



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
“ZARAGOZA”**

**“EFECTO DE LA INDUCCIÓN DEL SÍNDROME DEL OVARIO
POLIQUÍSTICO EN LA RATA INFANTIL, SOBRE LA DINÁMICA
DEL CRECIMIENTO FOLICULAR Y LA SECRECIÓN
DE HORMONAS ESTEROIDES”.**

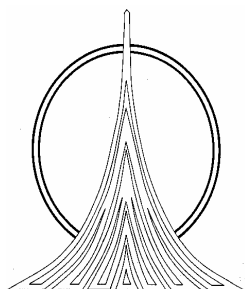
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G O

P R E S E N T A:

GABRIELA ROSAS GAVILÁN.



DIRECTORA DE TESIS: DRA. LETICIA MORALES LEDESMA.

MÉXICO, D. F.

AGOSTO, 2006.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

CARRERA DE BIOLOGÍA

**“EFECTO DE LA INDUCCIÓN DEL SÍNDROME DEL OVARIO
POLIQUÍSTICO EN LA RATA INFANTIL, SOBRE LA DINÁMICA
DEL CRECIMIENTO FOLICULAR Y LA SECRECIÓN
DE HORMONAS ESTEROIDES”.**

Tesis Presentada Por: Gabriela Rosas Gavilán.

Directora de Tesis: Dra. Leticia Morales Ledesma.

**Realizada en el Laboratorio de Fisiología Reproductiva,
en la Unidad de Investigación en Biología
de la Reproducción.**

**Durante la realización de ésta Tesis se contó con
el Apoyo Financiero de CONACYT 40300-A;
DGAPA-PAPIIT convenio IN-200505.**



AGRADECIMIENTOS

A la *Dra. Leticia Morales Ledesma* por su confianza, apoyo, paciencia y amistad.

A los miembros del jurado:

Dr. Roberto Domínguez Casalá.

Dra. Leticia Morales Ledesma.

Dra. Patricia Rosas Saucedo.

Dra. María Elena Ayala Escobar.

Dra. María de Lourdes Mora García.

Por el tiempo invertido para la revisión del presente estudio y por enriquecerlo con sus comentarios.

Al *Dr. Roberto Domínguez Casalá* por su ayuda y apoyo en la elaboración de ésta Tesis.

A cada uno de mis compañeros y amigos de la Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción, Ubaldo, Javier, Adan, Bety, Eli, Dey, Avhi y en especial a *Rosa*, por su apoyo y amistad.

A María Luisa Llesca Vera por su colaboración en la realización de los cortes histológicos.

Al Biólogo Roberto Chavira por su colaboración en las mediciones hormonales.

A la *Dra. Adriana*, a la *Secretaria Lucy* y al personal técnico del Bioterio de la FES-Zaragoza, por habernos proporcionado los animales utilizados en este estudio.





DEDICATORIAS



A mis Papás

Ger y Lupita, por ser mi ejemplo a seguir, porque con cariño y entusiasmo fueron moldeando mi vida, por sus sabios consejos y palabras de aliento, por todos los sacrificios que realizaron y el apoyo que me brindaron y sobre todo, porque hoy, en éste día tan importante logramos hacer de nuestro sueño, una realidad... MUCHAS GRACIAS.



A mis Hermanos

Dani y Cesarín, por ser mis mejores amigos, por compartir conmigo risas, alegrías, tristezas, esperanzas y por brindarme su apoyo, cariño y comprensión en todo momento.

A mi Chapis

Jackie, por ser el regalo más hermoso que me hizo Dios, porque desde el primer momento en que llegaste a mi vida cambiaste por completo mi mundo y desde entonces haz hecho de él algo maravilloso; por el cariño, las sonrisas y la ternura que día a día me haz regalado... Gracias mi Niña, TE AMO.





DEDICATORIAS

A la Dra. Lety

Porque con delicadeza y cariño fue quitando mañas y errores, porque nos enseñó a ver más allá de un número y fue haciendo de nosotros personas con mayor criterio y autosuficiencia. Por sus enseñanzas, su amistad, paciencia y dedicación... GRACIAS.

A Rosa

Por los sacrificios realizados y las metas alcanzadas, porque en ti encontré una estupenda amiga que supo arrancar de mi una sonrisa en los momentos difíciles y compartir conmigo sueños y esperanzas.

A mis Amigos

Rosa, Magda, Gio e Isra, por todos los ratos divertidos, por el grandioso equipo que hicimos juntos y porque contra viento y marea, salimos triunfadores.



ÍNDICE DE CONTENIDO

	PÁGINAS
ABREVIATURAS	i
RESUMEN	ii
INTRODUCCIÓN	1
MARCO TEÓRICO	3
Etapas del Desarrollo Prepuberal.....	3
Pubertad.....	6
Desarrollo Folicular.....	8
Biosíntesis de Hormonas Esteroides.....	14
Atresia Folicular.....	18
Síndrome del Ovario Poliquístico.....	21
Foliculogénesis.....	22
Perfil Hormonal.....	24
Inducido por la Administración de Valerato de Estradiol....	26
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	31
HIPÓTESIS	32
OBJETIVO GENERAL	33
OBJETIVOS PARTICULARES	33
MATERIAL Y MÉTODO	34
Diseño Experimental.....	34
Apertura Vaginal y Ciclo Estral.....	36
Procedimiento de Autopsia.....	36
Valoración de la Dinámica del Crecimiento Folicular.....	37
Cuantificación de Hormonas Esteroides.....	39
Análisis Estadístico.....	40

	PÁGINAS
RESULTADOS	41
Histología Ovárica y Dinámica del Crecimiento Folicular.....	41
Inicio de la Pubertad.....	52
Ciclo Estral.....	54
Respuesta Ovulatoria.....	56
Peso Corporal y Pesos Absolutos.....	58
Hormonas Esteroides.....	63
DISCUSIÓN	69
CONCLUSIONES	79
REFERENCIAS	80

ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico.
AMPc	Adenosín monofosfato cíclico.
ATP	Adenosín trifosfato.
FSH	Hormona estimulante del fólculo.
GnRH	Hormona liberadora de gonadotropinas.
i.p	Intraperitonealmente.
LH	Hormona luteinizante.
NA	Noradrenalina.
NGF	Factor de crecimiento neural.
NOS	Nervio ovárico superior.
PEV	Primer estro vaginal.
PMSG	Gonadotropina del suero de yegua preñada.
SOPQ	Síndrome del ovario poliquístico.
VE	Valerato de estradiol.
Vh	Vehículo.
VIP	Péptido intestinal vasoactivo.

RESUMEN

Las funciones ováricas son reguladas por señales hormonales y neurales que actúan en sincronía en la modulación del desarrollo folicular, la secreción de hormonas esteroides y la ovulación. En años recientes se ha observado que la alteración de alguna de éstas señales favorece el desarrollo de patologías como el síndrome del ovario poliquístico, que afecta del 6 al 10% de la población femenina, convirtiéndose así en la causa más común de infertilidad en mujeres de edad reproductiva.

Diversos estudios han mostrado que el SOPQ se manifiesta clínicamente por hiperandrogenismo que va acompañado por concentraciones variables de gonadotropinas. Estas alteraciones culminan con la irregularidad del ciclo menstrual, alteración de la dinámica folicular y anovulación crónica. Datos experimentales muestran que en roedores, la administración de una sola dosis de valerato de estradiol induce el desarrollo del síndrome del ovario poliquístico, que presenta anomalías morfológicas y funcionales semejantes a las que se observan en la mujer con esta patología.

Puesto que actualmente se desconoce si las alteraciones ocasionadas por el fármaco se inician desde la etapa prepúber, en el presente estudio se utilizó a la rata infantil con síndrome del ovario poliquístico como modelo experimental. Para ello se utilizaron hembras de la cepa CII-ZV de 10, 14 ó 21 días de edad, a las cuales se les administró i.p. una sola dosis de valerato de estradiol disuelto en aceite de maíz (2.0 mg/0.1 ml). Como grupos testigo, se utilizaron animales tratados únicamente con el vehículo. Las hembras fueron sacrificadas por decapitación a los 25 días de edad, al primer estro vaginal ó a los 90 días de edad, en el día del estro vaginal.

El **análisis histológico** reveló la presencia de quistes foliculares y de estructuras prequísticas en todos los grupos que fueron tratados con valerato de estradiol, independientemente de la edad de administración del fármaco y del período de evolución. El número total de folículos en los grupos tratados con el fármaco no se modificó, a pesar de que disminuyó la población de folículos sanos e incrementó el número de folículos atrésicos.

En los grupos tratados con VE se observó un adelanto en la edad de **apertura vaginal** que en la mayoría de los animales se acompañó del **primer estro vaginal**.

En las hembras inyectadas con valerato de estradiol a los 10 ó 21 días de edad y sacrificadas a los 90 días de edad se observó una condición de estro constante por períodos prolongados, mientras que las hembras tratadas a los 14 días de edad con el fármaco mostraron fluctuaciones en su **ciclo estral**, sin llegar a ser cíclicas.

La **respuesta ovulatoria** en los animales tratados con VE se bloqueó cuando el fármaco se administró a los 10 ó 21 días de edad y los animales se autopsiaron en la etapa adulta (0/11 *vs.* 9/12, $p<0.05$) o en la púber (0/8 *vs.* 11/16, $p<0.05$), respectivamente. Cuando el fármaco se administró a los 14 días de edad y los animales se sacrificaron en el día del PEV, sólo 1 de 12 ovuló, mientras que en los sacrificados a los 90 días de edad ovularon 6/14.

En las hembras tratadas con valerato de estradiol a los **10 días de edad** y sacrificadas a los 25 días de edad las concentraciones séricas de progesterona (8.4 ± 0.9 *vs.* 14.9 ± 1.4 , $p<0.05$) y testosterona (16.8 ± 5.96 *vs.* 76.3 ± 9.6 , $p<0.05$) fueron menores que las de su grupo testigo, mientras que la de estradiol fue mayor al ser comparada con la de su grupo testigo (460.7 ± 52.9 *vs.* 26.4 ± 3.8 , $p<0.05$). Las ratas autopsiadas a los 90 días de edad presentaron una mayor concentración plasmática de testosterona (54.5 ± 5.7 *vs.* 32.25 ± 6.6 , $p<0.05$) y estradiol (36.7 ± 5.5 *vs.* 21.3 ± 1.3 , $p<0.05$) en comparación con su grupo testigo.

El grupo inyectado con VE a los **14 días de edad** y sacrificado al primer estro vaginal, mostró un incremento en la concentración plasmática de estradiol respecto a su grupo testigo (152.5 ± 32.9 *vs.* 18.3 ± 2.4 , $p<0.05$). En los animales tratados a los **21 días de edad**, la administración del fármaco resultó en el incremento de progesterona (14.1 ± 3.8 *vs.* 6.4 ± 0.9 , $p<0.05$) y estradiol (509.7 ± 235.7 *vs.* 32.2 ± 3.6 , $p<0.05$) al PEV; mientras que en la etapa adulta, sólo incrementó el estradiol (40.5 ± 6.9 *vs.* 22.1 ± 2.96 , $p<0.05$).

Los resultados del presente estudio muestran que la administración de valerato de estradiol induce el desarrollo del síndrome del ovario poliquístico desde etapas tempranas del desarrollo.

INTRODUCCIÓN

La supervivencia de un gran número de especies depende de la producción de gametos y de su unión, evento que culmina con la formación de un nuevo organismo. La función reproductiva se encuentra regulada por el eje hipotalámico-hipófisis-gónada y por el sistema nervioso central, que participa en la regulación de las funciones ováricas mediante la inervación simpática (Arias, 2003).

El hipotálamo es el lugar de control e integración de todas las señales neurales y endócrinas procedentes del sistema nervioso, la hipófisis y el ovario. El hipotálamo se encarga de regular la secreción de la hormona luteinizante y estimulante del folículo por medio de la hormona liberadora de las gonadotropinas y del factor inhibidor de la secreción de las gonadotropinas (Williams y Stancel, 1996; Sánchez Criado, 1999).

En el ovario, las gonadotropinas (LH y FSH) participan en la regulación del crecimiento y maduración folicular lo que culmina con la ovulación; además, estimulan la secreción de hormonas como la progesterona, estrógenos, inhibina, activina y la relaxina, entre otras (Williams y Stancel, 1996; Sánchez Criado, 1999).

Las hormonas esteroideas regulan las funciones del ovario mediante mecanismos de retroalimentación ejercidos sobre el hipotálamo y la hipófisis, además de que participan en la determinación de las características sexuales, tanto por sus acciones en los tejidos periféricos como en el sistema nervioso central (Williams y Stancel, 1996; Sánchez Criado, 1999; Guyton y Hall, 2001; Arias, 2003).

En las últimas décadas se ha observado que factores como el estrés, el consumo de alimentos con altas cantidades de conservadores o el uso de ciertos medicamentos con actividad estrogénica (anticonceptivos) pueden resultar en trastornos endócrinos o neurales que afectan al eje reproductor (Williams y Stancel, 1996; Yen, 2001b; Greiner y col., 2005).

Una de las principales patologías que afecta la capacidad reproductiva en la mujer, es el síndrome del ovario poliquístico, que se caracteriza por irregularidad del ciclo menstrual, hiperandrogenismo, anovulación crónica e infertilidad. En años recientes, el síndrome ha sido asociado con un desorden metabólico que a largo plazo puede tener implicaciones importantes en la salud (Franks y col., 1995; Yen, 2001a).

A pesar de que el síndrome del ovario poliquístico se describió por primera vez hace más de medio siglo, la etiología precisa del síndrome permanece aún desconocida. Por lo que, en el presente estudio se indujo el síndrome del ovario poliquístico en ratas infantiles, con el fin de evaluar si la patología se desarrolla desde antes o durante el inicio de la pubertad.

MARCO TEÓRICO

ETAPAS DEL DESARROLLO PREPUBERAL

La rata nace en un estado de inmadurez equivalente a los cinco meses de gestación del humano (Ojeda y col., 1980). En éste momento, tanto en la rata como en el humano se produce la diferenciación sexual del encéfalo, por la presencia o ausencia de la testosterona (Dorner, 1980).

Considerando los cambios morfológicos y fisiológicos que ocurren a nivel del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, Ojeda y colaboradores (1980) dividen el desarrollo prepupal de la rata hembra en cuatro etapas.

Etapa Neonatal.

Abarca desde el nacimiento hasta el día siete de vida. Durante la primer mitad de esta fase, el crecimiento folicular se inicia en forma independiente de las gonadotropinas (Peter, 1970; Smith-White y Ojeda, 1981), sin embargo, a finales de esta etapa, entre el cuarto y el quinto día, comienzan a formarse los receptores de la FSH y dos días más tarde los de la LH. La unión de las gonadotropinas a su receptor estimula la secreción de las hormonas esteroides (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990).

Durante la etapa neonatal, la retroalimentación negativa del estradiol no se establece debido a la elevada concentración plasmática de la α -fetoproteína, que se une fuertemente a los estrógenos tornándolos biológicamente inactivos (Raynaud, 1973). Asimismo, la concentración sérica de FSH que es baja desde el nacimiento, comienza a incrementar a partir del quinto día, mientras que la de LH se mantiene baja (Dohler y Wuttke, 1974).

Etapa Infantil.

Comprende del día 8 al 21 de vida. En ésta etapa la concentración de FSH es muy alta (Dohler y Wuttke, 1974; Mackinnon y col., 1976), alcanza valores máximos a los 12 días de edad y declina gradualmente a partir del día 15 (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990). La elevada concentración de FSH es fundamental para el reclutamiento y crecimiento de los folículos que llegarán a ovular en la pubertad (Ojeda y col., 1980; Hage y col., 1978).

Al inicio de esta fase, la LH comienza a presentar elevaciones esporádicas, especialmente en la tarde (Dohler y Wuttke, 1974; Mackinnon y col., 1976; Wuttke y col., 1980), pero a medida que finaliza la etapa infantil, los picos dejan de producirse y su concentración disminuye. Durante esta fase comienza a detectarse la inhibina, una de las hormonas que regula la secreción de FSH actuando de manera directa sobre la hipófisis (Rivier y Vale, 1987; Sander y col., 1987). Para el día 16 de vida, la concentración de la α -fetoproteína disminuye, lo que facilita el establecimiento de la retroalimentación negativa que ejerce el estradiol sobre la secreción de las gonadotropinas (Puig-Duran y col., 1977; Germain y col., 1978; Andrews y col., 1981).

Etapa Juvenil.

Se extiende del día 22 al 32 de vida. A partir de esta etapa, la concentración de FSH permanece baja y la de LH comienza a secretarse en forma pulsátil (Andrews y Ojeda, 1981). Hacia el final de esta fase incrementa la concentración basal de LH (Meijs-Roelofs y col., 1983) y la amplitud de sus pulsos durante la tarde (Urbanski y Ojeda, 1983), estableciéndose así un ritmo de secreción circadiano. En el ovario se observa un aumento de receptores a LH (Smith-White y Ojeda, 1981), que aunado al patrón de secreción de esta gonadotropina, se traduce en una mayor esteroidogénesis. En este momento, la retroalimentación positiva del estradiol sobre la LH ha quedado establecido (Ojeda y col., 1986).

Etapa Peripúber.

Inicia el día 33 de vida y culmina con la primera ovulación. Durante esta etapa, el ovario presenta un mayor número de receptores para FSH y LH, lo que se traduce en una mayor capacidad esteroidogénica (Ojeda y Urbanski, 1988). Aunado al patrón de secreción pulsátil y circadiano de la LH, aparecen los minipicos o picos de baja amplitud, que son dependientes del estradiol (Urbanski y Ojeda, 1986). Estos minipicos indican que se ha establecido la retroalimentación positiva del estradiol y que una vez que se alcanza la concentración adecuada de estrógenos, se producirá la primer descarga preovulatoria del GnRH que culminará con el pico de gonadotropinas y la primera ovulación (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990).

PUBERTAD

El inicio de la pubertad es determinado por una multiplicidad de eventos que se producen a nivel del eje hipotálamo-hipófisis-ovario y de glándulas como la pineal y las adrenales (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990; Ojeda y Urbanski, 1994). Asimismo depende de la inervación que reciben los ovarios (Aguado y Ojeda, 1984; Ojeda y col., 1983; Ramaley, 1980) y de factores como el entorno ambiental y la alimentación, entre otros (Ojeda y Urbansky 1994; Foster y Ebling, 1999).

La pubertad se define como una etapa de transición entre la inmadurez y la madurez sexual (Ramírez, 1973; Ramaley, 1980). En esta etapa de la vida se producen los primeros gametos maduros y se inicia la función reproductiva (Goldman, 1981).

En la rata, el desarrollo de los mecanismos neuroendocrinos que participan en la regulación del inicio de la pubertad se producen en un lapso de 5 semanas, tiempo en el cual, el peso corporal aumenta 15 veces y tres la longitud del cuerpo (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990).

En los primates, la menarca es el signo de que ha iniciado la pubertad, mientras que en los roedores, el único signo externo que señala su comienzo es la canalización de la vagina, que puede ir acompañada o no, por la primera ovulación (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990). En la rata hembra, dependiendo de la cepa en estudio, el inicio de la pubertad ocurre entre los 35 y 45 días de edad (Ramírez, 1973; Ojeda y col., 1983).

La canalización de la vagina se produce generalmente al día siguiente de la primera elevación brusca en las concentraciones plasmáticas de gonadotropinas, que corresponde a los llamados picos preovulatorios. En este día, el frotis vaginal muestra células anucleadas de forma irregular que son indicativas del primer estro vaginal (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990).

Días antes de que ocurra la apertura vaginal, se observan una serie de cambios morfológicos en el útero, ovarios y la vagina, que son indicativos de que está por iniciarse la pubertad (Ojeda y col., 1976; Advis y col., 1979):

- ☞ **Anestro.** Los animales en esta fase se encuentran alrededor de los 30 días de edad, su útero es pequeño (con un peso húmedo menor de 100 mg) y no hay fluido intrauterino.
- ☞ **Proestro Temprano.** En esta etapa los animales tienen un útero grande con fluido intraluminal y la vagina aún esta cerrada.
- ☞ **Proestro Tardío.** Corresponde al día del primer proestro. Los animales presentan un útero balonado lleno de fluido, con un peso húmedo mayor de 200 mg. Los ovarios tienen folículos grandes y la mayoría de los animales en esta fase aún no muestra apertura vaginal. El número de receptores a LH en células de la granulosa incrementa significativamente entre el anestro y esta fase.
- ☞ **Estro.** En ésta etapa la vagina esta abierta y en la citología vaginal se observan células cornificadas que se caracterizan por ser anucleadas y de forma irregular. Esta fase corresponde generalmente al día de la primera ovulación, por lo que en el ovario se observan varios cuerpos lúteos recién formados.
- ☞ **Primer Diestro.** Se caracteriza por una citología vaginal que muestra predominancia de leucocitos y por la presencia de cuerpos lúteos dentro de los ovarios.

DESARROLLO FOLICULAR

El ovario realiza dos funciones, la primera de ellas es la ovulación, evento que depende del crecimiento y maduración folicular. Así mismo, se encarga de la producción de hormonas esteroides que controlan el ciclo menstrual o estral, el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios, además de que ejercen diversos efectos tróficos sobre otros órganos y tejidos periféricos. Ambas funciones se encuentran reguladas por la unidad hipotálamo-hipofisiaria (Sánchez Criado, 1999; Williams y Stancel, 1996).

El ovario es un órgano par, ovoide, constituido por tres zonas: la **región medular**, localizada en la porción central del ovario, que contiene tejido conectivo laxo así como vasos sanguíneos y linfáticos (Sánchez Criado, 1999). La **región cortical**, que se encuentra alrededor de la médula y contiene folículos ováricos en diferentes estadios del desarrollo (Ross y col., 1997). El **hilio**, que es la región donde se encuentran la arteria y la vena ovárica, los vasos linfáticos y algunas terminales neurales aportadas por el sistema nervioso simpático y parasimpático (Burden, 1985; Sánchez Criado, 1999).

En la mujer, la foliculogénesis se inicia durante el periodo fetal, de tal forma que al momento del nacimiento su población folicular se encuentra ya definida¹ (Sánchez Criado, 1999), a diferencia de lo que ocurre en la rata, donde la formación de los folículos se inicia poco después del nacimiento (Rajah y Hirshfield, 1991) y la población folicular total queda establecida a las 48 horas de vida postnatal (Malamed y col., 1992).

¹ En la mujer, los únicos folículos presentes al momento del nacimiento son los primordiales (Fawcett, 1995).

El folículo ovárico es la unidad anatómico-funcional del ovario, donde se encuentra contenido el ovocito. El incremento progresivo en el tamaño y complejidad morfológica del folículo ovárico permiten establecer las bases para identificar las diferentes etapas (Figura 1) por las que pasa el folículo durante su crecimiento y desarrollo (Bergman y col., 1998).

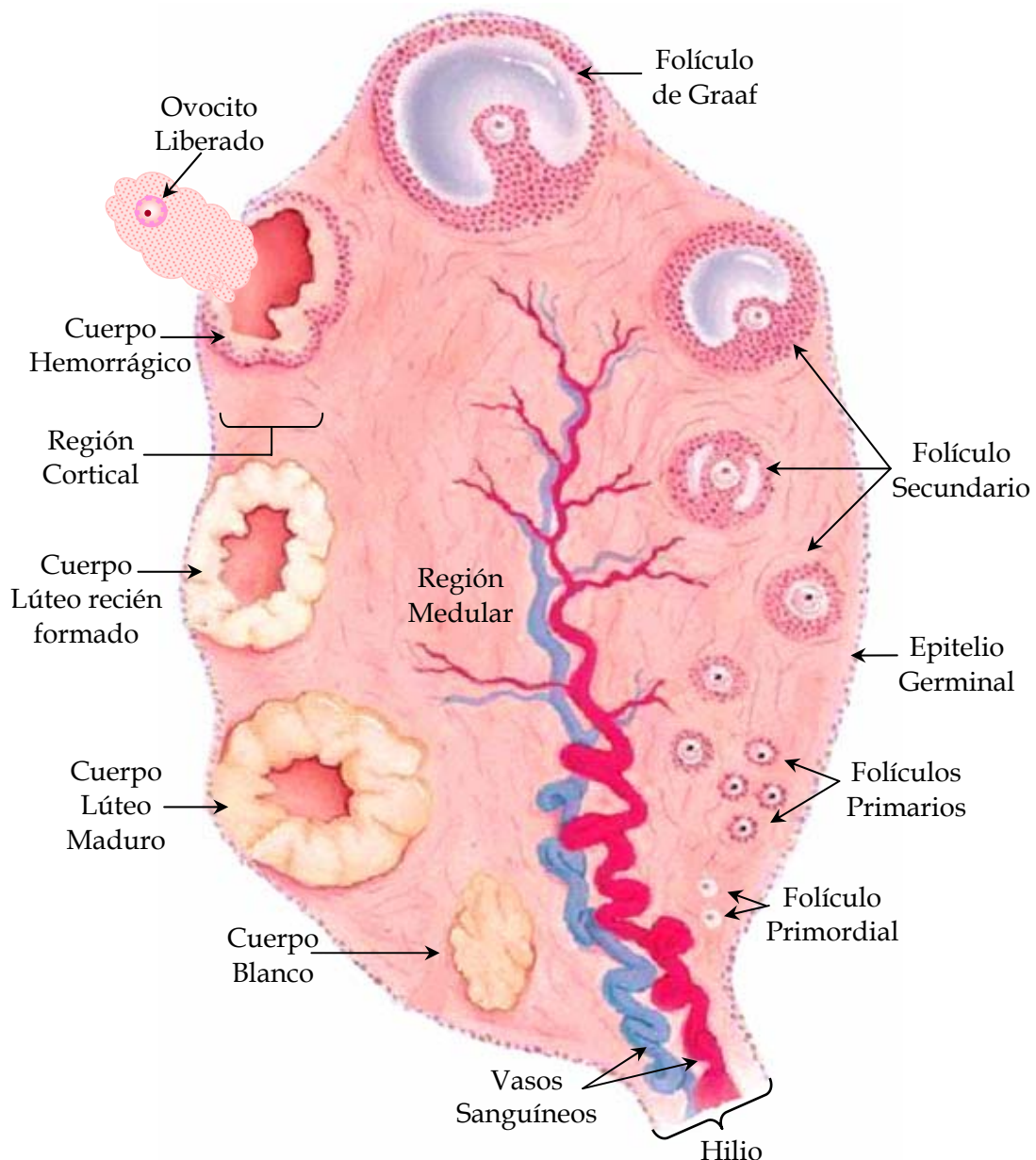


Figura 1. Esquema del ovario en el que se muestra el desarrollo folicular que culmina con la ovulación y la formación del cuerpo lúteo o amarillo, estructura que posteriormente sufre regresión y origina al cuerpo blanco (Modificado de Marieb, 1992).

Los **folículos primordiales** (Figura 1) son los más pequeños y numerosos. Cada uno de ellos está conformado por un ovocito esférico, rodeado por una capa de células foliculares (células epiteliales aplanadas) y delimitado por una membrana basal poco evidente (Bergman y col., 1998).

En el **folículo primario** (Figura 1) el ovocito aumenta de tamaño, las células foliculares aplanadas cambian de forma, adoptando la forma cuboidal y originan así, a las células de la granulosa. Durante el crecimiento del ovocito se forma una gruesa membrana llamada zona pelúcida² (constituida de mucopolisacáridos) que separa al ovocito de las células de la granulosa circundante y se encarga de nutrirlo. Por otro lado, las células del estroma se agrupan más estrechamente y forman la teca, que en ésta etapa, todavía no se diferencia en capas. Además, la lámina basal se hace más evidente (Bergman, y col., 1998; Geneser, 2000).

Cuando el folículo esta conformado de varias capas de células de la granulosa, recibe el nombre de **folículo secundario**, antral o vesicular (Figura 1). Durante ésta etapa, se forman espacios entre las células de la granulosa por acumulación de líquido folicular, a los cuales se les denomina cuerpos de Call-Exner, que al fusionarse entre sí, forman un espacio amplio dentro de la granulosa, llamado antro folicular. Al mismo tiempo, el compartimiento tecal se diferencia en una teca interna y una externa, donde la teca interna adquiere una rica vascularización y sus células tienen la capacidad de sintetizar hormonas esteroides, mientras que la teca externa mantiene su naturaleza de tejido conectivo con células musculares lisas (Fawcett, 1995; Bergman y col., 1998).

² En la actualidad se desconoce si la zona pelúcida es secretada por el ovocito, por las células de la granulosa circundante o por ambos (Van Voorhis y col., 1999a).

En el **folículo de Graaf** o terciario (Figura 1 y 2) se encuentran ya bien diferenciadas estructuras como el cúmulo oóforo y la corona radiada, que se forman a partir de células de la granulosa y cuya función principal es proporcionar nutrientes para el crecimiento del ovocito (Gore-Langton y Armstrong, 1994). Estos folículos forman una elevación en la superficie del ovario, sitio en el cual tendrá lugar la ovulación. El folículo maduro se rompe y el óvulo se desliza lentamente fuera de la superficie ovárica, en el torrente del líquido folicular (Geneser, 2000).

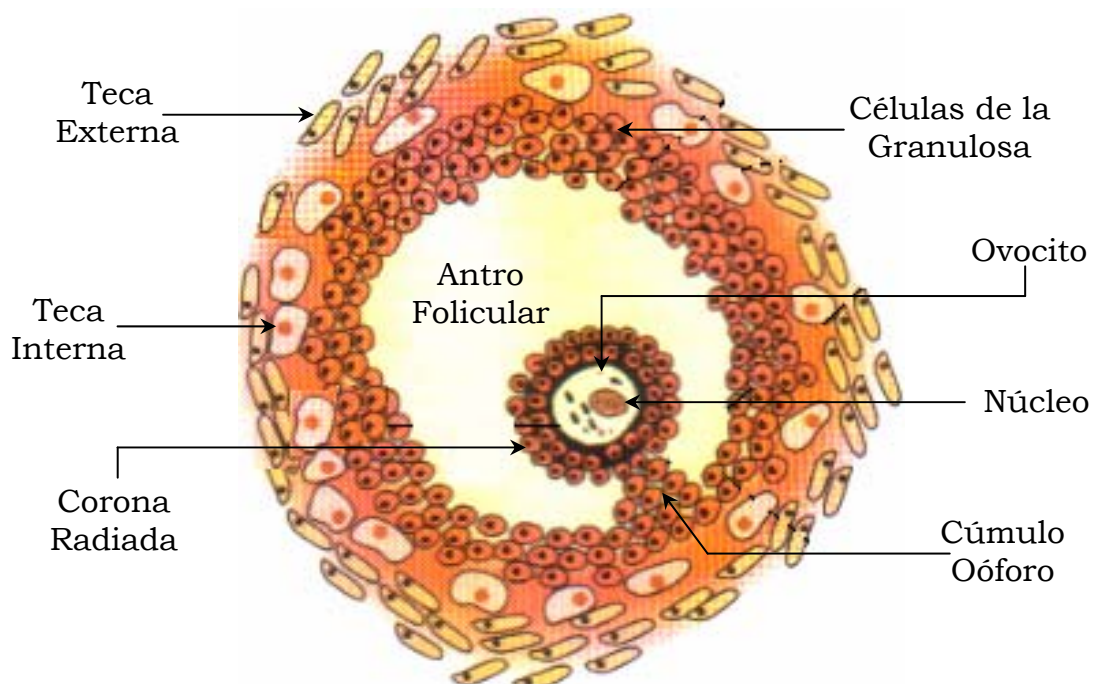


Figura 2. Esquemmatización de las diferentes partes que conforman al folículo de Graaf (Tomado de Arias, 2003).

En los roedores, algunos folículos inician su crecimiento a lo largo del ciclo estral, que dura de cuatro a cinco días (Sánchez Criado, 1999). El crecimiento de los folículos continúa hasta que culminan con la ovulación o bien degeneran por atresia. En la etapa del estro son expulsados varios óvulos que pueden ser o no fecundados (Freeman, 1994). En la rata, los folículos se clasifican como pequeños (menores de 350 μm), medianos (350 a 449 μm) o preovulatorios (mayores de 450 μm) (Ricardo, 2005).

El ciclo ovárico se divide en dos etapas, la folicular y la luteal. Durante la **fase folicular** ocurre el crecimiento y desarrollo de los folículos y concluye con la ovulación (Geneser, 2000). En la mujer, la ovulación por lo regular se alterna en el ovario derecho e izquierdo (Bergman y col., 1998), a diferencia de lo que ocurre en roedores, donde por lo general, la ovulación se produce por ambos ovarios (Greenwald y Roy, 1994).

Una vez que finaliza la fase folicular del ciclo ovárico, inicia la **fase luteal**, que se caracteriza por la formación del cuerpo lúteo encargado de secretar las hormonas necesarias (estrógenos y progesterona) que preparan al útero ante la posible implantación del huevo y el desarrollo de la placenta (Geneser, 2000). En la mujer, cuando la fertilización no ocurre, el cuerpo lúteo degenera y se forma el cuerpo blanco (Jacob y col., 1982).

En el caso de la rata, después de que ocurre la ovulación se forman varios cuerpos lúteos que en el diestro del siguiente ciclo estral presentan un tamaño máximo. Estos cuerpos lúteos presentan signos de regresión en el diestro del segundo ciclo. Las concentraciones de progesterona secretadas por el cuerpo lúteo de roedores son bajas durante uno o dos días. Cuando ocurre la fertilización de los ovocitos, la hipófisis secreta altas cantidades de LH que rescatan al cuerpo lúteo y permiten su permanencia durante la etapa de gestación (que dura de 20 a 22 días). Finalmente el cuerpo lúteo experimenta regresión o luteólisis (Freeman, 1994).

BIOSÍNTESIS DE HORMONAS ESTEROIDES

La esteroidogénesis ovárica es un proceso complejo regulado por señales neuroendócrinas, que tiene lugar de manera secuencial en las células de la teca interna y de la granulosa (Speroff, 1983; Gore-Langton y Armstrong, 1994).

Los ovarios secretan varias hormonas esteroideas que incluyen progestágenos (pregnenolona, 17α -hidroxiprogesterona y progesterona), andrógenos (androstenediona y testosterona) y estrógenos (estrona y 17β -estradiol) (Speroff, 1983; Sánchez Criado, 1999; Van Voorhis, 1999b).

Las hormonas esteroideas controlan la secreción de gonadotropinas mediante mecanismos de retroalimentación (positiva o negativa) ejercidos sobre el hipotálamo y la hipófisis (Arias, 2003). Asimismo, actúan en diversos tejidos y órganos blanco que comprenden además del sistema reproductivo, el sistema músculo-esquelético, el sistema cardiovascular, el sistema inmune y tejidos como el adiposo y el cutáneo (Gore-Langton y Armstrong, 1994).

El colesterol es el precursor inicial en la síntesis de hormonas esteroideas, que es transportado en la sangre principalmente en forma de lipoproteínas³ circulantes (Sánchez Criado, 1999; Van Voorhis, 1999b; Gore-Langton y Armstrong, 1994). Otras fuentes de colesterol en el ovario incluyen el que se encuentra almacenado a nivel celular, bajo la forma de ésteres (Pedernera, 1993) o el que se forma a partir del acetato, derivado del metabolismo de carbohidratos, lípidos o proteínas dentro de las células (Van Voorhis, 1999b; Gore-Langton y Armstrong, 1994).

³ Las lipoproteínas se componen de una parte lipídica y una protéica, ésta última constituye el sitio de unión al receptor y se le denomina *apoproteína* (Van Voorhis, 1999b).

Para la biosíntesis de hormonas esteroideas, cada tipo celular usa en forma preferencial una de estas fuentes de colesterol (Pedernera, 1993). Así, los compartimientos ováricos que cuentan con un abundante suministro sanguíneo como son la teca interna, el cuerpo lúteo y la glándula intersticial, utilizan a las lipoproteínas como fuente principal de colesterol. En tanto que las células de la granulosa que carecen de irrigación, sintetizan hormonas esteroideas, como la progesterona, a partir del acetato (Gore-Langton y Armstrong, 1994).

Una vez que las lipoproteínas se unen a su receptor en la membrana celular, el complejo lipoproteína-receptor es internalizado a la célula y fragmentado por acción de las esterasas lisosomales (Pedernera, 1993; Van Voorhis, 1999b; Gore-Langton y Armstrong, 1994).

Cuando el colesterol queda libre de la fracción protéica, es transportado por una proteína reguladora, denominada StAR, hacia la mitocondria donde es metabolizado a pregnenolona (Figura 3). El complejo enzimático que cataliza esta reacción comprende tres componentes: un citocromo P450_{ssc}, una flavoproteína y una proteína de tipo hemo (Pedernera, 1993; Gore-Langton y Armstrong, 1994; Van Voorhis, 1999b).

Inmediatamente después de que se ha formado la pregnenolona, puede ser metabolizada por dos vías diferentes que ocurren en el retículo endoplásmico liso. La pregnenolona puede ser transformada a progesterona por acción de la 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa, Δ 5-4 isomerasa (3 β -HSD) o seguir la ruta metabólica de la enzima citocromo P450_{c17 α} , 17 α -hidroxilasa y 17, 20 liasa y ser convertida en androstenediona (Figura 3) (Pedernera, 1993; Gore-Langton y Armstrong, 1994; Van Voorhis, 1999b).

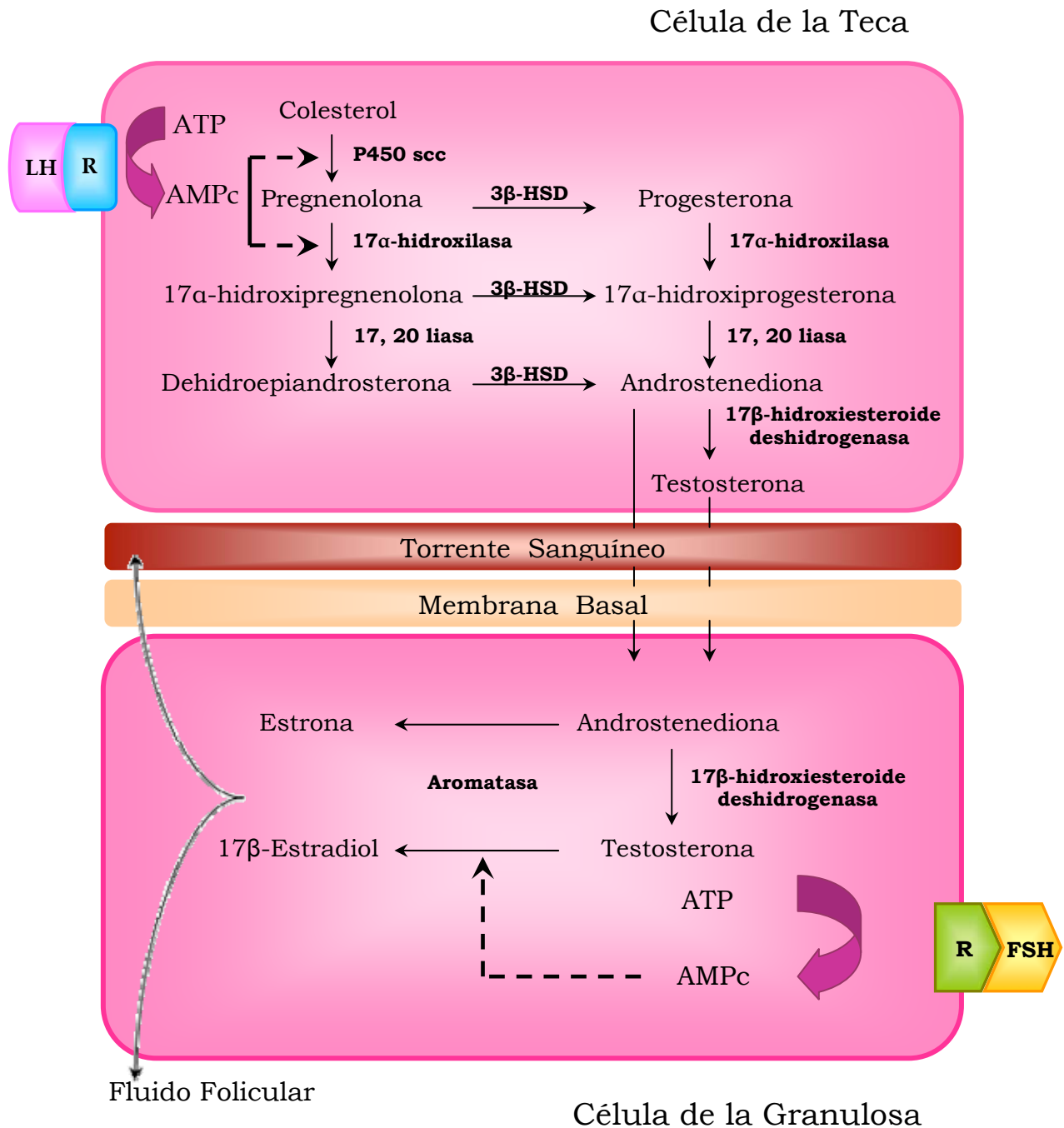


Figura 3. Muestra el efecto de las gonadotropinas sobre la biosíntesis de hormonas esteroideas en células de la pared folicular, mediante la activación de receptores acoplados al AMPc. R, receptor; LH, hormona luteinizante; FSH, hormona estimulante del foliculo; ATP, adenosín trifosfato; AMPc, adenosín monofosfato cíclico (Modificado de Gore-Langton y Armstrong, 1994).

Posteriormente, la androstenediona es transformada a testosterona (Figura 3) por actividad de la 17β -hidroxiesteroide deshidrogenasa. En células de la teca interna, la biosíntesis de hormonas esteroides es estimulada por la LH, que se encarga de aumentar la actividad enzimática y la recaptura del colesterol (Gore-Langton y Armstrong, 1994).

Una vez que los andrógenos son liberados por células de la teca interna, difunden a través de la lámina basal y son captados por las células de la granulosa, donde, por acción de las aromatasas (P450arom) son metabolizados de androstenediona a estrona o de testosterona a estradiol (Figura 3) en el retículo endoplásmico liso (Gore-Langton y Armstrong, 1994; Van Voorhis, 1999b).

En las células de la granulosa, la FSH estimula la transcripción de las aromatasas. Estas enzimas además de encontrarse en el ovario, se localizan en el cerebro, en el testículo y en tejidos como el adiposo y la placenta (Van Voorhis, 1999b).

ATRESIA FOLICULAR

Las hembras de los vertebrados nacen con un número finito de ovocitos, la gran mayoría de los cuales degeneran por atresia (Devine y col., 2000). Se estima que en el humano, más del 99% de los folículos llegan a ser atrésicos, mientras que en el ratón, alrededor del 77% (Byskov, 1978).

La degeneración y pérdida folicular, denominada atresia, puede ocurrir en cualquier estadio del desarrollo folicular, desde los primordiales hasta los antrales. Este proceso se da continuamente con cada ciclo reproductivo hasta que el conjunto de folículos queda completamente depletado y ocurre la senescencia reproductiva (Hsueh y col., 1994; Kaipia y Hsueh, 1997; Oliver y col., 1999).

Las gonadotropinas son las principales hormonas que regulan el proceso del desarrollo folicular. En el ovario, la LH y la FSH modulan la secreción de progesterona y estradiol; ésta última hormona estimula a nivel local la proliferación celular lo que favorece el crecimiento y maduración folicular (Bergman, y col., 1998; Geneser, 2000).

A las gonadotropinas se les considera como factores que inhiben el proceso por el que los folículos degeneran y van a la atresia (Ojeda y Urbanski, 1994; Oliver y col., 1999). Durante la etapa prepúber, la incidencia de atresia parece deberse a la presencia de bajas concentraciones de FSH, que son capaces de iniciar el desarrollo de los folículos hasta el estadio antral, pero que son insuficientes para estimular

el crecimiento folicular a término (Van Voorhis, 1999a; Oliver y col., 1999). Se ha mostrado que en ratas de 26 días de edad, la administración de PMSG (gonadotropina del suero de yegua preñada), rescata a los folículos de la atresia (Braw y Tsafiriri, 1980), razón por la cual a la FSH se le confiere un efecto anti-atrésico al inhibir la degeneración y muerte celular en los folículos ováricos (Oliver y col., 1999).

Durante el proceso de atresia folicular, se observan cambios morfológicos en estructuras como el ovocito, las células de la granulosa y las células tecales. En el estadio inicial de atresia, algunas células de la granulosa muestran picnosis nuclear⁴, especialmente las que están en contacto con el antro (Van Voorhis, 1999a; Oliver y col., 1999).

En la etapa tardía de atresia, las células de la granulosa no proliferan y comienzan a morir y a descamarse en el antro folicular. Las células de la teca se hipertrofian, la membrana basal se fragmenta y los leucocitos invaden el folículo. En éste momento, el ovocito puede presentar fragmentación de la vesícula germinal y conservarlo en meiosis detenida (Oliver y col., 1999).

Durante el estadio final de atresia, la contracción folicular progresa hasta la casi completa involución del folículo (Van Voorhis, 1999a; Oliver y col., 1999). Eventualmente el ovocito degenera y se fragmenta. Los remanentes del folículo atrésico persisten dentro del ovario como estructuras semejantes a una cicatriz (Oliver y col., 1999). La teca de aquellos folículos que van a la atresia forma parte de la glándula intersticial (Greenwald y Roy, 1994).

⁴ Se denomina picnosis nuclear a la tinción irregular del núcleo de las células de la granulosa, debido a la fragmentación del material genético (Oliver y col., 1999).

Los folículos atrésicos se caracterizan por un incremento en la síntesis de androstenediona, como resultado de la hipertrofia tecal. Asimismo, en células de la granulosa se observa una marcada reducción en la actividad de las aromatasas y en la síntesis de estradiol, en respuesta a la disminución en el número de receptores a las gonadotropinas (Hsueh y col., 1994; Van Voorhis, 1999a).

El mecanismo que favorece el proceso de atresia folicular es la apoptosis o muerte celular programada (Hsueh y col., 1994; Tilly, 1998; Markstrom y col., 2002), que se caracteriza por la condensación de la cromatina nuclear y la fragmentación del ADN (Van Voorhis, 1999a).

SÍNDROME DEL OVARIO POLIQUÍSTICO

El síndrome del ovario poliquístico es un desorden endócrino y metabólico que afecta del 6 al 10% de la población femenina (Tsilchorozidou y col., 2004), siendo la causa más común de infertilidad en mujeres en edad reproductiva (Franks, 1995; Yen, 2001a; Hoyt y Schmidt, 2004). Esta patología se caracteriza comúnmente por el fracaso ovulatorio, presencia de quistes foliculares, irregularidad del ciclo menstrual, hiperandrogenismo (elevada concentración de andrógenos) y concentraciones variables de gonadotropinas (Vaitukaitis, 1983; Taketani, 1990; Yen, 2001a). En muchos de los casos, el síndrome se asocia con hipertensión y resistencia a la insulina (Tsilchorozidou y col., 2004), que son factores que incrementan el riesgo de enfermedades cardiovasculares (Kannel, 2002). Asimismo, mujeres con el SOPQ desarrollan una respuesta hiperactiva al estrés (Lobo y col., 1983).

Estudios realizados en pacientes con el síndrome han mostrado que existe una considerable heterogeneidad de síntomas entre las mujeres que presentan dicha patología (Malacara, 1990; O'Driscoll y col., 1994; Yen, 2001a). Este hecho dio la pauta para que en 1990 se llevara a cabo una conferencia en el *National Institute of Child Health and Human Development* donde se definió, que la elevada concentración de andrógenos y la disfunción ovulatoria, serían los criterios considerados para el diagnóstico del síndrome (Zawadzki y Dunaif, 1992).

A pesar de los progresos hechos hacia la caracterización de los diferentes componentes histológicos y neuroendócrinos del síndrome del ovario poliquístico, la etiología precisa permanece aún desconocida. Sin embargo, parece claro que su iniciación o progresión puede ser determinada por una variedad de factores interrelacionados, entre los cuales se encuentran el eje hipotálamo-hipófisis, el microambiente ovárico o adrenal e incluso, la inervación ovárica (Semenova, 1969; Franks, 1995; Franks y col., 1996; Lobo, 1996; Diamanti-Kandarakis y Dunaif, 1996; Yen, 2001a; Tsilchorozidou y col., 2004).

FOLICULOGÉNESIS EN EL SÍNDROME DEL OVARIO POLIQUÍSTICO

El desarrollo folicular es un proceso complejo regulado vía hormonal y neural (Dissen y col., 1993; Ojeda y col., 1994; Richards, 1994; Williams y Stancel, 1996; Sánchez Criado, 1999). En el síndrome del ovario poliquístico, ambas vías se encuentran modificadas (Lewis, 2001; Yen, 2001a; Barria y col., 1993, Rosa-E-Silva y col., 2003).

En pacientes con SOPQ, la morfología ovárica revela un incremento en el tamaño de las gónadas (de manera bilateral) y la presencia de una cápsula engrosada que se encuentra desprovista de vascularización (Malacara, 1990; Yen, 2001a).

En éstas mujeres, la anovulación se manifiesta como infertilidad y disturbios menstruales (Franks, 1995). Las mujeres afectadas con la patología generalmente empiezan la menarca a una edad normal (10 a 16 años de edad) sin embargo, sus ciclos permanecen irregulares progresando de oligomenorrea (menstruaciones esporádicas) a amenorrea (ausencia de sangrados menstruales) (Hunter y Sterrett, 2000).

En mujeres con síndrome del ovario poliquístico, la administración del citrato de clomifeno (antagonista estrogénico) permite reiniciar la ciclicidad menstrual y la ovulación, en respuesta al bloqueo de la retroalimentación negativa de los estrógenos y al consecuente incremento en la secreción de las gonadotropinas (Franks, 1995; Williams y Stancel, 1996; Goldfien y Monroe, 1998; Yen, 2001a). Estos resultados han llevado a sugerir que la alteración en el ciclo menstrual y en la respuesta ovulatoria resulta del incremento en la concentración de estrógenos circulantes (Yen, 2001a, b).

Por otro lado, algunos estudios clínicos han indicado que la foliculogénesis en el SOPQ se caracteriza por un incremento en la población de folículos primarios (Hughesden, 1982; Yen, 1991), aparición de múltiples folículos antrales de tamaño medio y ausencia de folículos preovulatorios (Erickson, 1991). Este patrón de desarrollo folicular podría reflejar un aumento en el reclutamiento folicular pero con interrupción del desarrollo de los folículos en el estadio antral (Yen, 2001a).

El análisis histológico de los ovarios de mujeres con el síndrome revela la presencia de quistes foliculares, cuya teca interna es prominente y frecuentemente tiene la apariencia de estar luteinizada. Además se observan pocos cuerpos lúteos y una menor cantidad de cuerpos blancos (Malacara, 1990).

Según Yen (2001a), los quistes foliculares se originan a partir de folículos antrales que no culminaron su crecimiento y desarrollo. Se ha mostrado que los quistes se caracterizan por la presencia de una cavidad antral muy amplia, disminución de las capas de la granulosa e hiperplasia tecal (mayor crecimiento de las células de la teca), como se observa en la figura 4.

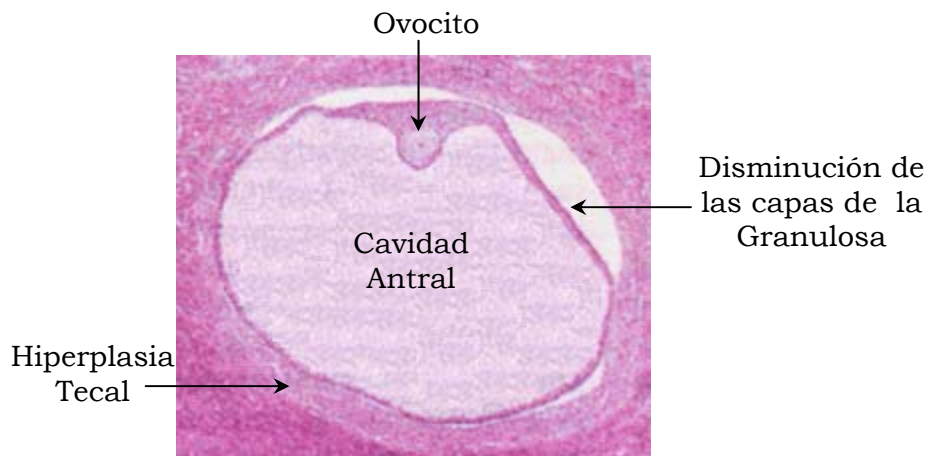


Figura 4. Representación de un quiste folicular del ovario de la mujer (Tomado de Yen, 2001a).

Algunos autores han indicado que esta alteración en el desarrollo folicular posiblemente resulte de la modificación en la concentración de las hormonas gonadotrópicas (Franks y col., 1996; Yen, 2001a).

PERFIL HORMONAL EN EL SÍNDROME DEL OVARIO POLIQUÍSTICO

El ciclo hormonal femenino depende de la interacción entre la GnRH, producida por el hipotálamo, las gonadotropinas hipofisarias y las hormonas esteroideas sintetizadas por el ovario (Hoyt y Schmidt, 2004). Si cualquiera de las hormonas secretadas por el eje hipotálamo-hipófisis-ovario llega a estar crónicamente elevada o suprimida, puede ocurrir la disfunción del ciclo (Hoyt y Schmidt, 2004).

En las mujeres con síndrome del ovario poliquístico, las concentraciones de gonadotropinas se mantienen constantes, a diferencia de lo que ocurre durante un ciclo normal, donde se observan fluctuaciones (Hoyt y Schmidt, 2004). La gran mayoría de las pacientes con el síndrome presentan elevadas concentraciones de LH (Franks, 1989) y bajas o normales de FSH (Holte y col., 1994). Éste patrón de secreción no permite el incremento de LH necesario para la luteinización del folículo, lo que resulta en una falta de ovulación y una elevada concentración de andrógenos. Por otro lado, la concentración de FSH, aún cuando por lo general se encuentra dentro de un rango normal, no presenta fluctuaciones a lo largo del ciclo, lo que impide que el desarrollo folicular sea regulado adecuadamente (Lewis, 2001). Estas diferencias en el modelo de secreción de las gonadotropinas han sido atribuidas al incremento en la frecuencia de los pulsos de GnRH (Rebar y col., 1976; Yen, 2001a).

Estudios clínicos han mostrado que en mujeres con el síndrome, la elevada concentración plasmática de LH (Franks, 1989; Taylor y Hall, 1996) produce una estimulación crónica sobre las células de la teca, lo que trae aparejado el incremento en la secreción de testosterona y androstenediona (Figura 5) (Gilling-Smith y col., 1994). Es posible que este hiperandrogenismo en mujeres con SOPQ, resulte de la sobreexpresión de la P450c17 α (Rosenfield y col., 1990; Rosenfield, 1999), enzima limitante en la biosíntesis de los andrógenos (Yen, 2001a).

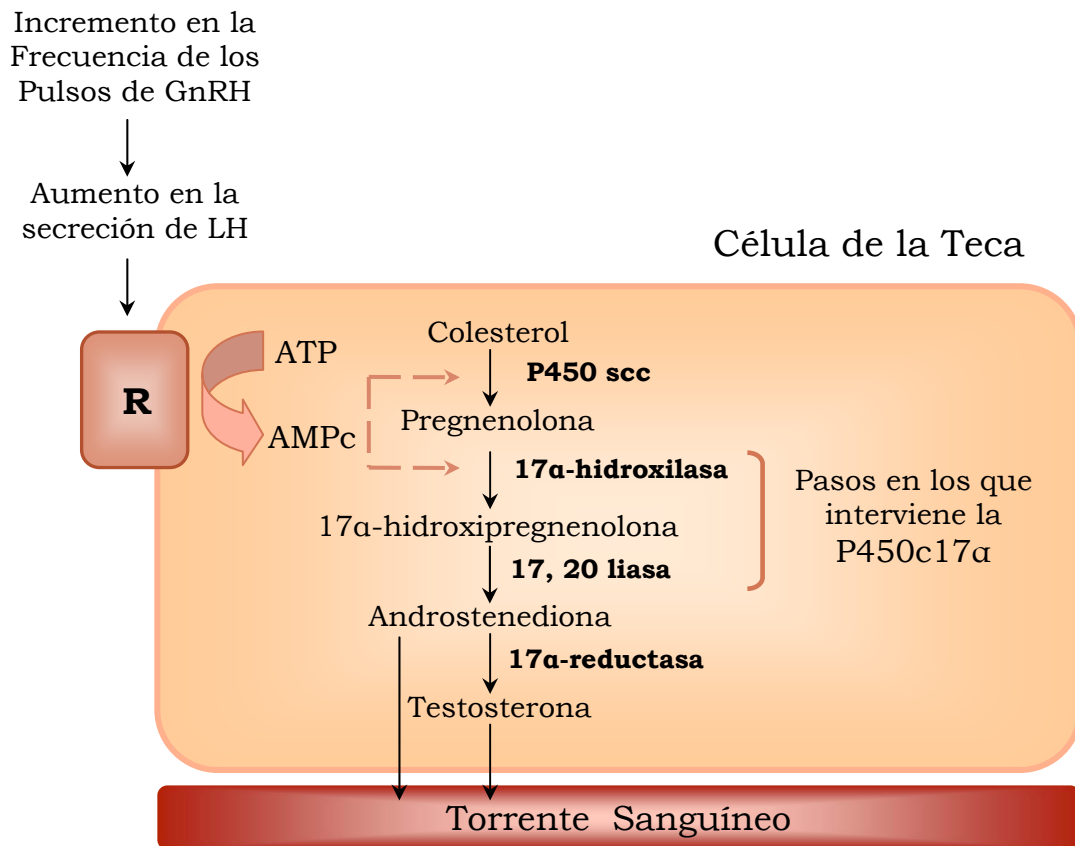


Figura 5. Estimulación crónica de la LH sobre las células tecales. Una vez que la LH se une a su receptor de membrana, se incrementa la expresión del complejo enzimático P450c17 α , que cataliza la actividad de la 17 α -hidroxilasa y de la 17,20 liasa lo que resulta en una mayor conversión de progesterona en andrógenos. GnRH, hormona liberadora de gonadotropinas; LH, hormona luteinizante; R, receptor; ATP, adenosín trifosfato; AMPc, adenosín monofosfato cíclico (Modificado de Yen, 2001a).

A pesar de que en las mujeres con síndrome del ovario poliquístico la producción intraovárica de estrógenos es baja, se observa un incremento en la concentración circulante de la hormona, como resultado de la conversión periférica de androstenediona en estrona. Dichos estrógenos estimulan la liberación continua de LH e inhiben la secreción de FSH (Hoyt y Schmidt, 2004).

En estudios previos se ha mostrado que la disfunción hormonal que caracteriza al SOPQ favorece la expresión de otras enfermedades, incluyendo disfunción en el metabolismo de la glucosa, dislipidemia, enfermedades cardiovasculares, así como cáncer de mama y de endometrio (Mishell, 1997; Solomon, 1999).

SÍNDROME DEL OVARIO POLIQUÍSTICO INDUCIDO POR LA ADMINISTRACIÓN DE VALERATO DE ESTRADIOL

Las investigaciones realizadas en cuanto al estudio del síndrome del ovario poliquístico no sólo se ha enfocado al análisis de observaciones clínicas, sino también experimentales. Existen evidencias de que en roedores, la administración de valerato de estradiol, un fármaco de larga actividad, que tiene una vida media de siete a 15 días (Rosa-E-Silva y col., 2003), induce el desarrollo del SOPQ (Brawer y col., 1978, 1986; Hemmings y col., 1983; Schulster y col., 1984; Farookhi y col., 1985; Barria y col., 1993; Lara y col., 1993; Stener-Victorin y col., 2000, 2005; Rosa-E-Silva y col., 2003).

Aún cuando el modelo de la rata con SOPQ no reproduce todas las características de la patología en humanos, el valerato de estradiol favorece el desarrollo de un estado anovulatorio que exhibe muchas de las características endócrinas y morfológicas observadas en la mujer.

Según varios autores, la administración de valerato de estradiol a ratas altera la dinámica del desarrollo folicular, lo cual es evidenciado por una disminución en el número de folículos sanos (Rosa-E-Silva y col., 2003), incremento en la población de folículos antrales pequeños, ausencia de cuerpos lúteos (Barria y col., 1993; Rosa-E-Silva y col., 2003), anovulación y formación de quistes foliculares (Brawer y col., 1978, 1986; Lara y col., 2000).

Las estructuras quísticas que se forman en el ovario de la rata, a pesar de que son muy semejantes a las que se observan en la mujer, carecen de ovocito (Lara y col., 2000).

Algunos autores han mostrado que en la rata, la administración de VE reduce de manera significativa el tamaño de las gónadas (Brawer y col., 1986; Lara y col., 1993; Rosa-E-Silva y col., 2003) debido a la disminución en el número de cuerpos lúteos, como se observa en la figura 6 (Rosa-E-Silva y col., 2003).

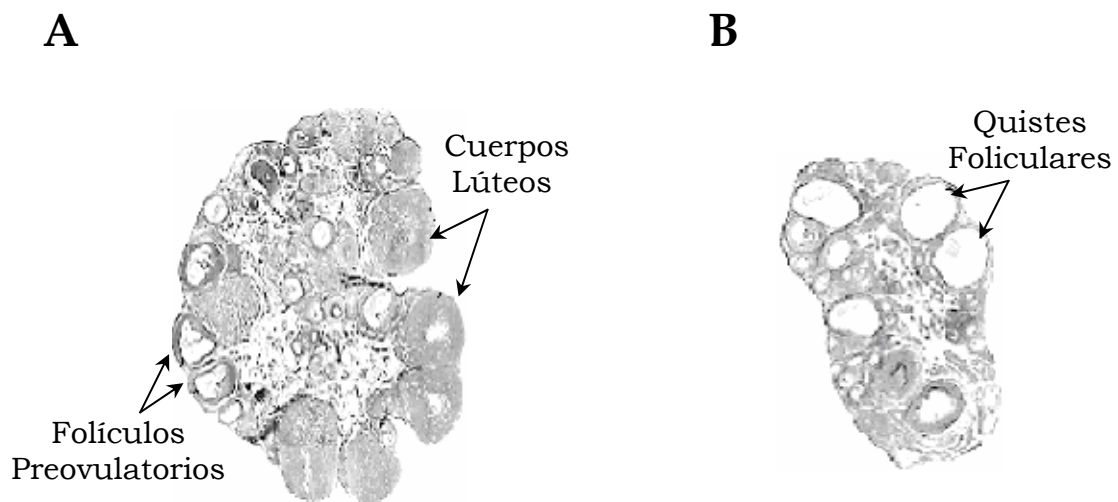
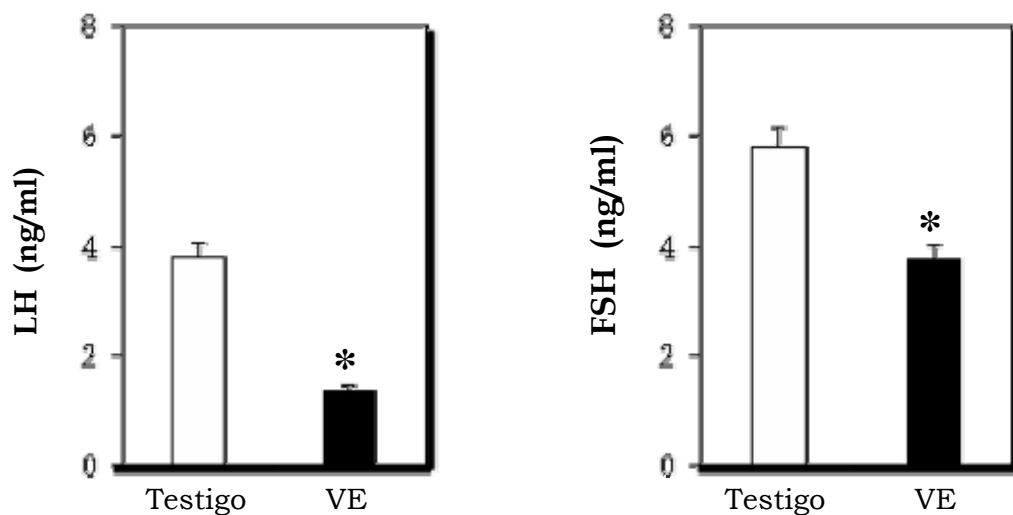


Figura 6. Corte histológico del ovario de un animal testigo (A), en comparación con el de un animal con SOPQ (B), donde se observa una marcada reducción de la masa ovárica por efecto del tratamiento con valerato de estradiol (Tomado de Rosa-E-Silva y col., 2003).

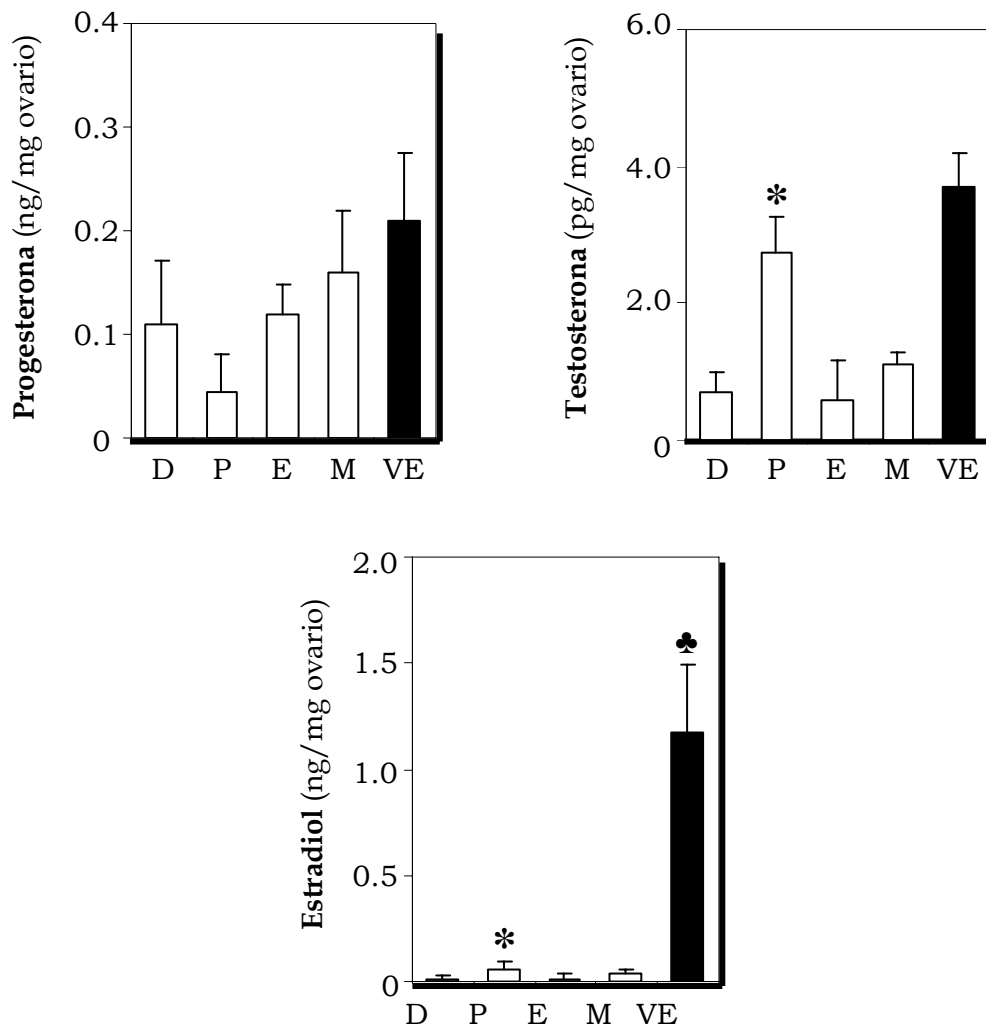
En el modelo de la rata infantil tratada con valerato de estradiol, se observa una disminución en la concentración sérica de gonadotropinas (Figura 7), donde el decremento es más evidente en LH que en FSH (Rosa-E-Silva y col. 2003). Según los autores, esto podría verse facilitado por la disminución en la sensibilidad de la hipófisis a la GnRH, por el incremento en la producción de estradiol ovárico o por una mayor sensibilidad de la hipófisis al mecanismo de retroalimentación del estradiol.



* $p < 0.05$ vs. su grupo testigo.

Figura 7. Concentración sérica de LH y FSH en animales testigo y en animales tratados con valerato de estradiol (VE). LH, hormona luteinizante; FSH, hormona estimulante del folículo (Modificado de Rosa-E-Silva y col., 2003).

Por estudios *in vitro* se ha observado en el modelo del animal con SOPQ una alteración en la esteroidogénesis ovárica, donde la secreción de estradiol incrementa de manera significativa, posiblemente como resultado de una mayor actividad de las aromatasas. Mientras que la secreción de progesterona y andrógenos no se ve modificada (Figura 8) (Barria y col., 1993).



* $p < 0.05$ vs. las otras etapas del ciclo estral.

♣ $p < 0.05$ vs. animales cíclicos.

Figura 8. Cuantificación *in vitro* de la secreción ovárica de progesterona, andrógenos y estradiol en animales testigo en diestro (D), proestro (P), estro (E) o metaestro (M) en comparación con la producción de esteroides ováricos en animales tratados con valerato de estradiol (VE) (Modificado de Barria y col., 1993).

Adicionalmente se ha sugerido que el síndrome del ovario poliquístico, inducido por la administración de valerato de estradiol, está asociado a la hiperactividad de las fibras simpáticas que arriban al ovario, vía nervio ovárico superior (Lara y col., 1993; Barria y col., 1993; Rosa-E-Silva y col., 2003). Esto es evidenciado por un aumento en la capacidad de las terminales nerviosas para incorporar y liberar noradrenalina, por un incremento en el contenido de NA ovárica y por la disminución en el número de receptores β -adrenérgicos en células de la teca interna y de la glándula intersticial (Lara y col., 1993).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El consumo de productos que contienen altas cantidades de conservadores o el uso de ciertos medicamentos con actividad estrogénica, ha sido un problema para el sector salud dado que se le ha asociado con el incremento en la infertilidad femenina.

El síndrome del ovario poliquístico se caracteriza por una alteración en la concentración sérica de hormonas gonadotrópicas y esteroides que culminan con la presencia de grandes quistes foliculares, aciclicidad y falta de ovulación. Sin embargo, se desconoce cuál es la dinámica del patrón de crecimiento y desarrollo folicular y cómo son los cambios en la capacidad de síntesis por parte del ovario poliquístico, desde que inicia la pubertad, o bien, desde que se desarrolla el síndrome, hasta la etapa adulta.

Por lo que en el presente estudio se decidió utilizar un modelo experimental que permita reproducir el síndrome del ovario poliquístico. Para ello, a ratas en la etapa infantil se les administró una sola dosis de valerato de estradiol y se evaluó su efecto a nivel del desarrollo folicular y de la alteración en la concentración sérica de hormonas esteroides en la etapa juvenil, puberal y adulta. Además se analizó si en dicho modelo experimental se presenta o no la ovulación y si existe correlación entre los perfiles hormonales y la citología vaginal.

HIPÓTESIS

Dado que en la rata, la administración de valerato de estradiol induce el desarrollo del síndrome del ovario poliquístico, las alteraciones en la dinámica del crecimiento folicular y en la síntesis de hormonas ováricas, características de este síndrome, dependerán de la edad de administración del fármaco y del período de evolución.

OBJETIVO GENERAL

- ☞ Analizar las funciones ováricas en la rata juvenil, púber y adulta con síndrome del ovario poliquístico, en respuesta a la administración de valerato de estradiol en la etapa infantil.

OBJETIVOS PARTICULARES

- ☞ Evaluar en el modelo del animal infantil, el efecto de la administración de valerato de estradiol, sobre la dinámica del crecimiento y diferenciación folicular.
- ☞ Analizar el efecto de la inducción del síndrome del ovario poliquístico sobre el inicio de la pubertad, el ciclo estral y la respuesta ovulatoria en la rata púber o adulta.
- ☞ Estudiar el efecto de la administración de valerato de estradiol a los 10, 14 ó 21 días de edad sobre las concentraciones séricas de progesterona, testosterona y estradiol en la rata juvenil, púber o adulta.

MATERIAL Y MÉTODO

Se utilizaron ratas hembras de la cepa CII-ZV que al momento del nacimiento (día cero) fueron sexadas y colocadas en camadas de seis crías por caja, cinco hembras y un macho, con la finalidad de evitar alteraciones en la maduración del sistema nervioso central y del aparato reproductor del animal (Salas y col., 1991).

Todos los animales fueron mantenidos en condiciones controladas de iluminación con 14 horas de luz por 10 horas de oscuridad (luces encendidas de las 05:00 a las 19:00 horas), a una temperatura de 22 ± 2 °C, con libre acceso a la madre hasta el día del destete (21 días de vida) y posteriormente al agua y al alimento hasta el día de la autopsia.

DISEÑO EXPERIMENTAL

Los animales se dividieron en los siguientes grupos experimentales: un grupo fue inyectado i.p. con una sola dosis de valerato de estradiol (2.0 mg en 0.1 ml de aceite de maíz), dosis que se ha probado es capaz de inducir el desarrollo del síndrome del ovario poliquístico (Brawer y col., 1986; Lara y col., 1993). Como grupo testigo se consideró a los animales inyectados i.p. con 0.1 ml de aceite de maíz (Vh) (Figura 9). Cada grupo estuvo conformado de 10 a 12 animales.

Las ratas fueron inyectadas a los 10, 14 ó 21 días de edad. En el caso de las hembras tratadas a los 10 días de edad, la autopsia se realizó a los 25 días, al primer estro vaginal o a los 90 días de edad; mientras que, en aquellos animales a los que se les administró el fármaco a los 14 ó 21 días de edad, la autopsia se llevó a cabo en el día del PEV o a los 90 días de edad. En las hembras que se sacrificaron a los 90 días de edad, se verificó la presencia del estro vaginal (Figura 9).

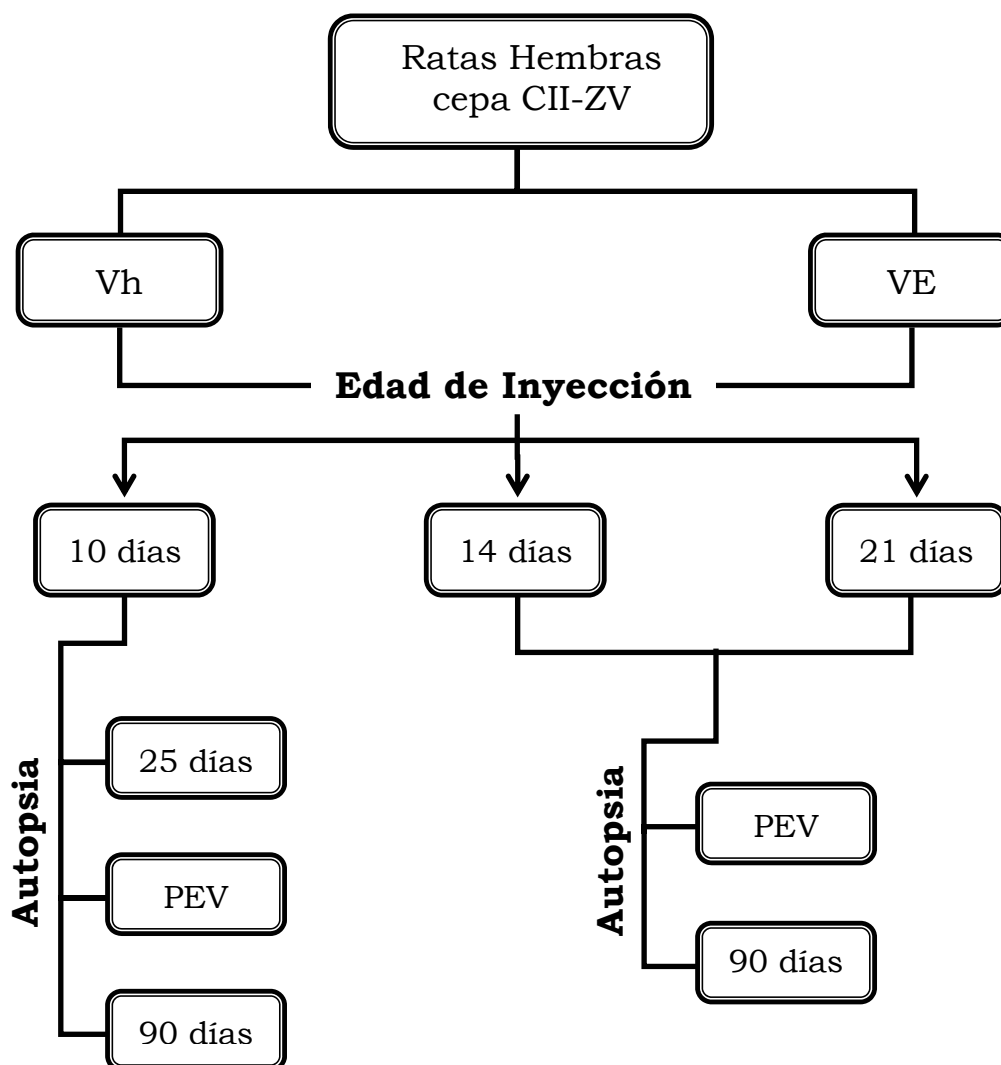


Figura 9. Representación esquemática del diseño experimental.

Vh, vehículo; VE, valerato de estradiol; PEV, primer estro vaginal.

APERTURA VAGINAL Y CICLO ESTRAL

Tomando en cuenta que el valerato de estradiol adelanta el inicio de la pubertad (Rosa-E-Silva y col., 2003), el monitoreo de la apertura vaginal se realizó a partir de la fecha de administración del fármaco. En el caso de los animales testigo, la canalización de la vagina se verificó a partir de los 30 días de vida.

Una vez que las hembras presentaron canalización de la vagina, se inició la toma del frotis vaginal y se evaluó el ciclo estral. La frecuencia y duración de las diferentes fases del ciclo estral fueron evaluadas por la proporción relativa de células cornificadas y leucocitos (fase de Diestro 1 o Metaestro), leucocitos (fase de Diestro 2), células epiteliales nucleadas (fase de proestro) y células cornificadas (fase de Estro) (Freeman, 1994; Sánchez Criado, 1999).

PROCEDIMIENTO DE AUTOPSIA

Al momento de la autopsia, los animales fueron pesados y posteriormente sacrificados por decapitación entre las 10:00 y 12:00 horas del día del estro. Los ovarios, el útero y las glándulas adrenales fueron disecados y pesados en balanza analítica. Los oviductos se revisaron con ayuda de un microscopio estereoscópico para realizar el conteo de ovocitos liberados.

La sangre del tronco fue colectada en tubos de ensaye y se dejó coagular por 30 minutos a temperatura ambiente. Las muestras se centrifugaron a 3500 r.p.m, durante 15 minutos. Posteriormente se separó el suero del botón celular y se dividió en cinco alícuotas de 150 µl. Las muestras de suero se mantuvieron a -20 °C hasta el momento de la cuantificación de hormonas esteroideas.

VALORACIÓN DE LA DINÁMICA DEL CRECIMIENTO FOLICULAR

Los ovarios de los animales de cada grupo experimental fueron fijados en solución de Bouin por 24 horas, deshidratados en alcohol (al 70 y 96%) y cloroformo e incluidos en parafina. Posteriormente se realizaron los cortes histológicos de manera seriada a 10 μm de grosor y fueron teñidos con la técnica de hematoxilina-eosina.

Para la determinación del diámetro folicular, se midió con ayuda de un ocular micrométrico (de 1/100 divisiones), el diámetro mayor (D_1) y el perpendicular a éste (D_2), que corresponden a la distancia de membrana basal a membrana basal, como se muestra en la figura 10. El diámetro promedio (D_p) se calculó con la relación: $D_p = (D_1 + D_2)/2$, y se determinó solo en aquellos folículos cuyo ovocito presentó núcleo y nucleolo bien definido.

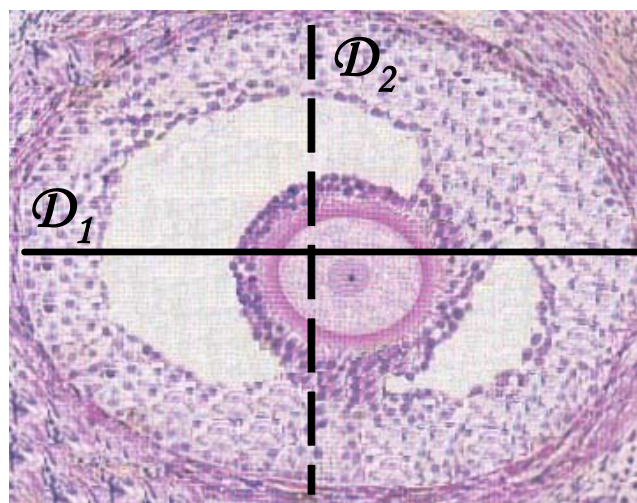


Figura 10. Representación esquemática de la medición del diámetro folicular. D_1 , diámetro mayor; D_2 , diámetro perpendicular.

La dinámica del crecimiento folicular se evaluó mediante la proporción de folículos sanos, atrésicos y quistes foliculares. Se consideraron como **folículos atrésicos** aquellos que presentaron al menos una de las siguientes características: picnosis nuclear de las células de la granulosa, descamación de éstas en la cavidad antral e hiperplasia de las capas celulares de la teca (Greenwald y Roy, 1994).

Fueron definidos como **quistes foliculares** (Figura 11A) aquellos que presentaron una cavidad antral amplia, disminución de las capas de la granulosa, hiperplasia tecal y ausencia de ovocito (Brawer y col., 1986; Lara y col., 2000). También consideramos como quistes foliculares aquellas estructuras que se encuentran en un estadio transitorio entre un folículo preovulatorio normal y un quiste folicular. Según Lara y colaboradores (2000), estas estructuras de transición, denominadas **folículos tipo III**, se caracterizan por presentar o no ovocito, contienen de cuatro a cinco capas de células de la granulosa, con una teca aparentemente normal y presentan invaginaciones y evaginaciones en la pared folicular (Figura 11B).

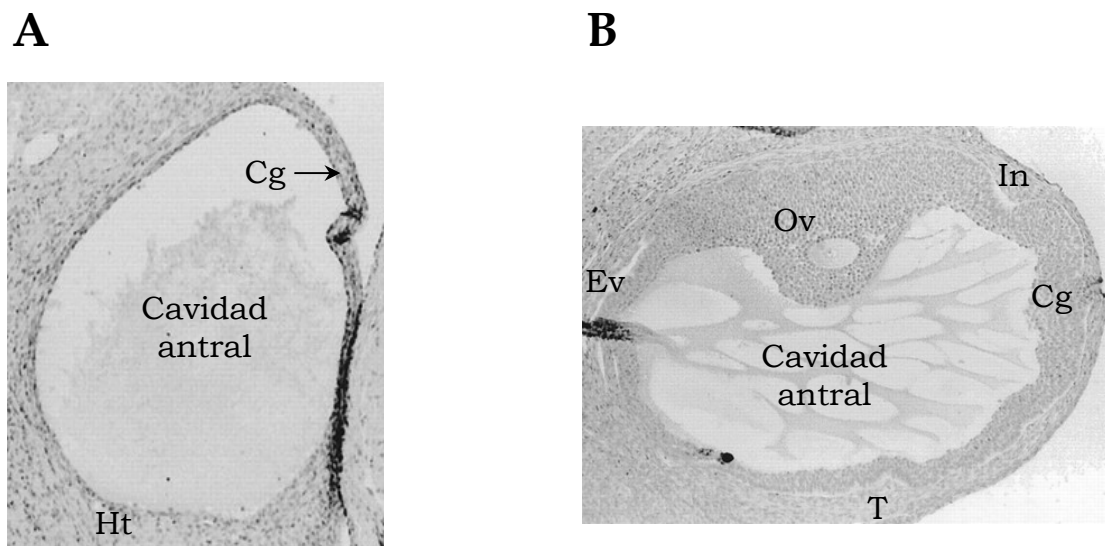


Figura 11. Aspectos morfológicos de un quiste folicular (A) y de un folículo tipo III (B). Cg, células de la granulosa; Ht, hiperplasia tecal; Ov, ovocito; T, células de la teca; In, invaginaciones; Ev, evaginaciones (Tomado de Lara y col., 2000).

CUANTIFICACIÓN DE HORMONAS ESTEROIDES

La cuantificación de progesterona, testosterona y estradiol, se realizó por radioinmunoanálisis (RIA) de fase sólida, con un kit Coat-A-Count (Diagnostic Products, Los Angeles, CA, USA).

En tubos de polipropileno (que ya contienen el anticuerpo específico: anti-progesterona- I^{125} , anti-estradiol- I^{125} , anti-testosterona- I^{125}), se adicionó la muestra problema (100 μ l) y un ml de la hormona radioactiva (I^{125}), para cada hormona. Para facilitar la reacción, la mezcla se agitó en un vortex durante un minuto y se incubó durante tres horas a temperatura ambiente. Transcurrido éste tiempo, la muestra se decantó, se removió el exceso de líquido y se determinó la concentración de las hormonas en la muestra problema, en función de las cuentas por minuto y de una curva de calibración, con la ayuda de un contador de rayos gamma modelo Cobra 5005, Packard TM.

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

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El peso corporal, el peso de los órganos (ovarios, útero y glándulas adrenales) y la concentración sérica de hormonas esteroides se analizó por la prueba de Análisis de Varianza Multifactorial (ANDEVA) seguida por la prueba de Tukey-Kramer.

La edad de apertura vaginal y del primer estro, el número de ovocitos liberados y el número de folículos se analizó por la prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney.

La tasa de animales ovulantes (número de animales que ovulan/número total de animales) se analizó por la prueba de Fisher o de J_i^2 .

En los casos donde se requirió efectuar una comparación entre dos grupos, se utilizó la prueba “ t ” de Student. Aquellas diferencias cuya probabilidad fue menor o igual a 0.05, se consideraron como estadísticamente significativas.

RESULTADOS

HISTOLOGÍA OVÁRICA Y DINÁMICA DEL CRECIMIENTO FOLICULAR

El análisis histológico del ovario reveló la formación de quistes foliculares en todos los grupos que fueron tratados con VE. En la figura 12 se muestran las fotomicrografías representativas del folículo preovulatorio de un animal testigo (12A) y del quiste folicular de un animal tratado con el fármaco (12B).

100 x

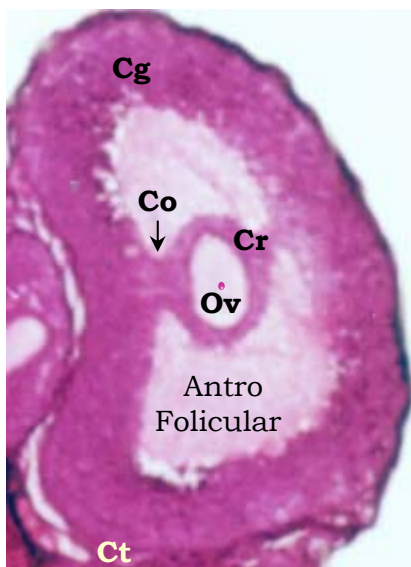
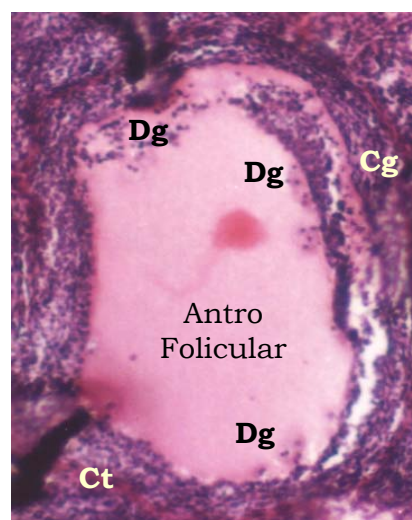


Figura 12A. Fotomicrografía de un folículo preovulatorio que presenta un ovocito (Ov), su corona radiada (Cr), cúmulo oóforo (Co), varias capas de células de la granulosa (Cg) y un compartimiento tecal (Ct).

Figura 12B. Fotomicrografía de un quiste folicular en el que se observa una disminución en las capas de la granulosa (Cg), ausencia de ovocito⁵, hiperplasia de las células de la teca (Ct) y descamación de las células de la granulosa (Dg) en el antro folicular.

100 x



⁵ Todos los cortes anteriores y posteriores de los quistes foliculares fueron analizados para asegurar la ausencia de ovocito.

*Efecto de la administración de valerato de estradiol a ratas hembras de **10 días de edad** que fueron sacrificadas a los 25 días de edad, al primer estro vaginal o a los 90 días de edad, sobre la histología ovárica y la dinámica del crecimiento folicular.*

En la figura 13 (A-B) se muestra el corte histológico representativo del ovario de animales inyectados a los 10 días de edad con vehículo o con VE y autopsiados a los **90 días de edad**, en el día del estro vaginal.

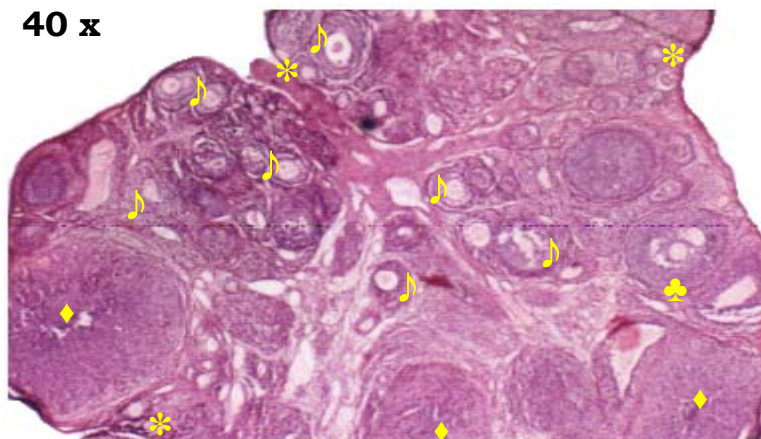


Figura 13A. Fotomicrografía del ovario de un animal tratado con **vehículo** a los 10 días de edad y autopsiado a los **90 días de edad**, en el que se muestran varios folículos primarios (*), secundarios (♪), un folículo preovulatorio (♣) y algunos cuerpos lúteos (♠).

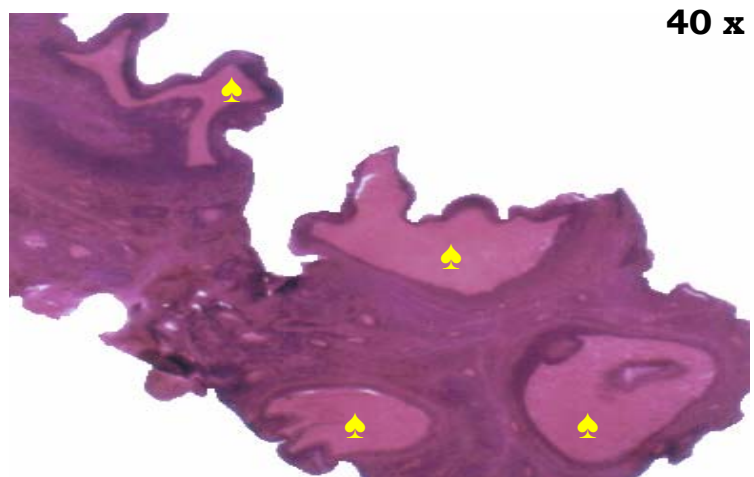


Figura 13B. Fotomicrografía del ovario de un animal inyectado con **VE** a los 10 días y autopsiado a los **90 días de edad**, donde se observa una significativa reducción de la masa ovárica y la formación de varios quistes foliculares (♠).

Para evaluar si la administración de VE ocasionó alteraciones en el crecimiento y la diferenciación de los folículos, se analizó la población folicular de tres ovarios tomados al azar, de cada grupo experimental.

En las hembras inyectadas con VE a los **10 días de edad** y sacrificadas a los 25 días de edad, el número total de folículos fue mayor que en el grupo testigo. En todos los grupos tratados con el fármaco, el número de folículos sanos fue significativamente menor que en el grupo testigo, en tanto que la población de folículos atrésicos fue similar (Cuadro 1).

La administración de VE resultó en la formación de quistes foliculares. En el grupo de animales sacrificados a los 90 días de edad se observó una mayor cantidad de quistes en comparación con los grupos sacrificados a los 25 días de edad o al primer estro vaginal, aunque este incremento no llegó a ser estadísticamente significativo (Cuadro 1).

Cuadro 1. Media \pm eem del número de **foliculos totales, sanos, atrésicos y quistes foliculares** en animales inyectados a los 10 días de edad con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) y autopsiados a los 25 días de edad, al primer estro vaginal (PEV) o a los 90 días de edad.

Tratamiento	Edad de Autopsia	Número de Foliculos			
		Totales	Sanos	Atrésicos	Quistes
Vh	25 días	104.3 \pm 0.9	68.6 \pm 8.8	35.6 \pm 9.7	
VE		114.0 \pm 2.5*	36.6 \pm 5.7*	46.0 \pm 5.7	31.3 \pm 4.7
Vh	PEV	110.6 \pm 3.5	77.6 \pm 6.3	33.0 \pm 8.1	
VE		103.0 \pm 1.5	15.3 \pm 3.5*♣	41.3 \pm 0.9	46.3 \pm 1.9 ♣
Vh	90 días	126.0 \pm 6.4 ♪	53.0 \pm 12.4	73.0 \pm 9.5 ♠	
VE		114.6 \pm 7.9	11.3 \pm 3.8*♣	41.6 \pm 13.7	61.6 \pm 10.1

* p < 0.05 vs. su grupo testigo (Prueba "t" de Student).

♪ p < 0.05 vs. Vh (25 días) (Prueba "t" de Student).

♠ p < 0.05 vs. Vh (PEV) (Prueba "t" de Student).

♣ p < 0.05 vs. VE (25 días) (Prueba "t" de Student).

En comparación con el grupo testigo, las hembras tratadas con VE a los **10 días de edad** mostraron una disminución en el número de folículos sanos con un diámetro promedio menor de 350 μm (Cuadro 2).

Cuadro 2. Media \pm eem del número de **folículos sanos**, distribuidos en tres rangos de diámetro, en animales inyectados a los 10 días de edad con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) y autopsiados a los 25 días de edad, al primer estro vaginal (PEV) o a los 90 días de edad.

Tratamiento 10 días	Edad de Autopsia	Número de Folículos Sanos		
		Pequeños $\leq 349 \mu\text{m}$	Medianos 350 a 449 μm	Preovulatorios $\geq 450 \mu\text{m}$
Vh	25 días	68.3 \pm 8.8	0.3 \pm 0.3	0
VE		36.7 \pm 5.8 *	0	0
Vh	PEV	73.7 \pm 5.2	2.6 \pm 1.2 ♪	1.3 \pm 0.9 ♪
VE		14.0 \pm 2.6 *♣	1.0 \pm 0.6 ♣	0.3 \pm 0.3
Vh	90 días	53.0 \pm 12.4	0 ♠	0 ♠
VE		11.3 \pm 3.8 *♣	0 ♦	0 ♦

* $p < 0.05$ vs. su grupo testigo (Prueba "t" de Student).

♪ $p < 0.05$ vs. Vh (25 días) (Prueba "t" de Student).

♠ $p < 0.05$ vs. Vh (PEV) (Prueba "t" de Student).

♣ $p < 0.05$ vs. VE (25 días) (Prueba "t" de Student).

♦ $p < 0.05$ vs. VE (PEV) (Prueba "t" de Student).

*Efecto de la administración de valerato de estradiol a ratas hembras de **14 días de edad** que fueron sacrificadas en el día del primer estro vaginal o a los 90 días de edad, sobre la histología ovárica y la dinámica del crecimiento folicular.*

En la figura 14 (A-B) se muestra el corte histológico representativo del ovario de animales inyectados a los 14 días de edad con vehículo o con VE y autopsiados en el día del **primer estro vaginal**.

40 x

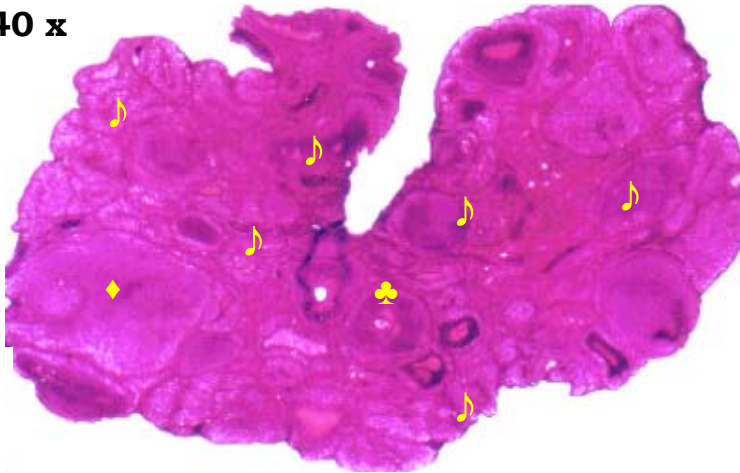


Figura 14A. Fotomicrografía del ovario de un animal tratado con **vehículo** a los 14 días de edad y autopsiado al **PEV** que presenta varios folículos secundarios (♪), un folículo preovulatorio (♣) y un cuerpo lúteo (♦).

40 x

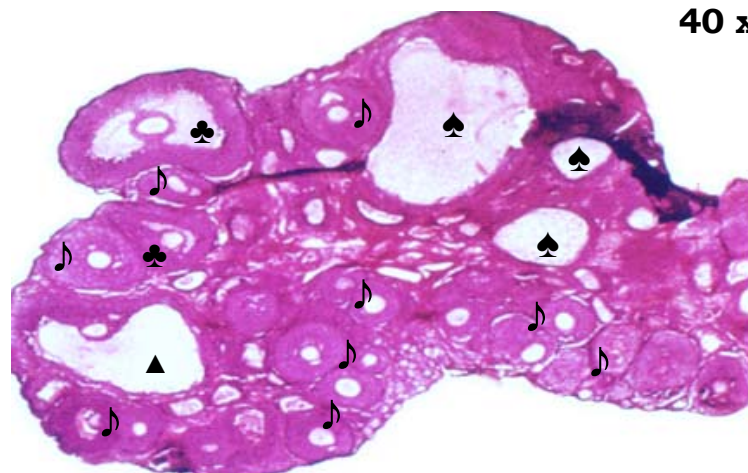


Figura 14B. Fotomicrografía del ovario de un animal tratado con **VE** a los 14 días de edad y autopsiado al **PEV** que muestra una gran cantidad de folículos secundarios (♪), algunos folículos preovulatorios (♣), un folículo tipo III (▲) y quistes foliculares (♠).

En las hembras tratadas con VE a los **14 días de edad** y sacrificadas en el día del PEV ó a los 90 días de edad, el número total de folículos fue similar al grupo testigo; sin embargo, la población de folículos sanos fue significativamente menor, mientras que la de atrésicos fue mayor que en el grupo testigo. En los ovarios de estos animales se observó la presencia de quistes foliculares en una proporción semejante en los dos grupos experimentales (Cuadro 3).

Cuadro 3. Media \pm eem del número de **folículos totales, sanos, atrésicos y quistes foliculares** en animales inyectados a los 14 días de edad con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) y autopsiados en el día del primer estro vaginal (PEV) o a los 90 días de edad.

Tratamiento	Edad de Autopsia	Número de Folículos			
		Totales	Sanos	Atrésicos	Quistes
14 días	PEV				
Vh		111.5 \pm 3.5	64.0 \pm 2.0	47.5 \pm 1.5	
VE		113.0 \pm 4.2	24.3 \pm 2.4*	67.6 \pm 3.3*	21.0 \pm 8.7
90 días	90 días				
Vh		128.3 \pm 5.8	83.6 \pm 1.8♠	44.6 \pm 4.3	
VE		124.6 \pm 4.1	14.3 \pm 3.4*	72.3 \pm 8.3*	38.0 \pm 3.0

* p < 0.05 vs. su grupo testigo (Prueba "t" de Student).

♠ p < 0.05 vs. Vh (PEV) (Prueba "t" de Student).

Las hembras tratadas con VE a los **14 días de edad** y autopsiadas en la pubertad o en la etapa adulta mostraron menor número de folículos sanos pequeños que en el grupo testigo. En los animales tratados con el fármaco y sacrificados en el día del PEV se observó una menor cantidad de folículos preovulatorios (Cuadro 4).

Cuadro 4. Media \pm eem del número de **folículos sanos**, distribuidos en tres rangos de diámetro, en animales inyectados a los 14 días de edad con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) y autopsiados en el día del primer estro vaginal (PEV) o a los 90 días de edad.

Tratamiento	Edad de Autopsia	Número de Folículos Sanos		
		Pequeños $\leq 349 \mu\text{m}$	Medianos 350 a 449 μm	Preovulatorios $\geq 450 \mu\text{m}$
14 días				
Vh	PEV	57.5 \pm 1.5	3.5 \pm 1.5	3.0 \pm 1.0
VE		21.3 \pm 2.02 *	2.7 \pm 0.7	0.3 \pm 0.3 *
90 días				
Vh	90 días	82.7 \pm 1.5 ♠	0.7 \pm 0.7	0.3 \pm 0.3
VE		14.0 \pm 3.05 *	0.3 \pm 0.3 ♦	0

* p < 0.05 vs. su grupo testigo (Prueba "t" de Student).

♠ p < 0.05 vs. Vh (PEV) (Prueba "t" de Student).

♦ p < 0.05 vs. VE (PEV) (Prueba "t" de Student).

*Efecto de la administración de valerato de estradiol a ratas hembras de **21 días de edad** que fueron sacrificadas en el día del primer estro vaginal o a los 90 días de edad, sobre la histología ovárica y la dinámica del crecimiento folicular.*

En la figura 15 (A-B) se muestra el corte histológico representativo del ovario de animales inyectados a los 21 días de edad con vehículo o con VE y autopsiados a los **90 días de edad**, en el día del estro vaginal.

100 x

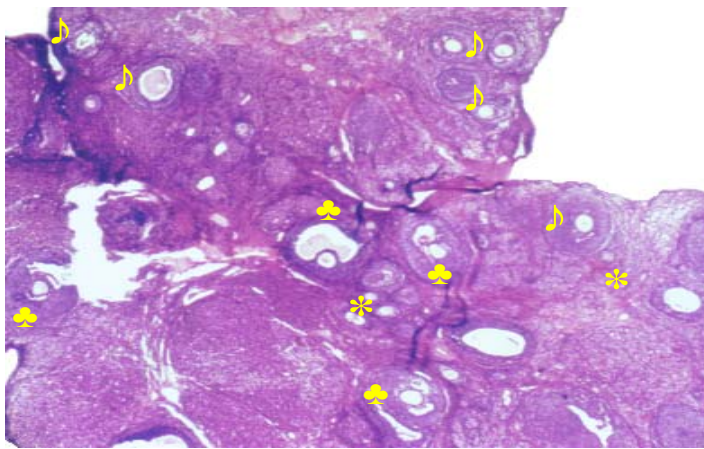


Figura 15A. Fotomicrografía del ovario de un animal tratado con **vehículo** a los 21 días de edad y autopsiado a los **90 días de edad** en el que se observan folículos primarios (*), secundarios (♪) y preovulatorios (♣).

40 x

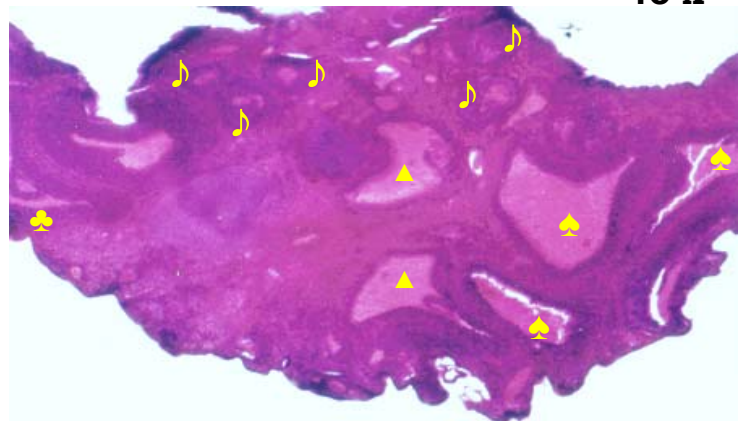


Figura 15B. Fotomicrografía del ovario de un animal tratado con **VE** a los 21 días y autopsiado a los **90 días de edad** donde se observan varios folículos secundarios (♪), un folículo preovulatorio (♣), algunos folículos tipo III (▲) y quistes foliculares (♠).

En los animales tratados con VE a los **21 días de edad** y autopsiados en el día del primer estro vaginal ó a los 90 días de edad, la población total de folículos fue similar al grupo testigo, aunque se observó un menor número de folículos sanos. La administración del fármaco resultó en la formación de quistes foliculares, independientemente de la edad de autopsia (Cuadro 5).

Cuadro 5. Media \pm eem del número de **folículos totales, sanos, atrésicos y quistes foliculares** en animales inyectados a los 21 días de edad con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) y autopsiados en el día del primer estro vaginal (PEV) o a los 90 días de edad.

Tratamiento	Edad de Autopsia	Número de Folículos			
		Totales	Sanos	Atrésicos	Quistes
Vh	PEV	105.0 \pm 2.9	55.0 \pm 1.7	50.0 \pm 2.5	
VE		107.6 \pm 13.2	23.3 \pm 5.9 *	62.0 \pm 7.9	22.3 \pm 10.8
Vh	90 días	120.3 \pm 2.3 ♠	86.6 \pm 2.9 ♠	33.6 \pm 5.2 ♠	
VE		124.6 \pm 5.2	31.0 \pm 10.1 *	46.6 \pm 1.2	47.0 \pm 5.5

* p < 0.05 vs. su grupo testigo (Prueba "t" de Student).

♠ p < 0.05 vs. Vh (PEV) (Prueba "t" de Student).

En las hembras tratadas con VE a los **21 días de edad** y autopsiadas en la etapa púber o adulta se observó una disminución en el número de folículos sanos con diámetro menor de 350 μm ; mientras que en los animales inyectados con el fármaco y sacrificados a los 90 días de edad no se observaron folículos sanos con diámetro entre 350-449 μm . En los ovarios de las hembras tratadas con el fármaco no se observaron folículos en estadio preovulatorio (Cuadro 6).

Cuadro 6. Media \pm eem del número de **folículos sanos**, distribuidos en tres rangos de diámetro, en animales inyectados a los 21 días de edad con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) y autopsiados en el día del primer estro vaginal (PEV) o a los 90 días de edad.

Tratamiento	Edad de Autopsia	Número de Folículos Sanos		
		Pequeños $\leq 349 \mu\text{m}$	Medianos 350 a 449 μm	Preovulatorios $\geq 450 \mu\text{m}$
Vh	PEV	46.7 \pm 2.0	5.0 \pm 0.6	3.3 \pm 1.9
VE		21.3 \pm 6.4 *	2.0 \pm 1.5	0 *
Vh	90 días	79.7 \pm 2.9 \spadesuit	3.3 \pm 0.9	3.7 \pm 0.9
VE		31.0 \pm 10.2 *	0 *	0 *

* p < 0.05 vs. su grupo testigo (Prueba "t" de Student).

\spadesuit p < 0.05 vs. Vh (PEV) (Prueba "t" de Student).

\diamond p < 0.05 vs. VE (PEV) (Prueba "t" de Student).

INICIO DE LA PUBERTAD

La administración de VE resultó en una menor masa corporal en aquellas hembras a las que se les inyectó el fármaco a los 14 ó 21 días de edad y se les sacrificó en el día del primer estro vaginal.

Todos los grupos tratados con VE mostraron adelanto en la edad de apertura vaginal y del primer estro, respecto a su grupo testigo. La inyección del fármaco en animales de 14 ó 21 días de edad resultó en una mayor sincronización en cuanto a la edad de apertura vaginal y la aparición del primer estro (Cuadro 7).

Cuadro 7. Media \pm eem del **peso corporal (g)**, **edad de apertura vaginal (APV)** y **primer estro vaginal (PEV)** en animales inyectados con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) a los 10, 14 ó 21 días de edad y autopsiados en el día del primer estro vaginal.

Tratamiento	Edad de Administración	n	Peso Corporal	A P V P E V (días)	
Vh	10 días	11	114.7 \pm 3.8	35.4 \pm 0.6	37.8 \pm 0.9
VE		11	107.04 \pm 3.9	25.4 \pm 0.2 *	27.0 \pm 0.5 *
Vh	14 días	11	119.9 \pm 5.4	35.8 \pm 0.8	38.9 \pm 0.8
VE		12	57.5 \pm 0.9 ♠♣	26.0 \pm 0 *	26.0 \pm 0 *
Vh	21 días	16	118.9 \pm 4.9	36 \pm 0.9	39.3 \pm 1.1
VE		8	55.7 \pm 1.8 ♠♣	26.2 \pm 0.2 *	26.6 \pm 0.2 *

♠p < 0.05 vs. su grupo testigo (Prueba “t” de Student).

♣p < 0.05 vs. VE (10 días) (Prueba de ANDEVA seguida por la prueba de Tukey-Kramer).

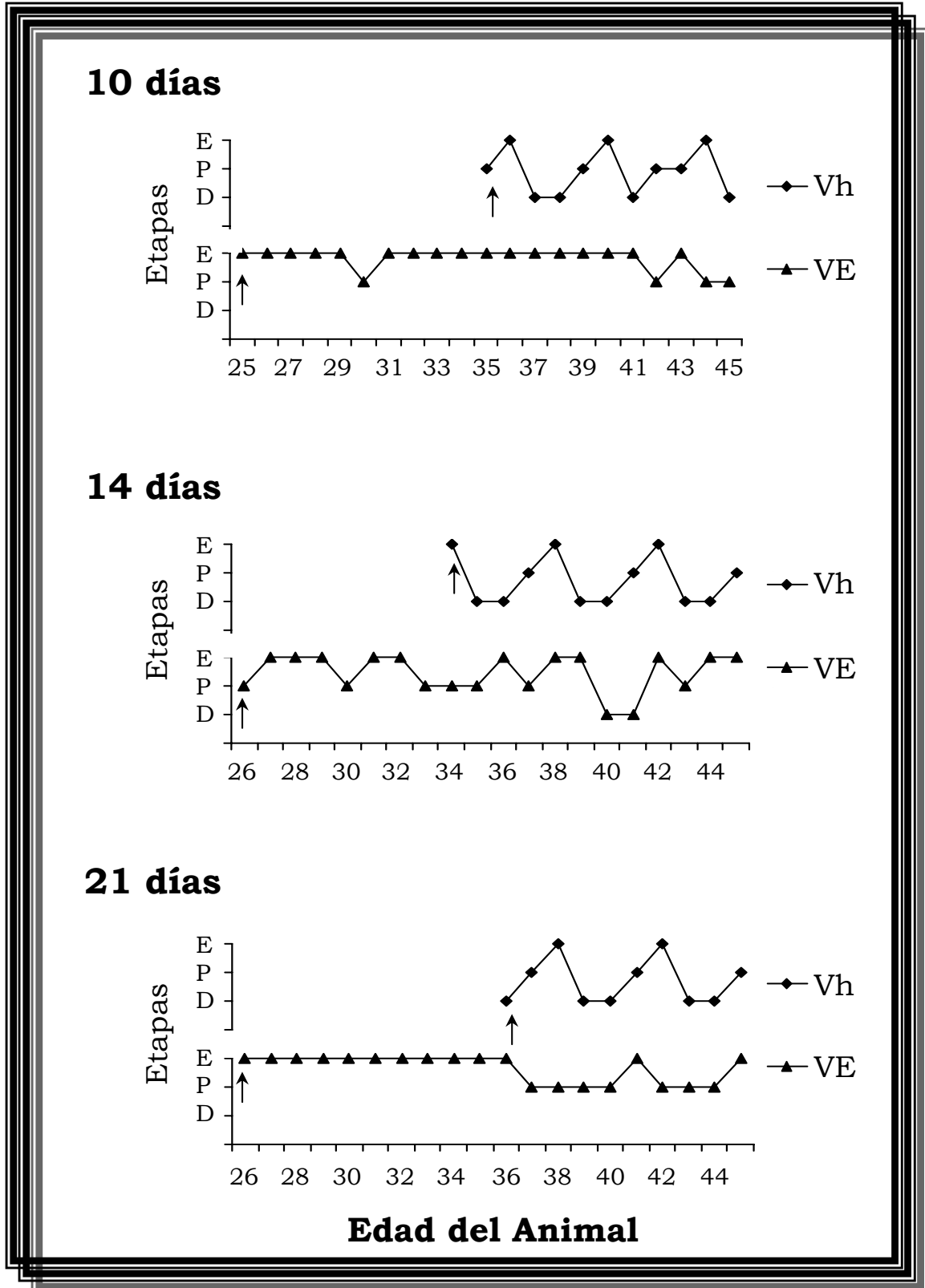
*p < 0.05 vs. su grupo testigo (Prueba de Kruskal-Wallis seguida por la prueba de U de Mann-Whitney).

CICLO ESTRAL

El monitoreo del ciclo estral se inició a partir del momento en que las hembras presentaron apertura vaginal y se concluyó a los 90 días de edad. La representación gráfica del ciclo estral sólo se muestra hasta los 45 días de edad debido a que este patrón se repite en los días sucesivos de vida del animal (Figura 16).

La administración del vehículo en ratas infantiles no modificó el patrón del ciclo estral, independientemente de la edad a la que se inyectó. Las hembras que fueron tratadas con VE a los **10 ó 21 días de edad** y sacrificadas en la etapa adulta presentaron un patrón de estro constante por periodos prolongados, a diferencia de las hembras inyectadas con el fármaco a los **14 días de edad**, en las que únicamente se observaron fluctuaciones del ciclo estral, sin que estas llegaran a ser cíclicas (Figura 16).

Figura 16. Patrón representativo del **ciclo estral** de animales tratados con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) a los 10, 14 ó 21 días de edad y autopsiados a los 90 días de edad.



↑ Edad de Apertura Vaginal.

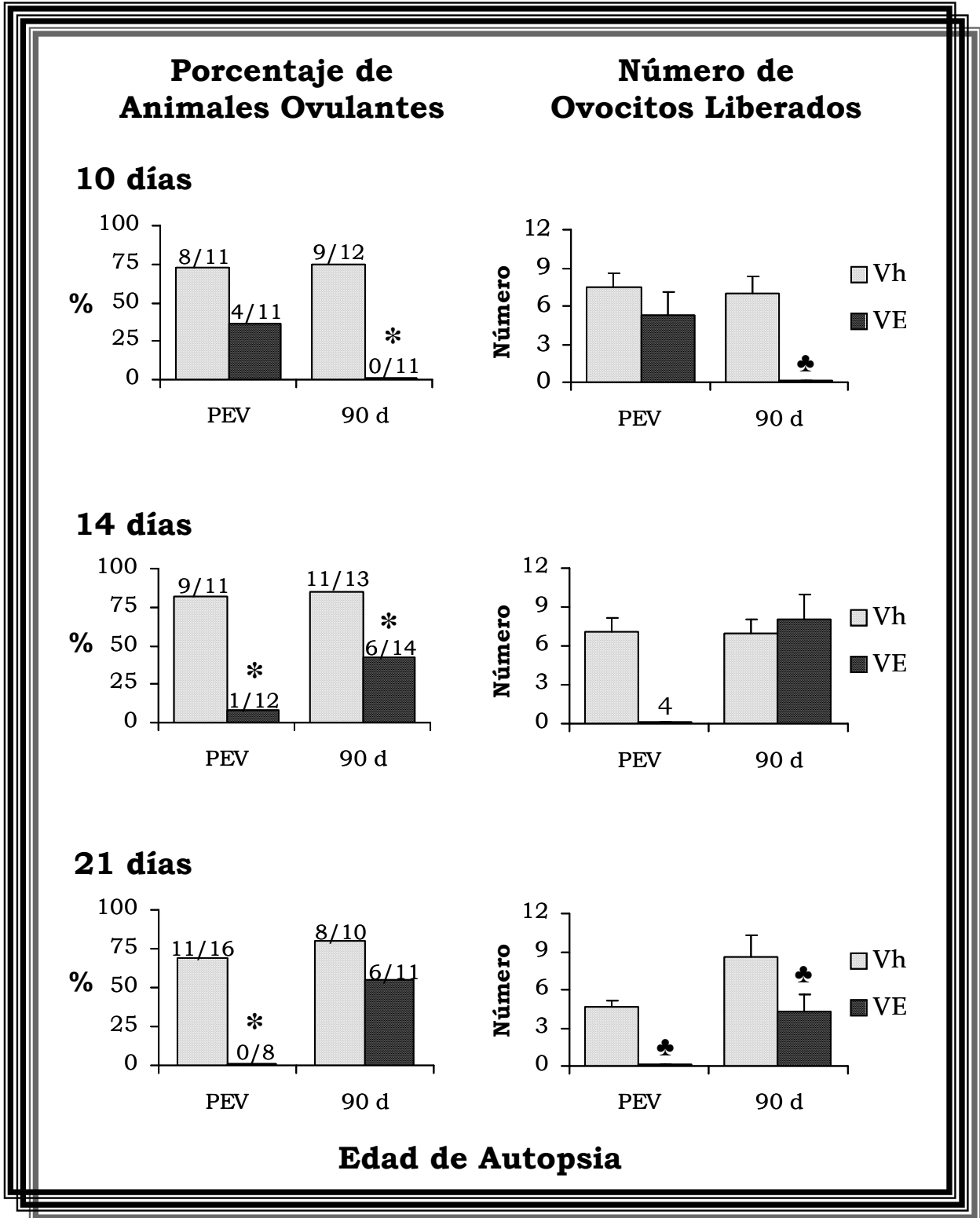
RESPUESTA OVULATORIA

El tratamiento con VE en hembras de **10 días de edad** que fueron sacrificadas en el día del primer estro vaginal, no modificó de manera significativa el número de animales ovulantes ni el número total de ovocitos liberados. Cuando los efectos del fármaco fueron evaluados a los 90 días de edad, se observó un bloqueo total de la ovulación, en comparación con el grupo testigo (Figura 17).

Cuando el VE se administró a los **14 días de edad** sólo una hembra ovuló y liberó cuatro ovocitos. De los animales sacrificados en la etapa adulta sólo el 43% ovuló, con una cuota de ovocitos semejante al del grupo testigo (Figura 17).

En los animales inyectados con VE a los **21 días de edad** y autopsiados a la pubertad se observó un bloqueo total de la ovulación. En el grupo sacrificado a los 90 días de edad no se modificó la tasa de animales ovulantes, aunque sí disminuyó el número total de ovocitos liberados (Figura 17).

Figura 17. Respuesta Ovulatoria en animales tratados con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) a los 10, 14 ó 21 días de edad y autopsiados al primer estro vaginal (PEV) o a los 90 días de edad.



* $p < 0.05$ vs. su grupo testigo (Prueba de Fisher).

♣ $p < 0.05$ vs. su grupo testigo (Prueba de Kruskal-Wallis seguida por la prueba de U de Mann-Whitney).

**PESO CORPORAL Y PESO ABSOLUTO
DE LA MASA OVÁRICA, EL ÚTERO
Y LA MASA ADRENAL**

El tratamiento con VE en animales de **10 días de edad** no modificó el peso corporal. En las hembras inyectadas con el fármaco y autopsiadas al PEV o a los 90 días de edad se observó una disminución de la masa ovárica, en comparación con la de su grupo testigo.

El peso absoluto del útero fue significativamente mayor en las hembras tratadas con el fármaco y autopsiadas a los 25 días de edad; no así, en los animales sacrificados al primer estro vaginal, donde se observó un menor peso del órgano. La masa adrenal fue significativamente menor en el grupo autopsiado a los 90 días de edad, en comparación con su respectivo grupo testigo (Cuadro 8).

Cuadro 8. Media \pm eem del **peso corporal (g)** y de los **pesos absolutos (mg)** de la masa ovárica, útero y masa adrenal de animales tratados a los 10 días de edad con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) y autopsiados a los 25 días, al primer estro vaginal (PEV) o a los 90 días de edad.

Tratamiento 10 días	Edad de Autopsia	n	Peso Corporal	Masa Ovárica	Útero	Masa Adrenal
Vh	25 días	9	55.8 \pm 3.1	19.4 \pm 0.9	33.9 \pm 2.3	16.9 \pm 1.1
VE		11	56.5 \pm 1.6	19.7 \pm 0.7	107.6 \pm 4.3*	16.5 \pm 1.3
Vh	PEV	11	114.7 \pm 3.8	38.6 \pm 1.9	174.7 \pm 9.2	25.3 \pm 2.3
VE		11	107.1 \pm 3.9	21.6 \pm 1.9*	93.2 \pm 10.9*	23.4 \pm 2.2
Vh	90 días	12	223.2 \pm 4.2	72.02 \pm 1.9	325.7 \pm 17.6	44.4 \pm 2.8
VE		11	235.8 \pm 5.2	59.5 \pm 3.4*	361.9 \pm 15.2	25.3 \pm 1.6*

* p < 0.05 vs. su grupo testigo (Prueba "t" de Student).

En el grupo de animales tratados con VE a los **14 días de edad** y autopsiados en el día del PEV, se observó que el peso corporal, el peso de la masa ovárica, el útero y la masa adrenal fue significativamente menor, que en el grupo testigo. Sin embargo, cuando el peso de los órganos se expresó en función del peso corporal, se observó un mayor peso del útero (241.4 ± 8.9 *vs.* 142.3 ± 5.2 , $p < 0.05$) y de la masa adrenal (34.03 ± 2.1 *vs.* 22.3 ± 1.1 , $p < 0.05$), respecto a su grupo testigo (Cuadro 9).

En las hembras sacrificadas a los 90 días de edad, la inyección del fármaco resultó en un mayor peso de los ovarios que en el grupo testigo (Cuadro 9).

Cuadro 9. Media \pm eem del **peso corporal (g)** y de los **pesos absolutos (mg)** de la masa ovárica, útero y masa adrenal de animales tratados a los 14 días de edad con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) y autopsiados en el día del primer estro vaginal (PEV) o a los 90 días de edad.

Tratamiento 14 días	Edad de Autopsia	n	Peso Corporal	Masa Ovárica	Útero	Masa Adrenal
Vh	PEV	11	119.9 \pm 5.4	40.9 \pm 3.9	170.8 \pm 10.2	26.7 \pm 1.8
VE		12	57.5 \pm 0.9*	21.9 \pm 0.8*	138.4 \pm 4.6*	19.4 \pm 1.1*
Vh	90 días	13	256.7 \pm 10.6	78.8 \pm 2.8	374.2 \pm 16.7	51.6 \pm 3.6
VE		14	238.9 \pm 8.5	87.7 \pm 3.3*	348.2 \pm 10.2	49.2 \pm 3.1

* $p < 0.05$ vs. su grupo testigo (Prueba "t" de Student).

El tratamiento con VE a los **21 días de edad** resultó en un menor peso corporal y pesos absolutos de la masa ovárica y adrenal en los animales que fueron autopsiados en el día del PEV. Cuando éstos valores se expresaron en función del peso corporal, el peso del útero fue significativamente menor (136.5 ± 7.5 vs. 252.7 ± 13.6 , $p < 0.05$) que en el grupo testigo (Cuadro 10).

En el caso de las hembras tratadas con VE y sacrificadas a los 90 días de edad, el peso del útero fue menor que en el grupo testigo (Cuadro 10).

Cuadro 10. Media \pm eem del **peso corporal (g)** y de los **pesos absolutos (mg)** de la masa ovárica, útero y masa adrenal de animales tratados a los 21 días de edad con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) y autopsiados en el día del primer estro vaginal (PEV) o a los 90 días de edad.

Tratamiento 21 días	Edad de Autopsia	n	Peso Corporal	Masa Ovárica	Útero	Masa Adrenal
Vh	PEV	16	118.9 ± 4.9	40.2 ± 3.1	163.9 ± 11.6	26.9 ± 1.4
VE		8	$55.7 \pm 1.8^*$	$25.9 \pm 2.3^*$	142.5 ± 5.7	$19.4 \pm 1.8^*$
Vh	90 días	10	238.4 ± 9.5	67.05 ± 3.8	381.7 ± 18.9	41.7 ± 3.4
VE		11	221.0 ± 7.4	67.1 ± 4.7	$317.0 \pm 13.1^*$	37.2 ± 2.5

* $p < 0.05$ vs. su grupo testigo (Prueba "t" de Student).

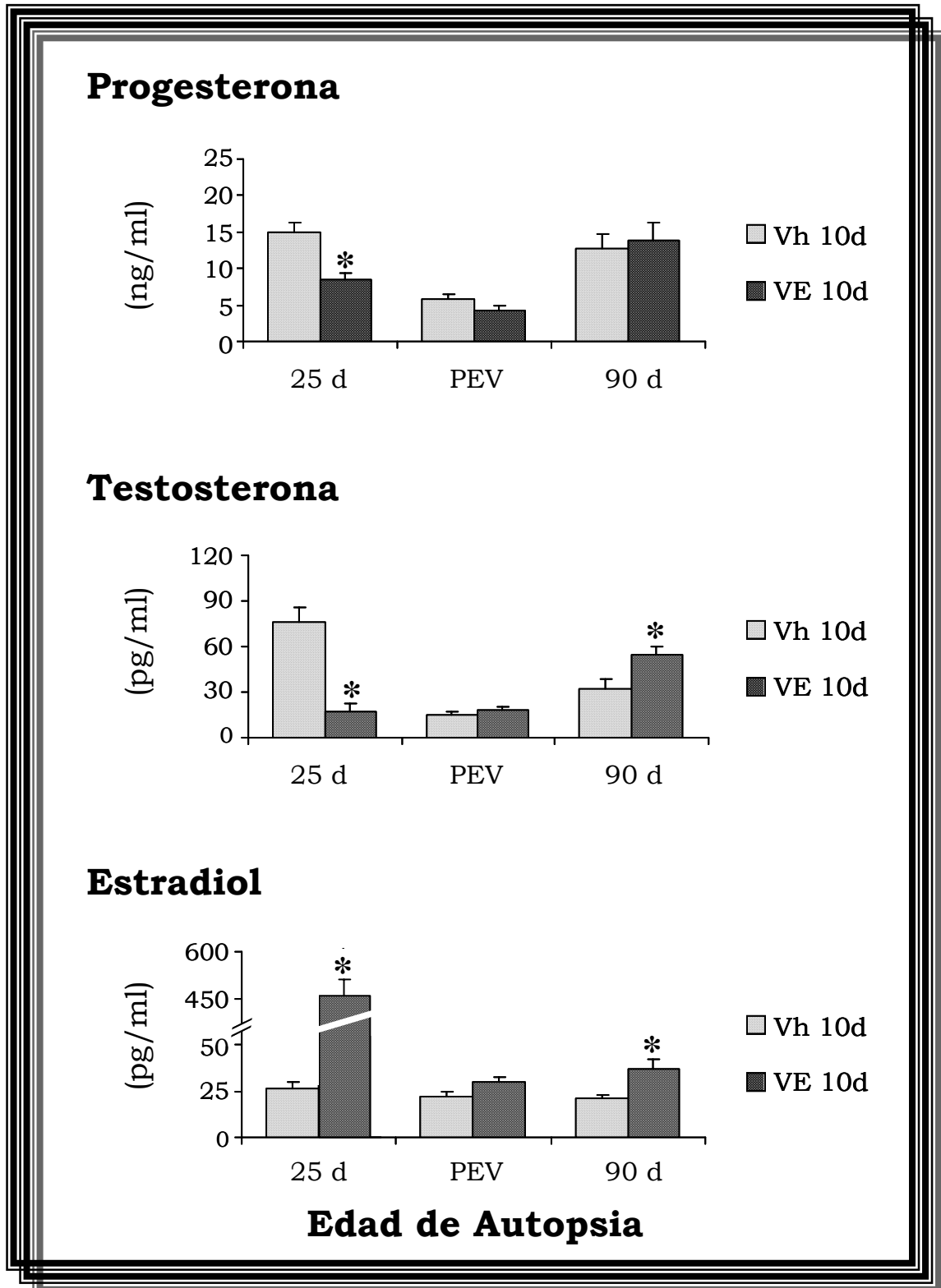
HORMONAS ESTEROIDES

La administración de VE en animales de **10 días de edad** que fueron sacrificados a los 25 días de edad resultó en una menor concentración sérica de **progesterona** que en el grupo testigo (Figura 18).

La concentración de **testosterona** en el suero de los animales tratados con VE y autopsiados a los 25 días de edad fue menor que en el grupo testigo, mientras que en los animales sacrificados a los 90 días de edad fue significativamente mayor (Figura 18).

En las hembras tratadas con VE y sacrificadas a los 25 ó 90 días de edad se observó una mayor concentración sérica de **estradiol**, en comparación con sus respectivos grupos testigos (Figura 18).

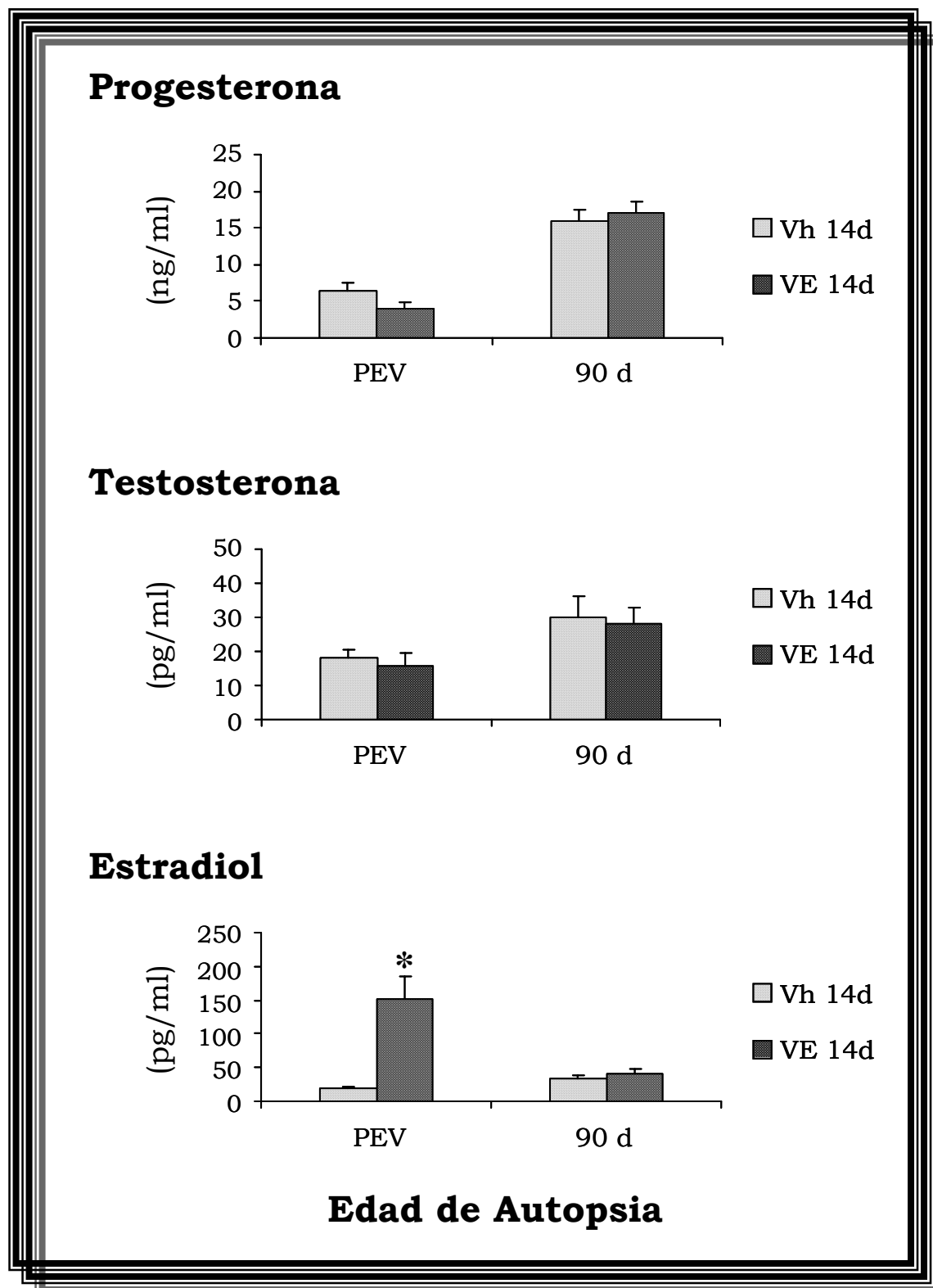
Figura 18. Media \pm eem de la concentración sérica de **progesterona**, **testosterona** y **estradiol** en animales tratados con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) a los **10 días de edad** y autopsiados a los 25 días, al primer estro vaginal (PEV) o a los 90 días de edad.



* $p < 0.05$ vs. su grupo testigo (Prueba "t" de Student).

En las hembras inyectadas con VE a los **14 días de edad** y autopsiadas al primer estro vaginal ó a los 90 días de edad, no se observaron variaciones significativas en la concentración sérica de **progesterona** o **testosterona**, en relación a su grupo testigo. En los animales sacrificados al primer estro vaginal se observó que la concentración sérica de **estradiol** fue significativamente mayor que en el grupo testigo (Figura 19).

Figura 19. Media \pm eem de la concentración sérica de **progesterona**, **testosterona** y **estradiol** en animales tratados con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) a los **14 días de edad** y autopsiados al primer estro vaginal (PEV) ó a los 90 días de edad.



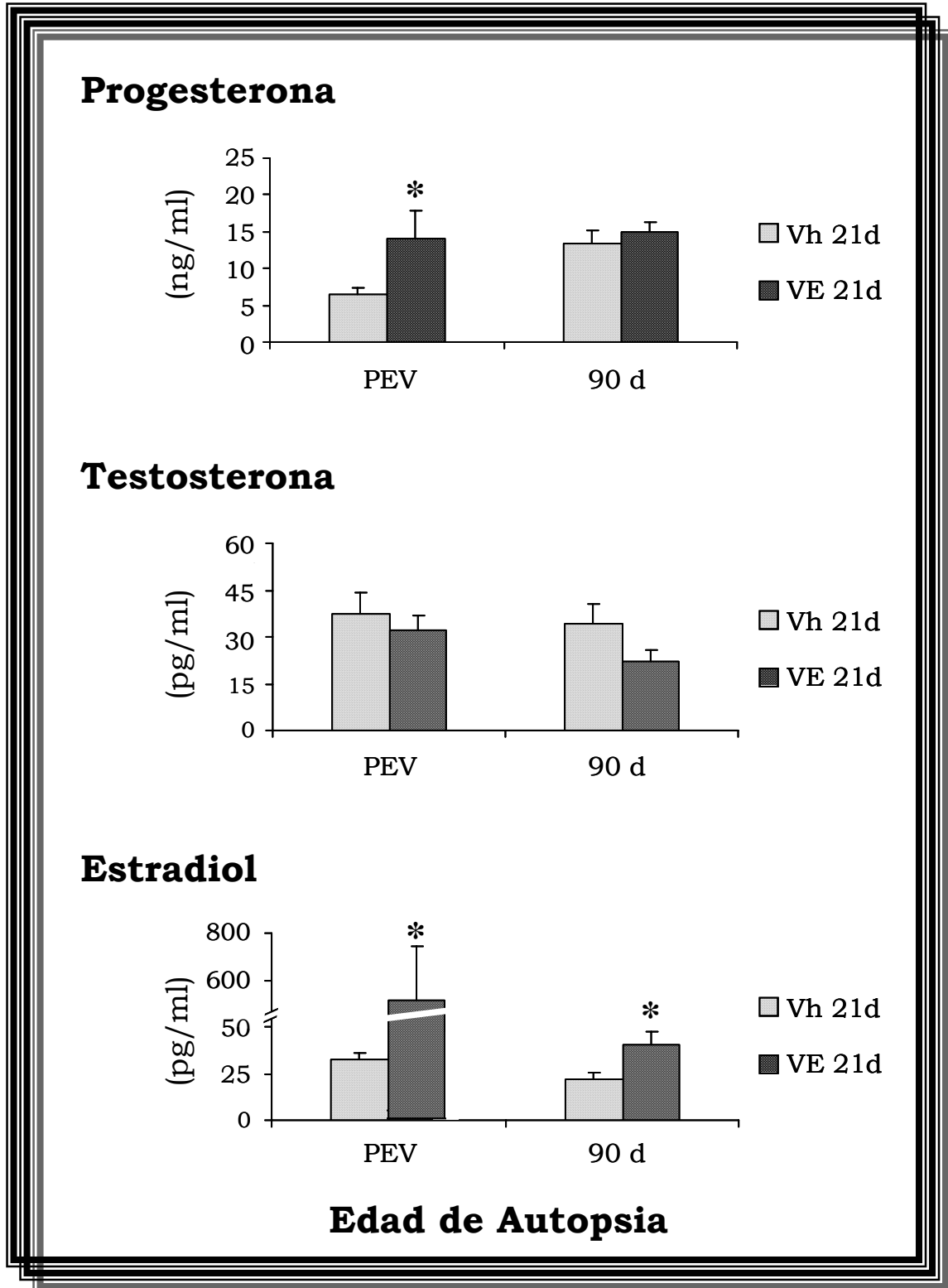
* $p < 0.05$ vs. su grupo testigo (Prueba "t" de Student).

La administración de VE en animales de **21 días de edad** que fueron autopsiados en el día del primer estro vaginal, resultó en una mayor concentración sérica de **progesterona** con respecto a su grupo testigo (Figura 20).

Los animales tratados con el fármaco y sacrificados al PEV o a los 90 días de edad no mostraron cambios significativos en la concentración sérica de la **testosterona** (Figura 20).

En las hembras inyectadas con VE y sacrificadas en el día del primer estro vaginal o a los 90 días de edad, la concentración sérica de **estradiol** fue significativamente mayor que en el grupo testigo (Figura 20).

Figura 20. Media \pm eem de la concentración sérica de **progesterona**, **testosterona** y **estradiol** en animales tratados con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) a los **21 días de edad** y autopsiados al primer estro vaginal (PEV) ó a los 90 días de edad.



* $p < 0.05$ vs. su grupo testigo (Prueba "t" de Student).

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que en el modelo de la rata infantil, la administración de una sola dosis de valerato de estradiol induce el desarrollo del síndrome del ovario poliquístico, independientemente del periodo de evolución. Al parecer, el desarrollo de esta patología resulta de una alteración en los mecanismos neuroendócrinos presentes en el hipotálamo, la hipófisis e inclusive en el propio ovario.

En nuestra cepa de animales se observó que la administración de VE en la etapa infantil resulta en el desarrollo del SOPQ, que se hace evidente desde la etapa juvenil hasta la etapa adulta. En nuestro estudio, el mejor modelo para inducir las características del SOPQ descritas en la mujer, es el animal tratado con VE a los 10 días de edad y sacrificado en la etapa adulta. En estas hembras se observó anovulación y alteración en el patrón del ciclo estral que se acompañaron de hiperandrogenismo y una elevada concentración de estradiol.

El hecho de que los animales de 10 días de edad sean más sensibles al efecto del VE, podría deberse a que a esta edad el eje hipotálamo-hipófisis ya es capaz de responder al estímulo estrogénico, con una caída inmediata de las concentraciones plasmáticas de gonadotropinas, lo que resulta en la alteración del crecimiento y maduración folicular y la falta de ovulación. En apoyo a esta hipótesis se ha mostrado que en ratas de 10 días de edad con ovariectomía, la administración de altas dosis de estrógenos (400 µg/ml) vía cápsulas de silastic, puede inhibir la liberación de gonadotropinas (Andrews y col., 1981).

En estudios clínicos se ha descrito que la dinámica del crecimiento folicular en pacientes con SOPQ se ve alterada, puesto que además de que no se observan folículos preovulatorios, incrementa el número de folículos antrales pequeños, que se caracterizan por presentar hipertrofia tecal y una elevada producción de andrógenos (Erickson, 1991; Taketani, 1990); aunque hay evidencias de que el incremento se presenta desde los folículos primarios (Hughesden, 1982; Yen, 1991).

En el presente estudio se observó que la administración de VE durante la etapa infantil, resultó en una disminución de la población de folículos sanos, siendo más drástica en los folículos menores de 350 μm de diámetro, independientemente del período de evolución.

Tomando en consideración que la administración de VE a ratas de 14 días de edad ocasiona una marcada reducción en la concentración sérica de gonadotropinas (Rosa-E-Silva y col., 2003), postulamos que la alteración en el desarrollo folicular, resulta de la disminución en la concentración sérica de FSH, lo que altera el índice de reclutamiento folicular por efecto del feedback negativo del estradiol, tal y como ha sido propuesto en la literatura (Van Voorhis, 1999b; Guyton y Hall, 2001).

La administración de VE a ratas de 10 ó 21 días de edad no resultó en una mayor incidencia de atresia folicular, aún cuando se ha mostrado que uno de los efectos del fármaco es disminuir la concentración de FSH (Rosa-E-Silva y col., 2003). Esto nos permite sugerir que el estradiol, cuya concentración en éstos animales fue alta, podría jugar un papel importante en el proceso de atresia folicular. En apoyo a esta interpretación se ha mostrado que en roedores, el estradiol inhibe el proceso de atresia folicular al aumentar el crecimiento de las células de la granulosa e incrementar la expresión tanto de enzimas esteroideogénicas como de receptores a gonadotropinas (Van Voorhis 1999a).

Por el contrario, cuando se administró VE a ratas de 14 días de edad se observó un incremento en la población de folículos atrésicos, tanto en los animales sacrificados al primer estro vaginal como a los 90 días de edad. Esto podría deberse al hecho de que el VE pudo haber inhibido el pico de FSH que se presenta durante la etapa infantil (día 12 al 15 de vida) (Dohler y Wuttke, 1974; Mackinnon y col., 1976), que es responsable del reclutamiento y crecimiento de los folículos que llegarán a ovular en la pubertad (Hage y col., 1978; Ojeda y col., 1980). Esto último podría explicar la falta de ovulación al primer estro vaginal.

En el ovario de animales tratados con VE se observó la presencia de quistes foliculares, tal y como ha sido descrito (Hemmings y col., 1983; Brawer y col., 1986; Lara y col., 2000). Asimismo, observamos estructuras que denominamos prequísticas, presentes en una proporción semejante en cada uno de los grupos, independientemente de la edad de administración del estrógeno y del período de evolución. Dado que éstas estructuras no han sido descritas en la literatura y comparten características propias de un quiste ovárico, como la ausencia de ovocito, disminución de las capas de la granulosa y cierto grado de hipertrofia tecal, postulamos que la formación de los quistes foliculares no ocurre únicamente a partir de folículos preovulatorios, como ha sido propuesto (Schulster y col., 1984; Farookhi y col., 1985; Lara y col., 2000), sino que además implica estadios tempranos del desarrollo folicular.

Es posible que las alteraciones en la dinámica del crecimiento folicular observadas en la rata con SOPQ, se deban a una modificación en el patrón de secreción de las gonadotropinas en respuesta a los cambios en los pulsos de liberación del GnRH. En apoyo a esta hipótesis, se ha mostrado que en el ratón, el tratamiento con anticuerpos para GnRH inhibe el incremento brusco de LH y promueve la formación de quistes foliculares (Laing y col., 1984). Por otro lado, se ha observado que en la mujer con SOPQ, el incremento en la concentración sérica de LH resulta del aumento en la frecuencia de los pulsos de GnRH (Taylor y Hall, 1996; Yen 2001a).

En los roedores, la edad en que ocurre la ruptura de la membrana vaginal ha sido tomada como un índice para determinar el inicio de la pubertad (Ojeda y col., 1983; Ojeda y Urbanski, 1994). A pesar de que en nuestra cepa de animales, la canalización de la vagina ocurre alrededor de los 35 días de edad, la administración de VE a ratas infantiles aceleró éste proceso. Estos efectos fueron semejantes a los descritos por Rosa-E-Silva y colaboradores (2003) quienes observaron que la inyección del fármaco a ratas de 14 días de edad, adelanta el inicio de la pubertad y explicaron este hecho como resultado del incremento en la concentración sérica de estradiol. Sin embargo, en el presente estudio no descartamos la posibilidad de que la membrana vaginal se haya tornado más sensible a los estrógenos circulantes (Morán y col., 2000; Morán y col., 2003).

En nuestro estudio se observó que independientemente del momento en que se inicie el tratamiento con VE (10, 14 ó 21 días de edad) la edad de apertura vaginal se registró alrededor del día 25. El hecho de que las ratas más maduras tarden menos en iniciar la pubertad, podría ser explicado por los resultados de Andrews y colaboradores (1981), quienes mostraron que la unidad hipotálamo-hipofisiaria es más sensible al efecto de retroalimentación positiva ejercida por los estrógenos a los 28 días de edad, que en animales más jóvenes. Se ha mostrado que este efecto de retroalimentación estimulante se produce en respuesta a la diferenciación del soma de las neuronas productoras de GnRH, que pasan de tener una superficie lisa a una con espinas (Wray y Gainer, 1987). Es posible que el VE estimule la diferenciación más temprana del soma de las células neuronales hipotalámicas y conlleve al adelanto en la edad de canalización de la vagina.

La administración de VE a hembras infantiles, resultó en la pérdida del ciclo estral desde el inicio de la pubertad hasta la edad reproductiva, evento que en la mayoría de los casos culminó con la presencia de un estro vaginal persistente por periodos prolongados y la ausencia de ovulación. Este efecto coincide con lo ya descrito por otros autores (Brawer y col, 1986; Hemmings y col., 1983; Lara y col., 1993; Barria y col., 1993; Stener-Victorin y col., 2000; Rosa-E-Silva y col., 2003). Es posible que la alteración en el patrón del ciclo estral se deba a la modificación en el patrón de secreción y en la concentración plasmática de las gonadotropinas. En apoyo a esta interpretación se ha observado que

en mujeres con el SOPQ, las altas concentraciones de LH y el incremento en la proporción LH/FSH favorecen la ausencia de ciclos menstruales (Morales y col., 1996; Arroyo y col., 1997; Taylor y col., 1997; Yen, 2001a). Otra posibilidad es que el propio ovario produzca algún factor que favorece la aciclicidad, esto se apoya en el hecho de que en la rata con el SOPQ, al extirpar uno de los ovarios se restablece el ciclo estral (Farookhi y col., 1985).

La inyección del fármaco a ratas de 10 (sacrificadas a los 90 días de edad), 14 ó 21 días de edad (sacrificadas al primer estro vaginal), resultó en un bloqueo total de la ovulación, lo que podría explicar en parte, la reducción de la masa ovárica. Dado que en la gran mayoría de nuestros grupos no se observan cambios significativos en la concentración sérica de los andrógenos, sugerimos que éstos no son los responsables directos de la falta de ovulación, sino que más bien serían los estrógenos que se formaron a partir de la aromatización de los andrógenos. En apoyo a esto, algunos reportes han mostrado que en la mujer con SOPQ los andrógenos incrementan (Yen, 2001; Hoyt y Schmidt, 2004) mientras que en animales tratados con VE, disminuyen (Rosa-E-Silva y col., 2003; Stener-Victorin, 2005), pero siempre van acompañados de una elevada concentración de estradiol y la ausencia de ovulación.

Cuando el VE se administró en animales de 10 días de edad y se sacrificaron al primer estro vaginal, únicamente el 36 % de los animales ovuló, esto quizás se deba a que en este grupo la concentración de estradiol fue normal. De igual manera, cuando el fármaco se administró

a hembras de 14 ó 21 días de edad que fueron autopsiadas en la etapa adulta, en el día del estro, no se observó una condición anovulatoria, a pesar de que se dio la formación de quistes foliculares. Esto podría ser explicado por la recuperación en las concentraciones de gonadotropinas, como previamente se ha mostrado que ocurre después de transcurridas 8 (Brawer y col., 1986) ó 22 semanas (Schulster y col., 1984) de la inyección del fármaco, aunque no se alcanzan las concentraciones del animal testigo.

En el presente estudio se observó que la administración de VE en hembras de 10 días de edad disminuyó significativamente la concentración de progesterona, cuando sus efectos fueron evaluados a los 25 días de edad. Dicha disminución podría estar dada por la falta de cuerpos lúteos puesto que estos animales no ovularon. Mientras que el incremento en la concentración sérica de progesterona, en hembras inyectadas con VE a los 21 días de edad y autopsiadas al inicio de la pubertad, es posible que resulte de una mayor actividad de la 3β -HSD en la pared folicular, tal y como fue demostrado por Rosa-E-Silva y colaboradores (2003).

Se ha descrito que en los ovarios de ratas con SOPQ, la estimulación *in vitro* con hCG, incrementa la actividad de la aromatasa, lo que trae como resultado una mayor síntesis de estradiol (Barria y col., 1993). Esto podría explicar el hecho de que en los animales autopsiados a los 25 días de edad la concentración sérica de testosterona disminuya, debido a su rápida aromatización y por ende el incremento en estradiol.

Es probable que en las ratas con SOPQ no sólo se modifique la actividad de la 3 β -HSD y de la aromatasa, como ha sido planteado anteriormente (Rosa-E-Silva y col., 2003; Barria y col., 1993). Cuando células tecaes de mujeres con SOPQ son estimuladas con una dosis fisiológica de LH, la secreción de la 17 α -hidroxiprogesterona y de la androstenediona, cuya síntesis es mediada por la enzima P450c17 α , incrementan entre 8 y 20 veces, respectivamente (Gilling-Smith y col., 1994). Estas evidencias nos podrían ayudar a explicar la mayor concentración de andrógenos observada en los animales tratados con VE a los 10 días de edad y autopsiados en la etapa adulta. Dado que este complejo enzimático se localiza tanto en el ovario como en la suprarrenal (Ehrmann y col., 1992; Rosenfield, 1999), es posible que el aporte de estos andrógenos provenga de las dos glándulas.

Considerando que las funciones reproductivas se encuentran reguladas vía endócrina y neural, no se descarta la posibilidad de que en el SOPQ, la alteración de las funciones ováricas resulte de una modificación en la actividad de las fibras simpáticas que arriban a la gónada. En apoyo a esto, observaciones clínicas han mostrado que los ovarios de pacientes con el SOPQ presentan un incremento en la densidad de los nervios catecolaminérgicos (Semenova, 1969) y que la resección ovárica o una laparoscopia realizada con rayos láser, que parcialmente estarían denervando a la gónada, permiten la recuperación temporal de las funciones ováricas (Judd y col., 1976; Adashi y col., 1981; Nakamura, 1990; Balen y Jacobs, 1994; Donesky y Adashi, 1995).

En estudios experimentales usando como modelo a la rata, se ha descrito que el SOPQ ocurre en respuesta al incremento en la concentración del NGF y de su receptor de baja afinidad (p75) (Dissen y col., 2000; Lara y col., 2000; Stener-Victorin y col., 2000), lo que trae como resultado la hiperactividad de las fibras simpáticas que arriban al ovario, vía nervio ovárico superior (Lara y col., 1993). Adicionalmente, se ha mostrado que en el modelo del animal con el SOPQ, la sección bilateral del NOS, el principal aporte noradrenérgico del ovario (Lawrence y Burden, 1980), es capaz de restablecer las funciones ováricas (Barria y col., 1993; Rosa-E-Silva y col., 2003).

Se ha postulado que en el SOPQ, la hiperactividad de las fibras que inervan al ovario no sólo ocasiona un incremento en la concentración de NA (Lara y col., 1993) sino también del VIP (comunicación directa con el Dr. Lara H.E.), lo que podría explicar el por que aumentan las concentraciones séricas de estradiol en nuestros animales tratados con VE, a pesar de la disminución en la concentración de FSH (Brawer y col., 1986; Rosa-E-Silva y col., 2003). En apoyo a esta interpretación se ha mostrado que cuando ovarios feto-neonatales son cultivados en presencia del VIP, incrementa la expresión de los receptores a FSH y la actividad de las aromatasas (George y Ojeda, 1987; Mayerhofer y col., 1997).

Las altas concentraciones de estradiol en los animales tratados con VE podrían ocasionar una mayor proliferación del endometrio y por ende provocar un incremento en el peso del útero, como se ha observado en algunos de nuestros grupos. Esta hipótesis se ve apoyada por observaciones clínicas que muestran que la exposición crónica a estrógenos, como ocurre en pacientes con SOPQ, puede conducir al desarrollo de hiperplasia y cáncer endometrial (Coulam y col., 1983; Yen, 2001a; Lewis, 2001; Hoyt y Schmidt, 2004).

Con base en los resultados obtenidos en el presente estudio, podemos sugerir que el desarrollo del síndrome del ovario poliquístico, inducido por la administración de valerato de estradiol, ocurre en respuesta a la alteración del eje hipotálamo-hipófisis-gónada, donde posiblemente la inervación simpática regule de manera estimulante el desarrollo de ésta patología.

CONCLUSIONES

- ❧ En la rata infantil, el mejor modelo del desarrollo del síndrome del ovario poliquístico se obtiene cuando el valerato de estradiol se administra a los 10 días de edad y la autopsia se realiza en la etapa adulta.
- ❧ La administración de valerato de estradiol resulta en la formación de quistes foliculares, evento que se inicia a partir de folículos en estadios preantrales.
- ❧ En el ovario de los animales con síndrome del ovario poliquístico aumenta la incidencia de atresia folicular.
- ❧ La inducción del síndrome del ovario poliquístico durante la etapa infantil ocasiona el adelanto en el inicio de la pubertad.
- ❧ El tratamiento con valerato de estradiol resulta en el incremento de la concentración sérica de estradiol.
- ❧ La inducción del síndrome del ovario poliquístico por la administración de valerato de estradiol, se caracteriza por la alteración del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, lo que resulta en la disfunción ovárica.

REFERENCIAS

- ☞ Adashi EY, Rock JA, Guzick D. (1981) "Fertility Following Bilateral Ovarian Wedge Resection: A Critical Analysis of 90 Consecutive Cases of the Polycystic Ovary Syndrome". **Fertil Steril**. 36: 320.
- ☞ Advis JP, Andrews WW, Ojeda SR. (1979) "Changes in Ovarian Steroidal and Prostaglandin E responsiveness to Gonadotropins during the Onset of Puberty in the Female Rat". **Endocrinology**. 104: 653 - 658.
- ☞ Aguado LI, Ojeda SR. (1984) "Prepubertal Ovarian Function is Finely Regulated by Direct Adrenergic Influences. Role of Noradrenergic Inervation". **Endocrinology**. 114: 1845 - 1853.
- ☞ Andrews WW, Mizejewski GJ, Ojeda SR. (1981) "Development of Estradiol-Positive Feedback on LH Release in the Female Rat: A Quantitative Study". **Endocrinology**. 109: 1404 - 1413.
- ☞ Andrews WW, Ojeda SR. (1981) "A detailed Analysis of the Serum Luteinizing Hormone Secretory Profile in Conscious, free-moving Female Rats during the Time of Puberty". **Endocrinology**. 109: 2032 - 2039.
- ☞ Arias P. (2003) "Endocrinología de la Reproducción". En: Dvorkin MA, Cardinali DP. (Eds.) **Bases Fisiológicas de la Práctica Médica**. 13a edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. Cap. 38. pp. 659 - 681.

- ☞ Arroyo A, Laughlin GA, Morales AJ, Yen SSC. (1997) "Inappropriate Gonadotropin Secretion in Polycystic Ovary Syndrome: Influence of Adiposity". **J Clin Endocrinol Metab.** 82: 3728 - 3733.
- ☞ Balen AH, Jacobs HS. (1994) "A Prospective Study Comparing Unilateral and Bilateral Laparoscopic Ovarian Diathermy in Women with the Polycystic Ovary Syndrome". **Fertil Steril.** 62(5): 921 - 924.
- ☞ Barria A, Leyton V, Ojeda SR, Lara HE. (1993) "Ovarian Steroidal Response to Gonadotropins and β -adrenergic Stimulation is Enhanced in Polycystic Ovary Syndrome: Role of Sympathetic Innervation". **Endocrinology.** 133: 2696 - 2703.
- ☞ Becu-Villalobos D, Lacau-Mengido M. (1990) "Control Hormonal del Desarrollo Puberal en la Rata Hembra". **Acta Physiology Pharmacology Latinoamerican.** 40: 1 - 17.
- ☞ Bergman RA, Afifi AK, Heidger PM. (1998) "Sistema Reproductor Femenino". En: **Histología.** Editorial McGraw-Hill-Interamericana. México. Cap. 16. pp. 307 - 320.
- ☞ Braw RH, Tsafiriri A. (1980) "Effects of PMSG Atresia in the Immature Rat Ovary". **J Reprod. Fert.** 59: 267 - 272.
- ☞ Brawer JR, Munoz M, Farookhi R. (1986) "Development of the Polycystic Ovarian Condition (PCO) in the Estradiol Valerate-Treated Rat". **Biol. Reprod.** 35: 647 - 655.
- ☞ Brawer JR, Naftolin F, Martin J, Sonnenschein C. (1978) "Effects of a single Injection of Estradiol Valerate on the Hypothalamic Arcuate Nucleus and on Reproductive Function in the Female Rat". **Endocrinology.** 107: 274 - 279.

- ☞ Burden HW. (1985) "The Adrenergic Innervation of Mammalian Ovaries". En: Ben-Jonathan N, Barh JM, Weiner RI. (Eds.) **Catecholamines as Hormone Regulator**. Raven Press. New York. pp. 261 - 278.
- ☞ Byskov AG. (1978) "Follicular Atresia". En: Jones RE. (Ed.) **The Vertebrate Ovary: Comparative Biology and Evolution**. New York: Plenum. pp. 533 - 562.
- ☞ Coulam CB, Anegers JF, Kranz JS. (1983) "Chronic Anovulation Syndrome and associated Neoplasia". **Obstet Gynecol**. 61: 403.
- ☞ Devine PJ, Payne CM, McCuskey MK, Hoyer PB. (2000) "Ultrastructural Evaluation of Oocytes during Atresia in Rat Ovarian Follicles". **Biology of Reproduction**. 63: 1245 - 1252.
- ☞ Diamanti-Kandarakis E, Dunaif A. (1996) "New Perspectives in Polycystic Ovary Syndrome". **Trends Endocrinol Metab**. 7: 267 - 271.
- ☞ Dissen GA, Dees WL, Ojeda SR. (1993) "Neural and Neurotrophic Control of Ovary Development". En: Adashi EY, Leung PCK. (Eds.) **The Ovary**. Raven Press. New York. pp. 1 - 19.
- ☞ Dissen GA, Lara HE, Leyton V, Paredes A, Hill DF, Costa ME, Martínez-Serrano A, Ojeda SR. (2000) "Intraovarian excess of Nerve Growth Factor increases Androgen secretion and disrupts Estrous Cyclicity in the Rat". **Endocrinology**. 141: 1073 - 1082.
- ☞ Dohler KD, Wuttke W. (1974) "Serum LH, FSH, Prolactin and Progesterone from Birth to Puberty in Female and Male Rats". **Endocrinology**. 94: 1003 - 1008.

- ☞ Donesky BW, Adashi EY. (1995) "Surgically Induced Ovulation in the Polycystic Ovary Syndrome: Wedge Resection revisited in the Age of Laparoscopy". **Fertil Steril**. 63(3): 439 - 463.
- ☞ Dorner G. (1980) "Sexual Differentiation of the Brain". **Vitams Horm**. 38: 325 - 334.
- ☞ Ehrmann DA, Rosenfield RL, Barnes RB, Brigell DF, Sheikh Z. (1992) "Detection of Functional Ovarian Hyperandrogenism in Women with Androgen Excess". **N Engl J Med**. 327: 157 - 162.
- ☞ Erickson GF. (1991) "Folliculogenesis in Polycystic Ovary Syndrome". En: Dunaif A, Givens JR, Haseltine FP, Merriam GR. (Eds.) **Polycystic Ovary Syndrome**. Blackwell Scientific. Boston. pp. 111 - 128.
- ☞ Farookhi R, Hemmings R, Brawer JR. (1985) "Unilateral Ovariectomy restores Ovulatory Cyclicity in Rats with a Polycystic Ovarian Condition". **Biology of Reproduction**. 32: 530 - 540.
- ☞ Fawcett DW. (1995) "Sistema Reproductor Femenino". En: **Tratado de Histología**. 12a edición. Editorial Interamericana•McGraw-Hill. New York. Cap. 32. pp. 885 - 904.
- ☞ Foster DL, Ebling FJP. (1999) "Puberty, in Nonprimate Mammals". En: Knobil E, Neill JD. (Eds.) **Encyclopedia of Reproduction**. Academic Press. San Diego. Vol. 4. pp. 142 - 152.
- ☞ Franks S, Mason H, White D, Willis D. (1996) "Mechanisms of Anovulation in Polycystic Ovary Syndrome". En: Filicori M, Flamigni C. (Eds.) **The Ovary: Regulation, Dysfunction and Treatment**. Editorial Elsevier. Amsterdam. pp. 183 - 186.
- ☞ Franks S. (1989) "Polycystic Ovary Syndrome: A Changing Perspective". **Clin Endocrinol (Oxf)**. 31: 87 - 120.

- ☞ Franks S. (1995) "Polycystic Ovary Syndrome". **Medical Progress**. Massachusetts. Vol. 333 No. 13 pp. 853 - 861.

- ☞ Freeman ME. (1994) "The Neuroendocrine Control of the Ovarian Cycle of the Rat". En: Knobil E, Neill JD. (Eds.) **The Physiology of Reproduction**. 2nd edition. Editorial Raven Press. New York. Vol. 2. Cap. 46. pp. 615 - 620.

- ☞ Geneser F. (2000) "Órganos de la Reproducción". En: **Histología sobre Bases Biomoleculares**. 3a edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. Cap. 22. pp. 613 - 638.

- ☞ George FW, Ojeda SR. (1987) "Vasoactive Intestinal Peptide enhances Aromatase Activity in the Neonatal Rat Ovary before Development of Primary Follicles or Responsiveness to Follicle-Stimulating Hormone". **Proc Natl Acad Sci**. 84: 5803 - 5807.

- ☞ Germain BL, Campbell PS, Anderson JN. (1978) "Role of the Serum Estrogen-binding protein in the Control of Tissue Estradiol levels during Postnatal Development of the Female Rat". **Endocrinology**. 103: 1401-1410.

- ☞ Gilling-Smith C, Willis DS, Beard RW, Franks S. (1994) "Hypersecretion of Androstenedione by isolated Thecal Cell from Polycystic Ovaries". **J Clin Endocrinol Metab**. 79: 1158 - 1165.

- ☞ Goldfien A, Monroe SE. (1998) "Ovarios". En: Greenspan FS, Strewler GJ. (Eds.) **Endocrinología Básica y Clínica**. 4a edición. Editorial El Manual Moderno. México, D.F. Cap. 13. pp. 497 - 554.

- ☞ Goldman BD. (1981) "Puberty". En: Adler NT. (Ed). **Neuroendocrinology of Reproduction, Physiology and Behavior**. Plenum Press. Cap. 8. pp. 229 - 238.
- ☞ Gore-Langton RE, Armstrong DT. (1994) "Follicular Steroidogenesis and its Control". En: Knobil E, Neill JD. (Eds.) **The Physiology of Reproduction**. 2nd edition. Editorial Raven Press. New York. Vol. 2. Cap. 11. pp. 571 - 611.
- ☞ Greenwald GS, Roy SK. (1994) "Follicular Development and its Control". En: Knobil E, Neill JD. (Eds.) **The Physiology of Reproduction**. 2nd edition. Editorial Raven Press. New York. Vol. 2. Cap. 12. pp. 629 - 724.
- ☞ Greiner M, Paredes A, Araya V, Lara HE. (2005) "Role of Stress and Sympathetic Innervation in the Development of Polycystic Ovary Syndrome". **Endocrine**. 28 (3): 319 - 324.
- ☞ Guyton AC, Hall JE. (2001) "Fisiología Femenina antes de la Gestación y Hormonas Femeninas". En: **Tratado de Fisiología Médica**. 10a edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. México. Cap. 81. pp. 1117 - 1133.
- ☞ Hage AJ, Groen-Klevant AC, Welschen R. (1978) "Follicle Growth in the Immature Rat Ovary". **Acta Endocr**. (Copeah). 88: 375 - 382.
- ☞ Hemmings R, Farookhi R, Brawer JR. (1983) "Pituitary and Ovarian responses to Luteinizing Hormone Releasing Hormone in the Rat with Polycystic Ovaries". **Biol Reprod**. 29: 239 - 248.
- ☞ Holte J, Bergh T, Gennarelli G, Wide L. (1994) "The Independent Effects of Polycystic Ovary Syndrome and Obesity on Serum Concentrations of Gonadotrophins and Sex Steroids in Premenopausal Women". **Clin Endocrinol** (Oxf). 41: 473 - 481.

- ☞ Hoyt KL, Schmidt MC. (2004) "Polycystic Ovary (Stein-Leventhal) Syndrome: Etiology, Complications and Treatment". **Clin Lab Sci.** 17 (3): 155 - 163.

- ☞ Hsueh AJW, Billig H, Tsafiriri A. (1994) "Ovarian Follicle Atresia: A Hormonally Controlled Apoptotic Process". **Endocr Rev.** 15: 707 - 724.

- ☞ Hughesden PE. (1982) "Morphology and Morphogenesis of the Stein-Leventhal and of so-called Hyperthecosis". **Obstet Gynecol Surv.** 37: 59 - 77.

- ☞ Hunter MH, Sterrett JJ. (2000). "Polycystic Ovary Syndrome: It's not just Infertility". **Am Fam Physician.** 62: 1079 - 1088.

- ☞ Jacob SW, Francone CA, Lossow WJ. (1982) "Aparato Reproductor". En: **Anatomía y Fisiología Humana.** 4a edición. Editorial Interamericana•McGraw-Hill. México. Cap. 17. pp. 603 - 619.

- ☞ Judd HL, Rigg LA, Anderson DC, Yen SSC. (1976) "The Effects of Ovarian Wedge Resection on Circulating Gonadotropin and Ovarian Steroid Levels in Patients with Polycystic Ovary Syndrome". **J Clin Endocrinol Metab.** 43(2): 347 - 355.

- ☞ Kaipia A, Hsueh AJW. (1997) "Regulation of Ovarian Follicle Atresia". **Annu Rev Physiol.** 59: 349 - 363.

- ☞ Kannel WB. (2002) "The Framingham Study: Historical Insight on the Impact of Cardiovascular Risk Factors in Men versus Women". **J Gend Specif Med.** 5: 27 - 37.

- ☞ Laing SC, Cosden RG, Fraser HM. (1984) "Cytogenetic Analysis of Mouse Oocytes after experimental induction of Follicular overripening". **J Reprod Fertil.** 70: 387 - 393.

- ☞ Lara HE, Dissen GA, Leyton V, Paredes A, Fuenzalida H, Fiedler JL, Ojeda SR. (2000) "An Increased Intraovarian Synthesis of Nerve Growth Factor and its Low Affinity Receptor is a Principal Component of Steroid-induced Polycystic Ovary in the Rat". **Endocrinology.** 141: 1059 - 1072.

- ☞ Lara HE, Ferruz J, Luza S, Bustamante DA, Borges Y, Ojeda SR. (1993) "Activation of Ovarian Sympathetic Nerves in Polycystic Ovary Syndrome". **Endocrinology.** 133: 2690 - 2695.

- ☞ Lawrence Jr. IE, Burden HW. (1980) "The Origin of the Extrinsic Adrenergic Innervation to the Rat Ovary". **Anat Rec.** 196: 51 - 59.

- ☞ Lewis V. (2001) "Polycystic Ovary Syndrome: A Diagnostic Challenge". **Obstet Gynecol Clin North Am.** 28(1): 1 - 20.

- ☞ Lobo RA, Granger LR, Paul WL, Goebelsmann U, Mishell DRJ. (1983) "Psychological Stress and Increases in Urinary Norepinephrine Metabolites, Platelet Serotonin, and Adrenal Androgens in Women with Polycystic Ovary Syndrome". **Am J Obstet Gynecol.** 145: 496 - 503.

- ☞ Lobo RA. (1996) "A unifying concept for Polycystic Ovary Syndrome". En: Chang RJ. (Ed.) **Polycystic Ovary Syndrome.** Springer, New York. pp. 334 - 352.

- ☞ Mackinnon PCB, Mattock JM, Ter Haar MB. (1976) "Serum Gonadotrophin levels during Development in Male, Female and androgenized Female Rats and the effects of general disturbance on High Luteinizing Hormone Levels". **J. Endocr.** 70: 361 - 371.
- ☞ Malacara JM. (1990) "Síndrome de Ovarios Poliquísticos". **Fundamentos de Endocrinología.** 4a edición. JGH editores. México D. F. pp: 418 - 422.
- ☞ Malamed S, Gibney JA, Ojeda SR. (1992). "Ovarian Innervation Develops before Initiation of Folliculogenesis in the Rat". **Cell and Tissue Research.** 270: 87 - 93.
- ☞ Marieb EN. (1992) "System Reproductive". En: **Human Anatomy and Physiology.** 2nd edition. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. California. Cap. 28. pp. 949.
- ☞ Markstrom E, Svensson EC, Shao R, Svanberg B, Billig H. (2002) "Survival Factors Regulating Ovarian Apoptosis - Dependence on Follicle Differentiations". **Reproduction.** 123: 23 - 30.
- ☞ Mayerhofer A, Dissen GA, Costa ME, Ojeda SR. (1997) "A Role for Neurotransmitters in Early Follicular Development: Induction of Functional Follicle-Stimulating Hormone Receptors in Newly Formed Follicles of the Rat Ovary". **Endocrinology.** 138: 3320 - 3329.
- ☞ Meijs-Roelofs HMA, Kramer P, Sander HJ. (1983) "Changes in Serum Concentrations of Luteinizing Hormone in the Female Rat approaching Puberty". **J. Endocr.** 98: 241 - 249.
- ☞ Mishell DR. (1997) "Hyperandrogenism: Polycystic Ovary Syndrome". En: Mishell DR Jr., Stenchever MA, Droegemueller W, Herbst AL. (Eds.) **Comprehensive Gynecology.** 3rd edition. St Louis: Mosby. pp: 1087 - 1112.

- ☞ Morales AJ, Laughlin GA, Butzow T, Maheshwari H, Baumann G, Yen SS. (1996) "Insulin, Somatotropic, and Luteinizing Hormone Axes in Lean and Obese Women with Polycystic Ovary Syndrome: Common and Distinct Features". **J Clin Endocrinol Metab.** 81 (8): 2854 - 2864.
- ☞ Morán C, Morales L, Quiroz U, Domínguez R. (2000) "Effects of Unilateral o Bilateral Superior Ovarian Nerve Section in Infantile Rats on Follicular Growth". **Journal of Endocrinology.** 166: 205 - 211.
- ☞ Morán C, Morales L, Razo RS, Apolonio J, Quiroz U, Chavira R, Dominguez R. (2003) "Effects of Sensorial Denervation Induced by Capsaicin Injection at Birth or on day three of life, on Puberty, induced Ovulation and Pregnancy". **Life Science.** 73: 2113 - 2125.
- ☞ Nakamura Y. (1990) "Treatment of Polycystic Ovary Syndrome: An Overview". **Horm Res.** 33: (Suppl 2): 31.
- ☞ O'Driscoll JB, Mamtora H, Higginson J, Pollock A, Kane J, Anderson DC. (1994) "A prospective study of the prevalence of clear-cut Endocrine Disorders and Polycystic Ovaries in 350 Patients with Hirsutism or Androgenic Alopecia". **Clin Endocrinol (Oxf).** 41: 231 - 236.
- ☞ Ojeda SR, Aguado LI, Smith S. (1983) "Mechanisms Controlling de Onset of Female Puberty: the Rats as a Model". **Neuroendocrinology.** 37: 306 - 313.
- ☞ Ojeda SR, Andrews WW, Advis JP, Smith-White S. (1980) "Recent Advances in the Endocrinology of Puberty". **Endocrine Rev.** 1: 228 - 257.

- ☞ Ojeda SR, Dissen GA, Malamed S, Hirshfield AN. (1994) "A role for Neurotrophic Factors in Ovarian Development". En: Hsueh AJW, Schomberg DW (Eds). **Ovarian Cell Interactions: Genes to Physiology**. Springer-Verlag. New York. pp. 181 - 202.
- ☞ Ojeda SR, Lara HE. (1989) "Role of the Sympathetic Nervous System in the Regulation of Ovarian Function". En: Pirke KM, Wuttke W, Schweiger U. (Eds.). **The Menstrual Cycle and Its Disorders**. Springer-Verlag. Berlin. pp. 26 - 32.
- ☞ Ojeda SR, Urbanski HF, Ahmed CE. (1986) "The Onset of female Puberty: Studies in the Rat". **Recent Prog. Horm. Res.** 42: 385 - 442.
- ☞ Ojeda SR, Urbanski HF. (1988) "Puberty in the Rat". En: Knobil E, Neill JD. (Eds.) **The Physiology of Reproduction**. Raven Press, Ltd. Nueva York. pp. 1699 - 1737.
- ☞ Ojeda SR, Urbanski HF. (1994) "Puberty in the Rat". En: Knobil E, Neill JD. (Eds.) **The Physiology of Reproduction**. 2nd edition. Raven Press, Ltd. New York. Vol. 2. Cap. 40. pp. 363 - 409.
- ☞ Ojeda SR, Wheaton JE, Jameson HE, McCann SM. (1976) "The Onset of Puberty in the Female Rat. I. Changes in plasma Prolactin, gonadotrophins LHRH levels and hypothalamic LHRH Content". **Endocrinology**. 98: 630 - 638.
- ☞ Oliver RH, Chen GD, Yeh J. (1999) "Follicular Atresia". En: Knobil E, Neill JD. (Eds.) **Encyclopedia of Reproduction**. Academic Press. San Diego. Vol. 2. pp. 373 - 375.

- ☞ Pedernera EA. (1993) "Cooperación Celular en la Biosíntesis de Hormonas Esteroides". En: **Comunicación Neuroendócrina, Bases Celulares y Moleculares**. Editorial Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas. México. pp. 33 - 46.
- ☞ Peter H. (1970) "Some Aspects of Early Follicular Development". En: Midgley AR, Sadler WA. (Eds.) **Ovarian Follicular Development and Function**. Raven Press. Nueva York. pp. 1 - 3.
- ☞ Puig-Duran E, Greenstein BD, Mackinnon PCB. (1977) "Follicle-Stimulating Hormone and the unbound Oestradiol-17 β fraction in plasma of Immature Female Rats treated with alpha-foetoprotein-enriched extracts". **J Endocrinol**. 75 (3): 52P.
- ☞ Rajah R, Hirshfield AN. (1991) "The Changing Architecture of the Rat Ovary during the immediate Postpartum Period: A Three Dimensional (3D) Reconstruction". **Biol. Reprod**. 44: 152.
- ☞ Ramaley JA. (1980) "Biological clocks and Puberty Onset". **Federation Proceedings**. 39: 2355 - 2359.
- ☞ Ramírez VD. (1973) "Endocrinology of Puberty". En: Greep RO, Astwood EB. (Eds.) **Handbook of Physiology**. Washington: American Physiological Society. Vol. 2. Sec. 7. pp. 1 - 28.
- ☞ Raynaud JP. (1973) "Influence of Rat Estradiol Binding Plasma Protein (EBP) on Uterotrophic Activity". **Steroids**. 21: 249 - 258.
- ☞ Rebar R, Judd HL, Yen S, Rakoff J, Vandenberg G, Naftolin F. (1976) "Characterization of the Inappropriate Gonadotrophin Secretion in Polycystic Ovary Syndrome". **J Clin Invest**. 57: 1320 - 1329.

- ☞ Ricardo BG. (2005). "Participación de la Inervación Vagal en la Respuesta Compensadora del Ovario. La Rata Hemicastrada como Modelo de Estudio". **Tesis de Licenciatura**. UNAM. FES Zaragoza.
- ☞ Richards JS. (1994) "Hormonal control of Gene Expression in the Ovary". **Endocr Rev**. 15: 725 - 751.
- ☞ Rivier C, Vale W. (1987) "InhibEn: Measurement and Role in the Immature Female Rat". **Endocrinology**. 120: 1688 - 1690.
- ☞ Rosa-E-Silva A, Guimaraes MA, Padmanabhan V, Lara HE. (2003) "Prepubertal Administration of Valerate Disrupts Cyclicity and Leads to Cystic Ovarian Morphology during Adult life in the Rat: Role of Sympathetic Innervation". **Endocrinology**. 144: 4289 - 4297.
- ☞ Rosenfield RL, Barnes RB, Carac JF, Lucky AW. (1990) "Dysregulation of Cytochrome P450c17 alpha as the cause of Polycystic Ovary Syndrome". **Fertil Steril**. 53: 785 - 791.
- ☞ Rosenfield RL. (1999) "Ovarian and Adrenal Function in Polycystic Ovary Syndrome". **Endocrinol Metab Clin N Am**. 28(2): 265 - 268.
- ☞ Ross MH, Romrell LJ, Kaye GI. (1997) "Aparato Genital Femenino". En: **Histología, Texto y Atlas Color**. 3a edición. Editorial Médica Panamericana. México. Cap. 22. pp. 674 - 688.
- ☞ Salas M, Torrero C, Pulido S, Pérez H. (1991) "Acciones Neurotrópicas de las Hormonas Tiroideas durante la Ontogenia Neural". En: **Ontogenia Neuronal, Aspectos Corporativos y Mecanismos de Regulación**. pp. 177 - 198.

- ☞ Sánchez Criado JE. (1999) “Fisiología del Ovario”. En: Tresguerres JA. (Ed.) **Fisiología Humana**. 2a edición. Editorial McGraw-Hill•Interamericana. Madrid. Cap. 75. pp. 1020 - 1032.
- ☞ Sander HJ, Meijs-Roelofs HMA, Kramer P, Van Leeuwen ECM. (1987) “Inhibin-like activity in Ovarian homogenates of Prepubertal Female Rats and its Physiological Significance”. **J. Endocr.** 107: 251 - 257.
- ☞ Schulster A, Farookhi R, Brawer JR. (1984) “Polycystic Ovarian condition in Estradiol Valerate-Treated Rats: Spontaneous Changes in Characteristics Endocrine Features”. **Byology of Reproduction**. 31: 587 - 593.
- ☞ Semenova II. (1969) “Adrenergic Innervation of Ovaries in Stein-Leventhal Syndrome”. **Vestn Akad Med Nauk SSSR**. 24: 58 - 62.
- ☞ Smith-White S, Ojeda SR. (1981) “Changes in Ovarian Luteinizing Hormone (LH) and Follicle Stimulating Hormone (FSH) Receptor Content and in gonadotropin-induced ornithine decarboxylase activity during Prepubertal and Pubertal Development of the Rat”. **Endocrinology**. 109: 152 - 161.
- ☞ Solomon CG. (1999) “The Epidemiology of Polycystic Ovary Syndrome”. **Endocr Metab Clin**. 28: 153 - 164.
- ☞ Speroff L. (1983) “Ovario”. En: Felig P, Baxter JD, Broadus AE, Frohman LA. **Endocrinología y Metabolismo**. Editorial McGraw-Hill. México. Cap. 17. pp. 711 - 725.
- ☞ Stener-Victorin E, Lundeberg T, Waldenstrom U, Manni L, Aloe L, Gunnarsson S, Olof P. (2000) “Effects of Electro-Acupuncture on Nerve Growth Factor and Ovarian Morphology in Rats with experimentally induced Polycystic Ovaries”. **Biology of Reproduction**. 63: 1497 - 1503.

- ☞ Stener-Victorin E, Ploj K, Larsson BM, Holmång A. (2005) "Rats with Steroid-Induced Polycystic Ovaries develop Hypertension and Increased Sympathetic Nervous System Activity". **Reproductive Biology and Endocrinology**. 3: 44.

- ☞ Taketani Y. (1990) "Pathophysiology of Polycystic Ovary Syndrome". **Horm Res**. Suppl 2. 33: 3 - 4.

- ☞ Taylor AE, Hall JE. (1996) "Disordered Gonadotropin Secretion in Polycystic Ovary Syndrome". En: Filicori M, Flamigni C. (Eds.) **The Ovary: Regulation, Dysfunction and Treatment**. Editorial Elsevier. Amsterdam. pp. 187 - 194.

- ☞ Taylor AE, McCourt B, Martin KA, Anderson EJ, Adams JM, Schoenfeld D, Hall JE. (1997) "Determinants of Abnormal Gonadotropin Secretion in Clinically Defined Women with Polycystic Ovary Syndrome". **J Clin Endocrinol Metab**. 82: 2248 - 2256.

- ☞ Tilly JL. (1998) "Molecular and Genetic Basis of normal and toxicant-induced Apoptosis in female Germs Cells". **Toxicol Lett**. 102-3: 497 - 501.

- ☞ Tsilchorozidou T, Overton C, Conway GS. (2004) "The Pathophysiology of Polycystic Ovary Syndrome". **Clin Endocrinol (Oxf)**. 60:1 - 7.

- ☞ Urbanski HF, Ojeda SR. (1983) "The Juvenile-Peripubertal Transition Period in the Female Rat: Establishment of a Diurnal Pattern of Pulsatile Luteinizing Hormone Secretion". **Endocrinology**. 117: 644 - 649.

- ☞ Urbanski HF, Ojeda SR. (1986) "Development of Afternoon Minisurges of Luteinizing Hormone Secretion in Prepubertal female Rats is Ovary dependent". **Endocrinology**. 118: 1187 - 1193.
- ☞ Vaitukaitis JL. (1983) "Polycystic Ovary Syndrome-what is it?" **N Engl J Med**. 309: 1245 - 1246.
- ☞ Van Voorhis BJ. (1999a) "Follicular Development". En: Knobil E, Neill JD. (Eds.) **Encyclopedia of Reproduction**. Academic Press. San Diego. Vol. 2. pp. 376 - 389.
- ☞ Van Voorhis BJ. (1999b) "Follicular Steroidogenesis". En: Knobil E, Neill JD. (Eds.) **Encyclopedia of Reproduction**. Academic Press. San Diego. Vol. 2. pp. 389 - 395.
- ☞ Williams CL, Stancel GM. (1996) "Estrógenos y Progestágenos". En: Goodman & Gilman (Eds.) **Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica**. 9a edición. Editorial McGraw-Hill•Interamericana. México. Sección XIII. Cap. 57. pp. 1497 - 1529.
- ☞ Wray S, Gainer H. (1987) "Effect of Neonatal Gonadectomy on the Postnatal Development of LHRH Cell Subtypes in Male and Female Rats". **Neuroendocrinology**. 45: 413 - 419.
- ☞ Wuttke W, Honma K, Lamberts J, Hohn KG. (1980) "The Role of Monoamines in Female Puberty". **Fed. Proc**. 39: 2378 - 2383.
- ☞ Yen SSC. (1991) "Chronic Anovulation Caused by Peripheral Endocrine Disorders". En: Yen SSC, Jaffe RB. (Eds.). **Reproductive Endocrinology: Physiology, Pathophysiology and Clinical Management**. Saunders. Philadelphia. Vol. 3: 576 - 630.

- ☞ Yen SSC. (2001a) “Síndrome del Ovario Poliquístico: Anovulación Crónica Hiperandrogénica”. En: Yen SSC, Jaffe RB, Barbieri RL. (Eds.) **Endocrinología de la Reproducción**. 4a edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. Cap. 17. pp. 465 - 510.

- ☞ Yen SSC. (2001b) “Anovulación Crónica causada por Transtornos Endocrinos Periféricos”. En: Yen SSC, Jaffe RB, Barbieri RL. (Eds.) **Endocrinología de la Reproducción**. 4a edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. Cap. 18. pp. 511 - 550.

- ☞ Zawadzki JK, Dunaif A. (1992) “Diagnostic Criteria for Polycystic Syndrome: Towards a Rational Approach”. En: Dunaif A, Givens JR, Haseltine FP, Merriam GR. (Eds.) **Polycystic Ovary Syndrome**. Boston. Blackwell Scientific Publications. pp. 377 - 384.