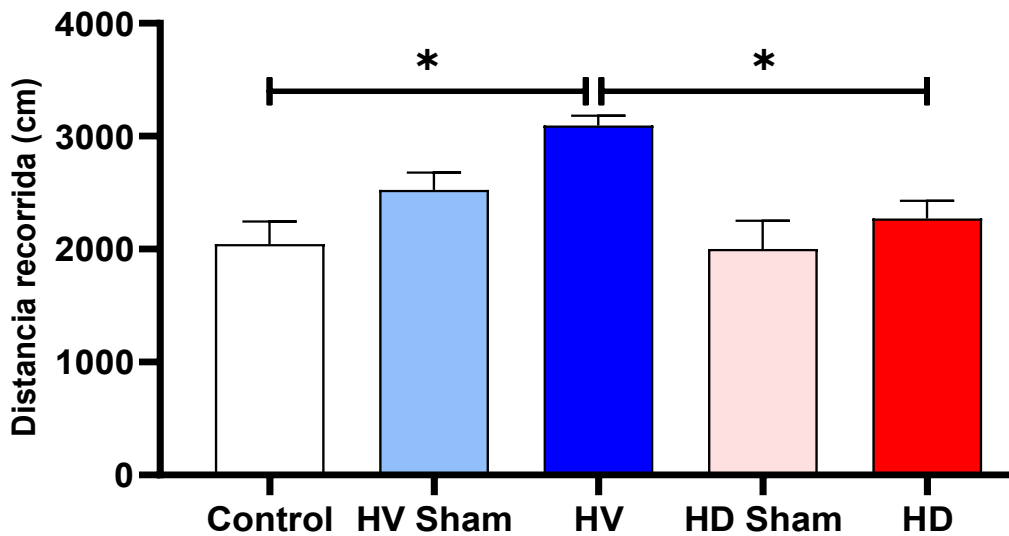


FIGURA 21. La actividad Locomotora es mayor en el grupo lesionado con IBO en el hipocampo ventral. Se presentan las medias \pm SEM con una $n=5$ ratas por grupo (ANOVA de una vía, prueba de Bonferroni para comparaciones múltiples: Control vs HV: $*p=0.0476$, HV vs HD: $*p=0.0285$) (HV: Hipocampo Ventral; HD: Hipocampo, Dorsal; Sham: grupos simulados).

8.4. PRUEBAS DE FERTILIDAD

Para las pruebas de fertilidad se consideró tanto la edad de las ratas como un total de seis intentos de prueba. Los resultados muestran que hay diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados (Tratamiento: $F_{(4, 20)} = 9.179$, $p=0.0002$). Los individuos del grupo lesionados con ácido iboténico en el hipocampo dorsal presentaron un impacto negativo en su fertilidad, se observó que de los cinco animales solo tres lograron preñarse a partir del cuarto intento. En contraste, en el grupo HD-Sham, las cinco ratas quedaron preñadas a partir del segundo intento, mientras que todas las ratas del grupo control quedaron preñadas en el primer intento (HD: 4.2 ± 0.5 vs HD-Sham: 2.0 ± 0.5 vs Control: 1 ± 0.5). Por otro lado, el grupo HV también tuvo un impacto significativo en su fertilidad, aunque todos los animales de este grupo lograron quedar preñados al tercer intento, mostrando una recuperación parcial en comparación con el grupo intacto (HV: 3.0 ± 0.5 vs Control: 1 ± 0.5) (figura 22).

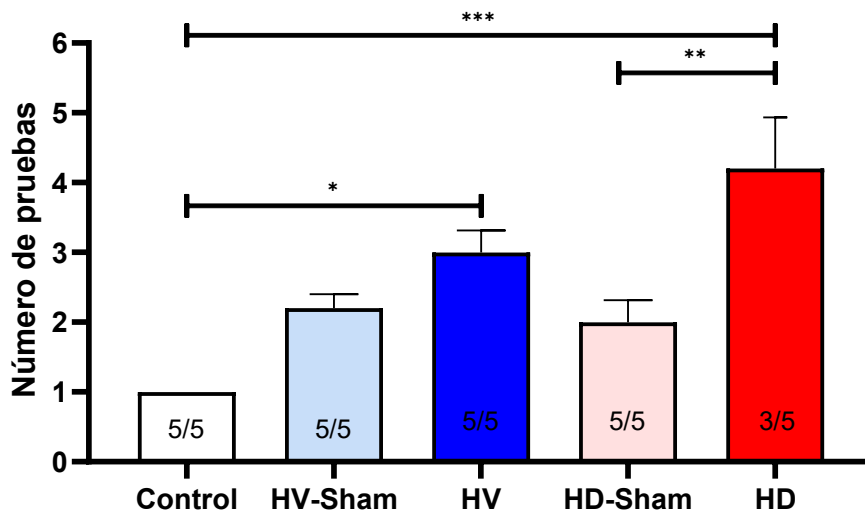


FIGURA 22. Comparación de la fertilidad entre los grupos tratados. Se consideró seis intentos para la prueba correspondiente. Se presentan las medias \pm SEM con una $n=5$ ratas por grupo. * $p=0.0143$, ** $p=0.0065$, *** $p<0.0001$. (Control HV: Hipocampo Ventral; HD: Hipocampo, Dorsal; Sham: Control).

8.6. MORFOLOGIA OVARICA

8.6.1. POBLACION FOLICULAR.

El análisis de varianza de dos vías reveló que la cantidad de población folicular se vio afectada por la lesión, además tal daño varía según el nivel de población folicular, es decir que no afecta a todos los grupos de la misma manera (Población folicular: $F_{(2, 45)} = 239.9$, $P<0.0001$; Lesión: $F_{(4, 45)} = 16.60$, $P<0.0001$; Lesión x población folicular: $F_{(8, 45)} = 26.13$, $P<0.0001$). Se observó que la población folicular disminuyó significativamente en los grupos lesionados con ácido iboténico en el hipocampo dorsal y ventral en relación con sus respectivos grupos controles y el grupo intacto (Control: 993.875 ± 44.900 vs HV: 687.5 ± 31.579 vs HV-Sham: 878.875 ± 57.941 ; Control: 993.875 ± 44.900 vs HD: 673.875 ± 2.383 vs HD-Sham: 850.375 ± 46.768). Además, estos grupos presentaron un menor número de folículos sanos (Control: 772.875 ± 30.109 vs HV: 276.125 ± 23.0464 vs HV-Sham: 699.5 ± 61.336 ; Control: 772.875 ± 30.109 vs HD: 240.5 ± 4.00 vs HD-Sham: 615.25 ± 70.586) y una mayor cantidad de folículos atrésicos (Control: 221 ± 23.903 vs HV: 448.875 ± 15.532 vs HV-Sham: 179.375 ± 23.2901 ; Control: 221 ± 23.903 vs HD: 433.375 ± 4.229 vs HD-sham: 235.125 ± 24.809) (figura 23)

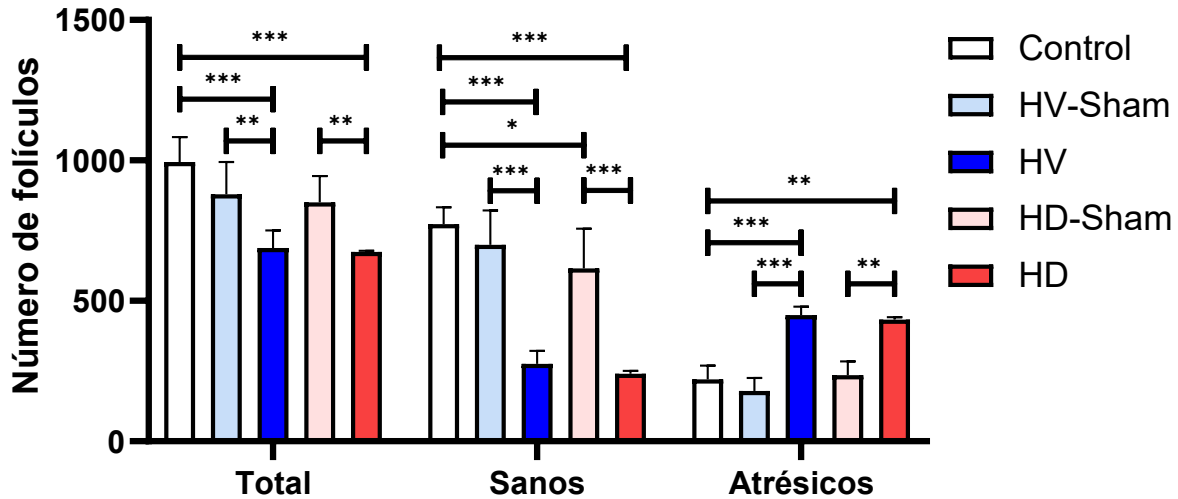


FIGURA 23. Población folicular en la etapa adulta en los grupos sometidos a diferentes tratamientos. Los grupos tratados con ácido iboténico en el hipocampo dorsal y ventral provocó una disminución en la población folicular, además de una disminución en folículos sanos y un aumento en los folículos atrésicos. Se presentan las medias \pm SEM con una $n=4$ ratas por grupo (ANOVA dos vías, prueba de Tukey para comparaciones múltiples: $***p<0.0001$)

8.6.2. CRECIMIENTO FOLICULAR.

Los tratamientos realizados a los 21 días de edad tuvieron un impacto significativamente negativo en el crecimiento folicular en la etapa adulta de las ratas. Sin embargo, la respuesta del crecimiento folicular no es uniforme y varío según el tipo de lesión (Crecimiento folicular: $F(1, 30) = 6.313, p=0.0176$; Lesión: $F(4, 30) = 15.41, p<0.0001$; Interacción: $F(4, 30) = 78.30, p<0.0001$). Los grupos que fueron lesionados con ácido iboténico en el hipocampo dorsal (HD) tanto en el hipocampo ventral (HV), presentaron una cantidad elevada de folículos preantrales a comparación con los grupos con lesión mecánica y el grupo intacto (Control: 411.125 ± 3.907 vs HV: 530.125 ± 8.699 vs HV-Sham: 358.625 ± 24.115 ; Control: 411.125 ± 3.907 vs HD: 536.125 ± 20.501 vs HD-Sham: 320.25 ± 21.845). Además, estos mismos grupos mostraron un menor número de folículos antrales en comparación a los demás grupos (Control: 582.625 ± 45.206 vs HV: 132.375 ± 6.001 vs HV-Sham: 549.875 ± 42.127 ; Control: 582.625 ± 45.206 vs HD: 160.25 ± 11.707 vs HD-Sham: 530 ± 29.095) (figura 24).

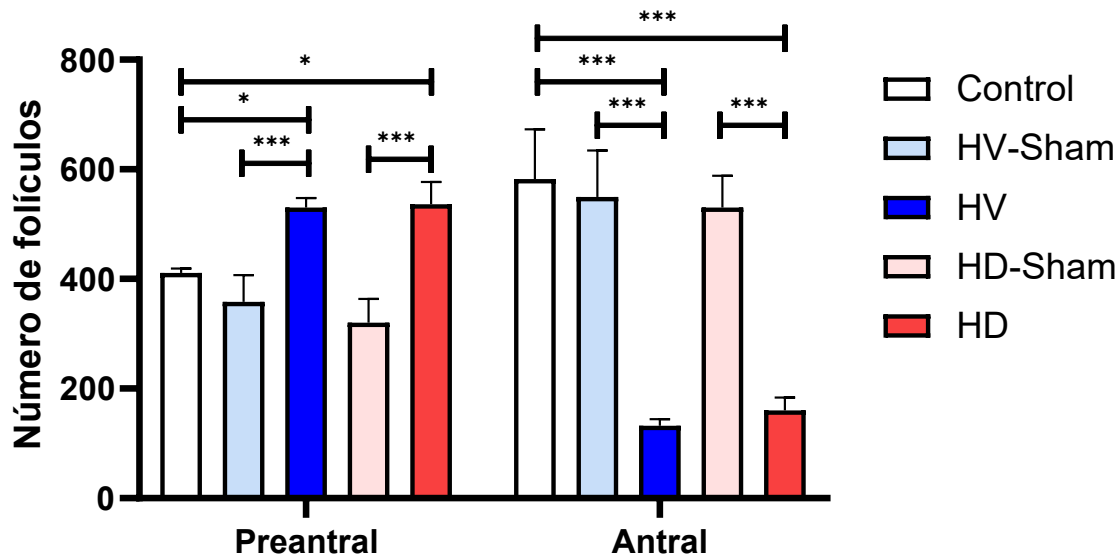


FIGURA 24. Crecimiento folicular de ratas adultas con diferentes tratamientos. Las lesiones realizadas en hipocampo ventral y dorsal provocan un aumento de folículos preantrales y menor cantidad de folículos antrales en relación con sus grupos controles y el grupo intacto. Se presentan las medias \pm SEM con una $n=4$ ratas por grupo (ANOVA dos vías, prueba de Tukey para comparaciones múltiples: $***p<0.0001$)

8.6.3 CUERPOS LÚTEOS.

De acuerdo con la ANOVA unifactorial la cantidad de cuerpos lúteos en el ovario izquierdo presentó diferencias significativas entre los grupos evaluados (Tratamiento: $F_{(4, 15)} = 40.11, P < 0.0001$). Del mismo modo, la cantidad de cuerpos lúteos en el ovario derecho exhibió diferencias significativas entre los grupos analizados (Tratamiento: $F_{(4, 15)} = 30.78, P < 0.0001$). La suma de los cuerpos lúteos de ambos ovarios también mostró diferencias significativas entre los grupos (Tratamiento: $F_{(1.180, 3.539)} = 44.25, P = 0.0038$; Individuos: $F_{(3, 12)} = 0.2500, P = 0.8598$). En la prueba de T pareada, indico diferencias significativas entre el ovario izquierdo y derecho en el grupo control ($t = 7.00, df = 3, P = 0.006$), HV-Sham ($t = 5.196, df = 3, P = 0.0138$), HD-Sham ($t = 3.656, df = 3, p = 0.0354$); Por el contrario, no se encontraron diferencias significativas en los grupos HV ($t = 2.611, df = 3, P = 0.0796$) y HD ($t = 3.00, df = 3, P = 0.0577$).

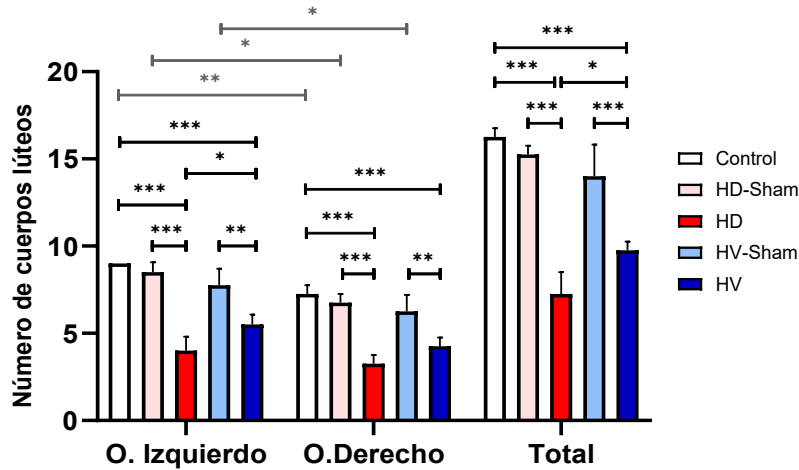


FIGURA 25. Número de cuerpos lúteos del ovario izquierdo y derecho en los diferentes grupos evaluados. Los grupos tratados con IBO presentaron disminución significativa de cuerpo lúteo a comparación de los demás grupos. específicamente el grupo HD, en el ovario izquierdo mostro disminución significativa a comparación de los grupos HD-Sham, HV y el grupo control. Se presentan las medias \pm SEM con una n=4 ratas por grupo (ANOVA unifactorial, prueba de Tukey para comparaciones múltiples: *** $p < 0.0001$, ** $p < 0.0029$. Prueba de T pareada: ** $p < 0.0060$).

8.6.4 QUISTES

El presente trabajo, encontró quistes ováricos en los animales tratados con IBO. Tanto el ovario derecho (ANOVA unifactorial: $F_{(4,15)} = 100.3$, $P < 0.0001$) como el izquierdo (ANOVA unifactorial: $F_{(4,15)} = 43.42$, $P < 0.0001$), presentaron diferencias significativas en el número de quistes entre los grupos analizados. En la prueba T pareada, solamente el grupo HD presento diferencias significativas en el número de quistes entre ambos ovarios ($t = 5.00$, $df = 6$, $P = 0.0025$). Es de recalcar que el grupo control no mostro quistes ováricos.

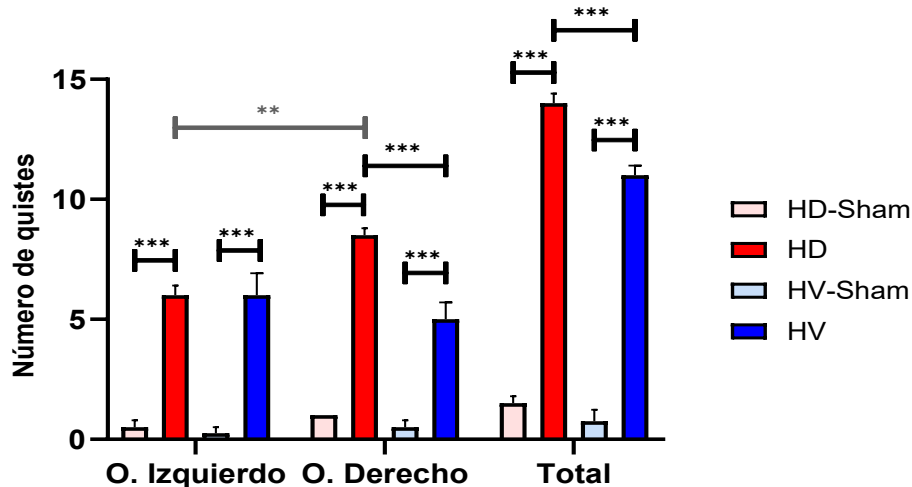


FIGURA 26. Cantidad de quistes en el ovario izquierdo y derecho en los diferentes grupos analizados. Los grupos HD y HV presentaron mayor número de quistes ováricos a comparación de los grupos Sham y el grupo control, siendo el grupo HD el más afectado. Se presentan las medias \pm SEM con una n=4 ratas por grupo (ANOVA unifactorial, prueba de Tukey para comparaciones múltiples: *** $p < 0.0001$. Prueba de T pareada: ** $p < 0.0025$).

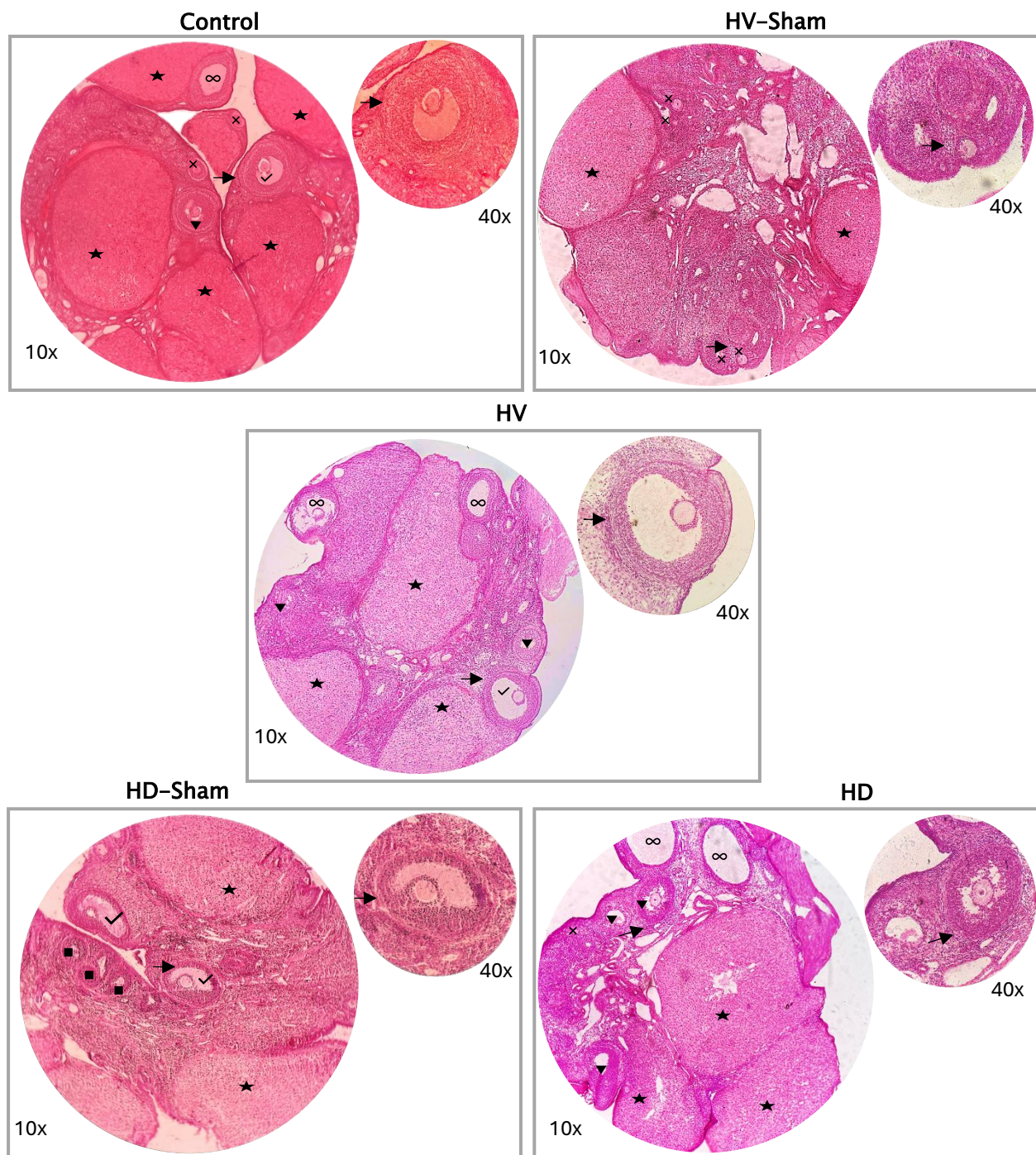


FIGURA 27. Microfotografías de la histología ovárica en ratas adultas pertenecientes a diferentes grupos experimentales con distintos tratamientos. Se observan cortes histológicos representativos de los grupos Control, HV-Sham, HV, HD-Sham y HD, teñidos con hematoxilina-eosina. Las imágenes muestran folículos ováricos en distintas etapas de desarrollo: (x) folículo primordial, (■) folículo primario, (▼) folículo secundario, (✓) folículo terciario, (★) cuerpo lúteo & (∞) Quiste. Las estructuras ováricas señaladas por una flecha (→), es el campo amplificado. Las imágenes son capturadas a 10x y a 40x de aumento.

8.7. EFECTO DE LAS LESIONES SOBRE LA NEUROPLASTICIDAD ESTRUCTURAL EN REGIONES DEL HIPOCAMPO EN RATAS ADULTAS.

De acuerdo con el ANOVA de una vía los tratamientos administrados en el hipocampo ventral de las ratas a los 21 días de edad, en su etapa adulta, mostraron un efecto significativo sobre la densidad de espinas dendríticas en las áreas del hipocampo dorsal (CA1: $F_{(1.060, 4.240)} = 110.1$, $p=0.0003$; CA3: $F_{(1.448, 5.791)} = 280.9$, $p<0.0001$, GD: $F_{(1.353, 5.410)} = 365.3$, $p<0.0001$). En la **región CA1** y en el **GD** (giro dentado), la densidad de las espinas dendríticas en el grupo control y el grupo simulado no evidenciaron diferencias significativas (Control: 20.60 ± 0.2766 vs HV-Sham: 19.67 ± 0.5389), por el contrario, se observó una disminución significativa en este parámetro en el grupo lesionado con ácido iboténico al compararlos con el grupo control y el grupo Sham (HV: 14.07 ± 0.3674 vs HV-Sham: 19.67 ± 0.5389 vs Control: 20.60 ± 0.2766). En la **región CA3**, todas las comparaciones fueron significativas, lo que da a entender que esta región es vulnerable a los tratamientos aplicados (Control: 20.7644 ± 0.0798 vs HV-Sham: 18.731 ± 0.1727 vs HV: 13.57856 ± 0.3045) (figura 26).

Los tratamientos administrados en el hipocampo ventral impactó significativamente la tipificación de espinas dendríticas de tipo hongo y las de tipo gruesa en la **región CA1** ($F_{(1.215, 4.859)} = 567.8$, $p<0.0001$) ($F_{(1.166, 4.665)} = 72.19$, $p=0.0005$), **CA3** ($F_{(1.051, 4.205)} = 546.8$, $p<0.0001$) ($F_{(1.180, 4.721)} = 129.3$, $p=0.0002$) y **GD** ($F_{(1.641, 6.565)} = 416.0$, $p<0.0001$) ($F_{(1.464, 5.855)} = 57.88$, $p=0.0002$) del hipocampo dorsal en ratas adultas. Sin embargo, el efecto del tratamiento varió entre los grupos, y dentro de cada grupo no se observaron diferencias significativas entre los individuos (CA1: $F_{(4, 8)} = 1.232$, $p=0.3702$; CA3: $F_{(4, 8)} = 1.110$, $p=0.4152$; GD: $F_{(4, 8)} = 0.9498$, $p=0.4835$) (CA1: $F_{(4, 8)} = 0.6624$, $p=0.6354$; CA3: $F_{(4, 8)} = 1.061$, $p=0.4350$; GD: $F_{(4, 8)} = 1.488$, $p=0.2924$).

En la tipificación de espinas dendríticas de tipo delgada, en la **región CA1** se observó diferencias significativas entre el grupo HV y el grupo HV-Sham ($p<0.0001$) y entre HV y el grupo control ($p<0.0001$). En la **región CA3** también se observó diferencias significativas entre HV y HV-Sham ($p<0.0001$) y entre el grupo HV y grupo control ($p<0.0001$). Por último, en la **región GD**, el grupo

HV mostro menor número espinas dendríticas de tipo hongo en comparación con el grupo control ($p < 0.0001$) y el grupo HV-Sham ($p = 0.0001$).

En relación con la tipificación de espinas dendríticas de tipo gruesa, en **CA1** se encontraron diferencias significativas con respecto al grupo simulado (0.0019) y el grupo control ($p = 0.0046$). En la **región CA3**, se presentan diferencias significativas entre el grupo HV y el grupo control ($p = 0.0010$), y HV con el grupo simulado ($p = 0.0009$). En el **GD** (giro dentado), HV presento diferencias significativas en comparación con ambos grupos (Control vs. HV: $p = 0.0046$; HV vs. HV-Sham: 0.0025).

En cuanto a la tipificación de espinas dendríticas de tipo delgada, bifurcada y SC (sin clasificar) no hubo diferencias significativas en el hipocampo dorsal entre los grupos con diferentes tratamientos en el hipocampo ventral ($p > 0.05$ en todos los casos).

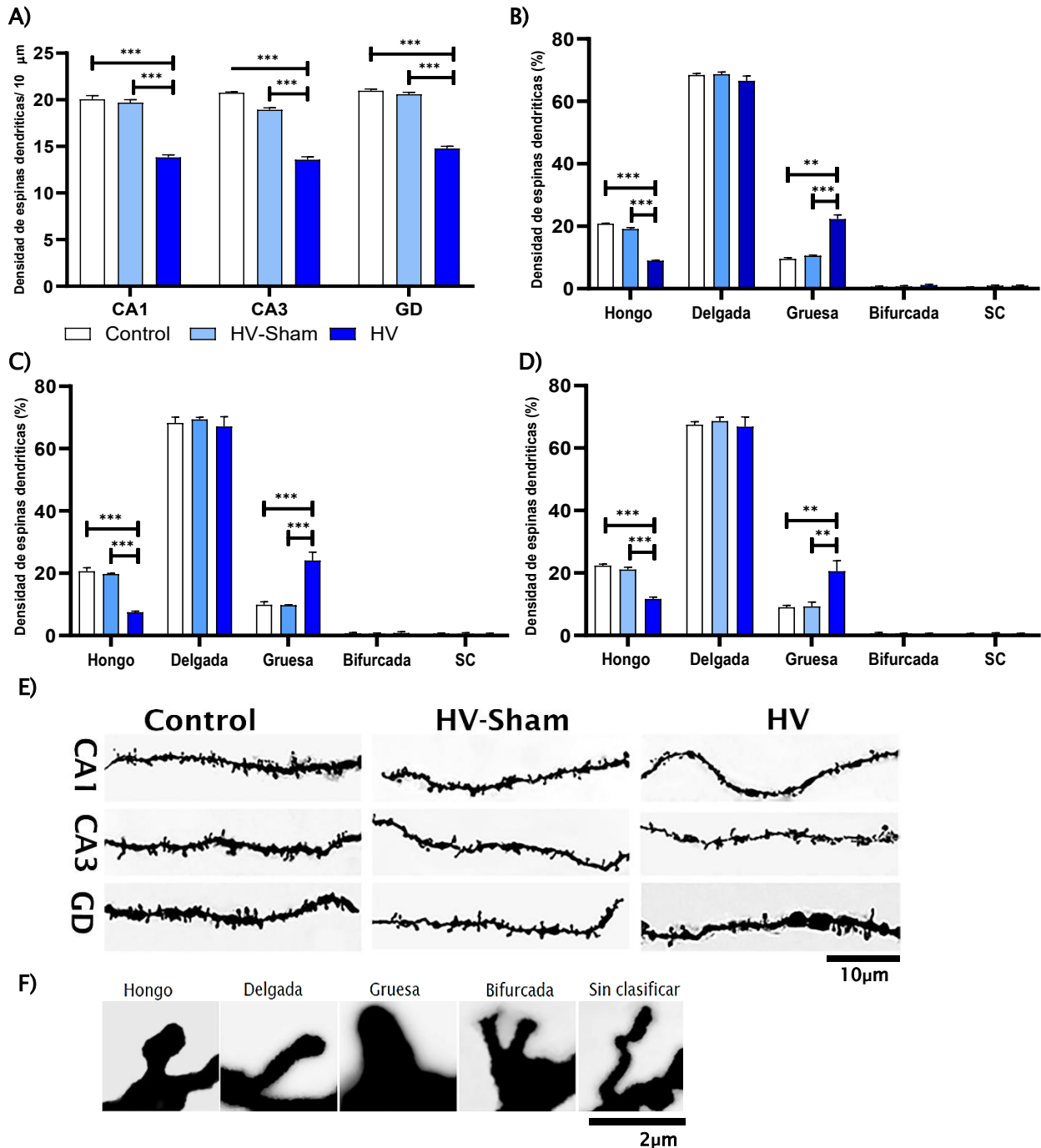


FIGURA 28. Morfología de las espinas dendríticas en las regiones CA1, CA3 y GD del hipocampo dorsal en ratas con diferentes tratamientos. A) El grupo administrado con IBO presentaron una disminución significativa en la densidad de las espinas dendríticas en las tres regiones en comparación de los demás grupos. Además, dicho grupo mostraron una disminución significativa de espinas dendríticas de tipo hongo y un aumento significativo de las de tipo gruesa en CA1 (B), CA3 (C) Y GD (D) a comparación del grupo intacto y sus respectivos controles (Sham). Se presentan las medias \pm SEM con una $n=5$ ratas por grupo (ANOVA unifactorial, prueba de Bonferroni para comparaciones múltiples: $***p<0.0001$). E) Fotomicrografías del segmento más distal del árbol dendrítico basal de las neuronas hipocámpales de las zonas CA1, CA3 y GD, de los grupos control, HV-Sham y HV (barra de escala = 10 μm). F) Fotomicrografías que representan cada tipo de espinas dendríticas (barra de escala = 2 μm).

Los tratamientos administrados en el hipocampo dorsal de las ratas a los 21 días, afectó significativamente la densidad de espinas dendríticas en el hipocampo ventral de las ratas adulta en la región **CA1** ($F_{(1.168, 4.670)} = 523.8, p < 0.0001$), **CA3** ($F_{(1.572, 6.287)} = 225.4, p < 0.0001$) y **GD** ($F_{(1.131, 4.525)} = 367.6, p < 0.0001$). Específicamente, el grupo lesionado con ácido iboténico presentó una reducción significativa en la densidad de espinas dendríticas en comparación con el grupo HD y el grupo control, tanto en **CA1** ($p < 0.0001$) como en **CA3** (control vs HD: $p = 0.0002$; HD-Sham vs HD: 0.0003) y **GD** (Control vs HD: $p < 0.0001$; HD-Sham vs HD: $p = 0.0002$). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos en ninguna de las tres regiones cuando se analizaron individualmente (CA1: $F_{(4, 8)} = 1.292, p = 0.3500$; CA3: $F_{(4, 8)} = 2.548, p = 0.1212$; GD: $F_{(4, 8)} = 0.9827, p = 0.4686$).

Las ratas que fueron sometidas a distintos tratamientos en el hipocampo dorsal a los 21 días de edad, en su etapa adulta indujo cambios significativos en la morfología de las espinas dendríticas del hipocampo ventral. Se observó que el grupo tratado con ácido iboténico, las espinas dendríticas de tipo hongo disminuyeron significativamente en **CA1** ($p < 0.0001$), **CA3** ($p < 0.0001$) y **GD** ($p < 0.0001$). Por el contrario, las espinas dendríticas de tipo gruesa aumentaron significativamente en dichas regiones a comparación con los demás grupos: En **CA1** (Control vs. HD: $p = 0.0031$, HD-Sham vs. HD: $p = 0.0010$) en **CA3** (Control vs. HD: $p = 0.0008$, HD-Sham vs HD: $p = 0.0115$) y **GD** ($p < 0.0001$) (Figura 27).

Las espinas dendríticas de tipo delgada, bifurcada y sin clasificar (SC), no mostraron diferencias significativas en las tres regiones analizadas del hipocampo ventral ($p > 0.05$).

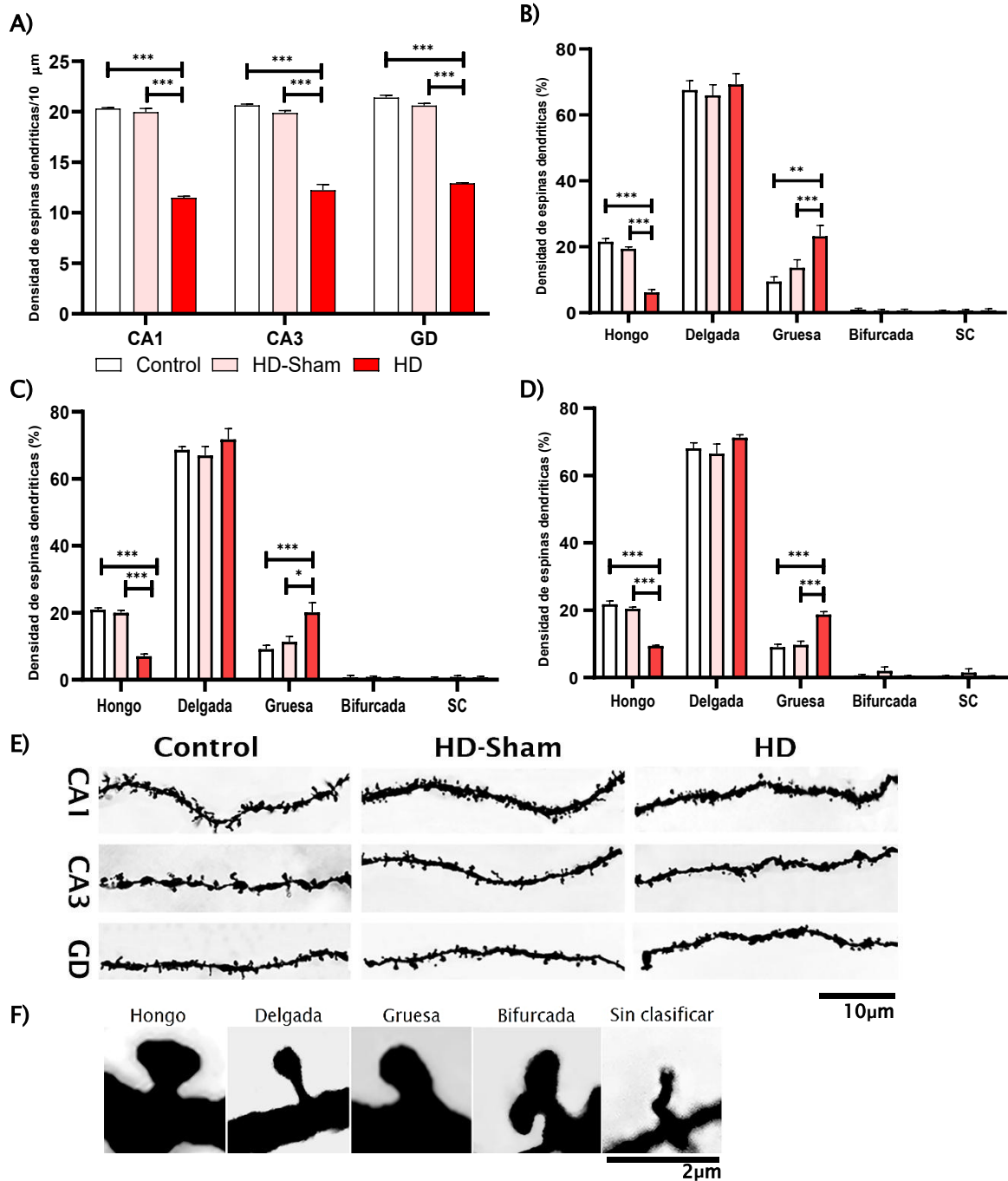


FIGURA 29. Morfología de las espinas dendríticas del hipocampo ventral en ratas con diferentes tratamientos. A) El grupo HD (con administración de IBO) presentó disminución significativa en la densidad de las espinas dendríticas en las tres regiones en comparación con los demás grupos. En la tipificación, el grupo HD mostró una disminución significativa de espinas dendríticas de tipo hongo y un aumento significativo de las de tipo gruesa en CA1 (B), CA3 (C) Y GD (D) a comparación del grupo control y el grupo HD-Sham. Se presentan las medias \pm SEM con una $n=5$ ratas por grupo (ANOVA unifactorial, prueba de Bonferroni para comparaciones múltiples: $***p<0.0001$). E) Fotomicrografías del segmento más distal del árbol dendrítico basal de las neuronas hipocámpicas de las zonas CA1, CA3 y GD, de los grupos control, HD-Sham y HD (barra de escala= 10 μm). F) Fotomicrografías que representan cada tipo de espinas dendríticas (barra de escala = 2 μm).

9. DISCUSION

Los resultados obtenidos en el presente estudio, mostramos que en la rata hembra la lesión del hipocampo ventral o dorsal realizada a los 21 días de edad disminuye el desempeño cognitivo evaluado mediante la memoria a corto y largo plazo. Además, la respuesta ovárica se vio también disminuida, por ejemplo, en el crecimiento folicular, la ovulación y la fertilidad. Lo que refuerza la idea de que el hipocampo participa en la regulación de las funciones reproductivas.

Nuestros hallazgos exponen que las lesiones hipocampales con ácido iboténico provocan retraso en la pubertad y aciclicidad vaginal de las ratas hembra a comparación de sus grupos controles y el grupo intacto. Tales resultados apoyan lo reportado por Castillo *et al.*, 2025. El inicio de la pubertad está determinado por un aumento en la liberación pulsátil de GnRH, que a su vez estimula la producción de estradiol (Ojeda & Terasawa, 2002). Este cambio en la actividad de GnRH está regulado por un balance neuroendocrino que incluye: el incremento de señales excitatorias (glutamato y kisspeptina) y la disminución de influencias inhibitorias (GABA) (Ojeda *et al.*, 2002; Navarro *et al.*, 2011). Estudios anteriores han demostrado que algunas estructuras límbicas contribuyen en la función reproductiva, como Velasco y Taleisnik, en 1971, hallaron que las lesiones de la estría terminal, amígdala e hipocampo, interrumpen la ovulación espontánea e inducida. Los autores demostraron que, aunque la amígdala facilita la liberación de LH, el hipocampo ejerce efectos inhibitorios. Esto sugiere que tales estructuras modulan los mecanismos de secreción de gonadotropinas. Esta modulación podría ser explicada, en parte, por la plasticidad hipocampal dependiente del ciclo estral. En este sentido, es importante tener en cuenta que la densidad de espinas dendríticas en el hipocampo varía como respuesta a la acción del estradiol localmente sintetizado bajo la regulación de GnRH hipotalámico (Wolley *et al.*, 1990; Li *et al.*, 2004; Prange-kiel *et al.*, en 2008).

En cuanto a los pesos ováricos de las ratas adultas, se observó un aumento significativo en el ovario derecho del grupo HD en comparación a los ovarios derechos de los demás grupos, mientras que en los ovarios izquierdos de todos los grupos no hubo diferencias significativas.

Por otra parte, el grupo control absoluto muestra una asimetría en el peso ovárico, siendo mayor el peso del ovario izquierdo, es interesante que independientemente de la lesión con IBO o la falsa, en todos los grupos se mantiene la asimetría ovarica. Estudios realizados Rey y Nance (1986), quienes encontraron que las lesiones del hipocampo con ácido kaínico estimula la hipertrofia compensatoria ovárica (HCO), lo que se refleja en el peso ovárico; y Riss *et al.*, (1963), cuyo estudio describieron que daños bilaterales en el hipocampo provoca un desarrollo anormal de las gónadas tanto en ratas macho como en hembras, sugieren que la conexión entre el SNC y la regulación gonadal juegan un rol crucial en la compensación ovárica frente lesiones cerebrales.

La prueba NORT se basa en el estudio de la conducta exploratoria y la neofilia en ratas, lo que permite evaluar el tiempo que dedica el animal a explorar un objeto novedoso que provee un índice de su memoria de reconocimiento (Ennaceur y Delacour, 1988; Lueptow, 2017; Bevins, 2006). Es decir, cuando un estímulo nuevo afecta los receptores sensoriales de un organismo, se reflejará en la curiosidad del animal; sin embargo, a medida que el estímulo novedoso deja de generar esta activación, la curiosidad disminuye. Un animal sin intervención quirúrgica ni tratamiento pasara más tiempo interactuando con el objeto novedoso en comparación con aquellos objetos previamente familiarizados (Berlyne, 1950).

En las pruebas de reconocimiento de objetos novedosos (NORT), los resultados indican que los animales que fueron lesionados con ácido iboténico tanto en el hipocampo ventral a los 21 días de edad, en su etapa adulta disminuyo la memoria a corto y a largo plazo, a comparación de su grupo control y el grupo intacto. Sin embargo, los índices de discriminación de los tres grupos, medidos a dos horas después de la primera fase de exposición y nuevamente a las 24 horas tras la última exposición, fueron mayores a 0.5. Esto sugiere que, a pesar del deterioro observado, el grupo HV aun fue capaz de diferenciar el objeto novedoso en la edad adulta.

Por otra parte, el grupo con lesión en el hipocampo dorsal inducida por IBO produjo una reducción significativa en la memoria tanto a corto como a largo plazo, en contraste con el grupo HD-Sham y el control. En este caso, el índice de discriminación fue inferior a 0.5 en la fase dos y tres de la

prueba, indicando una alteración en el reconocimiento del objeto novedoso. En cambio, Castillo *et al.*, 2025, dio a conocer que las ratas prepúberes lesionadas con IBO en ambas regiones del hipocampo también tuvieron un deterioro en ambas memorias, en comparación con los grupos Sham y control; siendo sus índices de discriminación menor de 0.5 en la fase dos y tres. No obstante, el grupo HV-Sham evidencio una recuperación parcial de la memoria a corto y a largo plazo ($IR = > 0.5$), mientras que el grupo HD-Sham solo mostró un avance limitado en la memoria a corto plazo ($IR = > 0.5$), pero no en la memoria a largo plazo ($IR = < 0.5$).

Ambos estudios, coinciden con Hauser *et al.*, 2020, quienes mediante el daño citotóxico en CA1, CA3 y GD en ratones, observaron que las regiones que tuvieron mayor daño fueron CA1 y CA3. Los autores hallaron que la combinación de lesiones provoco déficits en la obtención de memoria de referencia espacial y alteraciones en los comportamientos relacionados con la ansiedad. Estos resultados indican que ambas regiones del hipocampo participan en los procesos de memoria, siendo la región dorsal esencial para la memoria de trabajo y procesamiento de información, y la región ventral en las respuestas emocionales, cognición espacial y regulación del estrés (Moser & Moser, 1998; Racine *et al.*, 1977).

El presente estudio da a conocer que solo las ratas adultas a las que se les administro IBO a los 21 días de edad en HV, presentaron hiperactividad locomotora a comparación con los demás grupos. Contrario a Castillo *et al.*, 2025, quien obtuvo que las ratas prepúberes del grupo HD presentaron mayor actividad locomotora. Las porciones más dorsales del hipocampo proyectan a áreas más laterales del Nac (núcleo accumbens), mientras que las porciones ventrales se conectan con áreas más mediales del Nac. El Nac al ser parte de los ganglios basales, también está involucrado en funciones locomotoras, aprendizaje motor, la regulación de las emociones y la cognición (Roseberry *et al.*, 2016; Floresco, 2015; Graybiel y Grafton, 2015). Por lo que, estudios previos señalan que las proyecciones del hipocampo ventral al Nac regula la actividad de las células dopaminérgicas en el área tegmental ventral y la activación sensoriomotora, mientras que las proyecciones del hipocampo ventral a la corteza prefrontal medial (CPFm) modulan la interacción social y la función cognitiva (Donegan *et al.*, 2019).

Lodge *et al.*, 2023, mediante la secuenciación de ARN y técnicas optoelectrofisiológicas demostraron que las interneuronas PV (parvalbúmina) poseen una cantidad equilibrada de sinapsis en las células piramidales del hipocampo que se proyectan hacia la CPFm (corteza prefrontal medial) como hacia el Nac. Por el contrario, las interneuronas SST (somatostatina), prefieren las neuronas hipocampales que proyectan al Nac, lo que indica una influencia más selectiva.

Tomando en cuenta el estudio anterior, es posible que las alteraciones de las interneuronas SST, que son las que más influyen en proyecciones HV-Nac, podrían explicar la hiperactividad locomotora en ratas prepúberes del trabajo de Castillo *et al.*, 2025. Mientras que la modulación equilibrada de las interneuronas PV pudiesen contribuir a los resultados observados en la etapa adulta. Por todo lo anterior, podemos resaltar que la vía HV-Nac es de importancia en la locomoción y que cualquier alteración en la actividad de estas proyecciones puede afectar los patrones locomotores a lo largo del desarrollo. La evidencia plantea la idea que la maduración diferencial de los circuitos hipocampales y la especificidad de las interneuronas que los modulan son clave en la regulación de la locomoción y otras funciones conductuales.

Las pruebas de fertilidad indican que los animales tratados con IBO en el hipocampo ventral o dorsal, causo mayor infertilidad, siendo el grupo HD el más afectado. Lo cual se relaciona con la disminución significativa de cuerpos lúteos y el aumento significativo de quistes ováricos a comparación de los grupos Sham y el grupo control. Es sabido que los cuerpos lúteos secretan progesterona que es vital en el mantenimiento del endometrio para la implantación del embrión y su correcto desarrollo (Devoto *et al.*, 2009). Una reducción en la proporción de ratas preñadas con lesión del HD pudiera explicarse por una disminución de cuerpos lúteos, que puede causar fallos de implantación y abortos espontáneos, ya sea por una preparación inadecuada endometrial, la expulsión del embrión por contracciones uterinas tras la transferencia embrionaria o el rechazo inmunitario debido a un fallo en la reprogramación inducida por progesterona de las células T y NK uterinas (Tesarik *et al.*, 2020), lo que posiblemente ocurrió en los animales pertenecientes a este grupo. Sin embargo, es necesario probar esta hipótesis en

nuestro modelo de estudio. La aparición de múltiples quistes ováricos, observados en este estudio, ha sido asociado con niveles elevados de LH y la disminución de FSH, fenómeno que se encuentra en mujeres con síndrome del ovario poliquístico (Balen *et al.*, 2016). Nuestros datos apoyan los estudios de Mayerhofer *et al.*, (1997) y Dominguez & Riboni (1971), quienes al desnervar el ovario causaron una disminución de la actividad esteroidogénica en el CL, un aumento de los receptores en las células lúteas, un retraso en el desarrollo folicular y la interrupción de la ciclicidad. Y, considerando la aportación de Azziz, 2018, el aumento de los niveles de LH estimula la secreción de andrógenos por parte de las células de la teca, lo que altera el eje hipotálamo–hipófisis–ovario e influye en el desarrollo folicular anormal y la aparición de quistes ováricos, afectando la fertilidad del individuo; coinciden con la aparición de la aciclicidad vaginal y anormalidades en la foliculogénesis de los grupos HD y HV de este proyecto. Se ha explorado poco sobre las funciones que desempeña el hipocampo dorsal en estos u otros procesos. Si bien está muy bien documentado que su función principal es la información espacial y contextual, nuestros resultados apuntan una función adicional, al involucrarse en la regulación de procesos reproductivos. Además, el retraso en el primer estro en este grupo podría indicar un papel temprano del hipocampo dorsal en la organización neuroendocrina de la reproducción

El resultado sobre el crecimiento folicular de las ratas adultas muestra que los grupos con lesión en HV y HD presentaron menor número de folículos ováricos siendo en su mayoría folículos atrésicos. Estos datos coinciden con estudios previos realizados en nuestro laboratorio, en los cuales la falta de integridad de la comunicación neural entre los ovarios y el SNC provocan una disminución en el número total de folículos, decremento en los sanos e incremento de los folículos atrésicos (Castillo López, 2020; Castillo *et al.*, 2025). También se observó que la mayoría de los folículos ováricos eran preantrales, evidentemente, hay un retraso en el crecimiento folicular, en cambio Castillo *et al.*, 2025, observaron una “respuesta compensatoria” en ambos tipos de folículos, independientemente del tipo de lesión hipocampal. Es decir, al haber menor número de folículos ováricos el sistema neuroendócrino aún con lesión hipocampal desarrolló más folículos antrales que preantrales. Por otra parte, en el presente estudio, revela que las

conexiones hipocampales que participan en la regulación de la reproducción aún no están restablecidas. Los resultados de la prueba de fertilidad apoyan esta idea.

Al igual que los estudios realizados por Morán *et al.*, (2000), quienes mostraron que la transección bilateral del nervio ovárico superior (SON) que realizaron en ratas juveniles redujo significativamente el número y tamaño de los folículos. Así mismo Boukia *et al.*, 2015, reportaron que el bloqueo farmacológico de los receptores α -adrenérgicos en ratas hembras, altero los niveles de GnRH, destacando que las vías catecolaminérgicas influyen en la secreción de gonadotropinas, siendo la NA (Noradrenalina) esencial para la liberación de LH en la región preóptica del hipotálamo y DA (Dopamina) para la regulación del FSH. Interesantemente en el área preóptica medial, se encuentran conexiones sinápticas de fibras GABAérgicas (proveniente del núcleo arcuato) con fibras catecolaminérgicas (como la dopamina), lo cual estarán controlando también la liberación de GnRH a través de las neuronas POMC (pro-opiomelanocortina) (Horvath *et al.*, 1992). Todo lo anterior refuerza la idea de que la información neural que reciben los ovarios y que envían al SNC participa en la regulación del desarrollo folicular.

Se plantea que la interrupción del hipocampo tanto ventral y dorsal altero las conexiones que este tiene con el septum lateral, la amígdala e hipotálamo, provocando disfunciones en la secreción de las hormonas gonadotropas y por consecuencia irregularidades en el crecimiento folicular. Tampoco se puede descartar la relación del sistema colinérgico con funciones cognitivas y gonadales, ya que, en animales gonadectomizados hay deterioro en tareas de aprendizaje (Kritzer *et al.*, 2001; Luine *et al.*, 2003). En 2009, Mitsushima y colaboradores, propusieron que el estradiol, permite al hipocampo la liberación de ACh durante la exploración o el aprendizaje, reforzando su rol en procesos cognitivos. Urra *et al.*, 2016, evidenciaron que la inhibición de la acetilcolinesterasa (AChE), mediante la huperzina A, favorece el crecimiento de folículos secundarios y mejora la ovulación. Por lo que Du *et al.*, 2018, plantearon que la disminución en los niveles de ACh podría afectar el crecimiento de los folículos antrales y por consecuencia se reduce la capacidad reproductiva del individuo.

En línea con lo anterior, la atresia folicular puede presentarse en cualquier etapa del desarrollo del folículo, su incidencia es alta cuando los folículos alcanzan la fase antral temprana, momento en el cual son dependientes de FSH para su crecimiento y supervivencia (Chun *et al.*, 1996), en otras palabras, entre niveles más bajos de FSH hay mayor probabilidad de atresia (Persaud y Torchia, 2008). Por lo que, tras las lesiones hipocampales, la observación de menor número de folículos antrales podría explicarse parcialmente por una doble interferencia: una alteración en la liberación de las hormonas gonadotropinas y una menor producción local de ACh en el ovario, favoreciendo así la atresia durante la transición preantral–antral.

Por último, la densidad de las espinas dendríticas se vio disminuida significativamente en los grupos HV y HD a comparación de los grupos Sham y el grupo control. Del mismo modo, los animales tratados con IBO en ambas regiones del hipocampo, se observó un menor número de espinas dendríticas de tipo hongo y una elevación de las de tipo gruesa en las regiones CA1, CA3 y GD en comparación a los demás grupos. Nuestros resultados coinciden parcialmente con los de Castillo *et al.*, 2025, ya que los animales con lesión falsa también mostraron diferencias significativas con el grupo intacto en los parámetros de morfología dendrítica. Se ha reportado que en ratas hembras, el estradiol modula los receptores NMDA, y, por ende, la potenciación a largo plazo (PLP), lo que a su vez favorece el aumento de la densidad de las espinas dendríticas hipocampales y la adquisición de nuevas memorias (Jedlicka *et al.*, 2008, Beltran–Campo *et al.*, 2011; Ethell y Pasquale, 2005). Es de recalcar, que el GnRH hipotalámico regula la síntesis del estradiol hipocampal y ovárico, lo que explica que, durante el proestro, cuando sus niveles séricos están en su pico, la densidad de las espinas dendríticas y su sinapsis aumenta (Wolley *et al.*, 1990; Kretz *et al.*, 2004; Prange—Kiel *et al.*, 2008). Las espinas dendríticas de tipo hongo tienden a ser estables y contribuyen a fuertes conexiones sinápticas (Han *et al.*, 2013). La memoria a largo plazo depende del mantenimiento de la sinapsis de tiempos prolongados, y el rendimiento de la memoria por la densidad de espinas dendríticas de tipo hongo (Hara *et al.*, 2012). Así que, cualquier alteración en la densidad y estructura de las espinas dendríticas distribuidas por todo

el árbol dendrítico puede afectar la transmisión sináptica y la plasticidad neuronal general (Lefebvre *et al.*, 2015).

Los resultados en los parámetros de morfología dendrítica de ambos estudios coinciden con los de Ingram *et al.*, 2022. Reportando que la administración de ácido kaínico en el hipocampo de ratas machos y hembras provocó epilepsia y alteraciones en las transmisiones GABAérgicas y glutamatérgicas. Las neuronas de GnRH en el hipotálamo también se vieron afectadas, lo que desencadenó disrupciones en el eje HPG y en los procesos reproductivos, específicamente el de las ratas hembras.

La discrepancia en los grupos Sham en el presente estudio y en el de Castillo *et al.*, 2025, podría explicarse por la mayor plasticidad neuronal en la adultez, lo que habría permitido que las ratas de los grupos con lesión falsa tuvieran suficiente tiempo para que se llevase a cabo la poda sináptica, homeóstasis y reorganización sináptica (Kolb *et al.*, 2012; McEwen & Morrison, 2013).

Todas estas observaciones, permiten apoyar la idea de que el hipocampo, a través de sus proyecciones hacia centros hipotalámicos, puede modular el eje HPG, influyendo tanto en procesos reproductivos, como en procesos de memoria y aprendizaje, donde su neuroplasticidad tiene un rol fundamental.

10. CONCLUSION

- Las lesiones con ácido iboténico en el hipocampo ventral y dorsal a los 21 días de edad, provocó en la etapa adulta de la rata retraso en los parámetros de la pubertad (apertura vaginal y del primer estro).
- Las lesiones con ácido iboténico en el hipocampo dorsal a los 21 días de edad, aumentó el peso ovárico derecho de la rata hembra adulta.
- Las lesiones con ácido iboténico en el hipocampo ventral y dorsal a los 21 días de edad, indujo aciclicidad vaginal en etapa adulta de la rata hembra.

- Las lesiones con ácido iboténico en el hipocampo ventral y dorsal a los 21 días de edad, causó en la rata adulta un retraso en la memoria a corto y a largo plazo.
- La administración de ácido iboténico en el hipocampo ventral a los 21 días de edad, desencadenó hiperactividad locomotora en la rata hembra adulta.
- La administración de ácido iboténico en el hipocampo dorsal a los 21 días de edad condujo que la rata adulta tuviese menor tasa de preñez, menor cantidad de cuerpos lúteos y mayor número de quistes ováricos.
- Las lesiones del hipocampo ventral y dorsal a los 21 días de edad, aumentó el número de folículos atrésico y antrales en la etapa adulta de la rata hembra.
- La administración de ácido iboténico en el hipocampo ventral y dorsal a los 21 días de edad generó en la rata hembra adulta una disminución de espinas dendríticas de tipo hongo y un aumento de las de tipo gruesa en las neuronas hipocámpales.

11. PERSPECTIVAS

El presente proyecto propone explorar a profundidad el rol del hipocampo en los procesos reproductivos, ya que aún sigue siendo un campo poco estudiado, pero que posee un enorme potencial científico y clínico. Averiguar que vías neurobiológicas de esta estructura límbica están regulando los procesos de memoria y gonadales, puede abrir la puerta al desarrollo de nuevas terapias innovadoras no solo enfocadas en la salud cognitiva, sino también en el bienestar reproductivo, ofreciendo alternativas más accesibles económicamente como medicamento.

12. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Adashi, E. Y. (1994). Endocrinology of the ovary. *Human reproduction (Oxford, England)*, 9(suppl 2), 36-51. https://doi.org/10.1093/humrep/9.suppl_2.36
- Aguado, L. I., & Ojeda, S. R. (1984). Ovarian adrenergic nerves play a role in maintaining preovulatory steroid secretion. *Endocrinology*, 114(5), 1944-1946. <https://doi.org/10.1210/endo-114-5-1944>
- Albrecht, E. D. (1984). Pregnancy in young and aged rats. I. Ovarian progesterone and 20 alpha-hydroxypregn-4-en-3-one formation. *Endocrinology*, 115(4), 1418-1425. <https://doi.org/10.1210/endo-115-4-1418>
- Ashby, F. G., Turner, B. O., & Horvitz, J. C. (2010). Cortical and basal ganglia contributions to habit learning and automaticity. *Trends in Cognitive Sciences*, 14(5), 208-215. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2010.02.001>
- Azziz, R. (2018). Polycystic ovary syndrome. *Obstetrics and Gynecology*, 132(2), 321-336. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000002698>
- Baca-García, E., Díaz-Sastre, C., de Leon, J., & Saiz-Ruiz, J. (2000). The relationship between menstrual cycle phases and suicide attempts. *Psychosomatic Medicine*, 62(1), 50-60. <https://doi.org/10.1097/00006842-200001000-00008>
- Badr, M., & Pelletier, G. (1987). Characterization and autoradiographic localization of LHRH receptors in the rat brain. *Synapse (New York, N.Y.)*, 1(6), 567-571. <https://doi.org/10.1002/syn.890010609>
- Baljet, B., & Drukker, J. (1980). The extrinsic innervation of the pelvic organs in the female rat. *Cells, Tissues, Organs*, 107(3), 241-267. <https://doi.org/10.1159/000145249>
- Balen AH, Morley LC, Misso M, Franks S, Legro RS, Wijeyaratne CN. (2016). The management of anovulatory infertility in women with polycystic ovary syndrome: An analysis of the evidence to support the development of global WHO guidance. *Hum Reprod Update*, 22(6), 687-708.

- Barrios, T. J., Aguirre, C.A., & Aguirre, C. A. (2012). Desarrollo folicular en el ovario. *Rev Sal Quintana Roo*, 5 (19), 12-18. Rev Sal Quintana Roo. <https://www.imbiomed.com.mx/articulo.php?id=82826>
- Bast, T., Zhang, W. N. & Feldon, J. (2001). The ventral hippocampus and fear conditioning in rats. Different anterograde amnesias of fear after tetrodotoxin inactivation and infusion of the GABAA agonist muscimol. *Exp. Brain Res.* 139, 39-52
- Bear, M., Connors, B., & Paradiso, M.A. (2020). *Neuroscience: Exploring the brain. Jones & Bartlett Learning, LLC.*
- Bebbington, P. E., Dunn, G., Jenkins, R., Lewis, G., Brugha, T., Farrell, M., & Meltzer, H. (1998). The influence of age and sex on the prevalence of depressive conditions: report from the National Survey of Psychiatric Morbidity. *Psychological Medicine*, 28(1), 9-19. <https://doi.org/10.1017/s0033291797006077>
- Beeson, A. L. S., & Meitzen, J. (2023). Estrous cycle impacts on dendritic spine plasticity in rat nucleus accumbens core and shell and caudate-putamen. *The Journal of Comparative Neurology*, 531(7), 759-774. <https://doi.org/10.1002/cne.25460>
- Beltrán-Campos, V., Prado-Alcalá, R. A., León-Jacinto, U., Aguilar-Vázquez, A., Quirarte, G. L., Ramírez-Amaya, V., & Díaz-Cintra, S. (2011). Increase of mushroom spine density in CA1 apical dendrites produced by water maze training is prevented by ovariectomy. *Brain Research*, 1369, 119-130. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.10.105>
- Benavides-Piccione, R., Regalado-Reyes, M., Fernaud-Espinosa, I., Kastanauskaite, A., Tapia-González, S., León-Espinosa, G., Rojo, C., Insausti, R., Segev, I., & DeFelipe, J. (2020). Differential structure of hippocampal CA1 pyramidal neurons in the human and mouse. *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)*, 30(2), 730-752. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhz122>
- Benjamin Davoren, J., & Hsueh, A. J. W. (1985). Vasoactive intestinal peptide: A novel stimulator of steroidogenesis by cultured rat granulosa cells. *Biology of Reproduction*, 33(1), 37-52. <https://doi.org/10.1095/biolreprod33.1.37>

- Bjorklund, D. F., Schneider, W., & Hernández Blasi, C. (2003). Memory. In L. Nadel (Ed.), *Encyclopedia of cognitive science* (Vol. 2, pp. 1059–1065). London: Nature Publishing Group
- Berlyne, D. E. (1950). Novelty and curiosity as determinants of exploratory behaviour. *British journal of psychology*, 41(1), 68.
- Bevins, R. A., y Besheer, J. (2006). Object recognition in rats and mice: a one-trial non-matching-to-sample learning task to study 'recognition memory'. *Nature protocols*, 1(3), 1306–1311.
- Blanchoin, L., Boujemaa-Paterski, R., Sykes, C., & Plastino, J. (2014). Actin dynamics, architecture, and mechanics in cell motility. *Physiological Reviews*, 94(1), 235–263. <https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2013>
- Boukia, N. G., Butskhrikidze, M. P., & Svanidze, M. D. (2015). Catecholaminergic regulation of the production of gonadotropins in female rats. *Neurophysiology*, 47(5), 386–390. <https://doi.org/10.1007/s11062-016-9546-1>
- Brady, A. M. (2016). The neonatal ventral hippocampal lesion (NVHL) rodent model of schizophrenia. *Current Protocols in Neuroscience*, 77(1). <https://doi.org/10.1002/cpns.15>
- Bravo-Benitez, J. M., Cruz, Y., Lucio, R. A., Venegas, B., Díaz, A., Morales-Ledesma, L., Domínguez, R., & Morán, C. (2022). Intrinsic innervation of the ovary and its variations in the rat senescence process. *Journal of Molecular Histology*, 53(2), 347–356. <https://doi.org/10.1007/s10735-022-10069-7>
- Calabrese, B., Wilson, M. S., & Halpain, S. (2006). Development and regulation of dendritic spine synapses. *Physiology* (Bethesda, Md.), 21(1), 38–47. <https://doi.org/10.1152/physiol.00042.2005>
- Camacho, U.C., Bastina, C. A., & Giovana, Z. S. (2020). Estudio anatómico del hipocampo como una de las regiones de neurogenesis más relevante. *Revista Científica Ciencia Médica*, 23(2), 221–230.

- Castillo, E. D. M., Quiróz, U., Milflores, L., Reyes, R., & Flores, G. (2025). Lesion of the ventral or dorsal hippocampus in the rat delays puberty, follicular growth and secretion of sex steroid hormones. *Frontiers in Endocrinology*, *16*, 1530692. <https://doi.org/10.3389/fendo.2025.1530692>
- Chen, Q.-Y., Li, X.-H., & Zhuo, M. (2021). NMDA receptors and synaptic plasticity in the anterior cingulate cortex. *Neuropharmacology*, *197(108749)*, 108749. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2021.108749>
- Chidambaram, S. B., Rathipriya, A. G., Bolla, S. R., Bhat, A., Ray, B., Mahalakshmi, A. M., Manivasagam, T., Thenmozhi, A. J., Essa, M. M., Guillemin, G. J., Chandra, R., & Sakharkar, M. K. (2019). Dendritic spines: Revisiting the physiological role. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, *92*, 161–193. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2019.01.005>
- Chun, S. Y., Eisenhauer, K. M., Minami, S., Billig, H., Perlas, E., & Hsueh, A. J. (1996). Hormonal regulation of apoptosis in early antral follicles: follicle-stimulating hormone as a major survival factor. *Endocrinology*, *137(4)*, 1447–1456. <https://doi.org/10.1210/endo.137.4.8625923>
- Colbert, C. M., & Levy, W. B. (1992). Electrophysiological and pharmacological characterization of perforant path synapses in CA1: mediation by glutamate receptors. *Journal of Neurophysiology*, *68(1)*, 1–8. <https://doi.org/10.1152/jn.1992.68.1.1>
- Coleman, P. D., & Riesen, A. H. (1968). Efectos ambientales sobre los campos dendríticos corticales. I. Criar en la oscuridad. *Revista de Anatomía*, *102 (Pt 3)*, 363–374.
- Crowder, R. G. (1976). *Principles of learning and memory*. Hillsdale, NJ: Erlbaum
- Dalton, K. (1959). Menstruation and acute psychiatric illnesses. *BMJ*, *1(5115)*, 148–149. <https://doi.org/10.1136/bmj.1.5115.148>
- DISSEN, A.G. & OJEDA, S.R. (1999). Ovarian innervation. En: *Encyclopedia of Reproduction*. Eds. E.Knobil & J. D. Neill. Academia Press. New York, pp.583– 589.

Devlin, T. M. (2000). *Bioquímica – libro de texto con aplicaciones Clínicas – vol 2*. Reverte Ediciones.

Devoto, L., Fuentes, A., Kohen, P., Céspedes, P., Palomino, A., Pommer, R., Muñoz, A., & Strauss, J. F., 3rd. (2009). The human corpus luteum: life cycle and function in natural cycles. *Fertility and Sterility*, *92*(3), 1067–1079. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.07.1745>

Doganay, M., Simsek, A., Tapisiz, O. L., Mulazimoglu, B. S., Yumusak, N., & Gungor, T. (2010). Superior ovarian nerve (SON) transection leads to stunted follicular maturation: a histomorphologic and morphometric analysis in the rat model. *Fertility and Sterility*, *93*(5), 1711–1714. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.09.026>

Donegan, J. J., Boley, A. M., Yamaguchi, J., Toney, G. M., & Lodge, D. J. (2019). Modulation of extrasynaptic GABAA alpha 5 receptors in the ventral hippocampus normalizes physiological and behavioral deficits in a circuit specific manner. *Nature Communications*, *10*(1), 2819. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10800-1>

Dominguez, R.; Riboni, L. (1971). Failure of ovulation in autografted ovary of hemispayed rat. *Neuroendocrinology*, *7* (3), 164–70.

Du, Y., Bagnjuk, K., Lawson, M. S., Xu, J., & Mayerhofer, A. (2018). Acetylcholine and necroptosis are players in follicular development in primates. *Scientific Reports*, *8*(1), 6166. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24661-z>

Dunaevsky, A., Tashiro, A., Majewska, A., Mason, C., & Yuste, R. (1999). Developmental regulation of spine motility in the mammalian central nervous system. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *96*(23), 13438–13443. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.23.13438>

Dunn, J. D., & Orr, S. E. (1984). Differential plasma corticosterone responses to hippocampal stimulation. *Experimental Brain Research*, *54*(1). <https://doi.org/10.1007/bf00235813>

Dutar, P., Bassant, M.H. and Senut, M.C., et al. (1995) The septohippocampal pathway: structure and function of a central cholinergic system. *Physio-logical Reviews*, *75*, 393–427

- Duvarci, S., & Pare, D. (2014). Amygdala microcircuits controlling learned fear. *Neuron*, *82*(5), 966–980. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.04.042>
- Eichenbaum, H. (2011). Multiple memory systems in the brain. *The Cognitive Neuroscience of Memory: An Introduction*, pp. 219–234. Oxford University Press.
- Ennaceur, A., & Delacour, J. (1988). A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. Behavioral data. *Behavioural brain research*, *31*(1), 47–59.
- Erdő, S. L., Varga, B., & Horváth, E. (1985). Effect of local GABA administration on rat ovarian blood flow and on progesterone and estradiol secretion. *European Journal of Pharmacology*, *111*(3), 397–400. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(85\)90650-8](https://doi.org/10.1016/0014-2999(85)90650-8)
- Erickson, G. F., & Chang, R. J. (2007). Basic biology: *Ovarian anatomy and physiology*. Treatment of the Postmenopausal Woman (pp. 49–66). Elsevier.
- Ethell, I. M., & Pasquale, E. B. (2005). Molecular mechanisms of dendritic spine development and remodeling. *Progress in neurobiology*, *75*(3), 161–205. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2005.02.003>
- Evans, H. M., & Long, J. A. (1922). Characteristic effects upon growth, oestrus and ovulation induced by the intraperitoneal administration of fresh anterior hypophyseal substance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *8*(3), 38–39. <https://doi.org/10.1073/pnas.8.3.38>
- Fiala, J. C., Spacek, J., & Harris, K. M. (2002). Dendritic spine pathology: Cause or consequence of neurological disorders? Brain Research. *Brain Research Reviews*, *39*(1), 29–54. [https://doi.org/10.1016/s0165-0173\(02\)00158-3](https://doi.org/10.1016/s0165-0173(02)00158-3)
- Floresco, S. B. (2015). The nucleus accumbens: an interface between cognition, emotion, and action. *Annual Review of Psychology*, *66*(1), 25–52. <https://doi.org/10.1146/annurev-psych-010213-115159>

- Freeman, M. E. (1994). The neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. En (eds.) E. Knobil y J. Neil. *The Physiology of reproduction* (pp. 2327–2388). Nueva York: Raven Press.
- Freund, T. F., & Antal, M. (1988). GABA-containing neurons in the septum control inhibitory interneurons in the hippocampus. *Nature*, *336*(6195), 170–173. <https://doi.org/10.1038/336170a0>
- Geraque, E. (2020). Un aroma, una respuesta. Fapesp.br. Recuperado el 31 de enero de 2025, de <https://revistapesquisa.fapesp.br/es/un-aroma-una-respuesta/>
- Gerendai, I., Tóth, I. E., Boldogkői, Z., Medveczky, I., & Halász, B. (1998). Neuronal labeling in the rat brain and spinal cord from the ovary using viral transneuronal tracing technique. *Neuroendocrinology*, *68*(4), 244–256. <https://doi.org/10.1159/000054372>
- Gervásio, C. G., Bernuci, M. P., Silva-de-Sá, M. F., & Rosa-e-Silva, A. C. J. de S. (2014). The role of androgen hormones in early follicular development. *ISRN Obstetrics and Gynecology*, *2014*, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2014/818010>
- Giap, B. T., Jong, C. N., Ricker, J. H., Cullen, N. K., & Zafonte, R. D. (2000). The hippocampus: anatomy, pathophysiology, and regenerative capacity. *The Journal of Head Trauma Rehabilitation*, *15*(3), 875–894. <https://doi.org/10.1097/00001199-200006000-00003>
- Goldman, J. M., Murr, A. S., & Cooper, R. L. (2007). The rodent estrous cycle: characterization of vaginal cytology and its utility in toxicological studies. *Birth Defects Research. Part B, Developmental and Reproductive Toxicology*, *80*(2), 84–97. <https://doi.org/10.1002/bdrb.20106>
- Gomez, P. B., Paniagua, V. P., (2002). Fisiología de la reproducción: hormona liberadora de gonadotrofinas. *Rev Fac Med UNAM*, 252–257.
- Gould, E., Woolley, C. S., Frankfurt, M., & McEwen, B. S. (1990). Gonadal steroids regulate dendritic spine density in hippocampal pyramidal cells in adulthood. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *10*(4), 1286–1291. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.10-04-01286.1990>

- Gray, E. G., & Guillery, R. W. (1963). A note on the dendritic spine apparatus. *Journal of Anatomy*, *97*, 389–392.
- Graybiel, A. M., & Grafton, S. T. (2015). The striatum: where skills and habits meet. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, *7*(8), a021691. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021691>
- Greendale, G. A., Derby, C. A., & Maki, P. M. (2011). Perimenopause and cognition. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, *38*(3), 519–535. <https://doi.org/10.1016/j.ogc.2011.05.007>
- Griffin, J. E., & Ojeda, S. R. (2004). *The physiology of reproduction* (3rd ed.). Elsevier.
- Groenewegen, H. J., Vermeulen–Van der Zee, E., te Kortschot, A., & Witter, M. P. (1987). Organization of the projections from the subiculum to the ventral striatum in the rat. A study using anterograde transport of Phaseolus vulgaris leucoagglutinin. *Neuroscience*, *23*(1), 103–120. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(87\)90275-2](https://doi.org/10.1016/0306-4522(87)90275-2)
- Gulyás, A. I., Hájos, N., Katona, I., & Freund, T. F. (2003). Interneurons are the local targets of hippocampal inhibitory cells which project to the medial septum: Targets of hippocampo–septal GABAergic neurons. *The European Journal of Neuroscience*, *17*(9), 1861–1872. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2003.02630.x>
- Han, D., Xu, L., Xiao, H., Prado Schmidt, G. C., & Shi, S. (2013). Dizocilpine reduces head diameter of dendritic spines in the hippocampus of adolescent rats. *Psychiatry Research*, *210*(1), 351–356. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2013.04.025>
- Hara, Y., Rapp, P. R., & Morrison, J. H. (2012). Neuronal and morphological bases of cognitive decline in aged rhesus monkeys. *Age (Dordrecht, Netherlands)*, *34*(5), 1051–1073. <https://doi.org/10.1007/s11357-011-9278-5>
- Hashizume, K., & Ohashi, K. (1984). Timing of sexual receptivity and the release of gonadotrophins during puberty in female rats. *Journal of Reproduction and Fertility*, *72*(1), 87–91. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0720087>

- Hauser, J., Llano López, L. H., Feldon, J., Gargiulo, P. A., & Yee, B. K. (2020). Small lesions of the dorsal or ventral hippocampus subregions are associated with distinct impairments in working memory and reference memory retrieval, and combining them attenuates the acquisition rate of spatial reference memory. *Hippocampus*, *30*(9), 938–957
- Herman, J. P., Figueiredo, H., Mueller, N. K., Ulrich-Lai, Y., Ostrander, M. M., Choi, D. C., & Cullinan, W. E. (2003). Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo–pituitary–adrenocortical responsiveness. *Frontiers in Neuroendocrinology*, *24*(3), 151–180. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2003.07.001>
- Hernández, J. D. O., Aguilar, E. J., y García, F. G. (2015). El hipocampo: neurogénesis y aprendizaje. *Rev Med UV*, 21–28.
- Hirshfield, A. N., & Rees Midgley, A., Jr. (1978). Morphometric analysis of foilicular development in the rat. *Biology of Reproduction*, *19*(3), 597–605. <https://doi.org/10.1095/biolreprod19.3.597>
- Hoffman, B. L., Schorge, J. O., Schaffer, J. I., Halvorson, L. M., Bradshaw, K. D. y Cunningham, F. G. (2009). *Endocrinología de la reproducción*. En: Williams ginecología. (2 ed.). México: McGraw–Hill pp. 400–439.
- Hojo, Y., Hattori, T.–A., Enami, T., Furukawa, A., Suzuki, K., Ishii, H.–T., Mukai, H., Morrison, J. H., Janssen, W. G. M., Kominami, S., Harada, N., Kimoto, T., & Kawato, S. (2004). Adult male rat hippocampus synthesizes estradiol from pregnenolone by cytochromes P45017alpha and P450 aromatase localized in neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *101*(3), 865–870. <https://doi.org/10.1073/pnas.2630225100>
- Hong, K., & Choi, Y. (2018). Role of estrogen and RAS signaling in repeated implantation failure. *BMB Reports*, *51*(5), 225–229. <https://doi.org/10.5483/bmbrep.2018.51.5.045>
- Honkura, N., Matsuzaki, M., Noguchi, J., Ellis–Davies, G. C. R., & Kasai, H. (2008). The subspine organization of actin fibers regulates the structure and plasticity of dendritic spines. *Neuron*, *57*(5), 719–729. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.01.013>

- Horner, K. (2014). The hormonal regulation of the menstrual cycle. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, *41*(1), 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.ogc.2013.11.005>
- Horvath, T. L., Naftolin, F., & Leranth, C. (1992). GABAergic and catecholaminergic innervation of mediobasal hypothalamic beta-endorphin cells projecting to the medial preoptic area. *Neuroscience*, *51*(2), 391–399. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(92\)90323-t](https://doi.org/10.1016/0306-4522(92)90323-t)
- Hu, Z., Li, Y., Fang, M., Wai, M., & Yew, D. (2009). Exogenous progesterone: A potential therapeutic candidate in CNS injury and neurodegeneration. *Current medicinal chemistry*, *16*(11), 1418–1425. <https://doi.org/10.2174/092986709787846523>
- Hu, Z., Yang, Y., Gao, K., Rudd, J. A., & Fang, M. (2016). Ovarian hormones ameliorate memory impairment, cholinergic deficit, neuronal apoptosis and astrogliosis in a rat model of Alzheimer's disease. *Experimental and Therapeutic Medicine*, *11*(1), 89–97. <https://doi.org/10.3892/etm.2015.2868>
- Ingram, R. J., Leverton, L. K., Daniels, V. C., Li, J., & Christian-Hinman, C. A. (2022). Increased GABA transmission to GnRH neurons after intrahippocampal kainic acid injection in mice is sex-specific and associated with estrous cycle disruption. *Neurobiology of Disease*, *172*(105822), 105822. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2022.105822>
- Ishikawa, Y., Katoh, H., & Negishi, M. (2003). A role of Rnd1 GTPase in dendritic spine formation in hippocampal neurons. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *23*(35), 11065–11072. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.23-35-11065.2003>
- Isomura, G., Iwata, S., Chiba, M., & Shimizu, N. (1985). Constitution of the greater splanchnic nerve in the rat. *Anatomischer Anzeiger*, *159*(1–5), 159–171.
- Jara, A. A. (2001). *Hipogonadismos femeninos primarios*. En: *Endocrinología*. (2 ed.). Madrid, España: Médica Panamericana pp. 463–468.
- Jenkins, R. (1987). Sex differences in depression. *British Journal of Hospital Medicine*, *38*(5), 485–486.

- Jennes, L., Brame, B., Adrian Centers, Janovick, J. A., & Michael Conn, P. (1995). Regulation of hippocampal gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptor mRNA and GnRH-stimulated inositol phosphate production by gonadal steroid hormones. *Brain Research. Molecular Brain Research*, *33(1)*, 104–110. [https://doi.org/10.1016/0169-328x\(95\)00113-7](https://doi.org/10.1016/0169-328x(95)00113-7)
- Kandasamy, M., Radhakrishnan, R. K., Poornimai Abirami, G. P., Roshan, S. A., Yesudhas, A., Balamuthu, K., Prahalathan, C., Shanmugaapriya, S., Moorthy, A., Essa, M. M., & Anusuyadevi, M. (2019). Possible existence of hypothalamic-pituitary-hippocampal (HPH) axis: A reciprocal relationship between hippocampal-specific neuroestradiol synthesis and neuroblastosis in aged brains with special reference to menopause and neurocognitive disorders. *Neurochemical Research*, *44(8)*, 1781–1795. <https://doi.org/10.1007/s11064-019-02833-1>
- Kang, S. K., Choi, K. C., Yang, H. S., y Leung, P. C. K. (2003). Potential role of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH)-I and GnRH-II in the ovary and ovarian cancer. *Endocrine-related cancer*, *10(2)*, 169–177.
- Kapur, N., & Brooks, D. J. (1999). Temporally-specific retrograde amnesia in two cases of discrete bilateral hippocampal pathology. *Hippocampus*, *9(3)*, 247–254. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1063\(1999\)9:3<247::AID-HIPO5>3.0.CO;2-W](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1063(1999)9:3<247::AID-HIPO5>3.0.CO;2-W)
- Kasai, H., Matsuzaki, M., Noguchi, J., Yasumatsu, N., & Nakahara, H. (2003). Structure-stability-function relationships of dendritic spines. *Trends in Neurosciences*, *26(7)*, 360–368. [https://doi.org/10.1016/S0166-2236\(03\)00162-0](https://doi.org/10.1016/S0166-2236(03)00162-0)
- Kent GC, Carr RK (2001). *Comparative Anatomy of the Vertebrates*. 9th ed. New York: McGraw-Hill Companies
- Kharazia, V. N., & Weinberg, R. J. (1997). Tangential synaptic distribution of NMDA and AMPA receptors in rat neocortex. *Neuroscience Letters*, *238(1-2)*, 41–44. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(97\)00846-x](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(97)00846-x)
- King, T. R., & Nance, D. M. (1986). Differential effects of neurotoxic lesions on psychoneuroendocrine functions. *Pharmacology, Biochemistry & Behavior*, *24(1)*, 107–114. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(86\)90052-3](https://doi.org/10.1016/0091-3057(86)90052-3)

- Kolb, B., Mychasiuk, R., Muhammad, A., Li, Y., Frost, D. O., & Gibb, R. (2012). *Experience and the developing prefrontal cortex*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(Supplement 2), 17186–17193. <https://doi.org/10.1073/pnas.1121251109>
- Kretz, O., Fester, L., Wehrenberg, U., Zhou, L., Brauckmann, S., Zhao, S., Prange-Kiel, J., Naumann, T., Jarry, H., Frotscher, M., & Rune, G. M. (2004). Hippocampal synapses depend on hippocampal estrogen synthesis. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 24(26), 5913–5921. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5186-03.2004>
- Kritzer, M. F., McLaughlin, P. J., Smirlis, T., & Robinson, J. K. (2001). Gonadectomy impairs T-maze acquisition in adult male rats. *Hormones and Behavior*, 39(2), 167–174. <https://doi.org/10.1006/hbeh.2001.1645>
- Lambroso, P., & Ogren, M. (2009). Learning and memory, part II: Molecular mechanisms of synaptic plasticity. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 48(1), 5–9. <https://doi.org/10.1097/CHI0b013e318190c4b3>
- Lamprecht, R., & LeDoux, J. (2004). Structural plasticity and memory. *Nature Reviews Neuroscience*, 5(1), 45–54. <https://doi.org/10.1038/nrn1301>
- László, Á., Villányi, P., Zsolnai, B., & Erdő, S. L. (1989). Gamma-aminobutyric acid, its related enzymes and receptor-binding sites in the human ovary and Fallopian tube. *Gynecologic and Obstetric Investigation*, 28(2), 94–97. <https://doi.org/10.1159/000293523>
- Lawrence, I. E., Jr, & Burden, H. W. (1980). The origin of the extrinsic adrenergic innervation to the rat ovary. *The Anatomical Record*, 196(1), 51–59. <https://doi.org/10.1002/ar.1091960106>
- Leblanc, P., Crumeyrolle, M., Latouche, J., Jordan, D., Fillion, G., L'Heritier, A., Kordon, C., Dussailant, M., Rostène, W., & Haour, F. (1988). Characterization and distribution of receptors for gonadotropin-releasing hormone in the rat hippocampus. *Neuroendocrinology*, 48(5), 482–488. <https://doi.org/10.1159/000125053>

- Lefebvre, J. L., Sanes, J. R., & Kay, J. N. (2015). Development of dendritic form and function. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, *31*(1), 741–777. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100913-013020>
- Li, C., Brake, W. G., Romeo, R. D., Dunlop, J. C., Gordon, M., Buzescu, R., Magarinos, A. M., Allen, P. B., Greengard, P., Luine, V., & McEwen, B. S. (2004). Estrogen alters hippocampal dendritic spine shape and enhances synaptic protein immunoreactivity and spatial memory in female mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *101*(7), 2185–2190. <https://doi.org/10.1073/pnas.0307313101>
- Li, C., Brake, W. G., Romeo, R. D., Dunlop, J. C., Gordon, M., Buzescu, R., Magarinos, A. M., Allen, P. B., Greengard, P., Luine, V., & McEwen, B. S. (2004). Estrogen alters hippocampal dendritic spine shape and improves synaptic protein immunoreactivity and spatial memory in female mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *101*(7), 2185–2190. <https://doi.org/10.1073/pnas.0307313101>
- Lipska, B. K., Jaskiw, G. E., Chrapusta, S., Karoum, F., & Weinberger, D. R. (1992). Ibotenic acid lesion of the ventral hippocampus differentially affects dopamine and its metabolites in the nucleus accumbens and prefrontal cortex in the rat. *Brain Research*, *585*(1–2), 1–6. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(92\)91184-g](https://doi.org/10.1016/0006-8993(92)91184-g)
- Lisman, J., Yasuda, R., & Raghavachari, S. (2012). Mechanisms of CaMKII action in long-term potentiation. *Nature Reviews Neuroscience*, *13*(3), 169–182. <https://doi.org/10.1038/nrn3192>
- Lodge, D. J., Elam, H. B., Boley, A. M., & Donegan, J. J. (2023). Discrete hippocampal projections are differentially regulated by parvalbumin and somatostatin interneurons. *Nature Communications*, *14*(1), 6653. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-42484-z>
- Lueptow, L. M. (2017). Novel object recognition test for the investigation of learning and memory in mice. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (126), e55718.
- Luine, V. N., Jácome, L. F., & Maclusky, N. J. (2003). Rapid enhancement of visual and familiar memory by estrogen in rats. *Endocrinology*, *144*(7), 2836–2844. <https://doi.org/10.1210/en.2003-0004>

- Jedlicka, P., Vlachos, A., Schwarzacher, S. W., & Deller, T. (2008). A role for the spine apparatus in LTP and spatial learning. *Behavioural Brain Research, 192*(1), 12–19. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.02.033>
- Mar Castillo López, EM. (2020). La acetil L-Carnitina induce plasticidad neuronal en el hipocampo de ratas hembras púberes desnervadas sensorialmente. posible rol del hipocampo en la regulación de la reproducción [Benemérita Universidad Autónoma de Puebla]. <https://repositorioinstitucional.buap.mx/items/14741e69-fe9f-4c4f-833d-d1f6e1089f43>.
- Marcondes, F. K., Bianchi, F. J., & Tanno, A. P. (2002). Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. *Brazilian journal of biology, 62*, 609–614.
- Matsuda, Y., Hirano, H., & Watanabe, Y. (2002). Effects of estrogen on acetylcholine release in frontal cortex of female rats: involvement of serotonergic neuronal systems. *Brain Research, 937*(1–2), 58–65. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(02\)02465-4](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(02)02465-4)
- Matsuzaki, M., Ellis–Davies, G. C., Nemoto, T., Miyashita, Y., Iino, M., & Kasai, H. (2001). Dendritic spine geometry is critical for AMPA receptor expression in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Nature Neuroscience, 4*(11), 1086–1092. <https://doi.org/10.1038/nn736>
- Matsuzaki, Masanori, Honkura, N., Ellis–Davies, G. C. R., & Kasai, H. (2004). Structural basis of long-term potentiation in single dendritic spines. *Nature, 429*(6993), 761–766. <https://doi.org/10.1038/nature02617>.
- Mayerhofer, A.; Dissen, G. A.; Costa, M. E.; Ojeda, S. R. (1997). A role for neurotransmitters in early follicular development: induction of functional follicle–stimulating hormone receptors in newly formed follicles of the rat ovary. *Endocrinology, 138* (8), 3320–9.
- Mayerhofer, A., & Fritz, S. (2002). Ovarian acetylcholine and muscarinic receptors: hints of a novel intrinsic ovarian regulatory system. *Microscopy Research and Technique, 59*(6), 503–508. <https://doi.org/10.1002/jemt.10228>

- Mayerhofer, A., Kunz, L., Krieger, A., Proskocil, B., Spindel, E., Amsterdam, A., Dissen, G. A., Ojeda, S. R., & Wessler, I. (2006). FSH regulates acetylcholine production by ovarian granulosa cells. *Reproductive Biology and Endocrinology: RB&E*, *4*(1), 37. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-4-37>.
- McEwen, B. S., & Morrison, J. H. (2013). The brain on stress: vulnerability and plasticity of the prefrontal cortex over the life course. *Neuron*, *79*(1), 16–29. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.06.028>
- McNeill, D. L., & Burden, H. W. (1986). Neuropeptide Y and somatostatin immunoreactive perikarya in preaortic ganglia projecting to the rat ovary. *Reproduction*, *78*(2), 727–732. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0780727>
- McNeill, Daniel L., & Burden, H. W. (1987). Neuropeptides in sensory perikarya projecting to the rat ovary. *The American Journal of Anatomy*, *179*(3), 269–276. <https://doi.org/10.1002/aja.1001790308>
- Meinkoth, J. L., Alberts, A. S., Went, W., Fantozzi, D., Taylor, S. S., Hagiwara, M., Montminy, M., & Feramisco, J. R. (1993). Signal transduction through the cAMP-dependent protein kinase. *Molecular and Cellular Biochemistry*, *127–128*(1), 179–186. <https://doi.org/10.1007/bf01076769>
- Merchant-Larios, H. (1984). *Germ and somatic cell interactions during gonadal morphogenesis*. *Ultrastructure of Reproduction* (pp. 19–30). Springer Estados Unidos.
- Mitsushima, D., Takase, K., Funabashi, T., & Kimura, F. (2009). Gonadal steroids maintain 24 h acetylcholine release in the hippocampus: organizational and activational effects in behaving rats. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *29*(12), 3808–3815. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5301-08.2009>
- Moore, K., Persaud, T., y Torchia, M. (2008). *Embriología clínica* (9th ed., pp. 23–27). Amsterdam: Elsevier.

- Morán, C., Morales, L., Quiróz, U., & Domínguez, R. (2000). Effects of unilateral or bilateral section of the superior ovarian nerve in juvenile rats on follicular growth. *Journal of Endocrinology*, *166*(1), 205–211. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1660205>
- Moser, M. B., & Moser, E. I. (1998). Functional differentiation in the hippocampus. *Hippocampus*, *8*(6), 608–619. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1063\(1998\)8:6<608::AID-HIPO3>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1063(1998)8:6<608::AID-HIPO3>3.0.CO;2-7)
- Navarro, V. M., Gottsch, M. L., Wu, M., García-Galiano, D., Hobbs, S. J., Bosch, M. A., Pinilla, L., Clifton, D. K., Dearth, A., Ronnekleiv, O. K., Braun, R. E., Palmiter, R. D., Tena-Sempere, M., Alreja, M., & Steiner, R. A. (2011). Regulation of NKB pathways and their role in controlling Kiss1 neurons in the male arcuate nucleus of the mouse. *Endocrinology*, *152*(11), 4265–4275. <https://doi.org/10.1210/en.2011-1143>
- Nimchinsky, E. A., Sabatini, B. L., & Svoboda, K. (2002). Structure and function of dendritic spines. *Annual Review of Physiology*, *64*(1), 313–353. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.64.081501.160008>
- NOM-062-ZOO-1999, N. O. M., y LA PRODUCCION, E. T. P. (1999). Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999: Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.
- Ocampo, A. C., Squire, L. R., & Clark, R. E. (2017). Hippocampal area CA1 and remote memory in rats. *Learning & Memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, *24*(11), 563–568. <https://doi.org/10.1101/lm.045781.117>
- Ojeda, S. R., & Terasawa, E. (2002). *Neuroendocrine regulation of puberty*. In *Hormones, brain and behavior* (pp. 589–659). Elsevier.
- Ojeda, S. R., Lomniczi, A., Mastronardi, C., Heger, S., Roth, C., Parent, A.-S., Matagne, V., & Mungenast, A. E. (2006). Minireview: Neuroendocrine regulation of puberty: is it time for a systems biology approach? *Endocrinology*, *147*(3), 1166–1174. <https://doi.org/10.1210/en.2005-1136>

- Olivares, H. J.D., Juárez, A. E., & García, G. F.. (2015). El hipocampo: neurogénesis y aprendizaje. *Rev Med UV*, 20-28.
- Pastelín, C. F., Rosas, N. H., Morales-Ledesma, L., Linares, R., Domínguez, R., y Morán, C. (2017). Anatomical organization and neural pathways of the ovarian plexus nerve in rats. *Journal of ovarian research*, 10(1), 18.
- Peterson, G. M. (1989). A quantitative analysis of the crossed septohippocampal projection in the rat brain. *Anatomy and Embryology*, 180(5), 421-425. <https://doi.org/10.1007/bf00305116>
- Pollard, T. D., & Cooper, J. A. (2009). Actin, a central player in cell shape and movement. *Science (New York, N.Y.)*, 326(5957), 1208-1212. <https://doi.org/10.1126/science.1175862>
- Prange-Kiel, J., Jarry, H., Schoen, M., Kohlmann, P., Lohse, C., Zhou, L., & Rune, G. M. (2008). Gonadotropin-releasing hormone regulates spine density via its regulatory role in hippocampal estrogen synthesis. *The Journal of Cell Biology*, 180(2), 417-426. <https://doi.org/10.1083/jcb.200707043>
- Racine, R., Rose, P. A., & Burnham, W. M. (1977). Afterdischarge thresholds and kindling rates in dorsal and ventral hippocampus and dentate gyrus. *The Canadian Journal of Neurological Sciences. Le Journal Canadien Des Sciences Neurologiques*, 4(4), 273-278. <https://doi.org/10.1017/s0317167100025117>
- Reger, M. L., Hovda, D. A., & Giza, C. C. (2009). Ontogeny of Rat Recognition Memory Measured by the Novel Object Recognition Task. *Dev Psychobiol.*, 51(8), 672-678. <https://doi.org/10.1002/dev.20402>
- Rendi, M. H., Muehlenbachs, A., Garcia, R. L., & Boyd, K. L. (2012). *Female Reproductive System. Comparative Anatomy and Histology* (pp. 253-284). Elsevier.
- Rettberg JR, Dang H, Hodis HN et al (2016) Identifying postmenopausal women at risk for cognitive decline within a healthy cohort using a panel of clinical metabolic indicators: potential for detecting an at-Alzheimer's risk metabolic phenotype. *Neurobiol Aging* 40, 155-163. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2016.01.011>

- Reubi, J. C., Palacios, J. M., & Maurer, R. (1987). Specific luteinizing-hormone-releasing hormone receptor binding sites in hippocampus and pituitary: an autoradiographical study. *Neuroscience*, *21*(3), 847-856. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(87\)90041-8](https://doi.org/10.1016/0306-4522(87)90041-8)
- Riss, W., Burstein, S. D., & Johnson, R. W. (1963). Hippocampal or pyriform lobe damage in infancy and endocrine development of rats. *The American Journal of Physiology*, *204*, 861-866. <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1963.204.5.861>
- Roediger, H. L., 3rd, & McDermott, K. B. (2013). Two types of event memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *110*(52), 20856-20857. <https://doi.org/10.1073/pnas.1321373110>
- Roseberry, T. K., Lee, A. M., Lalive, A. L., Wilbrecht, L., Bonci, A., & Kreitzer, A. C. (2016). Cell-type-specific control of brainstem locomotor circuits by basal ganglia. *Cell*, *164*(3), 526-537. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.12.037>
- Routtenberg, A., O'Keefe, J., & Nadel, L. (1980). The Hippocampus as a Cognitive Map. *The American journal of psychology*, *93*(1), 177. <https://doi.org/10.2307/1422119>
- Rubin, R. T., Mandell, A. J., & Crandall, P. H. (1966). Corticosteroid responses to limbic stimulation in man: localization of stimulus sites. *Science (Nueva York, N.Y.)*, *153*(3737), 767-768. <https://doi.org/10.1126/science.153.3737.767>
- Saphier, D., & Feldman, S. (1987). Effects of septal and hippocampal stimuli on paraventricular nucleus neurons. *Neuroscience*, *20*(3), 749-755. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(87\)90238-7](https://doi.org/10.1016/0306-4522(87)90238-7)
- Schultz, C., y Engelhardt, M. (2014). Anatomy of the Hippocampal Formation. *Frontiers Of Neurology And Neuroscience*, 6-17. doi: 10.1159/000360925
- Schwegler, H., Boldyreva, M., Pyrlik-Göhlmann, M., Linke, R., Wu, J., & Zilles, K. (1996). Genetic variation in the morphology of the septo-hippocampal cholinergic and GABAergic system in mice. I. Cholinergic and GABAergic markers. *Hippocampus*, *6*(2), 136-148. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1063\(1996\)6:2<136::AID-HIPO5>3.0.CO;2-N](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1063(1996)6:2<136::AID-HIPO5>3.0.CO;2-N)

- Segal, M. (2005). Dendritic spines and long-term plasticity. *Nature Reviews. Neuroscience*, *6(4)*, 277–284. <https://doi.org/10.1038/nrn1649>
- Södersten, P. (2015). The hypothalamo–pituitary–gonadal axis: Its regulation and the role of feedback. *Endocrine Reviews*, *36(3)*, 289–305. <https://doi.org/10.1210/er.2015-1000>
- Soutelo, J. & Faraj, G.(2015). Acciones fisiológicas de la prolactina y los andrógenos en la reproducción. *Revista SAEGRÉ*, *22(1)*, 30–38.
- Speroff L, Glass RH, Kase NG. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*. Fourth Edition. Williams & Wilkins, Maryland, USA., 1989; 668 pp.
- Squire, L. R., & Dede, A. J. O. (2015). Conscious and unconscious memory systems. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, *7(3)*, a021667. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021667>
- Squire, L. R., & Wixted, J. T. (2011). The cognitive neuroscience of human memory since H.M. *Annual Review of Neuroscience*, *34(1)*, 259–288. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-061010-113720>
- Stoffel–Wagner, B., Watzka, M., Schramm, J., Bidlingmaier, F., & Klingmüller, D. (1999). Expression of CYP19 (aromatase) mRNA in different areas of the human brain. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, *70(4-6)*, 237–241. [https://doi.org/10.1016/s0960-0760\(99\)00114-4](https://doi.org/10.1016/s0960-0760(99)00114-4)
- Strange, B. A., Witter, M. P., Lein, E. S., & Moser, E. I. (2014). Functional organization of the hippocampal longitudinal axis. *Nature Reviews. Neuroscience*, *15(10)*, 655–669. <https://doi.org/10.1038/nrn3785>
- Takehara, K., Kawahara, S., & Kirino, Y. (2003). Time-dependent reorganization of the brain circuitry underlying memory retention in trace eyeblink conditioning. *Seibutsu butsuri*, *43(supplement)*, S238. https://doi.org/10.2142/biophys.43.s238_1

- Takumi, Y., Ramírez-León, V., Laake, P., Rinvik, E., & Ottersen, O. P. (1999). Different modes of expression of AMPA and NMDA receptors in hippocampal synapses. *Nature Neuroscience*, *2*(7), 618–624. <https://doi.org/10.1038/10172>
- Taraborrelli, S. (2015). Physiology, production and action of progesterone. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, *94*(S161), 8–16. <https://doi.org/10.1111/aogs.12771>
- Taylor, A., Lorenz, R., Turner, B., Ronnekleiv, O., Casady, R., & Branch, B. (1976). Factors influencing pituitary–adrenal rhythmicity: Its ontogeny and circadian variations in stress responsiveness. *Psychoneuroendocrinology*, *1*(3), 291–301. [https://doi.org/10.1016/0306-4530\(76\)90018-4](https://doi.org/10.1016/0306-4530(76)90018-4)
- Timmann, D., Drepper, J., Frings, M., Maschke, M., Richter, S., Gerwig, M., & Kolb, F. P. (2010). The human cerebellum contributes to motor, emotional and cognitive associative learning. A review. *Cortex; a Journal Devoted to the Study of the Nervous System and Behavior*, *46*(7), 845–857. <https://doi.org/10.1016/j.cortex.2009.06.009>
- Tóth, I. E., Wiesel, O., Boldogkői, Z., Bálint, K., Tapaszti, Z., y Gerendai, I. (2007). Predominance of supraspinal innervation of the left ovary. *Microscopy research and technique*, *70*(8), 710–718.
- Tresguerres, J. A. F. (2005). *Fisiología humana*. McGraw–Hill, Interamericana de Espana.
- Trkulja, V., & Lacković, Z. (1996). Involvement of muscarinic receptors in the control of female puberty in the rat. *European Journal of Pharmacology*, *297*(1–2), 93–96. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(95\)00821-7](https://doi.org/10.1016/0014-2999(95)00821-7)
- Urrea, J., Blohberger, J., Tiszavari, M., Mayerhofer, A., & Lara, H. E. (2016). In vivo blockade of acetylcholinesterase increases intraovarian acetylcholine and enhances follicular development and fertility in the rat. *Scientific Reports*, *6*, 30129. <https://doi.org/10.1038/srep30129>
- Uribe Aranzábal, Mari Carmen, De la Rosa Cruz, Gabino, García Alarcón, Adriana, Guerrero–Estévez, Sandra Milena, & Aguilar Morales, Marcela. (2006). Características histológicas de los estadios de atresia de folículos ováricos en dos especies de teleósteos vivíparos: *Ilyodon whitei* (Meek, 1904)

y *Goodea atripinnis* (Jordan, 1880) (Goodeidae). *Hidrobiológica*, 16(1), 67-73. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-88972006000100006&lng=es&tlng=es.

Velasco, M. E., & Taleisnik, S. (1971). Effects of interruption of amygdaloid and hippocampal input to the medial hypothalamus on gonadotropin release. *Journal of Endocrinology*, 51(1), 41-55. <https://doi.org/10.1677/joe.0.0510041>

Vieyra, E., García, J. C., Zarco, H. A., Linares, R., Rosas, G., Ramírez, D. A., Chaparro, A., Espinoza, J. A., Domínguez, R., & Morales-Ledesma, L. (2023). Suprachiasmatic nucleus and vagus nerve trigger preovulatory LH and ovulation. *Reproduction*, 165(2), 147-157. <https://doi.org/10.1530/REP-22-0119>

Weissman, M. M., & Klerman, G. L. (1977). The chronic depressive in the community: unrecognized and poorly treated. *Comprehensive Psychiatry*, 18(6), 523-532. [https://doi.org/10.1016/s0010-440x\(97\)90002-x](https://doi.org/10.1016/s0010-440x(97)90002-x)

Woolley, C. S., Gould, E., Frankfurt, M., & McEwen, B. S. (1990). Naturally fluctuation in dendritic spine density on adult hippocampal pyramidal neurons occur. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 10(12), 4035-4039. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.10-12-04035.1990>

Woolley, C. S., Weiland, N. G., McEwen, B. S., & Schwartzkroin, P. A. (1997). Estradiol increases the sensitivity of hippocampal CA1 pyramidal cells to NMDA receptor-mediated synaptic input: correlation with dendritic spine density. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 17(5), 1848-1859. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.17-05-01848.1997>

