



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA**

CARRERA DE BIOLOGÍA

**ESTUDIO DE LOS EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN
DE TIMULINA EN LA BURSA OVÁRICA DE RATONES
PREPÚBERES SOBRE LA DINÁMICA DEL
CRECIMIENTO FOLICULAR Y LA
ESTEROIDOGÉNESIS**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

BIÓLOGA

PRESENTAN

DIANA CRISTINA LOAIZA ROMERO

BEATRIZ ADRIANA ROSALES ROSALES

Directora de tesis
Dra. Patricia Rosas Saucedo



México, D.F.

2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



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

**ESTUDIO DE LOS EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN
DE TIMULINA EN LA BURSA OVÁRICA DE RATONES
PREPÚBERES SOBRE LA DINÁMICA DEL
CRECIMIENTO FOLICULAR Y LA
ESTEROIDOGÉNESIS**

Tesis presentada por:

Diana Cristina Loaiza Romero

Beatriz Adriana Rosales Rosales

Directora de tesis: Dra. Patricia Rosas Saucedo

La tesis fue desarrollada en el Laboratorio de Neuroinmuno-endocrinología de la Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción. Unidad Multidisciplinaria de Investigación Experimental Zaragoza. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.

AGRADECIMIENTOS

A LA DRA. PATRICIA ROSAS SAUCEDO:

Por el enriquecimiento a esta tesis con sus valiosos conocimientos.

A LOS MIEMBROS DEL JURADO:

Dra. Patricia Rosas Saucedo

Dra. María Elena Ayala Escobar

Dra. Leticia Morales Ledesma

M. en IBSH. Angélica Flores Ramírez

Dra. Juana Monroy Moreno

Por su colaboración, tiempo dedicado, sus importantes aportaciones y sobre todo por compartir su conocimiento con nosotras durante la revisión de esta tesis que lograron mejorar y enriquecer este estudio.

Al Laboratorio de Hormonas Esteroides del Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán" y al biólogo Roberto Chávira por su colaboración en la determinación de las concentraciones hormonales.

A la MVZ Adriana Altamirano y a el MVZ Román Hernández y al personal técnico del Bioterio de la FES-Zaragoza por el mantenimiento a los ratones que se utilizaron en este estudio.

A nuestros compañeros, que estuvieron con nosotras en el transcurso de nuestra carrera, por hacer los largos días de espera una verdadera aventura que nos alegraba.

DEDICATORIAS

A TI DIOS MÍO.

Hoy quiero darte las gracias, señor, porque has llenado mi vida de dicha y me has colmado de bendiciones, gracias por bendecirme con esa familia tan hermosa, porque quien tiene la dicha de contar con ella, sabe que tiene en sus manos un tesoro invaluable, gracias por cuidarnos y protegernos, por escucharme día tras día pidiéndote desde el fondo de mi corazón que ilumines el camino por donde he elegido seguirte. Gracias por darme la fortaleza suficiente para alcanzar con esfuerzo y amor, esta meta que tiene toda tu bendición, por eso, hoy te digo gracias, Señor.

A MIS PADRES: JÉSUS Y DOLORES

Gracias padres porque ni con todo el oro del mundo podre agradecerles todo lo que han hecho por mí, gracias por llenarme de cariño y atenciones, porque no tengo con que agradecerles todos los sacrificios que hicieron por darme la mejor herencia que me han podido dejar mi educación profesional. Por ser ustedes el pilar en el cual me apoyo, porque sin esperar nada a cambio, lo dieron todo, por estar cerca de mí compartiendo las experiencias más importantes de mi vida, por saber entenderme y dejarme experimentar mis propios triunfos y fracasos, porque siempre conté con su confianza. Porque gracias a su apoyo he realizado una de mis mejores metas. Por todo esto quiero que hoy sepan que el objetivo logrado, también es suyo y que la fuerza que me ayudo a conseguirlo, fue su amor, confianza y la profunda admiración que tengo por ustedes.. Gracias PAPI. Los AMO.

A MI MEJOR AMIGA.

Gracias mami, por todas las enseñanzas que me has dado, por mostrarme el verdadero amor por la vida, por enseñarme el valor de la gratitud y de la humildad, porque gracias a eso, hoy soy la mujer que forjaste con todos tus valores, porque siempre estás en el momento preciso cuando te necesito, por compartir todas mis alegrías, pero también mis tristezas, porque siempre me has guiado de tu mano, por tus días de desvelo conmigo, porque para una madre no hay horario de descanso, porque dan su amor incondicional, porque siempre supiste estar para cada uno de nosotros, quiero que sepas que te admiro como mujer, como madre y sobre todo, como la mejor amiga que he podido tener en toda mi vida.

A MI PAPI.

Como podre agradecerte todo el esfuerzo que has hecho por nosotros. El nombre de Jesús, es sinónimo de fortaleza, trabajo, sacrificio, provisión, dedicación y entrega, entre muchos otros adjetivos calificativos que se le podrían agregar y hoy quiero darte gracias porque no te ha importado trabajar de sol a sol y poner en riesgo tu vida. Gracias papi, por enseñarme que nunca me tengo que dar por vencida y a no ser conformista, por darme la mano y por aconsejarme cuando lo he necesitado, porque en tu mirada he podido ver al hombre que algunas veces me reprocha pero que siempre me dice que me ama.

A MIS HERMANOS.

Hoy quiero agradecerles por el simple hecho de existir, porque sin ustedes no podría imaginarme mi vida, gracias porque siempre han confiado en mí, porque a pesar de nuestras diferencias siempre han estado a mi lado en los tiempos buenos pero también en los malos, gracias porque de cada uno de ustedes he aprendido algo que me enriquece como persona. Todos desde sus distintas profesiones me han enseñado que sólo el trabajo bien hecho, es el que edifica y engrandece. Gracias Jesús por enseñarme el valor de la humildad, gracias Edgar por enseñarme a ser fuerte y gracias Nancy por enseñarme a luchar por lo que en verdad se quiere. LOS AMO.

A MI GORDO.

Yo no creo en la suerte, pero si en el destino y le doy gracias a dios por cruzar nuestras vidas y por permitirme conocer a una persona maravillosa. Gracias gordo, por estar en todo este largo tiempo compartiendo tu vida conmigo, por soportar mi mal carácter, mis caprichos, mis ausencias, gracias por que cuando he querido dejar todo, tú me has impulsado, porque me has enseñado a que no se necesita tener una carrera profesional para entender el valor y amor por la vida. Hoy te digo que te admiro y te respeto por ser una persona tan humilde que da, sin esperar que le correspondan, gracias por compartir todas esas vivencias a tu lado y espero que sea como un día te lo prometí ante dios, para toda la vida y que cuando seamos viejitos sigamos de la mano, amándonos. Eres el amor de mi vida y bendito destino porque hoy eres mi Amigo y mi Esposo. Te Amo David.

A MI ANGEL.

Mi Amor como puedo agradecerte todo lo que has formado dentro mi, el simple hecho de llegar a nuestras vidas me hizo feliz, llegaste a unirnos más como familia y a bendecir nuestras vidas. Tu simple nombre lo dice todo ANGEL GABRIEL, eres un ángel que trae luz y que aunque no naciste de mí, si naciste de mi corazón yo no pretendo que me veas como tu mami, sino como tu amiga en la cual puedes confiar y quiero que sepas que voy a tratar de guiarte. Gracias porque con una simple sonrisa me alegras el día, con un beso me haces sentir grande y que siempre siento que con tu bendición voy bien protegida y espero que cuando leas esto, estés orgulloso de tu tía, madrina y sobre todo de tu amiga. Te Amo, mi ANGEL.

A BETY.

En toda mi vida, he conocido buenos compañeros, conocidos, pero muy pocos amigos ya que la verdadera amistad se da sin pedir nada a cambio y hoy puedo decir que conocí a una excelente persona que me escucha, que me aconseja, que ríe cuando yo río y que me consuela cuando estoy triste, porque gracias a ti no he desistido y hoy puedo decir que alcance una meta junto de la mano de mi AMIGA Bety, yo sé que esto solo es el comienzo del camino y que no importa en donde estemos siempre podrás contar conmigo, gracias amiga te quiero

*A mis compañeros de estudio **Leonardo** y **Carmelo**, gracias por abrir sus corazones hacia mí, por su comprensión y confianza, por su amistad incondicional, por esos momentos maravillosos que pasé junto a ustedes.*

*A la Dra. **Patricia Rosas Saucedo** por su gran apoyo y motivación para la culminación de nuestros estudios profesionales y para la elaboración de esta tesis.*

*Y sobre todo gracias a la **Universidad Nacional Autónoma de México**, por acogerme y permitirme alcanzar una de mis metas en sus aulas.*

DIANA CRISTINA LOAIZA ROMERO

A Dios:

Desde ahora te alabo y te bendigo por todo lo que vaya a suceder en mi vida se que aunque pase por valles tenebrosos ningún mal temeré porque tu vas conmigo tu vara y tu callado me dan seguridad, tu bondad y misericordia me acompañaran todos los días de mi vida y mi morada será tu casa por años sin termino. AMÉN, ALLELUYA, GLORIA A DIOS.

A mis padres Socorro y Felipe:

Señor, gracias te doy porque he visto a mis padres recorrer el camino de la vida, uno al lado del otro sin jamás desmayar, siguiendo la ruta que les marco el destino, apoyándome siempre para no tropezar. En la vida se nos dan pocas oportunidades para salir adelante y contar con seres que nos induzcan y nos enseñen, que no debemos darnos por vencidos para lograr nuevas metas e ideales. Dios me ha dado la suerte de tenerlos y la oportunidad de contar con ustedes. Compartir mis fracasos, triunfos, tristezas y alegrías. Infinitamente les agradezco todo el apoyo que me brindan para subir este escalón, que será el inicio de mi profesión. Por su amor incondicional, sacrificios porque yo se que sin ustedes no hubiera logrado nada. Con todo mi amor mil gracias.

A mi mamá:

Gracias mamá porque de ti aprendí a amar la vida y a perdonar, por ser la estrella resplandeciente que supo apoyarme, comprenderme y alentarme cuando claudicaba. Por tu amor gracias.

A mi papá:

Gracias papá por creer en mí, por tu comprensión por tu confianza y por ser la luz que guió mis pasos por el camino donde se trazaron mis metas por enseñarme a vivir y realizarme como ser humano.

A mis hermanos:

Rodrigo, Leticia, Elizabeth, Rosa y Angélica por ser siempre mi apoyo, porque no sería lo mismo sin ustedes, por formar parte de mi vida haciendo cada día maravilloso, por ser ustedes el pilar en el cual me apoyo cuando estoy a punto de fracasar. Por estar cerca de mí, compartiendo las experiencias más importantes de mi carrera. Porque gracias a su apoyo he llegado a realizar una de mis mejores metas. Gracias por creer en mí. Los amo.

A Chema:

Porque eres de esa clase de persona que todo lo comprende. Porque sabes escuchar y brindar ayuda cuando es necesario... porque más que un tío eres un hermano para mí. Te agradezco por todo el apoyo que me brindaste, durante toda mi carrera de estudiante, te agradezco toda la ayuda que me diste. Por creer en mí y por tu cariño.

A Papás:

Gracias por su ejemplo, por brindarme su amor, porque siempre hubo una palabra cuando más lo necesite. Porque siempre ha estado a mi lado, quiero que sienta que el objetivo logrado también es suyo y que la fuerza que me ayudó a conseguirlo fue su apoyo. Gracias por ser mi abuelito, lo amo.

A Chinita:

Que difícil fue tu partida, pero sé que ahora me cuidas como mi ángel guardián, sin embargo quiero que sepas que tu amor perdurara más allá del tiempo, porque tu amor es inmortal y siempre estarás conmigo y sé que sin ti este día no hubiera llegado ya que tu amor me impulsó a seguir adelante. Espero que estés muy orgullosa de mí, hoy te doy gracias por compartir parte de tu vida conmigo, gracias por ser mi abuelita, gracias por ser mi mamá chinita. Con amor y gratitud eterna a un corazón bueno.

A Diana:

*“Un amigo es aquel que está contigo, aunque quisiera estar en otro lado” por eso hoy te digo: gracias **Diana**, gracias **amiga** por estar ahí en los momentos más difíciles, por no renunciar por todos los momentos compartidos a lo largo de la carrera, clases, salidas de campo, exámenes, por tus consejos, por ser una persona sincera por no decir lo que quiero escuchar sino lo que es mejor para mí y sobre todo por tu amistad y porque hoy juntas logramos una nueva meta en nuestras vidas, espero se sigan realizando todos tus sueños.*

A Leonardo, Carmelo y Luz.

Cuando ingrese a la universidad nunca pensé que conocería personas tan maravillosas como ustedes, creo que soy una persona muy afortunada por haberlos conocido. Gracias amigos que sin pedir nada a cambio me ayudaron a darme cuenta que amor y amistad no sólo son concepto sino una entrega noble y desinteresada.

*Al termino de esta etapa de mi vida. Quiero expresar todo mi agradecimiento a quienes con su ayuda, apoyo y comprensión, me alentaron de alguna manera para lograr esta hermosa realidad... mi formación profesional. Gracias, **a mis abuelitos María y Cipriano a mi tío Carmelo y a Jorge Emilio** que aunque no estuvieron conmigo en toda mi formación se que cuento con ustedes.*

*A la **Universidad Nacional Autónoma de México** y en especial a la **Facultad de Estudios Superiores Zaragoza** que me dieron la oportunidad de formar parte de ellas. ¡Gracias!*

Una lección sin dolor no tiene sentido, eso es porque no se puede ganar algo sin sacrificar algo a cambio sin embargo, una vez que hayas soportado el dolor y lo hayas superado ganaras un corazón que es más fuerte que todo lo demás... Así es un corazón de acero.

Eduart Elrick,

BEATRIZ ADRIANA ROSALES ROSALES

ÍNDICE	Pág.
RESUMEN	<i>i</i>
INTRODUCCIÓN	1
1. Eje hipotálamo-hipofisario	1
2. Ovario.....	6
2.1 Desarrollo folicular.....	8
2.2 Atresia folicular.....	9
2.3 Ovulación.....	14
2.4 Bursa ovárica.....	15
3. Esteroidogénesis.....	15
4. Pubertad.....	19
5. Características morfofuncionales del timo.....	21
6. Timulina.....	24
6.1. Relación de la timulina con el sistema reproductor.....	25
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	28
HIPÓTESIS	29
OBJETIVOS	29
MATERIALES Y MÉTODOS	30
RESULTADOS	38
DISCUSIÓN	54
CONCLUSIONES	62
BIBLIOGRAFÍA	63
TRABAJOS PRESENTADOS EN FOROS ACADÉMICOS	72

RESUMEN

La timulina (TIM) es un nonapéptido sintetizado exclusivamente por las células retículo-epiteliales del timo, órgano que participa con los mecanismos que regulan la reproducción.

En el ratón prepúber tratado con gonadotropinas, la administración sistémica de TIM induce superovulación. La TIM adicionada al cultivo de células de la granulosa de ovario de ratón, es capaz de estimular la secreción estradiol y potencia el efecto estimulante de la FSH.

Evidencias recientes muestran que la administración de timulina en la bursa ovárica, puede estimular o inhibir la respuesta ovulatoria, efecto que depende de la relación timulina-gonadotropinas. Estos resultados podrían ser explicados por modificaciones en el crecimiento y diferenciación folicular. Por ello, en el presente estudio se analizaron los cambios en la población folicular y en la capacidad esteroidogénica de estos ovarios

Se utilizaron los ovarios de hembras prepúberes de los siguientes grupos experimentales: intacto, testigo, operación simulada (OS), microinyección en bursa ovárica de solución salina (SS) o TIM (30, 60, 120, 240 pg/ovario). A los 20 días de edad todos los grupos, excepto el de animales intactos, se trataron con 2 ó 3 u.i. de eCG, 54 h más tarde con 3 u.i. de hCG y se sacrificaron a los 23 días de edad. Los ovarios, se fijaron en solución de Bouin, se deshidrataron y se incluyeron en parafina. Se realizaron cortes seriados de 10 μ m de grosor que se tiñeron con hematoxilina-eosina. Se realizó el análisis del crecimiento y diferenciación folicular evaluando las características morfométricas (preantrales y antrales) de todos los folículos mayores a 100 μ m, clasificándolos en sanos y atrésicos. En el suero se cuantificaron las concentraciones de 17 β -estradiol por radioinmunoanálisis.

Los resultados mostraron que los ovarios de los animales prepúberes intactos (no ovulantes) tuvieron más folículos que el testigo tratado con gonadotropinas (ovulantes), sin embargo más del 60% fueron atrésicos.

En los animales estimulados con 2 u.i. de eCG + 3 u.i. de hCG, el número de folículos antrales-sanos del grupo con OS (ovulantes) fue tres veces mayor al que se observó en los testigos, lo que coincide con la disminución en la cuota ovulatoria que presentó el grupo con OS. El grupo con SS presentó una disminución en el número de folículos antrales-sanos respecto a la OS. En los grupos inyectados con 30 y 120 pg de TIM (no ovulantes), alrededor del 80% de los folículos antrales son sanos. La evaluación de las concentraciones de estradiol en el suero de los animales inyectados con 120 pg de timulina fue 11 veces más alta que la de los animales inyectados sólo con SS, lo cual

corresponde con la presencia de una mayor cantidad de folículos antrales sanos. El grupo tratado con 240 pg de TIM presentó una gran cantidad de folículos antrales-atrésicos, efecto que explica el bloqueo de la ovulación en todos los animales.

Cuando se analizó la población folicular de los animales estimulados con 3 u.i. de eCG + 3 u.i. de hCG, el grupo con OS (ovulantes) no tuvo diferencias con el testigo. El grupo con SS (no ovulantes) presentó mayor proporción de folículos preantrales-atrésicos respecto a la OS. El análisis folicular de los animales a los cuales se les administraron 30 y 60 pg de TIM (ovulantes), mostró un incremento en los folículos preantrales, siendo la mayoría sanos. Al administrar 120 pg de TIM se presentó un rescate de la atresia de los folículos antrales.

En conclusión el análisis del crecimiento y diferenciación folicular permite sugerir que la timulina, dependiendo de la concentración inyectada en la bursa ovárica, estimula la funcionalidad de los folículos (esteroidogénesis) y por otra modifica la receptividad de los mismos al estímulo gonadotrópico, lo que explica en parte los cambios en la respuesta ovulatoria.

INTRODUCCIÓN

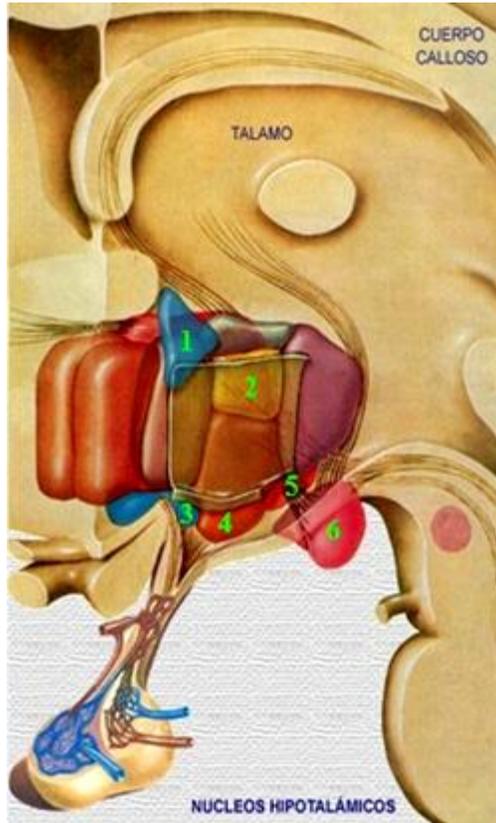
1. Eje hipotálamo-hipofisario

Hipotálamo

El hipotálamo está ubicado en medio de la base del cerebro y rodea la porción ventral del tercer ventrículo. En el hipotálamo se distinguen tres regiones funcionalmente independientes: 1) zona rostral o supraóptica, que engloba a los núcleos supraóptico y paraventricular, que proyectan sus axones hacia la neurohipófisis; 2) zona medial o tuberal, que incluye los núcleos ventromedial, dorsomedial y arcuato cuya proyección axonal va hacia la eminencia media; 3) zona caudal o mamilar, que engloba a los cuerpos mamilares (Casanueva y Vázquez, 1995; Ross, 2007) (Figura 1).

El hipotálamo es el centro de regulación neuroendócrina, autónoma y homeostática. Actúa como centro integrador que coordina mensajes del entorno, ritmos, patrones de desarrollo endógenos y señales corporales (Casanueva y Vázquez, 1995; Ross, 2007).

Las células neurosecretoras del hipotálamo sintetizan hormonas liberadoras e inhibitoras que regulan las funciones de la hipófisis. Dichas hormonas son empaquetadas en gránulos y transportadas a lo largo de los axones hacia la eminencia media, donde son liberados por exocitosis en capilares del sistema porta hipotálamo-hipofisario. Este sistema porta se forma a partir de la arteria hipofisaria superior, entra en la eminencia media y se divide en capilares que drenan en vasos descendentes que culminan entre las células secretoras de la hipófisis (Snell, 2001).



- 1.-Núcleo paraventricular
- 2.-Núcleo dorsomedial
- 3.-Núcleo supraóptico
- 4.-Núcleo ventromedial
- 5.-Núcleo arcuato
- 6.-Cuerpos mamilares

Figura 1. Esquema que muestra algunos núcleos hipotalámicos (Tomado y modificado de <http://www.iqb.es/cbasicas/anatomia/snc/hipotalamo/nucleos.htm#>. Consulta febrero 2010).

Hipófisis

La hipófisis está situada por debajo del hipotálamo y se encuentra apoyada en el hueso esfenoides. Se compone de dos partes con origen, estructura y funciones diferentes: la adenohipófisis, que se desarrolla en el embrión como una proyección de la faringe, en tanto que la neurohipófisis se desarrolla como una proyección del encéfalo. Las diferencias microscópicas entre ambas glándulas son sugeridas por sus nombres: adeno = glándula y neuro = nervio (Geneser, 2000). La neurohipófisis está formada por las fibras nerviosas de los cuerpos celulares que sintetizan vasopresina y oxitocina y que se ubican en el hipotálamo donde, bajo el estímulo apropiado, son

liberadas a la circulación (Geneser, 2000; Ross, 2007).

La adenohipófisis es una estructura muy vascularizada formada por células epiteliales de tamaño y forma variables, dispuestas en cordones o folículos irregulares entre los que se encuentran sinusoides vasculares de paredes finas, soportados por un delicado armazón de tejido reticular (William, 1998; Ross, 2007) (Figura 2).

En la adenohipófisis se pueden identificar tres tipos de células: *cromóforas* (50%), *acidófilas* (40%) y *basófilas* (10%) (Gartner y Hiatt, 2003).

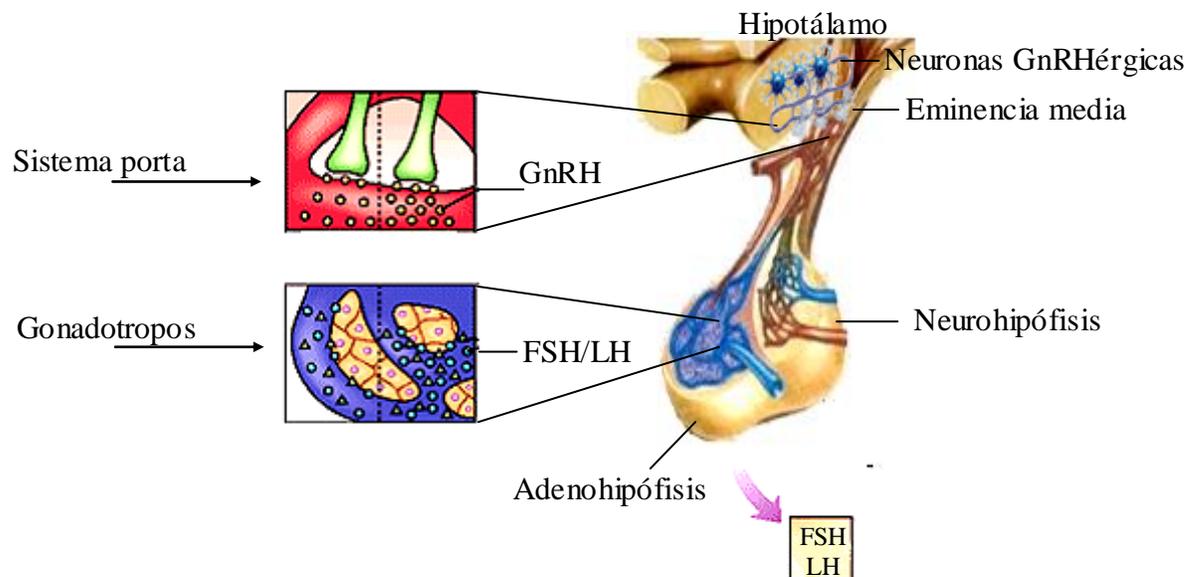


Figura 2. Esquema que muestra la neurohipófisis y la adenohipófisis en el humano. Hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH), hormona estimulante del folículo (FSH) y hormona luteinizante (LH) (tomado y modificado de <http://www.nature.com/neuro/journal/v7/n10/full/nn1326.html>, consulta agosto 2011).

El eje hipotálamo-hipofisario se establece con las señales hipotalámicas que regulan la liberación de una serie de hormonas de origen hipofisario (Casanueva y Vázquez, 1995; Ross, 2007). En el siguiente cuadro se muestran las hormonas secretadas por la hipófisis.

Cuadro 1. Hormonas sintetizadas en la adenohipófisis y en la neurohipófisis (tomado y modificado de Casanueva y Vázquez, 1995).

	Hormona	Fuente	Mecanismo de control	Efecto
Adenohipófisis	Hormona estimulante del folículo (FSH)	Gonadotropos (células basófilas)	Hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH)	En el ovario estimula el crecimiento y la maduración del folículo y la síntesis de estrógenos. En el testículo estimula el desarrollo de los túbulos seminíferos y la espermatogénesis.
	Hormona luteinizante (LH)	Gonadotropos (células basófilas)	Hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH)	En el ovario estimula la síntesis de progesterona, induce la ovulación y estimula la formación del cuerpo lúteo. En el testículo estimula la síntesis de testosterona por las células de Leydig.
	Hormona del crecimiento (GH)	Somatotropos (células acidófilas)	Hormona liberadora de la GH (GHRH)	Promueve el crecimiento de todos los tipos celulares.
	Hormona estimulante de la tiroides (TSH)	Tirotropos (células basófilas)	Hormona liberadora de tirotrópina (TRH)	En la tiroides incrementa la secreción de hormonas tiroideas (tiroxina y triyodotironina).
	Prolactina (PRL)	Lactotropos (células acidófilas)	Factor liberador o inhibidor de la PRL (PRF)	En la glándula mamaria estimula la secreción de leche. En el ovario permite la permanencia del cuerpo lúteo.
	Hormona Adrenocorticotrópica (ACTH)	Corticotropos (células basófilas)	Factor liberador de corticotropina (CRF)	En la corteza adrenal estimula la secreción de glucocorticoides (cortisol y corticosterona)
Neurohipófisis	Vasopresina	Hipotálamo (núcleo supraóptico)	Osmorreceptores del hipotálamo que son estimulados por aumento de la presión osmótica de la sangre y disminución del volumen del líquido extracelular.	Disminución de la excreción de orina.
	Oxitocina	Hipotálamo (núcleo paraventricular)	Estimulación nerviosa del hipotálamo causada por estimulación de los pezones por succión durante (amamantamiento).	Contracción del músculo liso del útero y eyección de leche hacia los conductos galactóforos.

Las funciones ováricas son reguladas por señales neuroendócrinas que son generadas en diferentes regiones del sistema nervioso central e integradas por el hipotálamo. Éste en respuesta secreta la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH), la cual es transportada por el sistema porta hipotálamo-hipofisario a la adenohipófisis donde estimula la secreción de las hormonas estimulante del folículo (FSH) y luteinizante (LH) (Sánchez, 1999).

Las gonadotropinas llegan al ovario y regulan el crecimiento y maduración de los folículos, la secreción de hormonas esteroides y la ovulación. Las hormonas esteroides vía el torrente sanguíneo, llegan al hipotálamo y modulan la secreción de GnRH, completando así el circuito neuroendócrino de retroalimentación que regula la reproducción (Sánchez, 1999) (Figura 3).

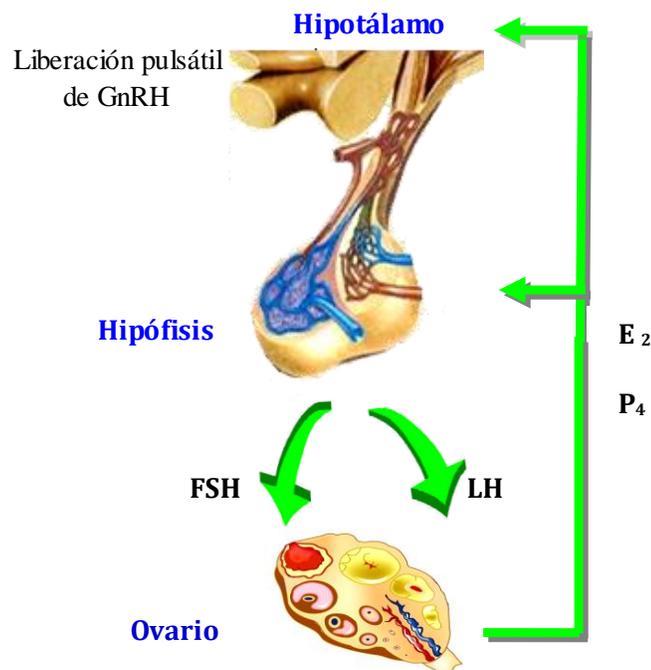


Figura 3. Eje reproductivo: esquema que muestra el tráfico hormonal entre el hipotálamo, la hipófisis y el ovario. A nivel central se produce la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) que estimula a las células gonodotropas adenohipofisarias. Dichas células sintetizan y secretan las hormonas estimulante del folículo (FSH) y luteinizante (LH). Estas gonadotropinas estimulan a los ovarios para producir estrógenos y progesterona que al ser liberados a la circulación regulan la actividad hormonal del hipotálamo y la hipófisis (tomado y modificado de Audesirk y Audesirk, 1996).

2. Ovario

El ovario realiza dos funciones, la producción y liberación de ovocitos y la secreción de hormonas esteroideas y protéicas. Estas funciones son reguladas por las hormonas secretadas por la hipófisis, las adrenales, la tiroides y el timo (Sánchez, 1999; Geneser, 2000; Yeh y Adashi, 2001).

Los ovarios son órganos pares, cada uno consta de una gruesa cápsula de tejido conectivo revestida por mesotelio plano y cúbico simple, denominado epitelio germinativo. En el ovario se distinguen tres zonas, la corteza, la médula y el hilio. La región medular se localiza en la porción central del ovario compuesta por tejido conectivo que contiene abundantes vasos sanguíneos, vías linfáticas y fibras nerviosas. La región cortical, se ubica alrededor de la médula y se compone de un estroma de tejido conectivo, que incluye a los folículos ováricos en diferentes etapas de desarrollo. El hilio es la región donde se encuentran la arteria y vena ovárica, los vasos linfáticos las células intersticiales y fibras nerviosas (Sánchez, 1999; Geneser, 2000; Gartner, 2003; Ross, 2007).

El ovario consta de tres compartimientos, folicular, luteal e intersticial; el folicular está formado por todos los folículos; el lúteal lo integran los cuerpos lúteos producto de los folículos que liberaron al ovocito y el intersticial está conformado por las células de la teca de aquellos folículos que no llegaron a ovular (Sánchez, 1999; Geneser, 2000; Yeh y Adashi, 2001) (Figura 4).

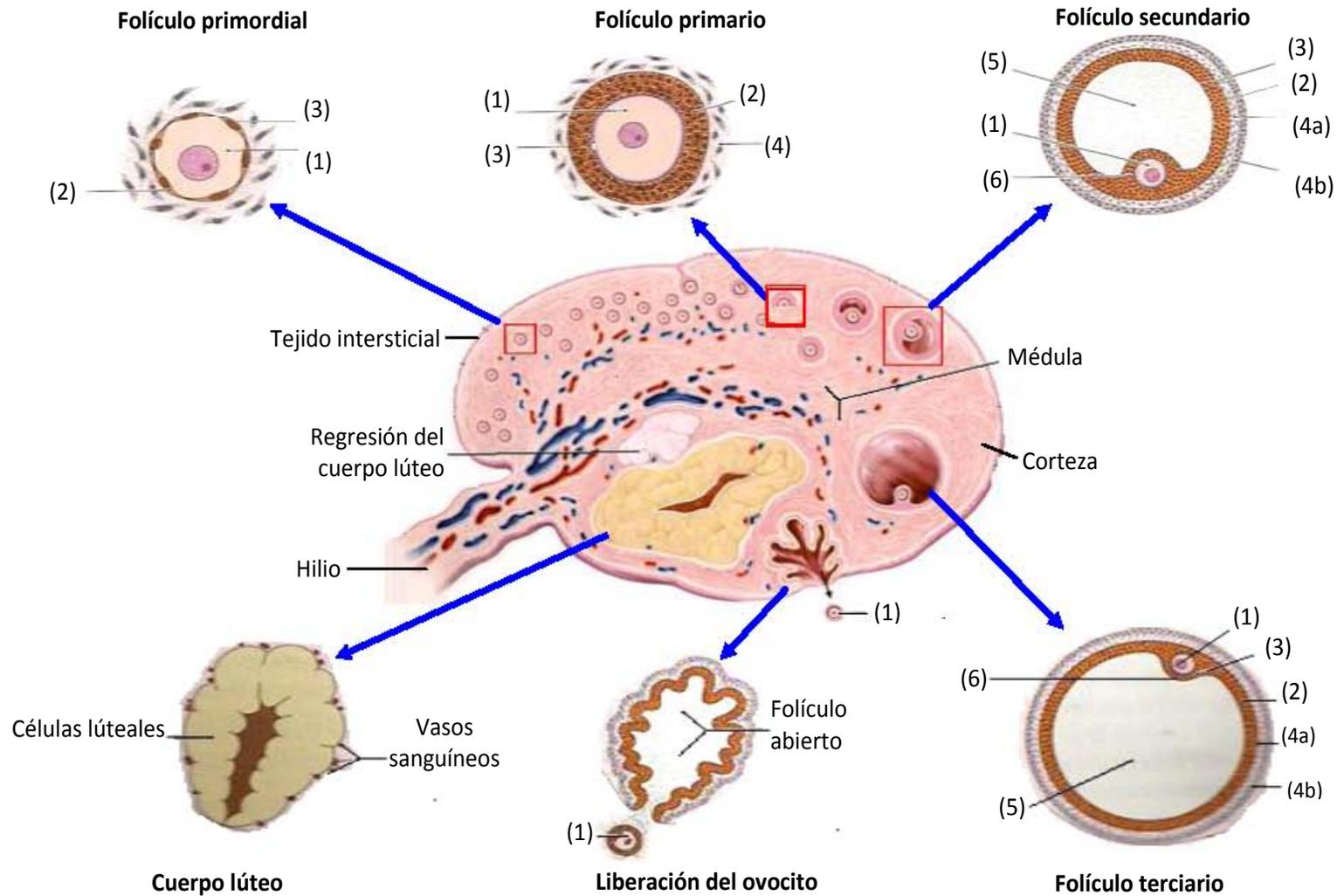


Figura 4. Esquema que muestra los folículos en diferentes estadios de crecimiento (compartimento folicular), cuerpos lúteos (compartimento luteal) y el tejido intersticial; (1) ovocito, (2) células de la granulosa, (3) membrana basal, (4a) teca interna, (4b) teca externa, (5) antro folicular y (6) *cumulo oophorus* (tomado y modificado de Schünke y col., 2006).

Desarrollo folicular

El desarrollo folicular ovárico es un proceso dinámico y complejo, caracterizado por la diferenciación de las células foliculares y una marcada proliferación, proporcionando el ambiente óptimo para la maduración del ovocito y su preparación para la fertilización después de la ovulación. El desarrollo folicular es influenciado por señales endócrinas, parácrinas y autócrinas dentro del ovario y un intercambio de señales endócrinas entre los ovarios y la hipófisis (Driancourt, 1991; Armstrong y Webb, 1997).

El folículo ovárico es la unidad anatómica-funcional del ovario. Durante su crecimiento pasa por diversos estadios de maduración que van desde el folículo primordial hasta el folículo primario, secundario y terciario (Bergman y col., 1998; Geneser, 2000; Gartner, 2003).

Los **folículos primordiales** se encuentran en gran número distribuidos en la corteza ovárica. Consisten de un ovocito rodeado por una capa de células epiteliales aplanadas, las células foliculares. El folículo primordial está separado del estroma circundante por una delgada lámina basal. En los roedores, los folículos primordiales se forman poco antes del nacimiento o en los primeros días de vida postnatal y termina en la primera semana de vida (Peters, 1978; Geneser, 2000; Fortune, 2002; Gartner, 2003).

En el **folículo primario**, el ovocito aumenta de tamaño y las células foliculares aplanadas crecen en altura hasta hacerse cúbicas y luego cilíndricas; adquieren un aspecto granular por lo que se les denomina células de la granulosa. En este proceso se forma la zona pelúcida, que separa al ovocito de las células de la granulosa. Las células del estroma circundante se distribuyen en una capa concéntrica llamada teca

folicular (Geneser, 2000).

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

En el **folículo terciario o preovulatorio** se encuentran estructuras diferenciadas estructuras como el *cumulus oophorus* y la corona radiada, que se forma a partir de las células de la granulosa y cuya función principal es proporcionar nutrientes para el crecimiento del ovocito. La ovulación ocurre cuando el folículo terciario se rompe y libera al ovocito junto con las células del *cumulus* y la *corona radiada* (Gore-Langton y Armstrong, 1994; Gartner, 2003).

Cuando el folículo terciario pierde al ovocito, se transforma en un cuerpo hemorrágico. Al cabo de un tiempo, este cuerpo hemorrágico se transforma en un cuerpo lúteo, que produce estrógenos y progesterona (Gartner, 2003).

Atresia folicular

La atresia folicular es un proceso por el cual todos aquellos folículos que, habiendo iniciado su crecimiento y diferenciación, no llegan a ovular (Greenwald y Roy, 1994).

En los mamíferos, aunque muchos folículos inician su crecimiento y desarrollo durante el ciclo reproductivo, sólo un número determinado de estos es ovulado y el restante degenera y culmina en atresia (Farookhi, 1981; Geneser, 2000).

En la atresia folicular, la muerte celular se expresa en dos procesos diferentes: apoptosis y necrosis. La apoptosis es un proceso fisiológico normal, genéticamente y parcialmente conservado a lo largo de la evolución de los vertebrados; siendo una de sus funciones la activa participación en la remodelación de los tejidos adultos (Steller 1995; Thompson 1995; Rosales y col., 2008; Bulfon y Bee de Speroni 2009).

A diferencia de la apoptosis, la necrosis es la manifestación de una alteración provocada por un fenómeno patológico, asociada a condiciones fisiológicas extremas, cambios de temperatura en el medio ambiente y exposición a toxinas o trastornos severos en los tejidos, entre otras (Byskov, 1978; Centola, 1983).

Durante el proceso de atresia folicular se observan cambios tanto morfológicos como bioquímicos que se describen a continuación en el cuadro 2 (Byskov, 1978; Centola, 1983).

Cuadro 2. Cambios morfológicos y bioquímicos durante la atresia folicular (tomado y modificado de Byskov, 1978; Centola, 1983).

MORFOLÓGICAS	BIOQUÍMICAS
Células de la granulosa	Células de la granulosa
<ul style="list-style-type: none"> ✦ Pícnosis nuclear ✦ Detención del proceso mitótico ✦ Pérdida de uniones gap, de los desmosomas y los nexos. Las células de la granulosa se observan aisladas en la cavidad antral (descamación) 	<ul style="list-style-type: none"> ✦ Condensación del ácido desoxirribonucleico (ADN) por la activación de endonucleasas ✦ Alteración de la membrana nuclear y fragmentación posterior ✦ Disminución en el número de receptores a las gonadotropinas ✦ Disminución en la secreción de estrógenos ✦ Incremento en la secreción de progesterona ✦ Disminución de 17α-hidroxilasa
Células de la teca	Células de la teca
<ul style="list-style-type: none"> ✦ Hipertrofia (engrosamiento de la teca) 	<ul style="list-style-type: none"> ✦ Condensación del ADN por la activación de endonucleasas
Ovocito	Ovocito
<ul style="list-style-type: none"> ✦ Alteración del ovocito (ausencia o cambio en la forma de la membrana nuclear o fragmentación del ovocito) 	<ul style="list-style-type: none"> ✦ Condensación del ADN por la activación de endonucleasas

Hsueh y colaboradores (1994), basándose en criterios morfológicos, han dividido a la atresia en varias etapas.

Etapa I. Alrededor del 10% del total de las células de la granulosa presentan núcleos picnóticos, principalmente aquellas que se encuentran cerca del antro. La tasa de proliferación está disminuida.

Etapa II. Entre el 10 y el 30% de las células de la granulosa presentan picnosis. Son pocas las células que proliferan. La mayor parte de las células pierden la intercomunicación por lo que se observan dispersas en el antro folicular. La membrana basal pierde su integridad y hay infiltración de linfocitos T citotóxicos entre las capas de células de la granulosa. Los folículos en esta etapa ya no pueden escapar de la atresia y degeneran.

Etapa III. Ésta se caracteriza por una disminución masiva en el número de células de la granulosa, por muerte de las células picnóticas y la ausencia de mitosis. Las células de la teca se hipertrofian y hay separación y fragmentación de la membrana basal.

En el siguiente cuadro se muestran los factores inductores de atresia folicular y de supervivencia del folículo.

Cuadro 3. Factores inductores de atresia folicular y de supervivencia del folículo (tomado y modificado de Hsueh y col., 1994).

FACTORES INDUCTORES DE ATRESIA	FACTORES DE SUPERVIVENCIA DEL FOLÍCULO
✦ Andrógenos	✦ Gonadotropinas (FSH y LH)
✦ GnRH	✦ Progesterona y estradiol
✦ Interleucina 6 (IL-6)	✦ El factor de crecimiento epidérmico (EGF)
✦ Factor de necrosis tumoral α (TNF α)	✦ Factor de crecimiento tipo 1 parecido a la insulina (IGF-I)
✦ Factor de crecimiento transformante (TGF)	✦ Factor de crecimiento fibroblástico básico (bFGF)
✦ Proteína de membrana tipo II (Fas/FasL)	✦ Factor de crecimiento neural (NGF)
✦ Gen proapoptótico Bax	
✦ Caspasas	

Ovulación

La ovulación es un proceso mediado por las hormonas cuya consecuencia es la liberación del ovocito (Ross, 2007).

El proceso de crecimiento continuo y regresión de folículos en sus diferentes etapas de maduración que conduce al desarrollo del folículo preovulatorio, se conoce como dinámica folicular y se refiere al crecimiento en oleadas. En cada una de ellas, un grupo de folículos es reclutado para iniciar el proceso de crecimiento. De este conjunto varios son seleccionados y finalmente uno (varios, si la hembra es poliovulante) se convierte en dominante y está destinado a ovular y el resto sufre atresia (Savio y col., 1990; Lucy y col., 1992).

Independientemente de la especie y del número de oleadas cada una tiene tres fases: 1) reclutamiento, en la que un grupo de folículos adquiere la habilidad para responder a las gonadotropinas y empieza a crecer rápidamente; 2) selección, en la que un grupo de folículos es escogido para escapar del proceso de atresia y continuar creciendo, y 3) dominancia, en la que un folículo se desarrolla de forma más rápida que el resto, suprimiendo el crecimiento de los subordinados (Armstrong y Webb, 1997).

La ovulación ocurre por el aumento en la concentración de gonadotropinas, las cuales producen una inflamación aguda en los estratos de células de la granulosa y células de la teca de los folículos maduros (Lawrence y col., 2006). El proceso inflamatorio genera la actividad de proteasas que degradan la túnica albugínea (capa de tejido conjuntivo que protege a los ovarios) (Espey, 1999). Los elementos degradados de la pared del folículo se disocian y forman una pequeña zona oval llamada estigma. Por último, el estigma se rompe debido a la fuerza constante de la presión intrafolicular, lo que resulta en la liberación del complejo *cumulus*-ovocito (Lawrence y col., 2006).

Bursa ovárica

El ovario se encuentra rodeado por la bursa ovárica, la cual está compuesta por tres capas: interna, que es un epitelio discontinuo que da hacia el ovario; media, formada por tejido conectivo que contiene fibroblastos, células musculares lisas y vasos sanguíneos; y externa, que es un epitelio continuo que da hacia la cavidad peritoneal. La cavidad que se forma entre la bursa y el ovario está llena de fluido y se le conoce como cavidad bursal (Beck, 1972; Martin y col., 1981).

En los roedores, la bursa ovárica desempeña un papel importante en la ovulación, debido a que el fluido que se encuentra en esta cavidad provee un microambiente hormonal óptimo para los ovocitos y los mantiene en la cavidad bursal impidiendo que salgan a la cavidad abdominal, lo que permite que se dirijan hacia el oviducto (Beck, 1972; Li y col., 2007).

En la rata cuando la bursa ovárica es removida, la cantidad de ovocitos que se encuentran en el oviducto es menor en relación a la cantidad que hay cuando está presente (Vanderhyden y col 1986., Li y col., 2007).

3. Esteroidogénesis

La síntesis de los esteroides se encuentra determinada por tres factores: la estimulación del ovario por las gonadotropinas; la presencia de receptores a éstas y la disponibilidad de sustratos adecuados para la síntesis (Sánchez 1999; Domínguez y col., 1991).

El ovario sintetiza esteroides a partir del colesterol que obtiene de lipoproteínas de baja (LDL) o alta (HDL) densidad del plasma sanguíneo o que sintetiza *de novo* a partir de acetato. El colesterol se almacena en forma de ésteres dentro de gotitas lipídicas localizadas en el citoplasma de las células esteroideogénicas (Gore-Langton y Armstrong, 1994).

Los tipos celulares involucrados en la esteroideogénesis folicular son las células de la teca y las células de la granulosa. Las células de la teca presentan receptores a LH y las células de la granulosa a FSH y posteriormente a LH. La unión de la LH a su receptor específico en la membrana activa la síntesis de monofosfato de adenosina cíclico (AMPC) a partir de trifosfato de adenosina (ATP), dando comienzo a la cascada de eventos en el que participan factores de transcripción involucrados en la biosíntesis de la maquinaria enzimática (Gore-Langton y Armstrong, 1994).

El primer paso en la biosíntesis de esteroides es la conversión del colesterol a pregnonolona por la activación de la enzima citocromo P₄₅₀ que escinde la cadena lateral del colesterol (P₄₅₀SSC) dependiente de AMPC. La pregnonolona es el intermediario común en la producción de hormonas esteroides y puede seguir dos vías diferentes de biosíntesis, la Δ^5 y la Δ^4 (Domínguez y col., 1991). En la vía Δ^5 la pregnonolona es transformada a 17-hidroxi pregnonolona por la enzima 17 α -hidroxilasa y por acción de la enzima C₁₇₋₂₀ liasa se convierte en dehidroepiandrosterona (DHEA) que a su vez es transformada en androstenediona por acción de la enzima 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3 β -HSD) (Domínguez y col., 1991; Pedernera, 1993; Gore-Langton y Armstrong, 1994). En la vía Δ^4 la pregnonolona por acción de la enzima 3 β -HSD es transformada a progesterona y ésta se convierte en 17-hidroxi progesterona mediante la enzima 17 α -hidroxilasa y por acción de la C₁₇₋₂₀ liasa es convertida en androstenediona. Esta última es transformada a testosterona por la 17 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (17 β -HSD)

(Gore-Langton y Armstrong, 1994). Los andrógenos producidos en la teca interna de los folículos secundarios, pasan por difusión simple a las células de la granulosa donde la unión de la FSH a su receptor activa al complejo enzimático P₄₅₀ aromatasa (enzimas de localización microsómica y dependientes del citocromo P₄₅₀). El sistema de aromatización de las células de la granulosa, representa el paso limitante en la síntesis de hormonas con actividad estrogénica (Domínguez y col., 1991). La testosterona da origen al estradiol y la androstenediona a la estrona. La estrona y el estradiol son convertibles entre sí por efectos de la 17 β -HSD (Gore-Langton y Armstrong, 1994; Tresgueress y Castillo, 2005) (Figura 5).

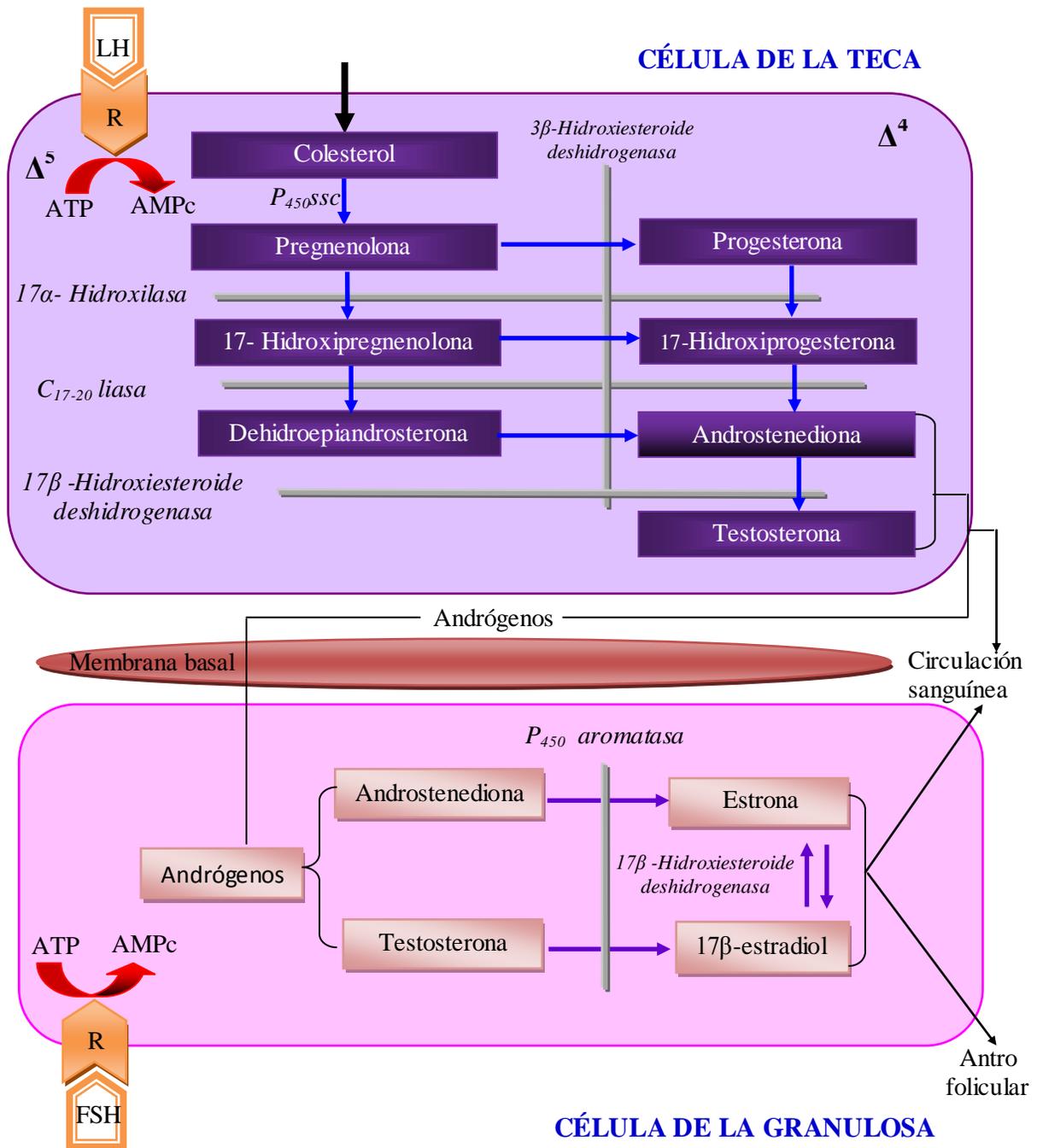


Figura 5. Esquema que muestra las rutas biosintéticas de los esteroides sexuales. Receptor (R), hormona estimulante del foliculo (FSH), hormona luteinizante (LH), trifosfato de adenosina (ATP), monofosfato de adenosina cíclico (AMPc) (tomado y modificado de Gore-Langdon y Armstrong, 1994).

4. Pubertad

La pubertad es la fase biológica que marca el inicio de la madurez sexual y en la cual ocurren una serie de cambios neuroendócrinos y fenotípicos. En la regulación de estos eventos participan la información genética del individuo, la nutrición, los estímulos sociales y algunas condiciones ambientales como el fotoperiodo (Ramírez, 1973).

El desarrollo de la rata desde el nacimiento a la pubertad se ha clasificado en cuatro etapas: neonatal, infantil, juvenil y peripuberal, con base a los cambios morfológicos y fisiológicos que ocurren en el eje hipotálamo-hipófisis- gónadas (Ojeda y Urbanski, 1994).

1) Etapa neonatal. Comienza desde el nacimiento y culmina al día siete de vida postnatal. Este periodo se caracteriza por la insensibilidad del ovario a las gonadotropinas, es decir que el crecimiento folicular se inicia de forma independiente a las gonadotropinas. A partir del quinto día, la FSH recién comienza a estimular la producción de estradiol a partir de la testosterona. El control negativo de la secreción gonadotrópica por el estradiol es ineficiente debido a la presencia en el suero de α -feto proteína que une fuertemente a los estrógenos tornándolos biológicamente inactivos. Hacia el final de esta etapa se hace evidente la respuesta esteroidogénica del ovario a las gonadotropinas. Las concentraciones de FSH son bajas antes del nacimiento y empiezan a aumentar y la LH sérica se mantiene baja (Becú-Villalobos y Lacau- Mengido, 1990).

2) Etapa infantil. Comprende del día ocho hasta el día 21 de vida. Este periodo se caracteriza por concentraciones muy altas de FSH y por la presencia de picos esporádicos de LH. Los niveles altos de FSH son fundamentales para el reclutamiento y crecimiento de los folículos que llegarán a ser ovulados a la pubertad. A partir del día 15 de vida disminuye la concentración de FSH y desaparecen los picos de LH.

Comienza a detectarse inhibina en el suero. La desaparición de la α -feto proteína favorece la eficacia de la retroalimentación negativa del estradiol sobre las gonadotropinas (Becú-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990).

3) Etapa juvenil. Inicia el día 21 y culmina alrededor del día 30 de edad. En esta etapa las concentraciones de FSH han disminuido sensiblemente y las de LH son bajas y constantes en un comienzo. La mayoría de los cambios ocurren con esta última gonadotropina, que comienza a secretarse de forma pulsátil y que, hacia el final del periodo, incrementa sus valores basales y la amplitud de sus pulsos durante la tarde, estableciéndose un ritmo de secreción circadiano. En el ovario se observa aumento de receptores a LH que junto con el patrón de secreción de LH se traduce en una mayor esteroidogénesis (Becú-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990).

4) Etapa peripuberal. Tiene una duración variable ya que está asociada con la primera ovulación. Se mantiene la amplitud de los pulsos de LH responsables de estimular al ovario y provocar una mayor producción de estradiol. Aumenta el número de receptores a FSH y LH, lo que se traduce en la máxima respuesta esteroidogénica (Ramírez, 1973; Ojeda y col., 1986).

La cascada de eventos que culmina con la pubertad es compleja y para su estudio se ha dividido en varias fases (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990). **1) Anestro:** La vagina permanece aún cerrada, el útero es pequeño y no se detecta ningún fluido intrauterino. **2) Proestro temprano:** En esta etapa la vagina continúa cerrada, el útero es largo con fluido intrauterino. **3) Proestro tardío:** Corresponde al primer día de proestro, muchos animales aún presentan la vagina cerrada, el útero es largo, balonado y lleno de fluido. **4) Estro:** Es el día de la primera ovulación, la vagina está abierta y predominan las células cornificadas, el fluido uterino ya ha desaparecido y en el ovario se pueden observar los cuerpos lúteos. **5) Primer diestro:** La citología de

vagina se caracteriza por presentar leucocitos y en el ovario se observan la presencia de cuerpos lúteos maduros (Ramírez, 1973; Ojeda y col., 1986).

5. Características morfofuncionales del timo

El timo es uno de los órganos linfoides primarios que tiene a su cargo el desarrollo de linfocitos que intervienen en la respuesta inmune mediada por células. Proporciona un microambiente único en el que los precursores de las células T (timocitos) se desarrollan y diferencian en linfocitos T o linfocitos inmunocompetentes (inmunogénesis) (Bellanti, 1986; William, 1998).

El timo está situado en la cavidad torácica, anterior a los grandes vasos que salen del corazón. Es de forma triangular cuya base se encuentra apoyada en el saco pericárdico y se extiende hasta la base del cuello. Está formado por dos lóbulos que derivan bilateralmente de la tercera bolsa faríngea, pero que después quedan íntimamente unidos por tejido conjuntivo (Fawcett, 1995) (Figura 6).

Cada lóbulo está rodeado por una delgada cápsula de tejido conectivo que emite numerosos tabiques que se extienden desde la cápsula hacia el interior del órgano y dividen cada lóbulo en numerosos lobulillos. Los lobulillos presentan una zona periférica llamada corteza, y una zona central ó médula. La corteza y la médula están entrelazadas por un estroma laxo compuesto por células epiteliales que se relacionan entre sí por prolongaciones en forma de estrella, formando un retículo celular. Las células retículo-epiteliales forman una capa continua en la corteza y alrededor de los vasos sanguíneos. En la médula, la densidad de células retículo-epiteliales es mayor que en la corteza; también se distinguen por presentar estructuras redondeadas u ovals compuestas por capas concéntricas de células epiteliales aplanadas llamadas

corpúsculos de Hassall. En las mallas del retículo se depositan los linfocitos provenientes de la médula ósea, quedando empaquetados con mayor densidad en la corteza que en la médula (Geneser, 2000).

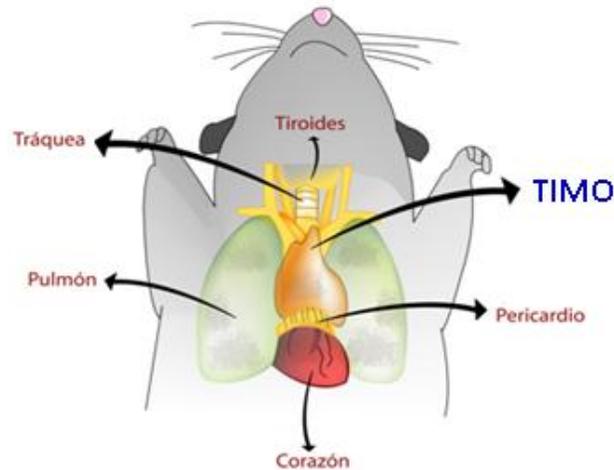


Figura 6. Esquema que muestra la ubicación anatómica del timo en el ratón (tomado de Ortega, 2007).

Involución fisiológica

En la pubertad, el timo presenta un proceso fisiológico de involución en el que descende la producción de linfocitos, que está vinculado con el aumento en las concentraciones plasmáticas de hormonas sexuales (Grossman, 1984; Bellanti, 1986). La corteza se adelgaza y el parénquima es sustituido en su mayor parte por tejido adiposo. El proceso gradual de involución con la edad se puede acelerar agudamente dando lugar a la involución accidental la que tiene lugar como respuesta a enfermedades, estrés severo, radiaciones ionizantes, endotoxinas bacterianas y la administración de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) (Raviola, 1995) (Figura 7).

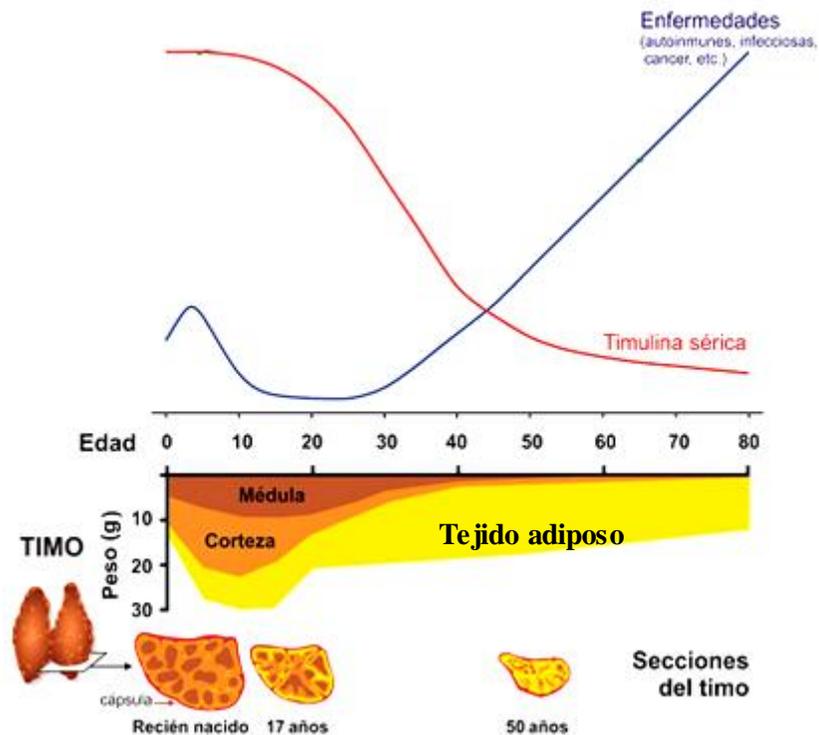


Figura 7. Esquema de la involución del timo en el humano en relación con la incidencia de enfermedades, con la capacidad de la inmunidad timo-dependiente y con las concentraciones séricas de timulina. Los esquemas de las secciones tímicas muestran el proceso de involución fisiológica donde se observa: disminución en el peso de la glándula y en las proporciones de tejido cortical y medular con una creciente infiltración del tejido adiposo en el parénquima tímico (tomado de <http://sedici.unlp.edu.ar/ARG-UNLP-TPG0000002428/10945.pdf>).

El timo también participa con los mecanismos neuroendócrinos que regulan la reproducción. Se menciona que éste ejerce su acción sobre el sistema reproductor por medio de las hormonas que sintetiza llamadas timosinas. Sin embargo, estas hormonas no sólo son sintetizadas en el timo, también lo son en otros órganos e incluso en el Sistema Nervioso Central (Goldstein y col., 1981; Rebar y col., 1981).

Está bien establecido que la glándula del timo es una fuente natural de hormonas

peptídicas entre las que se encuentran la timosina $\alpha 1$, la timopoyetina y la timulina (Dardenne y col., 1989).

La concentración de las timosinas en la sangre, al igual que la inmunidad dependiente del timo, disminuye con la edad de los individuos paralelamente al proceso de involución del órgano (Dardenne y col., 1989).

6. Timulina

La timulina, a diferencia de otras timosinas, es un nonapéptido exclusivamente sintetizado por las células retículo-epiteliales del timo cuya secuencia de aminoácidos es pyro-Glu-Ala-Lys-Ser-Gln-Gly-Gly-Ser-Asn-OH y participa en la regulación de la maduración y diferenciación de linfocitos T. Mantiene una relación equimolar con el Zinc, el cual le confiere la actividad biológica (Bach y col., 1977; Gastinel y col., 1984; Dardenne y col., 1985; Goya y col., 2004) (Figura 8).

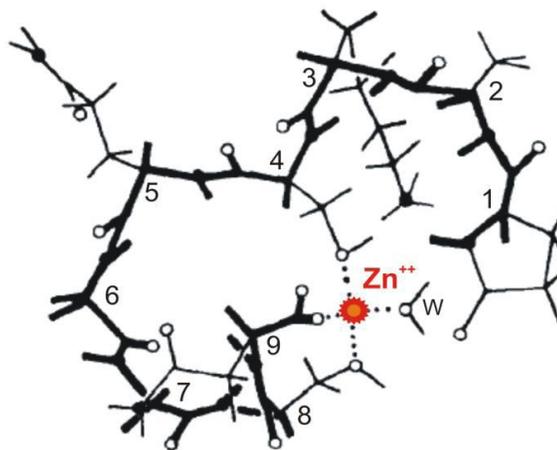


Figura 8. Representación espacial que muestra la relación estequiométrica 1:1 en el complejo zinc-timulina (Zn-FTS). Los residuos Ser4-OH, Ser8-OH y Asn9-COOH son los que se coordinan al ion Zn^{+2} , siendo el cuarto ligando una molécula de agua (w). Los números representan los nueve aminoácidos que forman el FTS, comenzando en el grupo N-terminal (tomado y modificado de Cung y col., 1988).

La timulina es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica, ya que se ha observado la aparición de rosetas en el líquido cerebro espinal de pacientes con esclerosis múltiple inyectados con timulina por vía subcutánea (Bach y Dardenne, 1984).

El control de la secreción de la timulina declina conforme avanza la edad del organismo y depende de una compleja red de eventos. Su liberación es modulada por un mecanismo de autorregulación y por el sistema neuroendócrino, en el que participan hormonas tiroideas y esteroides. La timulina modula directa o indirectamente la liberación de algunas hormonas como la ACTH, LH, TSH, PRL y CRF, (Goya y col., 1995), lo que muestra la existencia de una interacción funcional bidireccional entre la timulina y el sistema neuroendócrino.

En el ratón, la timulina se ha detectado desde los 14 días de vida intrauterina y su concentración en plasma se mantiene estable hasta los 5 ó 7 meses de edad, posteriormente disminuye llegando a valores mínimos hacia los doce meses de edad. Esta baja es paralela a la involución del timo y se ha mostrado que se debe al decremento en la síntesis del péptido y a la presencia en sangre de inhibidores del mismo. En el hombre esta timosina está presente a partir de la sexta semana del desarrollo embrionario y la concentración en suero se mantiene estable hasta los 15 ó 20 años de edad, seguida de una progresiva disminución (Dardenne y Bach, 1981).

Relación funcional del timo y la timulina con el sistema reproductor de la hembra

Las primeras evidencias que mostraron que existía una relación funcional bidireccional entre el timo y el sistema reproductor, fueron aportadas por Calzolari en

1898, el cual observó que la castración en conejos ocasionaba hipertrofia del timo.

En 1969 Nishizuka y Sakakura, utilizando al ratón hembra, realizaron la extirpación del timo en la etapa neonatal y observaron en la adultez que los animales presentaban disgénesis ovárica e infertilidad. Tiempo después Michael (1983), describe en el animal timectomizado a los tres días de edad (Tx-3), que la disgénesis ovárica es producto de dos efectos, uno de tipo autoinmune (presencia de anticuerpos-antiovocitos) y otro hormonal. Este último sin explicación.

En cultivos de células de la granulosa de ovarios de cerda, la timulina incrementa la actividad del complejo enzimático aromatasa. Cuando se adiciona timulina más FSH o LH, se incrementa la secreción de progesterona, evento que no sucede si sólo se administra timulina (Ledwitz-Rigdy y Scheid, 1990).

También se ha mostrado que la microinyección de timulina en el hipotálamo o en la hipófisis promueve la liberación de GnRH y de gonadotropinas, respectivamente, eventos que culminan con la ovulación (García y col., 2005).

En el ratón prepúber que no es capaz de ovular en respuesta al estímulo de la gonadotropina coriónica equina (eCG), la administración diaria de timulina por vía sistémica iniciada 24 horas antes de la inyección de eCG, induce la ovulación e incrementa la cuota ovulatoria (superovulación) (Hinojosa y col. 1999).

En estudios de nuestro laboratorio se ha mostrado que en el ratón hembra la ausencia del timo a partir de los diez días de edad retrasa el inicio de la pubertad, disminuye el crecimiento folicular, modifica el proceso de atresia en respuesta a las gonadotropinas exógenas y disminuye la respuesta ovulatoria inducida (García, 1996; García y col., 2000). Estos parámetros se normalizan al administrar timulina diariamente iniciando

inmediatamente después de la timectomía.

En estudios previos de nuestro laboratorio, mostramos que la microinyección de timulina en la bursa del ovario de ratones prepúberes, estimula o inhibe la respuesta ovulatoria inducida, dependiendo de la relación timulina-gonadotropinas (Reyes, 2010).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el ratón prepúber tratado con gonadotropinas, la administración sistémica de timulina induce superovulación. En el ratón timectomizado a los 10 días de edad, en el cual disminuye tanto las concentraciones séricas de 17β -estradiol como la respuesta ovulatoria inducida, el reemplazo hormonal con timulina restablece ambos parámetros.

Estudios recientes muestran que la respuesta ovulatoria de los animales a los que se les inyecta la timulina en la bursa ovárica, aumenta o disminuye en función de las dosis de timulina y de gonadotropinas utilizadas como estímulo. Estos resultados podrían ser explicados por modificaciones en el crecimiento y diferenciación folicular. Por ello, en el presente estudio se analizaron los cambios en la población folicular en respuesta a los diferentes tratamientos hormonales. Como índice del funcionamiento folicular se analizaron los efectos de los tratamientos sobre la concentración de estradiol en el suero.

HIPÓTESIS

Si en el ratón prepúber la administración de timulina en la bursa ovárica tiene un efecto dual sobre la ovulación dependiendo de su concentración y del estímulo gonadotrópico y el proceso de ovulación depende del crecimiento y la diferenciación folicular, entonces el efecto estimulante e inhibitorio de la timulina se reflejará en modificaciones en la población folicular y en la capacidad esteroidogénica de los ovarios.

OBJETIVO GENERAL

Analizar el crecimiento y diferenciación de los folículos ováricos y la concentración de 17β -estradiol en el suero de ratones prepúberes inyectados con timulina en la bursa ovárica y tratados con gonadotropinas.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Analizar el crecimiento (preantrales y antrales) y diferenciación (sanos y atrésicos) de los folículos ováricos de ratones prepúberes inyectados con timulina en la bursa ovárica y tratados con 2 u.i. de eCG + 3 u.i. de hCG.
2. Analizar el crecimiento (preantrales y antrales) y diferenciación (sanos y atrésicos) de los folículos ováricos de ratones prepúberes inyectados con timulina en la bursa ovárica y tratados con 3 u.i. de eCG + 3 u.i. de hCG.
3. Analizar los efectos de la administración de timulina en la bursa ovárica del ratón prepúber tratado con gonadotropinas, sobre la secreción de 17β -estradiol.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales

Se utilizaron ratones hembra prepúberes de la cepa CD1 de 19 días de edad, procedentes del bioterio de la FES-Zaragoza, UNAM. Los animales se mantuvieron en condiciones controladas con fotoperíodo de 14 h de luz y 10 h de oscuridad (luces encendidas de 5:00 a 19:00 h), temperatura de 22 ± 2 °C y con libre acceso al agua y al alimento.

Ovarios

Se utilizaron los ovarios de tres hembras de cada uno de los siguientes grupos experimentales (Reyes y col., 2009; Reyes, 2010; Rosales y col., 2010):

- **Intacto:** ningún tipo de tratamiento y sacrificio a los 23 días de edad.

Todos los animales de los siguientes grupos se inyectaron a los 20 días de edad (9:00 h) con 2 ó 3 u.i. de eCG (Sigma Chemical Co. St. Louis, Mo. USA), 54 h más tarde con 3 u.i. de hCG (Sigma) y se sacrificaron 24 horas posteriores a la administración de hCG (23 días de edad).

- **Testigo:** únicamente administración de gonadotropinas.
- **Operación simulada (OS):** anestesia con éter e incisión dorsal bilateral de piel y músculo, sin exteriorizar los ovarios.
- **Solución salina (SS) o timulina (Sigma):** anestesia con éter, incisión dorsal de piel y músculo y se exteriorizó el ovario. Se introdujo en la bursa una aguja calibre 29G conectada a una jeringa acoplada a una bomba de microinyección (Bioanalytical Systems, BAS, modelo CMA/100), calibrada para inyectar un volumen total de 2

$\mu\text{l}/\text{min}$ de SS (NaCl al 0.9%) o timulina en diferentes concentraciones (30, 60, 120 y 240 pg). Este procedimiento se siguió en ambos ovarios.

Al término de las intervenciones quirúrgicas se suturaron las heridas y se aplicó alcohol yodado.

Los animales se sacrificaron por decapitación, se colectó la sangre del tronco, se centrifugó a 3500 rpm durante 15 min y se separó el suero del botón celular. Las muestras de suero se almacenaron a -20°C hasta la cuantificación de 17β -estradiol.

Se analizaron los ovarios de tres hembras de cada uno de los grupos experimentales, tomando en consideración la respuesta ovulatoria (tasa de animales ovulantes y número de ovocitos liberados) como se indica en el siguiente cuadro:

Grupo		Tasa de animales ovulantes	N° de ovocitos liberados	Ovarios analizados	
				Ovulantes	No ovulantes
Intacto		0/10	0	---	6
eCG (2 u.i.) + hCG (3 u.i.)					
Testigo		12/12 a	14.5 ± 0.6	6	---
OS		9/10	8.8 ± 0.5 d	6	---
SS		10/10	7.7 ± 0.9 d	6	---
Timulina (pg)	30	6/10 c	7.3 ± 0.8	---	6
	60	2/10 c	4.0 ± 1.0	---	6
	120	4/10 c	6.0 ± 0.9	---	6
	240	0/8 c	0	---	6
eCG (3 u.i.) + hCG (3 u.i.)					
Testigo		6/6	32.0 ± 3.5	6	---
OS		7/9	12.6 ± 2.7 d	6	---
SS		3/11 b	8.7 ± 1.1 d	---	6
Timulina (pg)	30	11/12 c	6.3 ± 0.7	6	---
	60	12/12 c	14.9 ± 0.9 e	6	---
	120	3/9	5.0 ± 0.6	---	6

(Prueba exacta de Fisher)

a, p<0.05 vs Intacto

b, p<0.05 vs OS correspondiente

c, p<0.05 vs SS correspondiente

(Prueba de "U" de Mann-Whitney)

d, p<0.05 vs testigo correspondiente

e, p<0.05 vs SS correspondiente

Fijación

Una vez disecados los ovarios se fijaron en solución de Bouin con el objeto de preservar la estructura morfológica del tejido. El Bouin funciona formando enlaces transversales en las proteínas y manteniendo las estructuras de la célula. Su composición es la siguiente: 15 partes de solución acuosa saturada de ácido pícrico, 5

partes de formol y 1 parte de ácido acético glacial. Dependiendo del tamaño del órgano, los ovarios se mantuvieron de 30 (peso promedio 3 mg) a 90 min (peso promedio de 5 mg) en Bouin.

Deshidratación

Aproximadamente 2/3 del agua corporal total se encuentra en los tejidos. Por ello, al término de la fijación, los ovarios se deshidrataron gradualmente en alcohol etílico (70 y 90%) y finalmente en cloroformo (Merck-México, Naucalpan. Edo. de México). Los ovarios se mantuvieron entre 30 y 90 min en cada cambio de solución, dependiendo del tamaño del órgano.

Técnica de inclusión en parafina

La parafina aporta una excelente matriz para obtener cortes histológicos suficientemente finos que permitan observarlos al microscopio.

La entrada de la parafina al órgano depende de la correcta fijación y deshidratación del tejido, por lo que inmediatamente después del cloroformo los ovarios se colocaron en recipientes con parafina fundida (punto de fusión 56°C) mantenidos en la estufa de inclusión con una temperatura constante de 58°C. Según su tamaño, los órganos permanecieron en la estufa de 30 a 90 min. Posteriormente se colocaron en moldes etiquetados conteniendo parafina semisólida y se dejaron solidificar a temperatura ambiente.

Cortes seriados

El bloque de parafina con el órgano incluido se extrajo del molde y se fijó en la platina del microtomo (American Optical, Modelo 820, Scientific Instrument Division, USA) (Figura 9). Se realizaron cortes seriados de 10 µm de grosor.



Figura 9. Microtomo American Optical.

Los cortes en tira se colocaron en un baño de flotación a 50°C, ya que el calor y la hidrofobicidad de la parafina hacen que los cortes se extiendan sobre la superficie del agua.

Los cortes se montaron en portaobjetos previamente etiquetados, desengrasados y con una capa de albúmina.

Para evitar el desprendimiento de los cortes, las laminillas se colocaron en una cámara de tinción impregnada con formol al 10% dentro de una estufa a 37°C por un tiempo mínimo de 48 h.

Técnica de tinción con hematoxilina y eosina

La combinación de un colorante básico y otro ácido como es la tinción con hematoxilina-eosina, permite teñir de manera diferencial las estructuras ácidas (azul) y básicas (rosa) de la célula.

Para desparafinar las laminillas se colocaron 10 min en xilol (Técnica química S.A. México). Se enjuagaron en alcohol etílico al 96%, se sumergieron 5 min en agua

destilada y se colocaron 6 min en hematoxilina. Se realizaron dos cambios de 10 min en agua corriente ya que las sales del agua permiten obtener una coloración azul-violácea, se tiñeron con eosina durante 1 min y se enjuagaron con alcohol etílico al 96%. Se colocaron 5 min en carbol-xilol para aclarar, se pasaron a xilol puro y por último se realizó el montaje permanente utilizando bálsamo de Canadá y colocando un cubreobjetos (Figura 10).

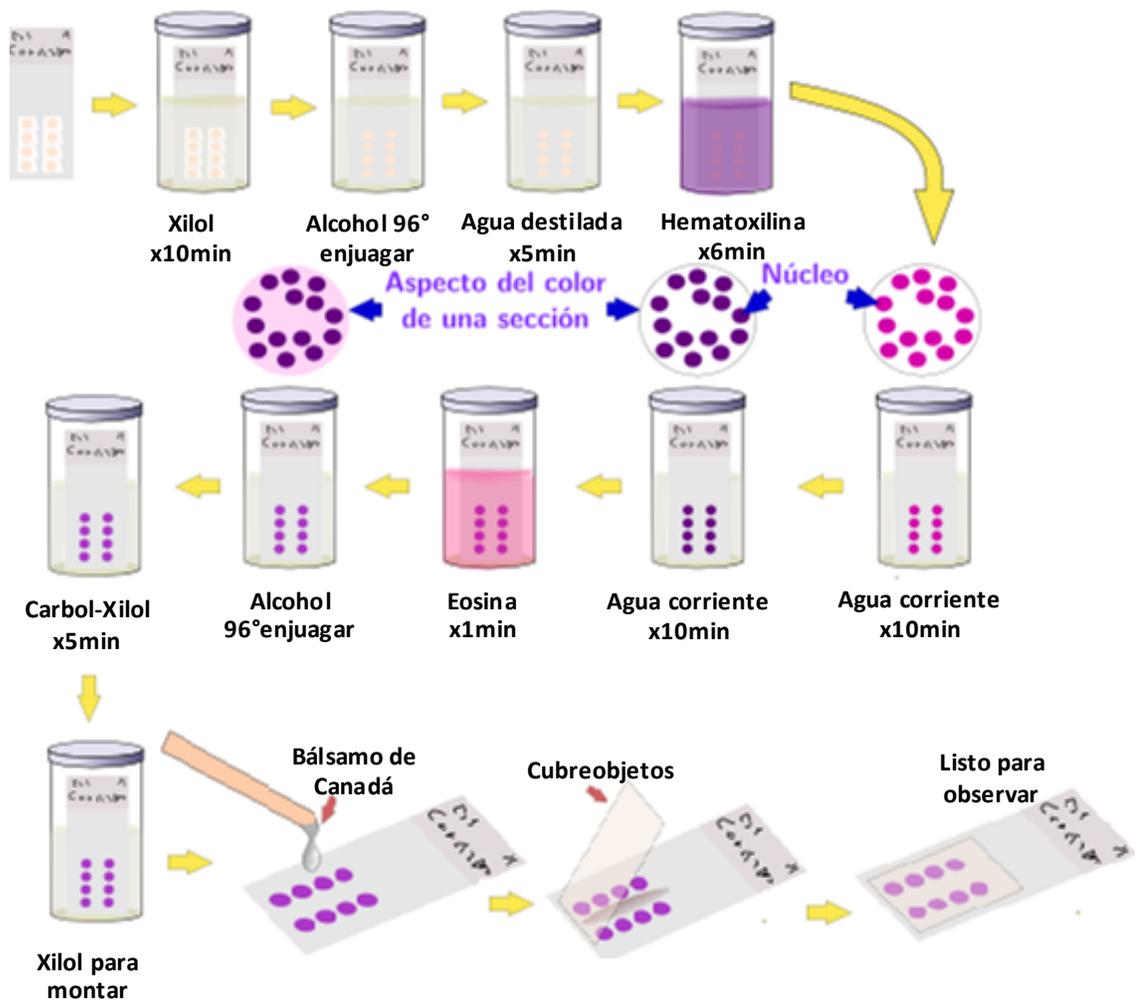


Figura 10. Pasos de la técnica de tinción con hematoxilina-eosina.

Análisis morfométrico e histológico

Se analizaron todos los folículos con un diámetro promedio mayor a $100\ \mu\text{m}$ que presentaron ovocito con núcleo y nucléolo bien definido (Figura 11).

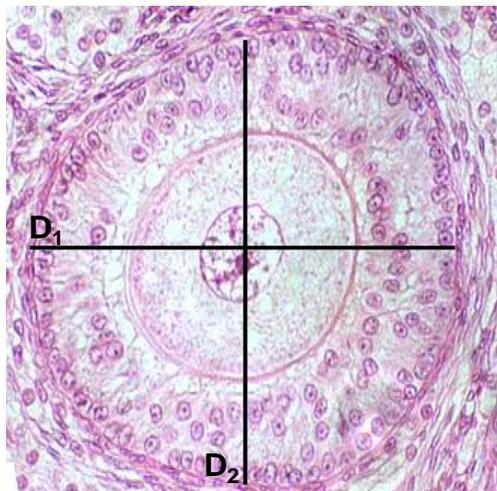


Figura 11. Representación esquemática de la obtención del diámetro folicular mayor (D_1) y el diámetro perpendicular (D_2).

Se evaluó el crecimiento por la presencia de antro y se agruparon en folículos preantrales y folículos antrales.

En el análisis histológico de cada folículo se evaluó la presencia de al menos una de las siguientes características para clasificarlos como atrésicos (Greenwald y Roy, 1994):

- picnosis de las células de la granulosa
- descamación de las células de la granulosa
- engrosamiento de las capas de células de la teca
- anomalías del ovocito

Concentraciones de 17 β -estradiol en suero

Las concentraciones de 17 β -estradiol en las muestras de suero se cuantificaron por radioinmunoanálisis de fase sólida. Se utilizaron estuches de Coat-A-Count (Diagnostic Products, Los Angeles, CA, USA), que constan de tubos de polipropileno impregnados con anticuerpos específicos anti-estradiol, viales de hormona marcada (I^{125}) y calibradores para la realización de la curva patrón. En cada tubo se adicionaron 100 μ l de la muestra problema más 1 ml de hormona marcada (I^{125}), la mezcla se agitó por un minuto y se incubó a temperatura ambiente durante tres horas. Posteriormente se decantó el sobrenadante y con la ayuda de un contador de rayos Gamma (Packard, modelo Cobra 5005), se determinó la concentración de hormona en función de las cuentas por minuto y de la curva de calibración. Los coeficientes de variación intra e inter ensayo fueron de 6.9% y 10.8% respectivamente y el límite de detección fue de 0.8989 pg/ml.

Estas pruebas se llevaron a cabo 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 número total de folículos, así como el número de folículos preantrales y antrales, sanos y atrésicos se expresaron como media \pm e.e.m. y se analizaron por la prueba de *t* de Student. Los datos de las concentraciones de 17 β -estradiol en el suero, se analizaron por la prueba de “U” de Mann-Whitney. En todos los casos, sólo se consideraron como significativos los resultados cuya probabilidad fue igual o menor al 0.05.

RESULTADOS

1. Analizar el crecimiento (preantrales y antrales) y diferenciación (sanos y atrésicos) de los folículos ováricos de ratones prepúberes inyectados con timulina en la bursa ovárica y tratados con 2 u.i. de eCG + 3 u.i. de hCG.

El número total de folículos y el número de folículos preantrales y antrales fueron significativamente menores en los ovarios de los animales tratados con gonadotropinas (testigo) respecto al grupo de hembras intactas (Figura 12).

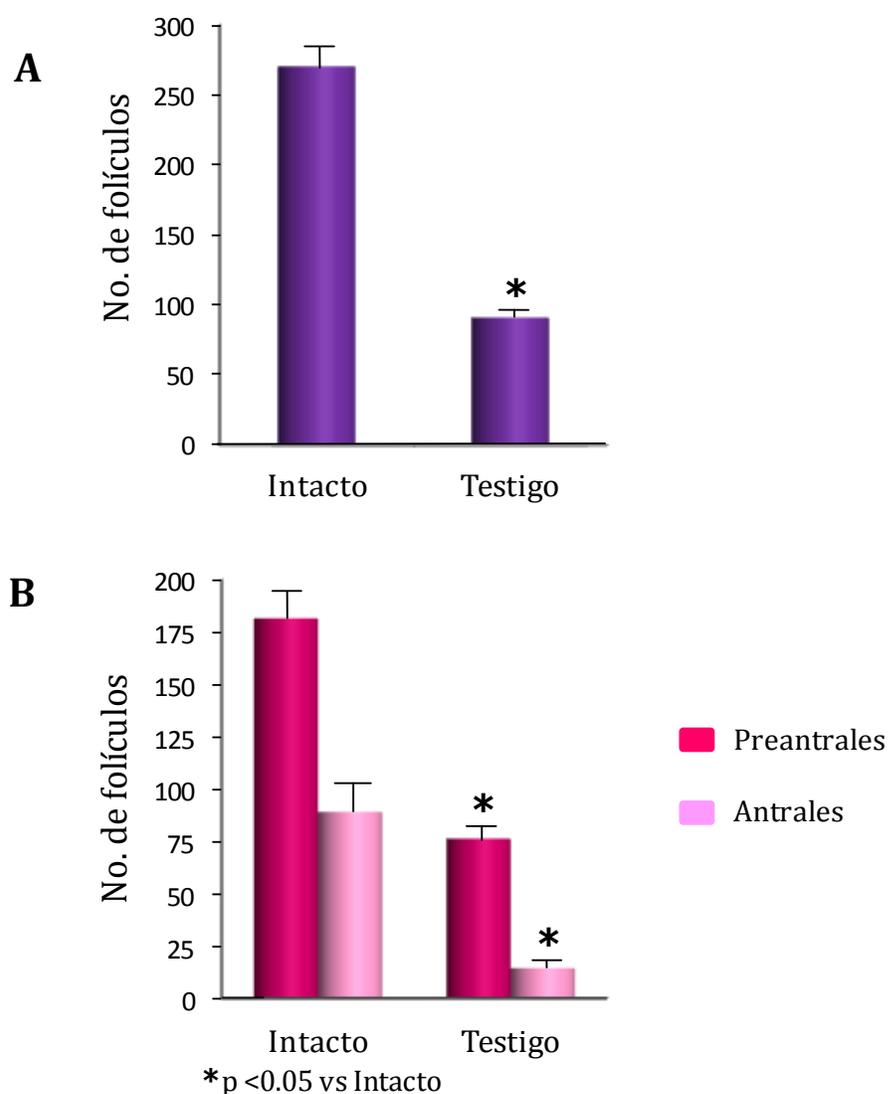


Figura 12. Media \pm e.e.m. del número total de folículos (A) y del número de folículos preantrales y antrales (B) en los ovarios de ratones tratados a los 20 días de edad con 2 u.i. de eCG, 54 horas después con 3 u.i. de hCG (testigo) y sin tratamiento (intactos), sacrificados a los 23 días de edad.

En las hembras tratadas con gonadotropinas, el número de folículos preantrales atrésicos fue significativamente menor al del grupo de animales intactos. Un efecto similar se observó en el número de folículos antrales (Figura 13).

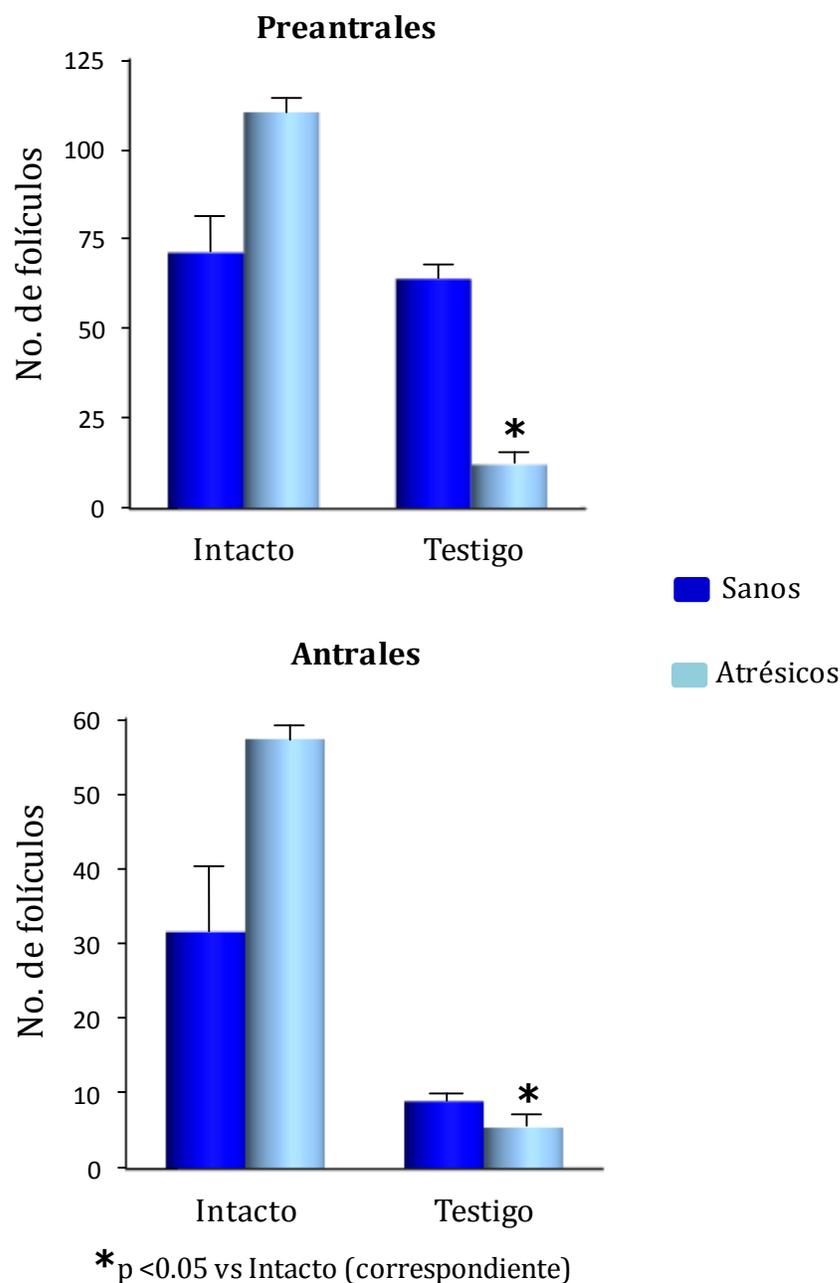


Figura 13. Media \pm e.e.m. del número de folículos preantrales y antrales, sanos o atrésicos en los ovarios de ratones tratados a los 20 días de edad con 2 u.i. de eCG, 54 horas después con 3 u.i. de hCG (testigo) y sin tratamiento (intactos), sacrificados a los 23 días de edad.

El número total de folículos, así como el total de folículos preantrales de los grupos con OS y SS fueron significativamente mayores respecto al grupo testigo, mientras que sólo el número de folículos antrales del grupo OS fue significativamente mayor al del grupo testigo.

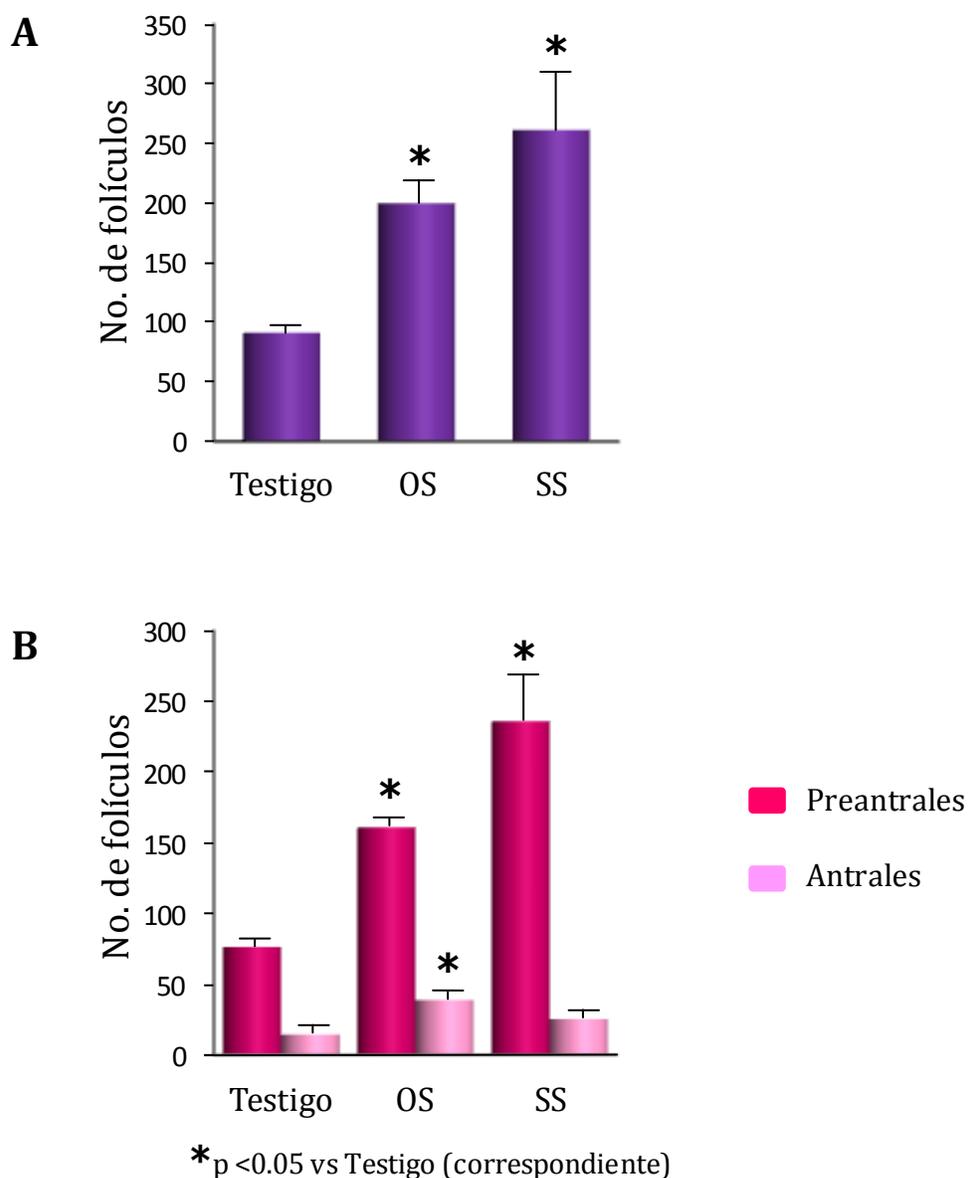


Figura 14. Media \pm e.e.m. del número total de folículos (A) y del número de folículos preantrales y antrales (B) en los ovarios de ratones sometidos a los 19 días de edad a una operación simulada (OS) o inyectados en la bursa ovárica con solución salina (SS) y testigos, tratados a los 20 días con 2 u.i. de eCG, 54 horas después con 3 u.i. de hCG, sacrificados a los 23 días de edad.

El número de folículos preantrales-sanos de los grupos con OS o SS fue significativamente mayor comparado con los animales testigo. El número de folículos preantrales-atréticos de los animales con SS fue significativamente mayor respecto al grupo testigo. En el grupo con OS se observó un aumento significativo en el número de folículos antrales-sanos respecto al testigo y en el grupo con SS el número de estos folículos fue significativamente menor al de los animales con OS (Figura 15).

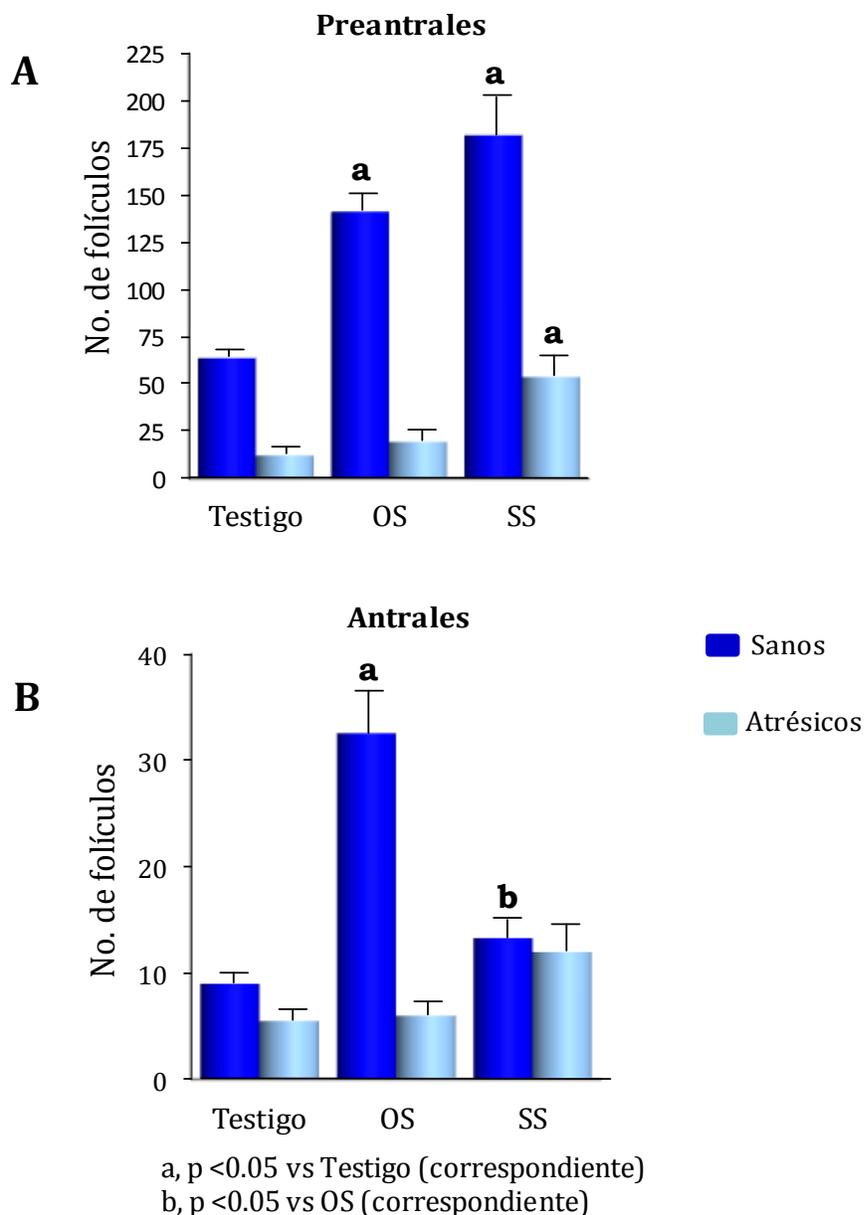


Figura 15. Media \pm e.e.m. del número de folículos preantrales y antrales, sanos o atréticos en los ovarios de ratones sometidos a los 19 días de edad a una operación simulada (OS) o inyectados en la bursa ovárica con solución salina (SS) y testigos, tratados a los 20 días con 2 u.i. de eCG, 54 horas después con 3 u.i. de hCG, sacrificados a los 23 días de edad.

Debido a las diferencias observadas en los parámetros evaluados en función al índice de atresia folicular, se consideró al grupo de animales sometidos a una microinyección de SS como el grupo de comparación para analizar los efectos que causa la administración de timulina en la bursa ovárica.

El número total de folículos de los animales tratados con 60 pg de timulina fue significativamente menor en comparación con el grupo con SS. El análisis de estos grupos por su desarrollo muestra que la disminución es debida al número de folículos preantrales. En el resto de los grupos no se observaron diferencias significativas (Figura 16).

En los grupos tratados con 60, 120 y 240 pg de timulina se observó una disminución significativa en los folículos preantrales-sanos en comparación con el grupo SS y 30 pg de timulina. El grupo tratado con 30 pg de timulina mostró una disminución significativa en el número de folículos preantrales-atrésicos respecto a los grupos SS y 60 y 240 pg de timulina (Figura 16). Mientras el número total de folículos antrales-sanos del grupo con 30 pg de timulina fue significativamente mayor en comparación con SS y timulina en las concentraciones de 60 y 240 pg. El número de folículos antrales-atrésicos de los animales con 240 pg de timulina se observó un aumento significativo respecto al grupo tratado con 30 pg de timulina. Cabe destacar que sólo los folículos antrales-sanos del grupo con 120 pg de timulina mostraron un aumento significativo respecto al grupo de SS, 60 y 240 pg de timulina (Figura 17).

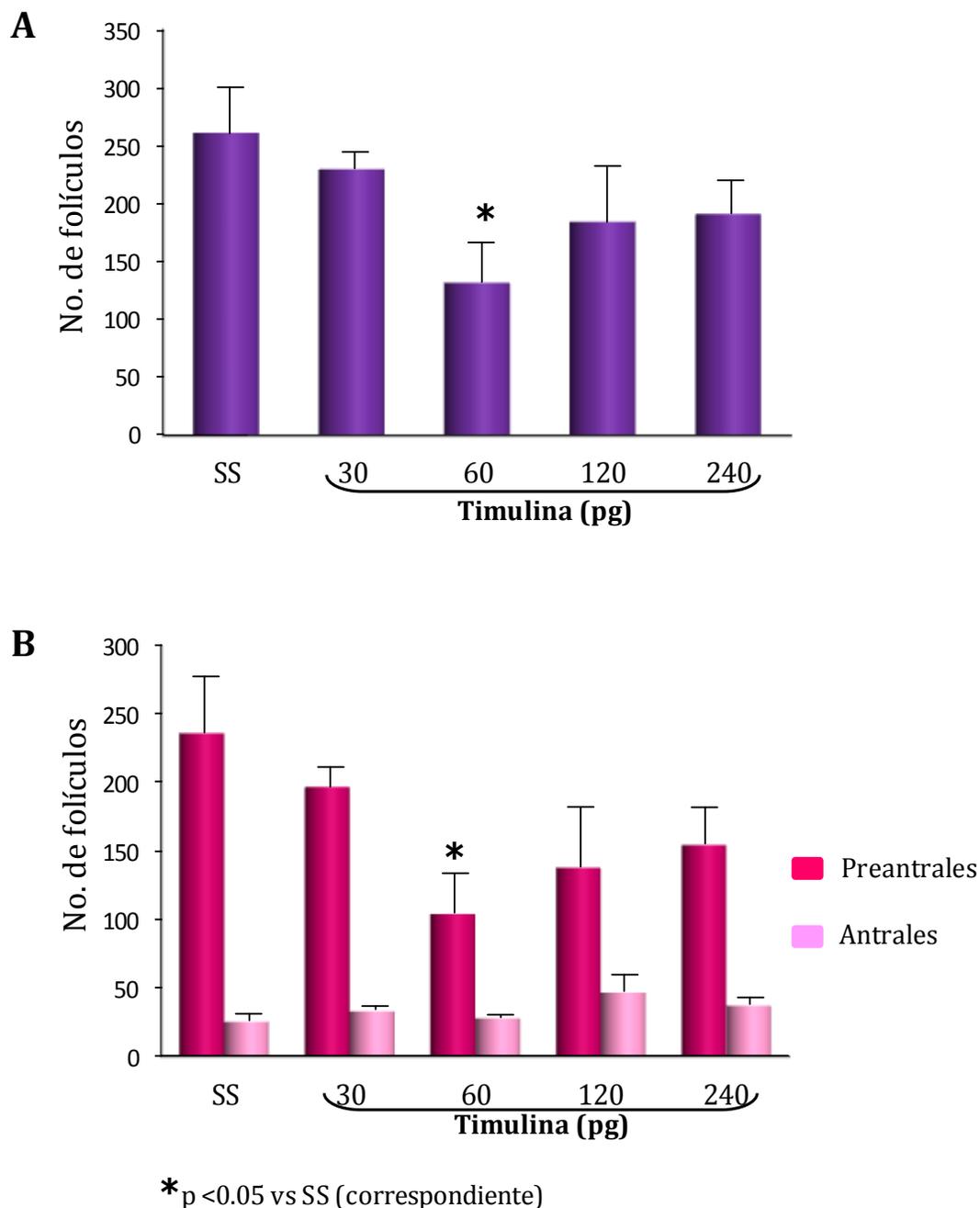
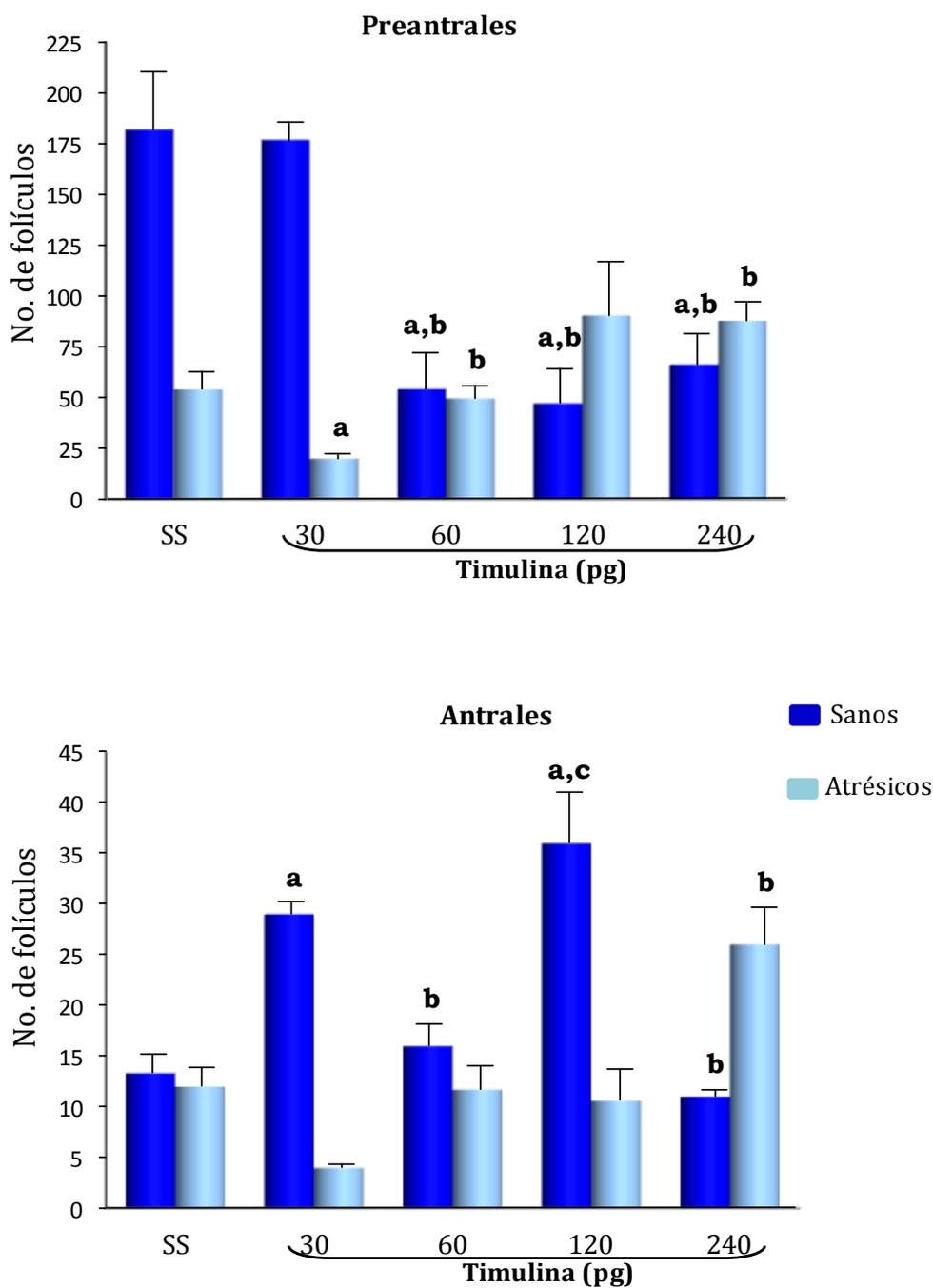


Figura 16. Media \pm e.e.m. del número total de folículos (A) y del número de folículos preantrales y antrales (B) en los ovarios de ratones inyectados a los 19 días de edad en la bursa ovárica con solución salina (SS) o con concentraciones crecientes de timulina, tratados a los 20 días con 2 u.i. de eCG, 54 horas después con 3 u.i. de hCG y sacrificados a los 23 días de edad.



a, $p < 0.05$ vs SS (correspondiente)

b, $p < 0.05$ vs 30 pg Timulina (correspondiente)

c, $p < 0.05$ vs 60 y 240 pg Timulina (correspondiente)

Figura 17. Media \pm e.e.m. del número de folículos preantrales y antrales, sanos o atrésicos en los ovarios de ratones inyectados a los 19 días de edad en la bursa ovárica con solución salina (SS) o con concentraciones crecientes de timulina, tratados a los 20 días con 2 u.i. de eCG, 54 horas después con 3 u.i. de hCG y sacrificados a los 23 días de edad.

2. Analizar el crecimiento (preantrales y antrales) y diferenciación (sanos y atrésicos) de los folículos ováricos de ratones prepúberes inyectados con timulina en la bursa ovárica y tratados con 3 u.i. de eCG + 3 u.i. de hCG.

El número total de folículos, así como el número de folículos preantrales y antrales fueron significativamente menores en los ovarios de los animales tratados con 3 u.i. de eCG y 3 u.i. de hCG (Figura 18).

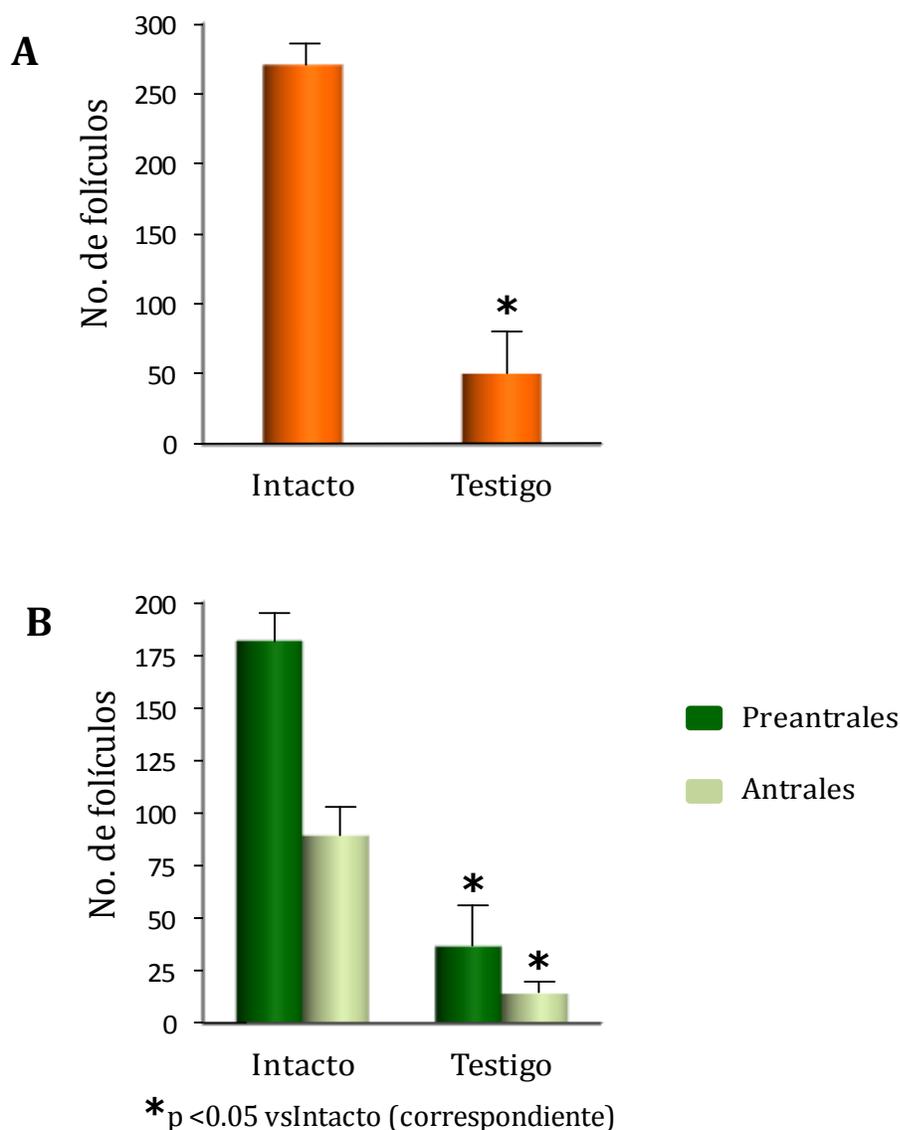


Figura 18. Media \pm e.e.m. del número total de folículos (A) y del número de folículos preantrales y antrales (B) en los ovarios de ratones tratados a los 20 días de edad con 3 u.i. de eCG, 54 horas después con 3 u.i. de hCG (testigo) y sin tratamiento (intactos), sacrificados a los 23 días de edad.

En las hembras tratadas con gonadotropinas, el número de folículos preantrales-atréticos fue menor a los del grupo de animales intactos. Un efecto similar se observó en el número de folículos antrales (Figura 19).

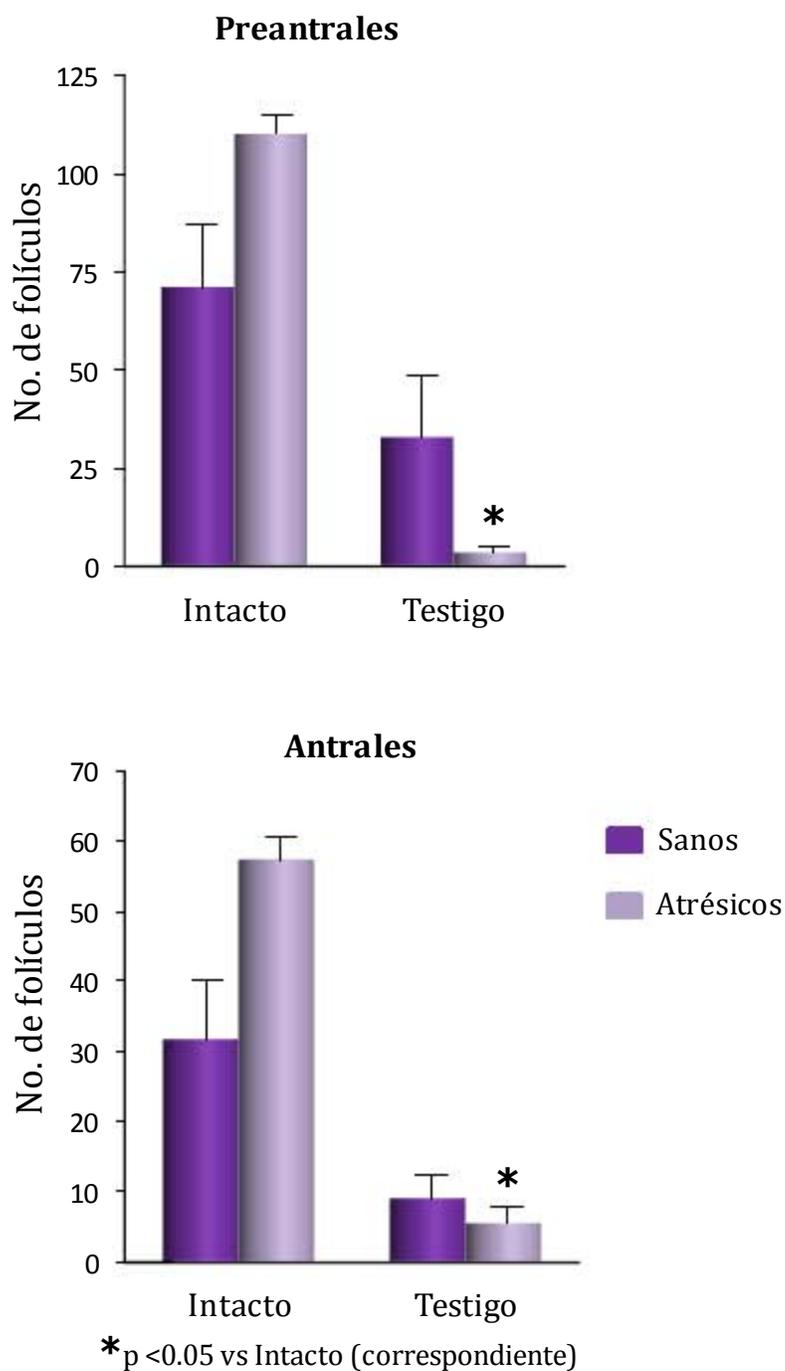


Figura 19. Media \pm e.e.m. del número de folículos preantrales y antrales, sanos o atréticos en los ovarios de ratones tratados a los 20 días de edad con 3 u.i. de eCG, 54 horas después con 3 u.i. de hCG (testigo) y sin tratamiento (intactos), sacrificados a los 23 días de edad.

En la figura 20 se muestran los folículos de los animales testigo, con OS o SS tratados con gonadotropinas. El número total de folículos, así como el total de folículos preantrales del grupo con SS fue significativamente mayor respecto al grupo testigo.

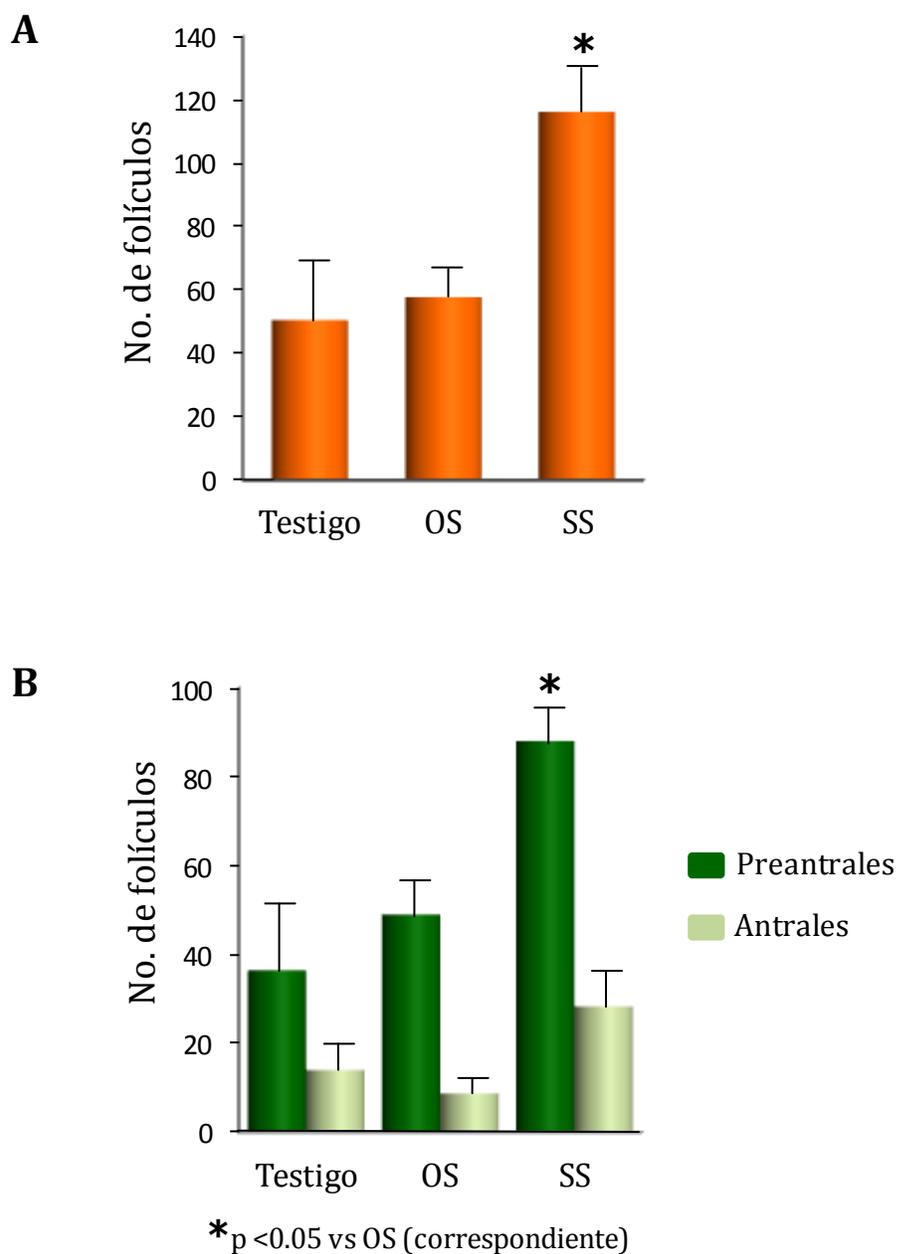


Figura 20. Media \pm e.e.m. del número total de folículos (A) y del número de folículos preantrales y antrales (B) en los ovarios de ratones sometidos a los 19 días de edad a una operación simulada (OS) o inyectados en la bursa ovárica con solución salina (SS) y testigos, tratados a los 20 días con 3 u.i. de eCG, 54 horas después con 3 u.i. de hCG, sacrificados a los 23 días de edad.

El número de folículos preantrales-atrésicos del grupo con SS fue significativamente mayor comparado con los grupos testigo y OS, mientras que los folículos antrales-atrésicos del grupo con SS presentaron un aumento estadísticamente significativo respecto al grupo con OS (Figura 21).

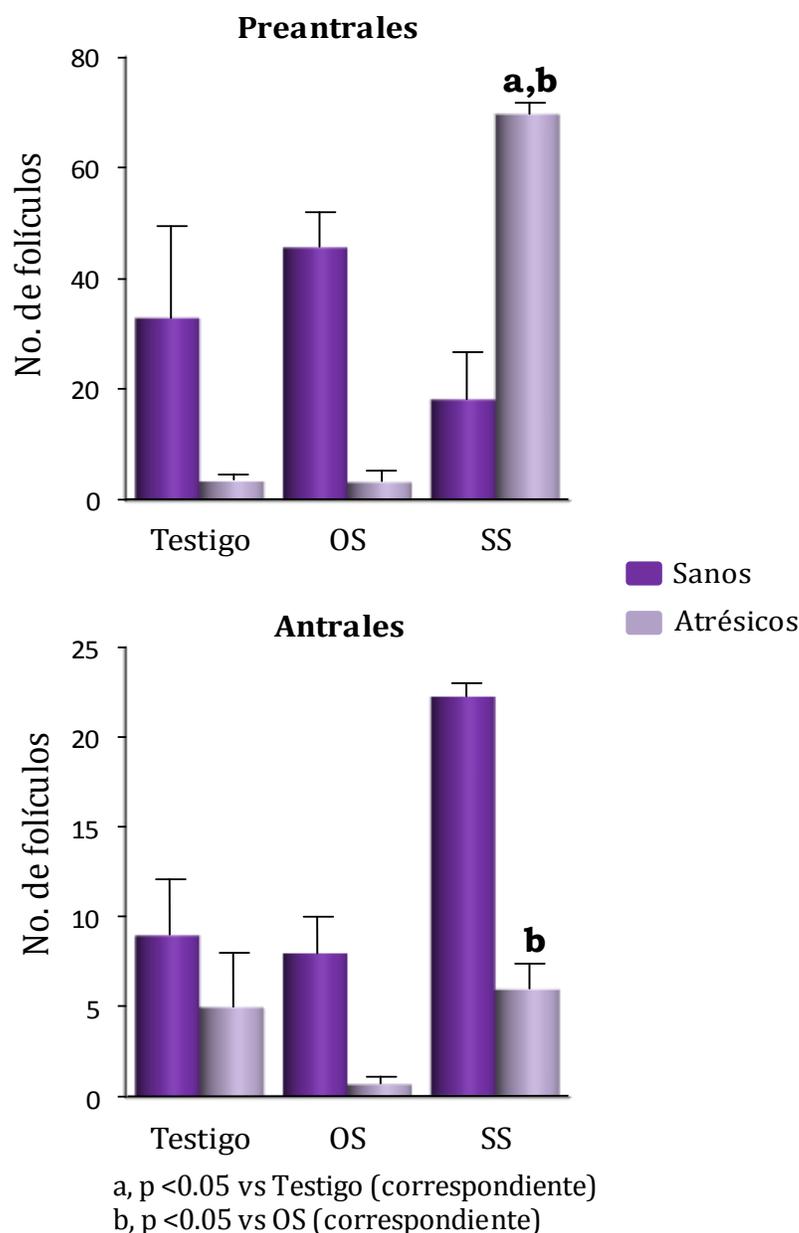
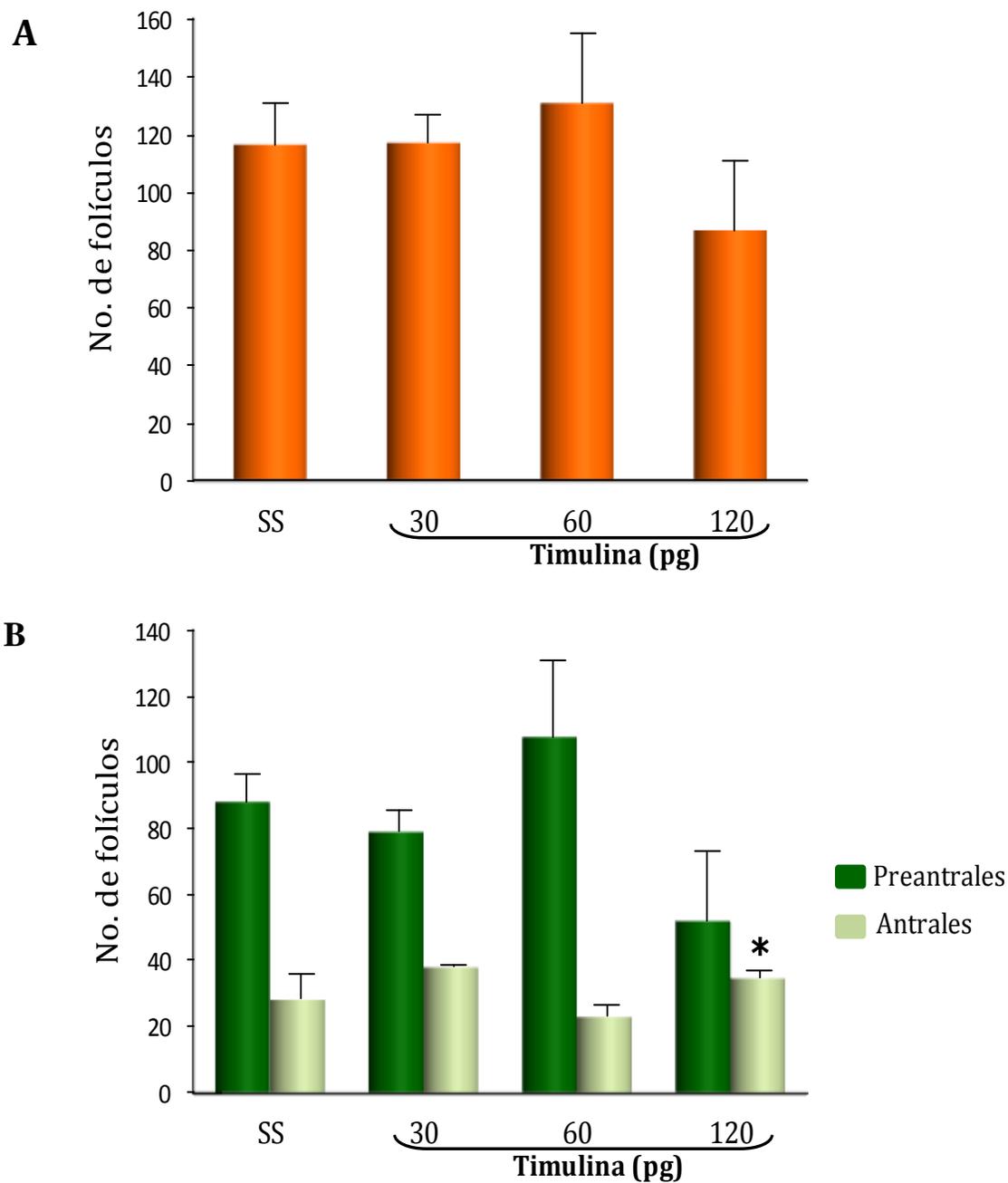


Figura 21. Media \pm e.e.m. del número de folículos preantrales y antrales, sanos o atrésicos en los ovarios de ratones sometidos a los 19 días de edad a una operación simulada (OS) o inyectados en la bursa ovárica con solución salina (SS) y testigos, tratados a los 20 días con 3 u.i. de eCG, 54 horas después con 3 u.i. de hCG, sacrificados a los 23 días de edad.

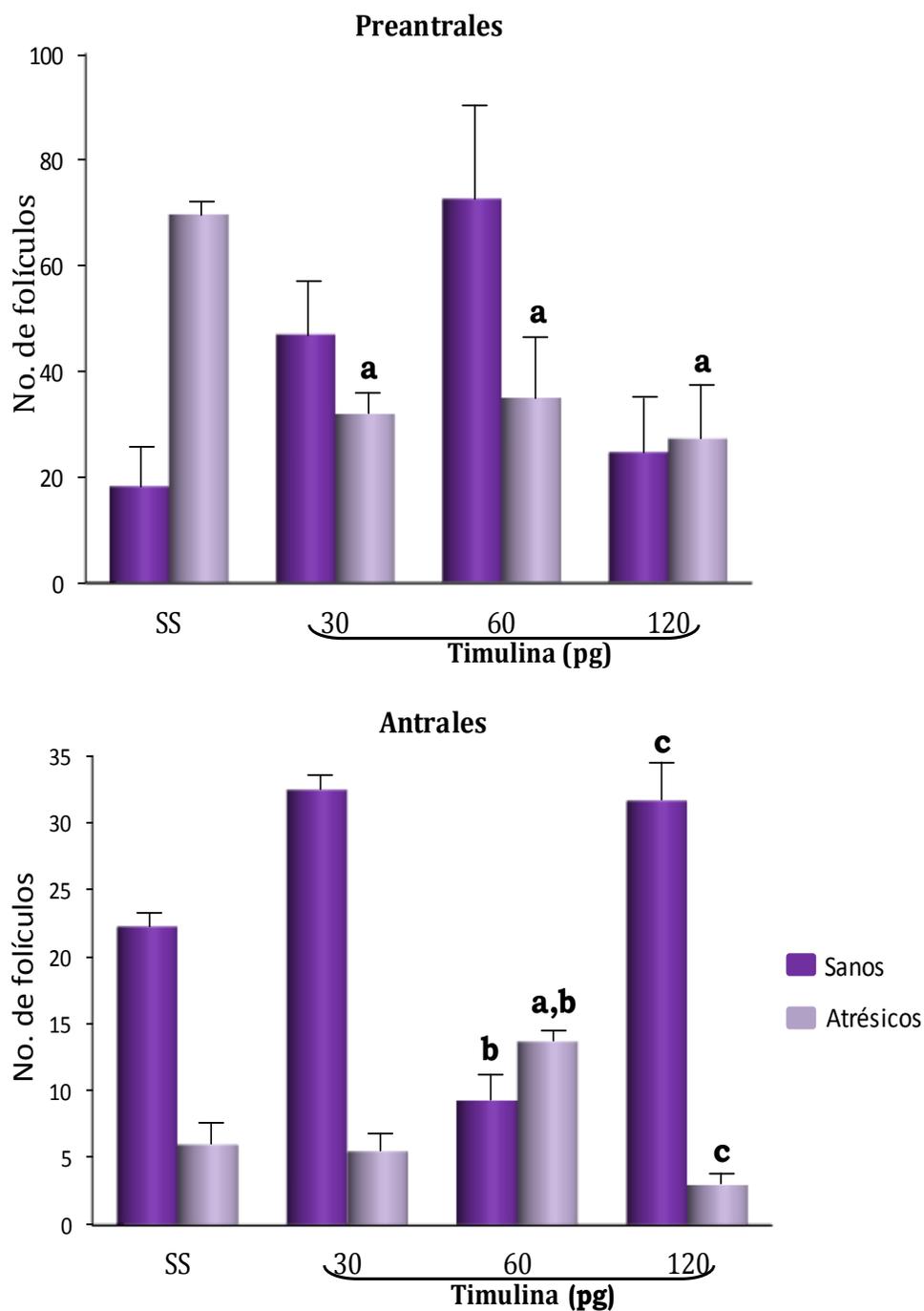
En el número total de folículos de los grupos tratados con timulina, no se observaron diferencias significativas respecto al grupo con SS. Mientras el número de folículos antrales del grupo tratado con 120 pg de timulina fue significativamente mayor en comparación con el grupo tratado con 60 pg de timulina. El resto de los grupos experimentales no mostraron diferencias significativas (Figura 22).

Los grupos tratados con 30, 60 y 120 pg de timulina mostraron una disminución significativa en el número de folículos preantrales-atrésicos respecto al grupo con SS. Los animales que recibieron 60 pg de timulina presentaron una disminución significativa en el número de folículos antrales-sanos y un aumento en los antrales-atrésicos comparado con los animales inyectados con 30 pg de timulina. En el grupo con 120 pg de timulina, el número de folículos antrales-sanos fue significativamente mayor, mientras que el de antrales-atrésicos disminuyó significativamente en comparación con los tratados con 60 pg de timulina (Figura 23).



* $p < 0.05$ vs SS (correspondiente)

Figura 22. Media \pm e.e.m. del número total de folículos (A) y del número de folículos preantrales y antrales (B) en los ovarios de ratones inyectados a los 19 días de edad en la bursa ovárica con solución salina (SS) o con concentraciones crecientes de timulina, tratados a los 20 días con 3 u.i. de eCG, 54 horas después con 3 u.i. de hCG y sacrificados a los 23 días de edad.



a, $p < 0.05$ vs SS (correspondiente)

b, $p < 0.05$ vs 30 pg Timulina (correspondiente)

c, $p < 0.05$ vs 60 pg Timulina (correspondiente)

Figura 23. Media \pm e.e.m. del número de folículos preantrales y antrales, sanos o atrésicos en los ovarios de ratones inyectados a los 19 días de edad en la bursa ovárica con solución salina (SS) o con concentraciones crecientes de timulina, tratados a los 20 días con 3 u.i. de eCG, 54 horas después con 3 u.i. de hCG y sacrificados a los 23 días de edad.

3. Análisis los efectos de la administración de timulina en la bursa ovárica del ratón prepúber tratado con gonadotropinas, sobre la secreción de 17 β -estradiol.

En los animales tratados con 2 u.i. de eCG + 3 u.i. de hCG, la inyección previa de timulina incrementó de 2 a 11 veces más la concentración de 17 β -estradiol respecto a la de los animales con SS. Este efecto no fue dosis-dependiente (Figura 24).

En los animales tratados con 3 u.i. eCG + 3 u.i. hCG, la inyección de 30 ó 60 pg de timulina disminuyó significativamente la concentración de 17 β -estradiol en comparación con el grupo inyectado con SS (Figura 24).

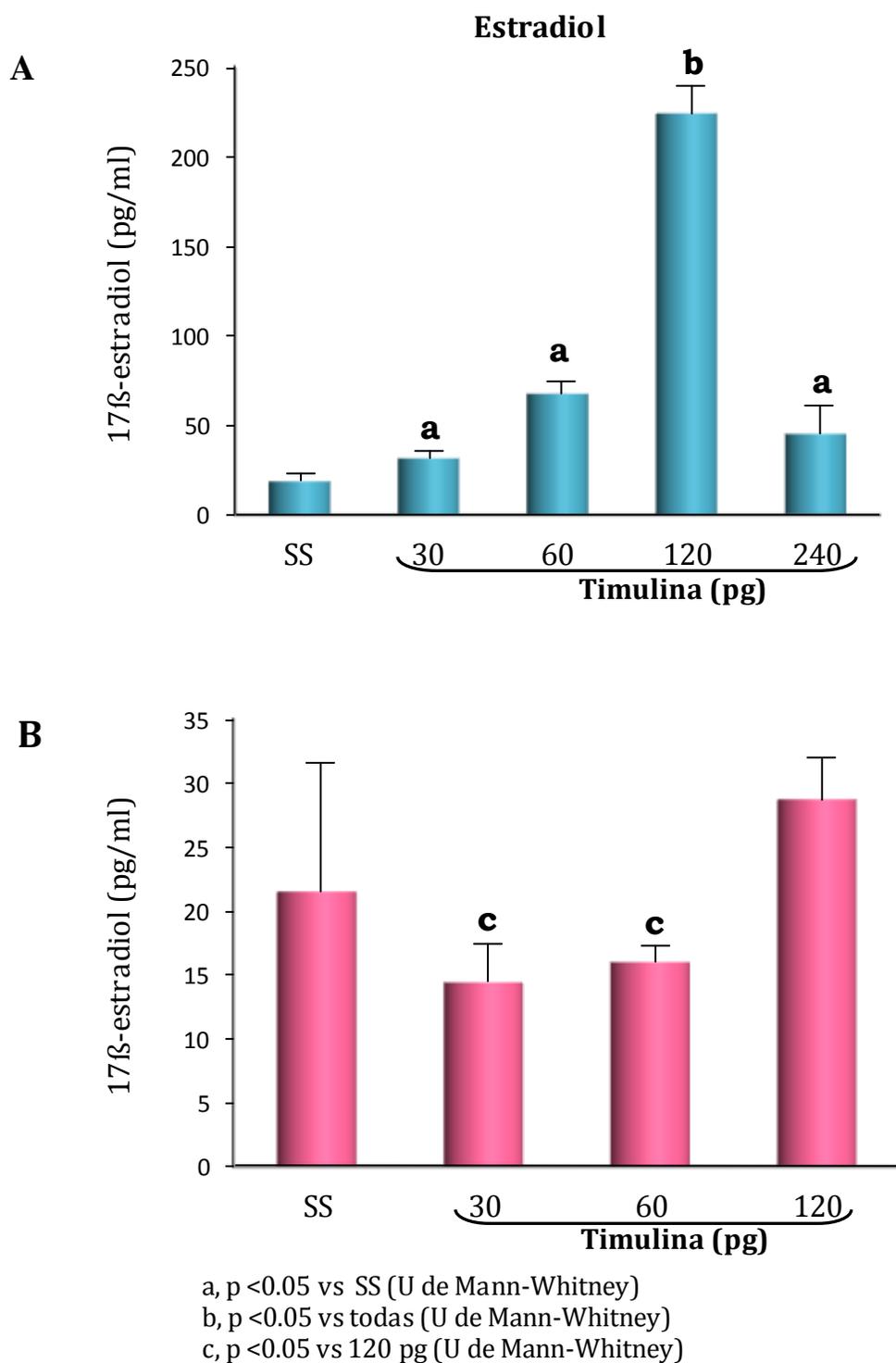


Figura 24. Media \pm e.e.m. de las concentraciones de 17β -estradiol en el suero de ratones inyectados a los 19 días de edad en la bursa ovárica con solución salina (SS) o concentraciones crecientes de timulina y tratados a los 20 días con 2 u.i. de eCG + 3 u.i. de hCG (A) o con 3 u.i. de eCG + 3 u.i. de hCG (B).

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio muestran que la timulina inyectada en la bursa ovárica, promueve o inhibe el crecimiento y diferenciación de los folículos, dependiendo de la concentración, eventos que se reflejan en la funcionalidad de los mismos (esteroidogénesis), lo que nos permite sugerir que la timulina modula la receptividad de los folículos al estímulo gonadotrópico, lo que explica en parte los cambios en la respuesta ovulatoria.

En los ovarios de los animales intactos se encuentra un gran número de folículos en crecimiento, pero más del 60% de ellos, independientemente del tamaño, son atrésicos. Se ha descrito en la rata que en la etapa juvenil el desarrollo folicular presenta ondas de atresia (Richards, 1980; Ojeda y Urbanski, 1994), ya que si bien se incrementa el crecimiento folicular en respuesta al aumento gradual en las concentraciones de gonadotropinas, el eje hipotálamo-hipofisario aún no es capaz de responder a la retroalimentación positiva de los estrógenos y liberar el pico preovulatorio de gonadotropinas. La adquisición de esta capacidad en la pubertad es regulada por una variedad de factores tanto hormonales como neurogénicos bajo la dirección estricta del sistema nervioso central (Ojeda y col., 1986; Ojeda y Urbanski, 1994).

Debido a que los ratones de la cepa CD1 se caracterizan por no ovular al primer estro vaginal (García y col., 2000), ésta se indujo por la administración secuencial de 2 u.i. de eCG y 3 u.i. de hCG. Todos los animales que fueron estimulados con gonadotropinas ovularon y liberaron un promedio de 15 ovocitos (Reyes, 2010; Rosales y col., 2010). Este hecho se vio reflejado en el contenido y distribución de los folículos, ya que el número de folículos en crecimiento y la atresia disminuyeron considerablemente, lo que muestra la acción de las gonadotropinas como factores de supervivencia folicular (Braw y Tsafiriri, 1980). Tanto en los folículos preantrales como antrales de estos

animales, la proporción de sanos y atrésicos se invirtió respecto a lo observado en los animales sin tratamiento gonadotrópico. Al respecto, Peters y colaboradores (1973) describen en el ratón adulto tratado con la gonadotropina del suero de la yegua preñada (PMSG), que el incremento en el número de folículos preovulatorios se debe a la disminución en la proporción de folículos atrésicos grandes, más que a un aumento en el número total de estos folículos. Resultados similares han sido descritos en las ratas hipofisectomizadas inmaduras, en las cuales la administración de FSH, disminuye la apoptosis folicular en células de la granulosa (Chun y col., 1994). Nuestros resultados parecen ser el reflejo de los efectos de la eCG sobre la dinámica del crecimiento folicular al rescatar a los folículos de la atresia e incrementar el número de preantrales sanos (Monniaux y col., 1984; Rosser, 1999; Villavicencio y Domínguez, 1993).

El análisis de la población folicular de los ovarios de los animales sometidos a una operación simulada y estimulados con 2 u.i. de eCG y 3 u.i. de hCG, en los cuales el número de ovocitos liberados disminuyó en un 60%, muestra que el total de folículos antrales-sanos es aproximadamente tres veces más del observado en los animales que se estimularon con gonadotropinas y no se expusieron a los vapores del éter. Se ha mostrado en el ratón prepúber que la anestesia con éter bloquea la ovulación inducida por la administración de eCG, misma que se restablece al inyectar GnRH o hCG (García y col., 2005). Kim y colaboradores (1994, 1996) describen en la rata adulta cíclica, que la exposición a vapores de éter en el día del proestro bloquea la ovulación el día del estro esperado, como consecuencia de alteraciones en la descarga de GnRH. Los resultados del presente trabajo apoyan la interpretación que el éter está inhibiendo los pulsos de GnRH, responsables de la secreción tónica y fásica de LH (Fox y Smith, 1985) necesarias en el crecimiento y maduración de los folículos que van a ser ovulados. No podemos descartar la posibilidad de que la perforación del peritoneo también esté modificando la información simpática que llega al ovario vía el nervio

ovárico superior y que regula la respuesta del folículo a las gonadotropinas (Morales y col., 1998; Cruz y col., 2006).

Cuando se exteriorizó el ovario para realizar la microinyección de solución salina en la bursa, el número de folículos antrales-sanos disminuyó respecto a los observados en los animales con OS, no obstante que ambos grupos experimentales tuvieron la misma respuesta ovulatoria frente al estímulo gonadotrópico de 2 u.i. de eCG y 3 u.i. de hCG. Este efecto probablemente está vinculado con la manipulación quirúrgica del ovario, ya que este órgano se encuentra sostenido por el ligamento suspensorio al cual está asociado el nervio ovárico superior (Lawrence y Burden, 1980; Klein y Burden, 1989), del que se ha descrito participa en la regulación de la ovulación, el desarrollo folicular y la esteroidogénesis (Morales y col., 1993). Aunado a esto, también está la perforación de la bursa ovárica, que conlleva a violentar las células mesoteliales encargadas de drenar y mantener estable el microambiente necesario para la ovulación y la reproducción en roedores (Li y col., 2007).

Debido a lo anterior, es que se consideró a los animales inyectados con SS como grupo de comparación para evaluar los efectos de las diferentes concentraciones de timulina sobre la dinámica folicular y la esteroidogénesis.

En los animales tratados con timulina más 2 u.i. de eCG y 3 u.i. de hCG, el análisis folicular mostró que 30 pg de timulina disminuye la incidencia de atresia tanto en folículos preantrales como antrales y aumenta el número de folículos antrales-sanos, lo que sugiere que esta concentración de timulina administrada directamente en la bursa ovárica, está favoreciendo el crecimiento folicular y rescatando a los folículos de la atresia. Efectos que no se presentan al duplicar la concentración de timulina ya que sólo el 20% de estos animales logró ovular y el número de ovocitos se redujo a la mitad.

Las marcadas diferencias en el crecimiento y diferenciación de los folículos entre los animales con 30 y 60 pg de timulina podrían deberse al efecto modulador que ejerce este péptido en función de su concentración. Al respecto se ha mostrado en el ratón, que la inyección sistémica de dosis altas de timulina (0.2, 1 y 5 μ g) reduce la hiperalgesia, sin embargo dosis menores a éstas inducen esta patología (Safieh-Garabedian y col., 1997). Las concentraciones altas de timulina promueven la diferenciación de linfocitos t-supresores y concentraciones bajas de t-cooperadores (Bach y Dardene, 1984). Se ha mostrado que la timulina tiene efectos favorables en niños con inmunodeficiencia, sin embargo las dosis altas ejercen un efecto mayor que las dosis bajas.

Un efecto similar dependiente de la concentración se observa en los grupos tratados con 120 y 240 pg de timulina, donde el análisis de la dinámica del crecimiento folicular (preantrales y antrales) presenta el mismo comportamiento pero la diferenciación de los folículos, principalmente los antrales, es inversa.

El aumento en las concentraciones séricas de 17β -estradiol en todos los grupos a los cuales se les inyectó timulina en la bursa ovárica, sugiere que esta hormona incrementa la actividad del complejo enzimático aromatasa. Ledwitz-Rigby y Scheid en 1990 mostraron que la administración de timulina al cultivo de células de la granulosa de ovarios de cerda incrementa la actividad aromatasa. Además estudios recientes de nuestro laboratorio han mostrado que la timulina adicionada al cultivo de células de la granulosa de ovario de ratón, es capaz de estimular la secreción basal de 17β -estradiol y potenciar el efecto estimulante de la FSH (Cabrera, 2012). Estas evidencias apoyan la idea que el timo por intermedio de la timulina, puede estar regulando la actividad esteroideogénica directamente en el ovario al incidir sobre la actividad aromatasa. El hecho que las concentraciones de 17β -estradiol se mantuvieran similares en los grupos inyectados con SS independientemente de la concentración de gonadotropinas empleada, apoyan esta interpretación.

La evaluación de las concentraciones de estradiol en el suero de los animales inyectados con 120 pg de timulina fue 11 veces más alta que la de los animales inyectados sólo con solución salina, lo cual corresponde con la presencia de una mayor cantidad de folículos antrales sanos. Estos resultados confirman la estrecha relación entre los estrógenos y el desarrollo folicular, ya que se ha descrito que esta hormona disminuye la apoptosis de las células de la granulosa (Billig y cols., 1993).

En el grupo tratado con 120 pg de timulina, sólo el 40% logró ovular liberando un promedio de seis ovocitos (Reyes, 2010 Rosales y col., 2010; Loaiza y col., 2011). Estos resultados, aunados al aumento en el crecimiento folicular y la esteroidogénesis, apoyan la idea que la timulina incrementa la sensibilidad del ovario a las gonadotropinas y la actividad aromatasa como ya se mencionó (Ledwitz-Rigby y Scheid, 1990). Sin embargo, las concentraciones altas de estrógenos pueden ejercer una retroalimentación negativa a nivel hipotalámico y por ende disminución de FSH y LH endógenas en los puntos críticos del desarrollo folicular, lo que conduce a la pérdida de la ovulación (Farookhi, 1981; Van Voorhis, 1999 b; Guyton y Hall, 2001).

El grupo tratado con 240 pg tiene gran cantidad de folículos antrales-atrésicos lo que nos sugiere que su respuesta esteroidogénica es menor. Erickson en 1982 describe que la atresia parece estar primeramente relacionada con alteraciones en el ovocito y posteriormente con la pérdida de receptores a FSH en las células de la granulosa, lo que se traduce en la disminución de la capacidad de aromatización de los andrógenos y como consecuencia una menor síntesis de estrógenos y un aumento en la secreción de andrógenos, de los que se ha descrito ejercen un efecto atretogénico (Hillier y Ross, 1979; Bagnell y col, 1982).

Los resultados muestran que la timulina actúa diferente según la concentración administrada, aunque se le de el mismo estímulo gonadotrópico. Según Domínguez (1991) y colaboradores cada organismo es diferente ya que si la selección de folículos

en reposo dependiera exclusivamente de las concentraciones plasmáticas de gonadotropinas, sería casi imposible que existiera ovulación o atresia en la tasa que caracteriza a cada especie, por lo que al parecer la regulación del crecimiento y la diferenciación folicular parecen depender fundamentalmente de las condiciones internas de cada ovario más que de las concentraciones plasmáticas de las gonadotropinas.

Debido a la baja respuesta ovulatoria observada al someter a los animales a una OS o a la microinyección de SS frente al estímulo con 2 u.i. de eCG y 3 u.i. de hCG, se decidió utilizar un esquema de estimulación gonadotrópica mayor. Se ha mostrado que la respuesta ovulatoria depende de la dosis administrada de gonadotropinas y de la edad del animal (Villavicencio y Domínguez, 1993). El hecho que la cuota ovulatoria promedio fuera de 32 ovocitos (Reyes, 2010) en el grupo testigo estimulados con 3 u.i. de eCG y 3 u.i. de hCG confirman esta aseveración. La estimulación gonadotrópica mayor propició una superovulación lo que se ve reflejado en la disminución de folículos antrales-sanos y atrésicos. Estos resultados apoyan la idea que en condiciones fisiológicas la información neural que llega al ovario a través del pedículo ovárico facilita los efectos de las gonadotropinas en el ovario, lo que lleva al crecimiento folicular y a la ovulación (Morales y col., 1999).

Como se mencionó anteriormente, tanto los efectos del éter (Kim y col., 1994, 1996), como la perforación del peritoneo (Cruz y col., 2006) pueden estar involucrados en las diferencias observadas en la dinámica del desarrollo folicular de los animales sometidos a una OS. Sin embargo en los animales estimulados con 3 u.i. de eCG, la cantidad de folículos antrales-sanos fue mucho menor a la de los animales con OS estimulados con 2 u.i. de eCG. En la rata, se ha mostrado que los cambios en la actividad de los nervios que inervan el ovario se asocian con los cambios en la concentración plasmática de FSH o LH (Freeman, 1988).

Cabe destacar que los ovarios que se analizaron en SS, son ovarios de animales **no ovulantes** (Reyes, 2010), en este grupo se observa que no solo el éter está modificando la dinámica del crecimiento folicular sino que efectivamente la manipulación quirúrgica contribuye a este cambio. El aumento de la atresia que se observó en los folículos preantrales podría explicarse por los efectos de la estimulación mecánica del ligamento suspensorio, ya que al exteriorizar los ovarios estamos provocando una liberación de neurotransmisores que modifican la receptividad de los folículos para cuando llegan las gonadotropinas. Al respecto Mórán y colaboradores (2000), sugieren que el incremento en el número de folículos atrésicos en animales con sección uni o bilateral del nervio ovárico superior puede explicarse por la disminución en los receptores a FSH como resultado de la denervación. Lara y colaboradores (1990) mostraron en ratas inmaduras que la eliminación de la inervación simpática del ovario por inmunosimpatectomía resultó en retraso del crecimiento folicular y disminución de la concentración de 17β -estradiol en respuesta a las gonadotropinas.

El análisis folicular de los animales a los cuales se les administraron 30 y 60 pg de timulina, mostró que hubo crecimiento de los folículos preantrales, siendo la mayoría sanos, probablemente por efecto de la eCG permitiendo que los folículos en crecimiento escapen de la atresia, como se descrito anteriormente (Villavicencio y Domínguez, 1993). Estos grupos presentaron una disminución en las concentraciones de estradiol, efecto que resulta de la recuperación de la cuota ovulatoria al haber un estímulo gonadotrópico mayor. Con esto, podemos sugerir que la presencia previa de timulina estaría amplificando la aromatización, el cual es el paso limitante en la síntesis de hormonas esteroides (Domínguez y col., 1991) necesarias para el crecimiento y la maduración folicular y así contrarrestar los efectos del éter y de la manipulación mecánica.

Al administrar 120 pg de timulina se presentó rescate de la atresia de folículos antrales, evento que se correlaciona con el aumento en las concentraciones de estradiol, lo que nos podría sugerir que la falta de ovulación se debe al efecto inhibitorio del estradiol. Hinojosa y colaboradores (2004) han descrito que timulina posee un efecto dual (inhibe o estimula) que no sólo depende de la concentración de ésta, sino que también del estatus hormonal del animal, ya que la adición de una dosis única de timulina al cultivo de células de adenohipófisis provenientes de animales sacrificados en cada día del ciclo estral, incrementa o disminuye la liberación de gonadotropinas dependiendo del día del ciclo estral.

El hecho que la dinámica del crecimiento folicular no fuera similar entre los dos esquemas de estimulación gonadotrópica apoya lo descrito por Ledwitz-Rigby y Scheid (1990) sobre la existencia de una relación timulina-gonadotropinas en el ovario y además muestran que los efectos de la timulina están en función del equilibrio de esta relación.

En resumen, el probable mecanismo de acción de la timulina en el ovario usa AMPc como segundo mensajero (Brown y col., 2000). El AMPc, podría estar regulando la respuesta de los folículos a gonadotropinas por esta vía de señalización ya sea aumentando la biosíntesis o disminuyendo la actividad de la aromatasa dependiendo de su acción dual, como ya se ha descrito que ocurre en la secreción de gonadotropinas por las células de adenohipófisis en cultivo (Hinojosa y col., 2004).

CONCLUSIONES

La timulina administrada en la bursa ovárica del ratón prepúber estimula o inhibe el crecimiento y diferenciación de los folículos, lo que está en función de la magnitud del estímulo gonadotrópico, ya que:

- Concentraciones de 30 y 120 pg de timulina, favorecen el rescate de los folículos de la atresia independientemente de la magnitud del estímulo gonadotrópico.
- La concentración de 120 pg de timulina incrementa considerablemente la secreción del 17β -estradiol en respuesta al menor estímulo gonadotrópico.
- La concentración de 240 pg de timulina incrementa el índice de atresia folicular, efecto que se relaciona con el bloqueo de la ovulación.
- La timulina promueve el rescate de la atresia, efecto que no se correlaciona con la cuota ovulatoria.

BIBLIOGRAFÍA

- ❖ Armstrong DG, Webb R (1997). Ovarian follicular dominance: the role of intraovarian growth factors and novel proteins. *Rev. Reprod.* 2: 139-146.
- ❖ Audesirk T y Audesirk G (1996). *Biology life on earth*. 4ª ed. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey USA. 772 pp.
- ❖ Bach JF, Dardenne M y Sosa J (1977). Biochemical characterization of a serum thymic factor. *Nature* 266, 55-57
- ❖ Bach JF y Dardenne M (1984). Clinical aspects of thymulin (FTS). En: Thymic hormones and lymphokines. Basic Chemistry and clinical applications. Al Goldstein Ed. Plenum Press, New York. 593-599
- ❖ Bagnell CA , Mills TM , Costoff A , Mahesh VB (1982). A model for the study of androgen effects on follicular atresia and ovulation. *Biol Reprod.* 27, 903-914
- ❖ Beck LR (1972). Comparative observation on the morphology of the mammalian periovarial sac. *Journal of Morphology*, 136, 247-254.
- ❖ Becu-Villalobos D y Lacau-Mengido I (1990). Control Hormonal del Desarrollo Puberal de la Rata Hembra. *Act. Physiol. Pharmacol. Latinoam.* 40, 1-17.
- ❖ Bellanti J (1986). Inmunología. Interamericana, 3ª edición. México. 24-49 pp.
- ❖ Bergman RA, Afifi AK y Heideger PM Jr (1998). *Histología*. McGraw-Hill Interamericana, México, 307-319
- ❖ Billig H, Furuta I, Hsueh AJ (1993). Estrogens inhibit and androgens enhance ovarian granulosa cell apoptosis. *Endocrinology.* 133, 2204-2212.
- ❖ Braw RH y Tsafiriri A (1980). Effect of PMSG on follicular atresia in the immature rat ovary. *J. Reprod. Fert.* 59, 267-272.
- ❖ Brown OA, Sosa YE, Dardenne M, Pléau JM, Goya RG (2000). Studies on the gonadotropin-releasing activity of thymulin: changes with age. *J. Gerontol.* 55A, B170-B176.

- ❖ Bulfon M y Bee de Speroni N (2009). Análisis estructural e inmunohistoquímico de la atresia folicular de *Vanellus chilensis* (Charadriidae) e *Himantopus malanurus* (Recurvirostridae). *Rev. Peru. biol.* 16, 169-174.
- ❖ Byskov, A.G. (1978). Follicular atresia. En: *The vertebrate ovary. Comparative Biology and Evolution*. R.E Jones Ed., Plenum Press, New York, p.p 533-562.
- ❖ Calzolari A (1898). Recherches experimentales sur un rapport probable entre la fonction du thymus et celle des testicules. *Arch ital Biol Torini* 30, 71-77.
- ❖ Casanueva F y Vázquez JA (1995). *Endocrinología Clínica*. Editorial Díaz de Santos. España 41-64 pp.
- ❖ Centola, G.M. (1983). Structural changes: Atresia. En: *The ovary*. G.B Serra Ed., Raven Press, New York, p.p 95-11
- ❖ Chun SY, Billig H, Tilly JL, Furuta I, Tsafiri A, Hsueh AJ (1994). Gonadotropin suppression of apoptosis in cultured preovulatory follicles: mediatory role of endogenous insulin-like growth factor I. *Endocrinology*. 135, 1845-53
- ❖ Cruz ME, Flores A, Palafox MT, Meléndez G, Rodríguez JO, Chavira R, Domínguez R (2006). The role muscarinic systemic in regulating estradiol secretion varies during the estrous cycle: the hemiovariectomized rat model. *Reproductive biology and Endocrinology* 4:43.
- ❖ Cung MT, Lefrancier P, Dardenne M, Bach JF y Lausan JP (1988). NMR study of a lymphocyte differentiating thymic factor. An investigation of the Zn (III)-nonapeptide complexes (thymulin). *J Biol Chem* 263, 5574-5580.
- ❖ Dardenne M y Bach JF (1981). Thymic hormones. En: *The thymus glands*. M.D. Kendall, Academic Press. New York 113-131.
- ❖ Dardenne M, Savino W, Berrith S, y Bach JF (1985). A zinc-dependent epitope on the molecule of thymulin, and thymic hormone. *Proc.Nat.Acad.Sci.*82, 7035-7038.

- ❖ Dardenne M, Savino W, Gagnerault M-C, Itoh T y Bach JF (1989). Neuroendocrine control of thymic hormonal production. I. Prolactin stimulates *in vivo* and *in vitro* the production of thymulin by human and murine thymic epithelial cells. *Endocrinology* 125, 3-12.
- ❖ Domínguez R, Chávez R y Cruz ME (1991). La regulación del crecimiento y del desarrollo del folículo ovárico. En: Tópicos Selectos de Biología de la Reproducción. R Domínguez Ed, PUIS-UNAM, MA Porrúa, México, 161-192.
- ❖ Driancourt MA (1991) Follicular dynamics in sheep and cattle. *Theriogenology* 35: 55- 79.
- ❖ Erickson GF (1982). Follicular maturation and atresia. En: The gonadotropins: Basic Science and Clinical Aspects in Female. Flamigni C y Givens JR. Sero Symposium No. 42. Academic Press, New York 177-185 pp.
- ❖ Espey, L. L. (1999). Ovulation. En Encyclopedia of Reproduction. E. Knobil and J. D. Neill, Eds, Academic Press, San Diego. Vol. 3, 605–614 pp.
- ❖ Farookhi, R. (1981) Atresia: an hypothesis. En: Dynamics of ovarian Function. Schwatz, N.B. and Hunzicker-Dunn. Ed. Raven Press, New York 13-23
- ❖ Fawcett, D.W. (1995). Tratado de Histología. Interamericana- Mc Graw Hill, 12ª edición. México 522-540
- ❖ Fortune JE (2002) Activation of primordial follicles. En Eppig J, Hegele-Hartung CH, Lessl M (Eds.) The future of the oocyte basic and clinical aspects. Springer. Nueva York, EEUU. pp. 11-21.
- ❖ Fox SR y Smith MS (1985). Changes in the Pulsatile Pattern of Luteinizing Hormone Secretion during the Rat Estrous Cycle. *Endocrinology* 116 (4) 1484-1492
- ❖ Freeman ME (1988). The ovarian cycle of the rat. En: The Physiology of Reproduction, Knobil E y Neill JD Eds. USA: Raven Press, 1893-1929.
- ❖ García L (1996). Estudio de los efectos de la timectomía realizada en la etapa infantil sobre el proceso de pubertad y la ovulación en el ratón. Tesis de licenciatura Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. UNAM.

- ❖ García ML, Hinojosa BL, Domínguez CR, Chavira R y Rosas SP (2000). Effects of infantile thymectomy on ovarian functions and gonadotrophin-induced ovulation in prepubertal mice: role of thymulin. *J Endocrinol* 166, 381-387.
- ❖ García ML, Hinojosa BL, Domínguez CR, Chavira R y Rosas SP (2005). Effects of injecting thymulin in the anterior or medial hypothalamus or the pituitary on induced ovulation in prepubertal mice. *Neuroimmunomodulation* 12, 314-320.
- ❖ Gastinel LN, Dardenne M, Pléau JM, Bach JF (1984). Studies on the zinc binding site to the serum rhymic factor. *Biochim Biophy Acta* 797, 147-155.
- ❖ Gartner L.P, Hiatt JL (2003). Atlas Color de Histología. 3ª ed, Médica Panamericana. España, 333-348.
- ❖ Geneser F (2000). Histología. 3ª ed, Médica Panamericana. España, 421-427, 581-590.
- ❖ Goldstein AL, Low TLK, Thurman GB, Zatz MM, Hall N, Chen J, Hu S-K, Naylor PB y McClure JE (1981). Current status of thymosin and other hormones of the thymus gland. *Recent Prog Horm Res* 37, 369-415.
- ❖ Gore-Langton, R. y D. Armstrong (1994). Follicular Steroidogenesis and its Control. En: The Physiology of Reprodución. Knobil, E. y J. Neill. Eds. Raven Press. New York. 571-627.
- ❖ Goya RG, Gagnerault MC, Sosa YE y Dardenne M (1995). Reduced ability of hypothalamic and pituitary extracts from old mice to stimulate thymulin secretion in vitro. *Mech Ageing Dev.* 3,143-54.
- ❖ Goya RG, Brown OA, Pléau JM y Dardenne M (2004). Thymulin and the neuroendocrine system. *Elsevier* 25, 139-142.
- ❖ Greenwald GS y Roy SK (1994). Follicular development and its control. En: The physiology of reproduction. E Knobil y JD Neill Eds. 2ª ed. Raven Press, New York, 629-721 pp.
- ❖ Grossman CJ (1984). Regulation of the immune system by sex steroids. *Endocr Rev* 5, 435-455.
- ❖ Guyton AC y Hall JE (2001). Manual de fisiología Médica. Elsevier, 10ª edición. España. 96-100 pp.

- ❖ Hillier SG y Ross GT (1979). Effects of exogenous testosterone on ovarian weight, follicular morphology and intraovarian progesterone concentration in estrogen-primed hypophysectomized immature female rats. *Biol Reprod.* 20, 261-26.
- ❖ Hinojosa L, Chavira R, Domínguez R, y Rosas P. (1999). Effects of the thymulin on spontaneous puberty and gonadotrophin-induced ovulation in prepubertal normal and hypothymic mice. *J Endocrinol* 163, 255-260.
- ❖ Hinojosa L, García L, Domínguez R, Romano MC, Damián-Matsumura PG, Castillo L y Rosas P (2004). Effects of thymulin and GnRH. On the release of gonadotropins by in vitro pituitary cells obtained from rats in each Day of estrous cycle. *Life Science* 76, 795-804.
- ❖ Hsueh AJW, Billing H y Tsafiriri A (1994). Ovarian follicle atresia: a hormonal controlled apoptotic process. *Endocrine Rev* 15, 707-724.
- ❖ Kim C-Y, Wakabayashi K y Nobunaga T (1994). Time-dependent ovulation-bloking effect of ether anesthesia differs from pentobarbital in rats. *Tohoku J Exp Med* 172, 237-242
- ❖ Kim C-Y, Ryu jh, Maeyama K, Wakabayashi, Watanabe T, Nobunaga T y Satoh H (1996). The brain histamine (HA) and pituitary luteinizing hormone (LH) levels in female rats anesthetized with ether on proestrus. *Exp Anim* 45, 175-177.
- ❖ Klein CM y Burden (1989). Anatomical localitation of afferent and postganglionic symphathetic neurons innervating the rat ovary. *Neurociencie Letters.* 85, 217-222.
- ❖ Lara HE, McDonald JK, Ahmed CE, Ojeda SR (1990). Guanethidine mediated destruction of ovarian simphathetic nerves disrupts ivarian developmen and fuction in rats. *Endocrinology.* 127, 2199-2209.
- ❖ Lawrence IE y Burden HW (1980). The origin of extrinsic adrenergic innervation to the rat ovary. *The Anatomical Record.* 196, 51-59.
- ❖ Lawrence L, Espey LL, and. Richards JS (2006). Ovulation. En: *Physiology of Reproduction.* Knobil. E y Neill J. Eds. Raven Press. New York. Vol. 1, 3^{era} edición. 425-474 pp.

- ❖ Ledwitz-Rigby F y Scheid PG (1990). Thymulin (serum thymic factor) modulation of porcine granulosa cell responsiveness to gonadotropins in vitro VIII. Ovarian Workshop. Regulatory process and gene expression in the ovary, 473-478.
- ❖ Li M, Zhou TH, Gao Y, Zhang N, Li JC. (2007). Ultrastructure and Estrogen Regulation of the Lymphatic Stomata of Ovarian Bursa in Mice. *The Anatomical Record*, 290:1195-1202.
- ❖ Loaiza D, Rosales B, Reyes C, Morillón R y Rosas P (2011). Análisis de la respuesta ovulatoria y el crecimiento folicular de ratones prepúberes inyectados con timulina en la bursa ovárica. VII Congreso de Investigación y I de Posgrado de la FES Zaragoza.
- ❖ Lucy MC, Savio JD, Badinga L, De La Sota RL, Thatcher WW (1992) Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J. Anim. Sci.* 70: 3615-3626.
- ❖ Martin GG, Sack M, Talbot P. (1981). Structure of bursae ovaricae surrounding the ovaries of golden hamster. *The Anatomical record*, 201(3):485-498.
- ❖ Michael SD (1983). Interactions of the thymus and the ovary. En: Factors Regulating Ovarian Function. GS Greenwald y PF Terranova Eds., Raven Press, New York, 445-464 pp.
- ❖ Monniaux D, Mariana JC, Gibson WR (1984). Action of PMSG on follicular populations in the heifer. *J. Reprod. Fert.* 70, 243-253.
- ❖ Morales L, Chávez R y Domínguez R (1993). Participation of the superior ovarian nerve in the regulation of ovulation in the prepuberal rat: differential effects of unilateral and bilateral section of the nerve. *Medical Science Researchs* 21, 15-17.
- ❖ Morales L, Chávez R., Ayala M.E y Domínguez R (1998). Effects of unilateral or bilateral superior ovarian nerve section in prepuberal rats on the ovulatory response to gonadotrophin administration. *Journal of Endocrinology* 158, 213-219.
- ❖ Morales L, Chávez R., Ayala, Chávez R y Domínguez R (1999). Effects of mechanical stimulation of the ovarian pedicle on induced ovulation on the prepubertal rat. *Medical Science Researchs* 27, 561_564.

- ❖ Morán C, Morales L, Quiróz U y Domínguez R (2000). Effects of unilateral or bilateral superior ovarian nerve section in infantile rats on follicular growth. *Journal of Endocrinology* 166, 205-211.
- ❖ Nishizuka y Sakakura T (1969). Thymus and reproduction: Sex-linked dysgesnesia of the gonad after neonatal Thymectomy in mice. *Science* 166, 753-755.
- ❖ Ojeda, SR. y Urbanski HF. (1994). Puberty in the rat. En: *The Physiology of Reproduction*. Edited by Knobil, E y Neill, JD. New York, 363-409.
- ❖ Ojeda, SR., Urbanski HF. Y Ahmed C. (1986). The onset of Female Puberty: Studies in the Rat. *Rec. Pro. Horm. Res.* 42, 385-442.
- ❖ Ortega C (2007). Estudio de los efectos de la timulina sobre la liberación de FSH y LH por las células de la adenohipófisis en cultivo. Influencia del ciclo estral y los esteroides sexuales. Tesis Biología FES Zaragoza UNAM.
- ❖ Pedernera E (1993). Cooperación celular en la biosíntesis de hormonas esteroides. En: *Comunicación Neuroendócrina Bases Celulares y Moleculares*. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, México, pp 33-46.
- ❖ Peters H, Byskov AG, Lintern-Moore S, Faber M, Andersen M (1973). The effect of gonadotrophin on follicle growth initiation in the neonatal mouse ovary. *J Reprod Fertil.* 35, 139-41.
- ❖ Peters H (1978). Folliculogenesis in mammals. En: Jones RE the vertebrate ovary. Plenum Press, New York 121-144 pp.
- ❖ Ramírez VD (1973). Endocrinology of puberty. En: *Handbook of Physiology*. American Physiological Society. Washington DC, 1-29 pp.
- ❖ Raviola E (1995). Timo. En: *Tratado de Histología*. Fawcett, D.W. Interamericana- Mc Graw Hill, 12ª edición. México 479-473.
- ❖ Rebar RW, Miyake A, Low TLK y Goldstein AL (1981a). Thymosin stimulates secretion of luteinizing hormone-releasing factor. *Science* 214, 669-671.
- ❖ Reyes C (2010). Tesis de licenciatura. Efectos de la administración de timulina en la bursa del ovario de ratones prepúberes sobre la respuesta ovulatoria. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza México D.F.

- ❖ Richards JS (1980). Maturation of Ovarian Follicles: Actions and Interactions of Pituitary and Ovarian Hormones on Follicular Cell Differentiation. *Physiological Reviews*. 60, 51-89.
- ❖ Rosales B, Loaiza D, Reyes C, Chavira R y Rosas P (2010). Estudio de la respuesta esteriodogénica del ratón prepúber a la administración intraovárica de diferentes concentraciones de timulina. LIII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas.
- ❖ Ross Pawlina W (2007). Histología texto y atlas color con Biología Celular y Molecular. 5ª ed. Ed Médica Panamericana, México. 644-655, 728-730.
- ❖ Rosser JF (1999). Equine Chorionic Gonadotropin. En: Encyclopedia of Reproduction Vol 2, Knobil E y Neill JD Eds. USA: Academic Press, 29-37.
- ❖ Sánchez Criado JE. (1999). Fisiología del ovario. En: Fisiología Humana. JAF Tresguerres, E Aguilar, MV Cachofeiro, D Cardinali, P Gil-Loyzaga, V Lahera, J Martínez, F Mora, R Rodríguez, M Romano, J Tamargo, P Zarco, Eds. 2ª ed. Mac Graw-Hill, España 1036-1048.
- ❖ Savio JD, Boland MP, Roche JF (1990) Development of dominant follicles and length of ovarian cycles in postpartum dairy cows. *J. Reprod. Fert.* 88: 581-588.
- ❖ Safieh-Garabedian B, Kanaan SA, Jalakhian RH, Poole S, Jabbur SJ y Saadé NE (1997). Hyperalgesia induced by low doses of thymulin injections: possible involvement of prostaglandin E₂. *J Neuroimmunol* 73, 162-168.
- ❖ Schünke M, Schulte E y Schumacher. (2006). Aparato genital interno femenino: Ovario y maduración del folículo. En: Prometheus, Texto y Atlas de Anatomía 1ª edición. Editorial Médica Panamericana, México. 252-255.
- ❖ Snell RS (2001). Neuroanatomía clínica. 5ª ed. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. 481-486 pp
- ❖ Steller, H (1995). Mechanism and genes of cellular suicide. *Science* 267: 1445-1449.
- ❖ Thompson, C. (1995) Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 267:1456-1462.

- ❖ Tresguerres JAF y Castillo C (2005). Fisiología del eje hipotálamo-hipófisis-ovárico. En: Fisiología Humana. 3ª ed. Mc Graw Hill-Interamericana. Eds. JAF Tresguerres España 1007-1023 pp.
- ❖ Yeh J y Adashi E (2001). El ciclo ovárico. En: Endocrinología de la Reproducción. Fisiología, Fisiopatología y Manejo Clínico. 4ª edición. SC Yen, RB Jaffe y RL Barbieri Eds. Editorial Médica Panamericana, México.164-202.
- ❖ Van-Voorhis BJ (1999). Follicular development. En: Encyclopedia of Reproduction Vol 2, Knobil E y Neill JD Eds. USA: Academic Press, 376-389
- ❖ Vanderhyden BC, Roleau A y Armstrong DT (1986). Effect of removal of the ovarian bursa of the rat on infundibular retrieval and subsequent development of ovulated oocytes. *Journal of reproduction and fertility*, 77, 393-399.
- ❖ Villavicencio J y Domínguez R (1993). Differences in follicular growth and atresia induced by gonadotrophin stimulation in pre-pubertal rats are age-dependent. *Med Sci Res* 21, 361-362.
- ❖ William P.L (1998). Anatomía de Gray. 38ª ed. Vol. 2 346-361 Ed Elsevier, España

La Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C.
otorga la presente

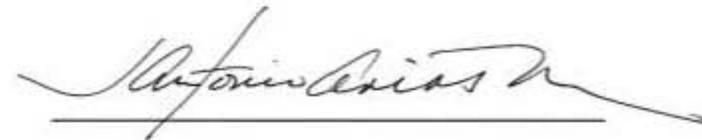
CONSTANCIA

a:

*DIANA LOAIZA ROMERO, BEATRIZ ROSALES ROSALES, CLAUDIA
REYES VÁZQUEZ, NATALIA CHÁVEZ SALCEDO Y PATRICIA ROSAS
SALCEDO*

Por su participación con el trabajo

*ESTUDIO DE LA RESPUESTA OVULATORIA DEL RATÓN
PREPUBER A LA ADMINISTRACIÓN DE DIFERENTES
CONCENTRACIONES DE GONADOTROPINAS*



Dr. José Antonio Arias Montaña
Presidente



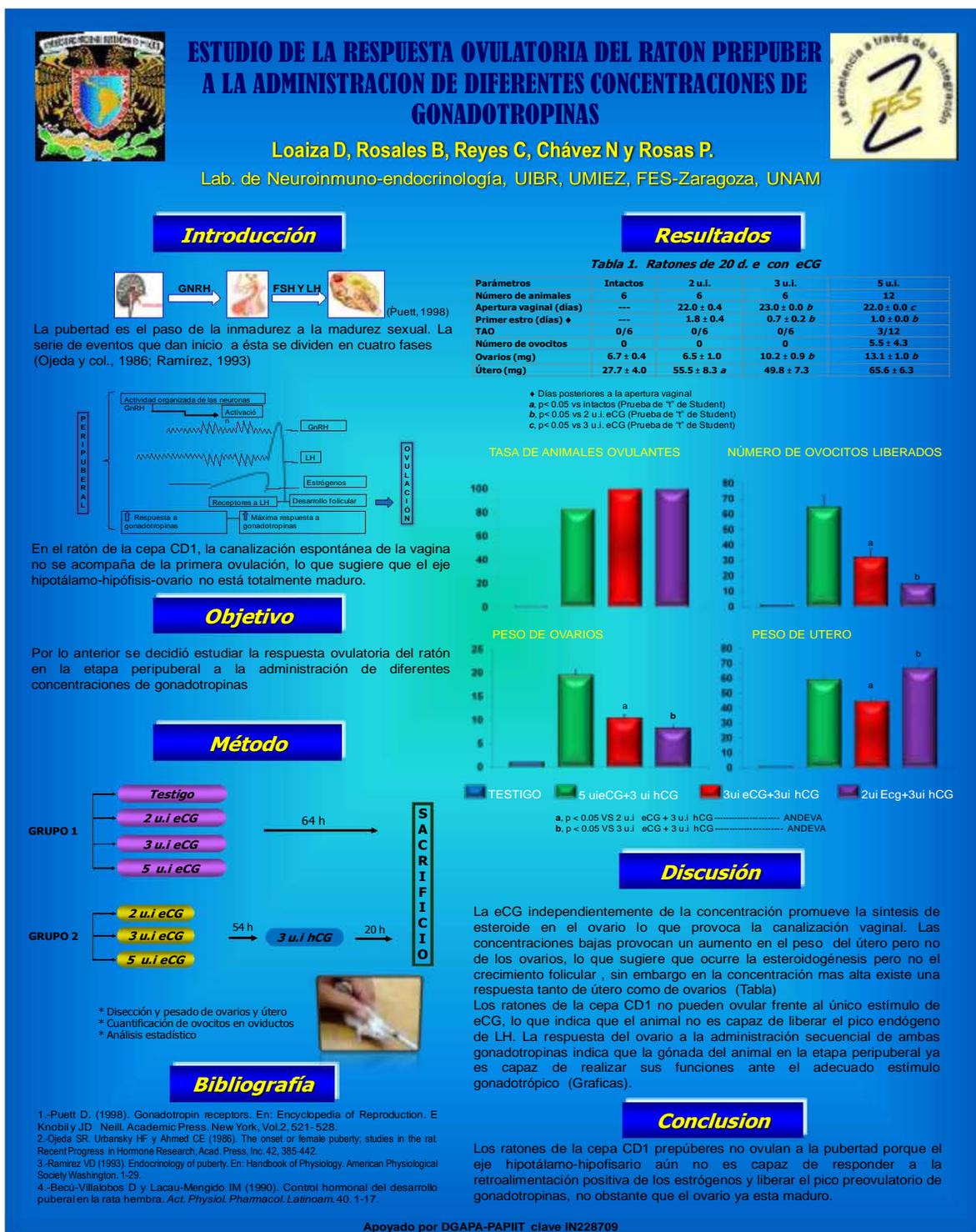


Figura 25. Cartel presentado en el LII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas, presentado bajo la siguiente autoría: Loaiza D, Rosales B, Reyes C, Chávez N y Rosas P. Titulado: Estudio de la respuesta ovulatoria del ratón prepúber a la administración de diferentes concentraciones de gonadotropinas.

La Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C.
otorga la presente

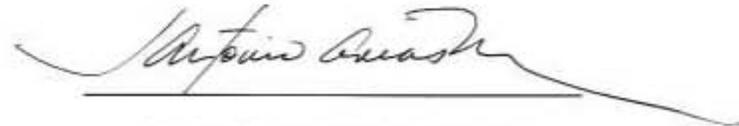
CONSTANCIA

a:

*CLAUDIA REYES VÁRQUEZ, BEATRIZ ROSALES ROSALES, DIANA
LOAJZA ROMERO, NATALIA CHÁVEZ SALCEDO Y PATRICIA ROSAS
SALCEDO*

Por su participación con el trabajo

*CURVA DOSES-EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN
INTRAOVÁRICA DE TIMULINA SOBRE LA RESPUESTA
OVULATORIA DEL RATÓN PREPÚBER TRATADO CON
GONADOTROPINAS*



Dr. José Antonio Arias Montaña
Presidente



CONGRESO NACIONAL DE
CIENCIAS FISIOLÓGICAS
26 al 30 de septiembre de 2009
Morelia Michoacán México



CURVA DOSIS-EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN INTRAOVÁRICA DE TIMULINA SOBRE LA RESPUESTA OVULATORIA DEL RATÓN PREPÚBER TRATADO CON GONADOTROPINAS

Reyes C, Rosales B, Loaiza D, Chávez N y Rosas P.

Laboratorio de Neuroinmuno-endocrinología. UIBR. UMEZ. FES-Zaragoza, UNAM. México, D.F.
prosas44@yahoo.com.mx

Antecedentes

Prepúber Timulina
Diariamente iniciando (24 h antes de eCG)

eCG → No ovula → Superovulación (1)

Prepúber { Anestésico → eCG → Ovulación (con X)
Timulina → Hipotálamo / Hipófisis → eCG → Ovulación (2)

Objetivo

Estudiar los efectos de la microinyección directa en el ovario de diferentes dosis de timulina sobre la respuesta ovulatoria del ratón prepúber tratado con gonadotropinas.

Método

Ratones hembra prepúberes de la cepa CD1
19 días de edad

Grupos experimentales

Intactos	I
Operación simulada	OS
Microinyección de solución salina	MSS
Microinyección de timulina	MT

24 h ↓

3 u.i. de eCG

54 h ↓

3 u.i. de hCG

20h ↓

Sacrificio

7.5

15

30

60

120

Concentraciones de Timulina (pg)

- Disección y pesado de ovarios y útero
- Cuantificación de ovocitos en oviductos
- Análisis estadístico

Resultados

Los animales presentaron la apertura vaginal entre los 22 y 23 d.e. y en todos los casos la citología vaginal fue de estro.

(A) Tasa de ovulantes

a, p < 0.05 vs Intactos; b, p < 0.05 vs OS; c, p < 0.05 vs MSS

(B) N° ovocitos

* p < 0.05 vs MSS

(C) Peso de ovarios

* p < 0.05 vs MSS

(D) Peso de útero

* p < 0.05 vs MSS

Discusión

Los resultados muestran que la respuesta ovulatoria no es directamente proporcional a la dosis de timulina (Figs. A y B). El incremento en el peso de los ovarios (Fig. C) y del útero (Fig. D) al administrar 7.5 pg de timulina en la bursa ovárica, sugiere que la falta de ovulación probablemente se debe a un retraso en la misma más que a una inhibición. La concentración de 60 pg de timulina estimula de manera significativa tanto la tasa de animales ovulantes (Fig. A) como la cuota ovulatoria (Fig. B) respecto al grupo MSS. La timulina en concentración de 120 pg inhibe la ovulación inducida por la administración de gonadotropinas. En resumen los resultados indican que la timulina en el ovario, al igual que en la hipófisis tiene un efecto dual (3).

Conclusiones

La curva dosis-efecto no presenta una relación directamente proporcional a la concentración de timulina. La timulina administrada en la bursa del ovario del ratón prepúber incrementa o disminuye la respuesta ovulatoria frente al estímulo gonadotrópico en función de la dosis.

Bibliografía

(1). Hinojosa L, Chavira R, dimingues R y Rosas P (1999). Effects of the thymulin on the spontaneous puberty and gonadotropin-induced ovulation in prepubertal normal and hypothyroid mice. *J. Endocrinol.* 163: 265-269.
(2). García ML, Hinojosa BL, Domínguez CR, Chavira R y Rosas SP (2008). Effects of injecting thymulin in the anterior or medial hypothalamus or the pituitary on induced ovulation in prepubertal mice. *Neuroimmunomodulation* 12, 314-320.
(3). Hinojosa L, García L, Domínguez R, Romano MC, Damián-Matsumura PG, Castillo L, y Rosas P (2004). Effects of thymulin and GnRH on the release of gonadotropins by *in vitro* pituitary cells obtained from rats in each day of estrous cycle. *Life Sci* 76, 795-804.

Apoyado por DGAPA-PAPIIT clave IN228709

Figura 26. Cartel presentado en el LII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas, presentado bajo la siguiente autoría: Reyes C, Rosales B, Loaiza D, Chávez N y Rosas P. Titulado: Curva dosis-efecto de la administración intraovárica de timulina sobre la respuesta ovulatoria del ratón prepúber tratado con gonadotropinas.



La Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas A.C.
Otorga la presente constancia a:

ROSALES B., LOAIZA D., REYES C., CHAVIRA R., ROSAS P.

Por la presentación del trabajo:

ESTUDIO DE LA RESPUESTA ESTERIODOGÉNICA DEL RATÓN PREPÚBER
A LA ADMINISTRACIÓN INTRAOVÁRICA DE DIFERENTES
CONCENTRACIONES DE TIMULINA

En el marco del LIII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas
26-30 de Septiembre, 2010. Villahermosa, Tabasco México

Dra. Carolina Escobar Briones
Presidenta



Dr. David Centurión Pacheco
Secretario



ESTUDIO DE LA RESPUESTA ESTERIODGÉNICA DEL RATÓN PREPÚBER A LA ADMINISTRACIÓN INTRAOVÁRICA DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE TIMULINA

Rosales B¹, Loaiza D¹, Reyes C¹, Chavira R² y Rosas P¹

1Lab. de Neuroinmuno-endocrinología, UIBR, UMIÉZ, FES-Zaragoza, UNAM. 2Lab. de Hormonas Esteroides, INCMN "Salvador Zubirán". prosas44@yahoo.com.mx



Introducción

Glu-Alb-Lys-Ser-Glu-Gly-Gly-Ser-Asn-OH + Zn actividad biológica TIMO

En estudios previos hemos mostrado que en el ratón tratado con gonadotropinas, la administración sistémica de timulina (TIM) induce superovulación (1) y en el ratón timectomizado a los 10 días de edad, el replazo hormonal con TIM restablece las concentraciones séricas de 17β-estradiol (E₂) y la respuesta ovulatoria inducida (2).

Efectos sobre el eje hipotálamo-hipofisario




(3) TIMULINA ?

Objetivo

Analizar los efectos de la administración de timulina en la bursa ovárica del ratón prepúber tratado con gonadotropinas, sobre la secreción de 17β-estradiol.

Método

Ratones hembra prepúberes de la cepa CD1

GRUPOS EXPERIMENTALES

19 días	20 días	54 h	24 h
OS	2 ó 3 u.i. eCG	3 u.i. hCG	SACRIFICIO
SS			
TIM			
7.5 15 30 60 120 240			

- Se contó el número de ovocitos en oviductos.
- Se colectó la sangre del tronco, se centrifugó y se recuperó el suero.
- Se realizó la cuantificación de 17 β-estradiol por radioinmunoanálisis (RIA) de fase sólida.
- Se realizó el análisis estadístico de los datos.

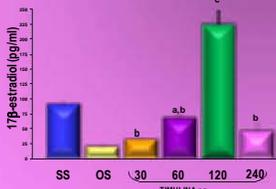
Resultados

TASA DE ANIMALES OVULANTES



TASA DE ANIMALES OVULANTES

2 u.i. de eCG + 3 u.i. de hCG



3 u.i. de eCG + 3 u.i. de hCG

a, p<0.05 vs OS
b, p<0.05 vs SS
c, p<0.05 vs todas

a, p<0.05 vs SS (U de Mann-Whitney)
b, p<0.05 vs 7.5, 15 y 120pg de timulina (U de Mann-Whitney)

Discusión

En los animales tratados con 2 u.i eCG + 3 u.i hCG, la inyección previa de TIM incrementa de 2 a 11 veces más las concentraciones de E₂. Sin embargo este efecto no parece ser dosis-dependiente. En estos animales también se observó que no más del 60% logró ovular, lo que podría estar vinculado con las altas concentraciones de E₂ (feedback inhibitorio). En los animales tratados con 3 u.i eCG + 3 u.i hCG, la inyección de 7.5 pg de TIM incrementó la concentración de E₂, mientras que en los grupos con 30 ó 60 pg de TIM la concentración de E₂ fue menor. No obstante estas fluctuaciones, las concentraciones se mantuvieron más cercanas a las registradas en los grupo de comparación (OS, SS). En cuanto a la ovulación, sólo en un animal tratado con 7.5 pg de TIM se presentó y en todos los tratados con 30 ó 60 pg de TIM. Dicha respuesta muestra un comportamiento inversamente proporcional a la concentración de E₂, lo que apoya la interpretación anterior. En el ovario, el sistema de aromatización representa el paso limitante en la síntesis de hormonas esteroides con actividad estrogénica. Estudios *in vitro* con células de la granulosa de ovario de cerda, muestran que la TIM incrementa la actividad aromatasa (5). Con lo anterior es posible sugerir que la TIM al modificar las concentraciones de E₂, juega un papel importante en la respuesta ovulatoria frente al estímulo gonadotrópico.

Conclusión

La timulina administrada directamente en la bursa ovárica de ratones prepúberes, estimula o inhibe la secreción de 17β-estradiol en función de las concentraciones de gonadotropinas.

Bibliografía

1. Hinojosa L, Chavira R, Domínguez R y Rosas P 1999 J Endocrinol 163, 265-260.
2. García L, Hinojosa L, Domínguez R, Chavira R y Rosas P 2000 J Endocrinol 166, 381-387.
3. Hinojosa L, García L, Domínguez R, Romano M, Damián P, Castillo L y Rosas P 2004 Life Sci 76, 795-804.
4. García L, Hinojosa L, Domínguez R, Chavira R y Rosas P 2005 Neuroimmunomodulation 12, 314-320.
5. Ledwitz-Rigby F y Scheid P 1990 VIII Ovarian Workshop. Regulatory process and gene expression in the ovary. Maryville, Tennessee 473-478.

Apoyado por DGAPA-PAPIIT IN228709

Figura 27. Cartel presentado en el LIII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas, presentado bajo la siguiente autoría: Rosales B, Loaiza D, Reyes C, Chavira R y Rosas P. Titulado: Estudio de la respuesta esteriodogénica del ratón prepúber a la administración intraovárica de diferentes concentraciones de timulina.

UNIVERSIDAD
NACIONAL
AUTÓNOMA
DE MÉXICO

CONSTANCIA

Que otorga la
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES ZARAGOZA
a través del Departamento
de Educación Continua

a *Diana Cristina Loaiza Romero, Beatriz Adriana
Rosales Rosales, Claudia Reyes Vázquez, Raúl
Morillón Hernández, Patricia Rosas Saucado*

Por la Presentación en Cartel del Trabajo, Análisis de la respuesta ovulatoria y el crecimiento folicular de ratones prepúberes inyectados con timulina en la bursa ovárica, dentro del VII Congreso de Investigación y I de Posgrado de la FES Zaragoza, el 27 de octubre del año en curso.

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”

México, D. F., a 28 de octubre de 2011.



Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez
Director

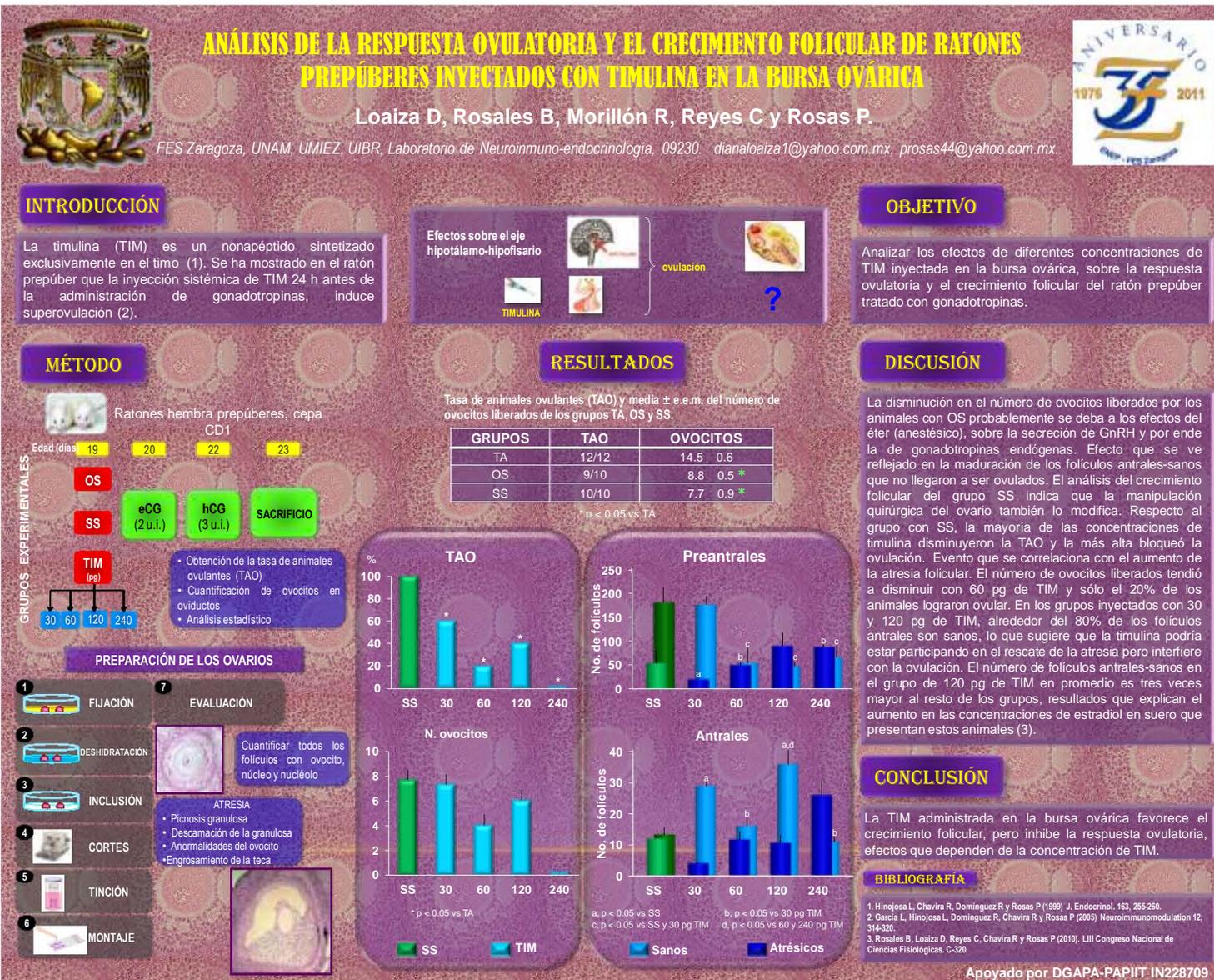


Figura 28. Cartel presentado en el bajo la siguiente autoría: Loaiza D, Rosales B, Morillón R, Reyes C y Rosas P. Titulado: Análisis de la respuesta ovulatoria y el crecimiento folicular de ratones prepúberes inyectados con timulina en la bursa ovárica. VII Congreso de Investigación y I de Posgrado de la FES Zaragoza.



“La ciencia tiene una característica maravillosa, y es que aprende de sus errores, que utiliza sus equivocaciones para reexaminar los problemas y volver a intentar resolverlos, cada vez por nuevos caminos”.

Ruy Pérez Tamayo

