



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA**

**Dinámica folicular y expresión del receptor a FSH ante el
estímulo gonadotrópico único o secuencial en la rata con Síndrome
de Ovario Poliquístico**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

PRESENTA:

MICHELLE ARIADNA CERVANTES PALAFOX

DIRECTORA DE TESIS:

Dra. Rosa Linares Culebro

ASESORAS:

Dra. Leticia Morales Ledesma

Dra. Gabriela Rosas Gavilán

Este proyecto fue apoyado por DGAPA-PAPIIT IN207022



Ciudad de México, 27 de noviembre del 2023.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA**

**Dinámica folicular y expresión del receptor a FSH ante el
estímulo gonadotrópico único o secuencial en la rata con Síndrome
de Ovario Poliquístico**

Laboratorio de Fisiología Reproductiva de la Unidad de
Investigación en Biología de la
Reproducción, UMIEZ.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

PRESENTA:

MICHELLE ARIADNA CERVANTES PALAFOX

DIRECTORA DE TESIS:

Dra. Rosa Linares Culebro

Este proyecto fue aprobado por DGAPA-PAPIIT IN207022
Ciudad de México, 27 de noviembre del 2023.





UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
 UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
 CARRERA DE BIOLOGÍA
 FORMATO F-5



OFICIO DE FECHA DE EXAMEN

QFB GRACIELA ROJAS VÁZQUEZ
JEFA DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
 Presente

Le comunico que al alumno: **CERVANTES PALAFOX MICHELLE ARIADNA** con número de cuenta **312067511** de la carrera **BIOLOGÍA** se le ha fijado el día **27 de Noviembre de 2023** a las **11:00 hrs.**, para presentar la réplica oral de su examen profesional, que tendrá lugar en esta facultad, ante el siguiente jurado:

CARGO	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE DRA.	MORALES LEDESMA LETICIA	
VOCAL DRA.	LINARES CULEBRO ROSA	
SECRETARIO DRA.	ROSAS GAVILAN GABRIELA	
SUPLENTE DRA.	VIEYRA VALDEZ ELIZABETH	
SUPLENTE DRA.	CHAPARRO ORTEGA ANDREA	

El título del trabajo escrito que se presenta es:

"Dinámica folicular y expresión del receptor a FSH ante el estímulo gonadotrópico único o secuencial en la rata con Síndrome de Ovario Poliquístico"

En la modalidad de: **TESIS**

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
 CDMX, a 6 de Octubre de 2023

DR. VICENTE JESÚS HERNÁNDEZ ABAD
 DIRECTOR DE LA FACULTAD DE ESTUDIOS
 SUPERIORES ZARAGOZA

AGRADECIMIENTOS

A mi alma mater la UNAM, por abrirme sus puertas desde la preparatoria hasta el nivel universitario, por creer en mí y darme la oportunidad de lograr mi superación académica y personal. Por darme valores y bases sólidas que me llevo para toda la vida, por todos y cada uno de los profesores y amigos que conocí en el camino, que hoy tienen un lugar muy especial en mi corazón.

A cada uno de los miembros del jurado:

Dra. Leticia Morales Ledesma

Dra. Rosa Linares Culebro

Dra. Gabriela Rosas Gavilán

Dra. Elizabeth Vieyra Valdez

Dra. Andrea Chaparro Ortega

Gracias por entregarme su tiempo, esfuerzo y conocimientos que engrandecieron este trabajo.

Al apoyo dado por la **UNAM-DGAPA-PAPIIT No. IN207022.**

Un agradecimiento especial para la Dra. Adriana, el Dr. Román, la Dra. Ely y en general a todo el personal del bioterio por cuidar de los animales.

Al Biól. Roberto Chavira, por su apoyo para la cuantificación de hormonas esteroides.

A todas ratas de la cepa CII-ZV, que se utilizaron en este trabajo, gracias por ayudar al desarrollo de la ciencia.

A la **Dra. Leticia Morales Ledesma:**

No tengo las palabras suficientes para agradecerle por todo su tiempo, dedicación, esfuerzo y conocimiento que me brindo desde el día que entre al laboratorio, usted se ha vuelto mi maestra de vida en muchos aspectos tanto académica como personal, a pesar de la batalla que atraviesa. Gracias por inspirarme tanto y creer en mi en los momentos más difíciles cuando pensé que no lo lograría, no tengo más que agradecimiento y una gran admiración, gracias por poner en todos nosotros una semilla que perdurara por siempre, hoy este es el primer fruto, esperando algún día llegar tan alto como usted lo logro, y recordare siempre que fue gracias a su ejemplo.

A la Dra. Rosa Linares Culebro:

Dra, no tengo palabras suficientes para agradecerle por todo su tiempo, dedicación y conocimiento que me brindo desde el día que entre al laboratorio, por enseñarnos a trabajar con disciplina, por poner en mí las palabras justas para retomar el camino porque más allá de una relación académica en usted encontré una relación personal y una guía en los momentos difíciles. Gracias por darnos el ejemplo de una gran profesionista con sentido humano y una gran mamá. Para muchos de nosotros usted se ha vuelto motivo de inspiración, superación, tenacidad y excelencia. Gracias por ayudarme a creer en mí y darme cuenta del potencial que puedo alcanzar.

A la Dra. Gabriela Rosas Gavilán:

Muchas gracias por su apoyo tanto académico como personal, porque en usted siempre encontré un consejo y una guía para seguir adelante en el camino, por resolver mis dudas desde el primer día, por ser el ejemplo de una gran profesionista, un gran ser humano y una gran mamá.

A la Dra. Patricia Rosas Saucedo:

Gracias Dra, por su valioso tiempo y conocimiento que aporta día con día al laboratorio 7, tuve el privilegio de ser su alumna y gracias a usted me enamoré mucho del área. Gracias por sus consejos y por tener siempre una sonrisa cálida para nosotros.

A la Dra. Andrea Chaparro Ortega, Dra. Elizabeth Vieyra Valdez y Dra. Azucena Espinoza Moreno:

Gracias por su apoyo y dedicación total que brindan al laboratorio, para mi ustedes representan el más claro ejemplo de inspiración de la mujer que espero llegar a ser un día. Gracias por sus consejos y enseñanzas que me brindaron durante mi estancia en el laboratorio, muchas gracias por su retroalimentación académica.

A mis compañeros del laboratorio 7:

Mily, Janet, Roberto, Fer, Gregorio, Almita, Maya, Karina, Otto, Dianita, Emmanuel, Joaquín, Magaly y Ángeles. Y a los **chiquitos del laboratorio 6; Kaleb Avendaño, Miriam, Alan, Jessy Mejía, Ollin, Itzel** y a todos los chicos nuevos. Muchas gracias por hacer del laboratorio una cálida segunda casa, donde siempre había una sonrisa, un consejo académico o personal, un apoyo entre nosotros para sacar el trabajo adelante. Gracias por los momentos y experiencias compartidos dentro y fuera del laboratorio que hicieron más llevadero el tiempo, me llevo lo mejor de ustedes en mi mente y corazón. Cada uno de ustedes son brillantes, especiales y con un gran potencial. ¡Hacia adelante siempre! Los quiero mucho.

Muy especialmente a **Nallely Acuña**, por todo tu apoyo desde el primer día que estuve en el laboratorio, porque en ti encontré a una persona siempre dispuesta a ayudar a los demás y una amistad sincera, gracias amiga por todos los momentos compartidos y por tus consejos que me ayudaron mucho a seguir adelante en este camino. ¡Te quiero mucho nayelito!

A **Alex Mendoza**, desde que te conocí en el laboratorio encontré en ti a un colega de profesión y un gran amigo. Gracias por brindarme siempre tus consejos y despejar mis dudas cuando más lo he necesitado, porque a pesar del tiempo nuestra amistad ha perdurado, por ser mi confidente en las alegrías y en las tristezas. Gracias por tu apoyo y por ayudarme a creer siempre en mí. ¡Te quiero mucho!

Un agradecimiento póstumo a la **Dra. María Esther Cruz Beltrán**, gracias por sus enseñanzas y brillante aportación a la investigación. Estoy segura que donde quiera que se encuentre, nos sigue guiando en el camino y siempre la recordaremos con mucho cariño todos los que tuvimos el privilegio ser sus alumnos.

A la **M en C. Cecilia Martínez Castillo**:

Gracias por sus conocimientos ya que fue mi primer acercamiento a la investigación, y que me encaminaron a encontrar mi verdadera vocación. Gracias por poner en mí también la semilla que hoy da fruto. Gracias por su amistad.

A todos los profesores de la **FES ZARAGOZA**, donde tuve el placer de ser su alumna y que gracias a ustedes puedo llegar hoy a la culminación de mis estudios. Muchas gracias

DEDICATORIAS

A **Dios** por darme la oportunidad de llegar a este momento, por ser mi guía, mi alimento espiritual, mi bálsamo y mi luz a cada paso que doy, gracias por nunca soltar mi mano en los momentos difíciles que se me han presentado, gracias porque hoy veo tu **PRESENCIA** más que nunca manifestarse en mi vida.

A mis padres, quienes gracias a su infinito amor y apoyo incondicional hoy llego a la culminación de mis estudios.

A mi mamá **María Guadalupe:**

Mamita linda en ti encuentro el amor más grande e inexplicable que existe, gracias por estar conmigo día y noche, por guiar mis pasos. Recibe este trabajo como un agradecimiento a todo tu tiempo y esfuerzo que has invertido en mí. Gracias por darme alas para llegar alto como lo hago el día de hoy. Gracias por ser mi ejemplo de una mujer valiente y brillante. Gracias por secar mis lágrimas, darme palabras para sanar mi corazón, por estar ahí en cada desvelada y creer en mí potencial cuando desfallecí. Gracias por darme el ejemplo también de superación académica. Que dios te bendiga más y nos guarde muchos años más para compartir juntas los logros que están por venir.

A mi papá **Roberto Cervantes:**

Padre amado, recibe este trabajo como una forma de agradecimiento a todo tu esfuerzo y gran sacrificio que haces por mí. Nunca tendré las palabras suficientes para agradecerte todo tu amor que me das día con día, tu protección y guía incondicional, gracias por estar conmigo en cada desvelada, por darme siempre tus consejos, por levantarme cuando he caído, por tus palabras para sanar mi corazón cuando lo he necesitado y darme el impulso y ejemplo para salir adelante. Que dios te bendiga siempre y nos guarde muchos años más para compartir juntos.

A mi tío **Andrés Cervantes Ruiz:**

Muchas gracias por tu apoyo incondicional, gracias por tu amor, palabras y consejos que me has dado en cada etapa de mi vida. Por darme el ejemplo de un gran profesionista y la motivación para seguir adelante. Te entrego este trabajo como muestra de agradecimiento, espero llenarte de mucho orgullo. ¡Hoy y siempre, Gracias!

A mi tía **Erika Yadira Palafox:**

Gracias por tus consejos y motivarme siempre a lograr la superación personal y profesional. Por darme las palabras, el aliento y la valentía necesaria para seguir adelante en los momentos más complicados. ¡Te quiero mucho!

A mi tío **Juan Luis Palafox:**

Gracias por tu gran ejemplo de superación personal y sobretodo profesional, gracias por tus palabras en los momentos complicados, tienes mi completa admiración por todo lo que has logrado ser, un gran Médico.

A mi abuelita **Ana García:**

Velita, tienes un lugar muy especial en mi corazón, gracias por estar conmigo desde siempre, eres parte de este logro de muchas formas. Gracias por el amor que nos das a mí y a mis primos, a pesar de la distancia siempre llevo tus enseñanzas y anécdotas en mi mente y corazón. Gracias por secar mis lágrimas y prestarme tus brazos para tener cobijo. Espero recibas este trabajo como una muestra de mi agradecimiento por todo lo que me has brindado.

A mi abuelita **Antonietta Ruiz Villatoro:**

Abue eres un pilar muy importante en mi vida, este logro te lo dedico a ti con mucho amor y cariño. Gracias por tus sabias palabras que siempre me das, por ser mi cobijo en los momentos difíciles, por tus cuidados que me has dado desde muy pequeña. Siempre te llevo en mi mente y corazón, le agradezco enormemente a Dios y a la vida que nos haya permitido compartir juntas este momento, espero llenarte de mucho orgullo.

A mi prima **Leya:**

Bebita, desde que llegaste a mi vida la llenaste de risas y alegría, contigo aprendí a compartir, y a sentir el amor único de una hermana. Gracias por todos los momentos que hemos vivido, espero que este logro te llene a ti también de orgullo y de motivación para tu vida, que veas que si es posible salir adelante y que cambiar tu realidad está en tus manos. Échale muchas ganas porque quiero verte brillar y volar muy alto a ti también muy pronto, tienes todo mi amor y apoyo para lograrlo.

A mi prima **Valentina:**

Espero que este logro te inspire a ti también para alcanzarlo algún día, sigue en tu camino como lo has hecho hasta ahora. Te he visto crecer y al paso del tiempo darme cuenta de la mujer en la que te estas convirtiendo al igual que tu hermana. Sigue este ejemplo, que estoy segura que dentro de poco también lo lograras. En mí siempre encontraras un apoyo y un consejo cuando lo necesites, no dudes en hacerlo.

A mis primos **Gael y Sofy:**

A pesar de la distancia que nos separa, siempre pienso en ustedes y los tengo muy presentes, ya que más que un lazo de sangre, tenemos el amor como hermanos junto con Leya y Vale. Tomen este logro como inspiración para sus vidas, que estoy segura que dentro de muy poco lo lograrán. Los amo profundamente y mi deseo más grande

es que logren el éxito en sus vidas. Que sepan que la felicidad la encuentran en todo lo que les rodea, y que vivan cada momento al máximo.

A mi **hermana Astrid:**

Gracias por estar conmigo en tantas etapas de mi vida, cuando jugábamos, cuando me peinabas, cuando fuiste mi maestra y hasta el día de hoy. Muy poquitas veces en la vida se tiene una conexión tan especial como la siento contigo. Gracias por tus palabras en los momentos tristes y dolores del corazón que solo tú y yo sabemos. También en los momentos que nos ha tocado cobijarnos una a la otra. En mí siempre encontraras una hermana, una amiga y un apoyo para lo que necesites. Eres una gran mama para Santi, deseo lo mejor para ti y Vic en la nueva etapa que están por comenzar en sus vidas. Porque lo mejor está por venir, deseo que sigamos escribiendo un nuevo capítulo en nuestra vida lleno de alegría y bendición.

A mis amigos **Uzziel y Jazziel Saavedra, Adrián, Abraham, Sergio** y a sus mamás **Norma y Rocío**, por estar conmigo en cada etapa de mi vida, por su amistad sincera y compañía en momentos difíciles y en las alegrías como este gran logro.

A mis amigos **Daniel, Diego, Miguel, Elizabeth, Paty, Aaron y Jair** por su amistad y momentos compartidos que han perdurado por más de 12 años.

En particular quiero dedicar este trabajo a quienes ya no están en vida, porque han **trascendido** hasta el cielo, quiero que sepan que hoy vivo al máximo como ustedes en vida lo hicieron. Daría todo lo que tengo porque bajaran un ratito del cielo, poder abrazarlos, compartir este momento con ustedes y decirles ¡LO LOGRE! Algún día tendremos la oportunidad de volver a vernos. Su amor perdura en el corazón de todas las personas que en vida amaron. Los extrañamos mucho.

- ∞ En memoria de mi abuelito **Emilio Cervantes Luna:**
- ∞ En memoria de mi abuelito **Luis Palafox Rodríguez:**
- ∞ En memoria de **Juan Carlos Cervantes Ruiz**

Para **Michelle**:

Este es un pequeño recordatorio de que siempre puedes lograr lo que te propones. Por favor cree en ti siempre, recuerda que el pasado es aprendizaje, mas no te define como persona. Muchas cosas en la vida han venido a enseñarte y te han vuelto la mujer que eres hoy, nunca permitas que nadie te haga dudar de ti, solamente tu conoces tu capacidad y tu potencial. Recuerda lo importante y valiosa que eres a donde quiera que vayas, recuerda hasta donde has llegado gracias a todo tu esfuerzo, nunca lo olvides. Pon el alma en todo lo que hagas y tu huella será eterna, recuerda que eres una mujer valiente y esforzada.

“Todos nuestros sueños pueden convertirse en realidad si tenemos la valentía de perseguirlos”.

Walt Disney

“No necesitamos magia para cambiar el mundo, llevamos todo el poder dentro de nosotros mismos: el poder de imaginar algo mejor”

J.K. Rowling

ÍNDICE

ABREVIATURAS	i
RESÚMEN	iv
INTRODUCCIÓN	1
MARCO TEÓRICO.....	3
<i>Estructura del Ovario</i>	3
<i>Regulación de las funciones ováricas</i>	5
<i>Desarrollo folicular</i>	7
<i>Ovulación</i>	14
<i>Luteinización</i>	15
<i>Atresia</i>	18
<i>Esteroidogénesis</i>	19
<i>Funciones de la progesterona</i>	23
<i>Funciones de los estrógenos</i>	24
<i>Inervación Ovárica</i>	27
<i>Síndrome de Ovario Poliquístico</i>	28
<i>Hiperandrogenismo clínico o bioquímico</i>	30
<i>Disfunción ovulatoria (oligo o anovulación)</i>	31
<i>Morfología Ovárica Poliquística</i>	32
<i>Etiología del SOPQ</i>	33
<i>Modelos de inducción del SOPQ</i>	35
<i>Etapas del desarrollo postnatal en la rata</i>	38
<i>Ciclo estral en la rata</i>	41
<i>Características del FSHR</i>	44
<i>Antecedentes de la estimulación gonadotrópica</i>	45
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	46
HIPÓTESIS.....	47
OBJETIVO GENERAL	47
MATERIALES Y MÉTODOS.....	48
<i>Diseño experimental</i>	48
<i>Eutanasia de animales</i>	49
<i>Eutanasia por decapitación</i>	49
<i>Cuantificación de estradiol en suero</i>	50
<i>Eutanasia por perfusión intracardiaca</i>	50

<i>Inmunohistoquímica del FSHR</i>	51
<i>Valoración de la dinámica folicular</i>	53
<i>Análisis estadístico</i>	55
RESULTADOS	56
<i>Efecto de la estimulación gonadotrópica sobre la expresión del FSHR en los folículos primarios, secundarios y preovulatorios de ovario de ratas con SOPQ.</i>	56
<i>Microfotografías del FSHR</i>	57
<i>Efecto de la estimulación gonadotrópica sobre la expresión del FSHR en los prequistes, quistes y cuerpos lúteos de ovario de ratas con SOPQ.</i>	62
<i>Efecto del estímulo gonadotrópico único o secuencial sobre el número de folículos totales, sanos, atrésicos, quistes y cuerpos lúteos</i>	65
<i>Efecto de la estimulación gonadotrópica única o secuencial sobre el número de folículos sanos</i>	66
<i>Efecto de la estimulación única o secuencial sobre la respuesta ovulatoria</i>	67
<i>Efecto del estímulo gonadotrópico sobre la concentración de estradiol</i>	68
DISCUSIÓN DE RESULTADOS	69
<i>Efecto del estímulo gonadotrópico en ratas con SOPQ</i>	69
<i>Efecto del estímulo gonadotrópico en ratas vh</i>	74
MODELO EXPERIMENTAL	78
CONCLUSIONES	79
REFERENCIAS	80

ABREVIATURAS

17 β -HSD: 17-beta hidroxisteroide deshidrogenasa

3 β -HSD: 3 β -hidroxisteroide deshidrogenasa

5 α -DHT: 5-alfa-dihidrotestosterona

Ach: Acetilcolina

AFP: Alfafetoproteína

AES/PCOS: Sociedad de Exceso de Andrógenos y Síndrome de Ovario Poliquístico

AMPc: Adenosín monofosfato cíclico

ANDEVA: Análisis de Varianza Multifactorial

AR: Receptor de Andrógenos

ARC: Núcleo Arqueado

ARNm: ARN mensajero

ASRM: Sociedad Americana de Medicina Reproductiva

AVPV: Núcleo Periventricular Anteroventral

bFGF: Factor de crecimiento de fibroblasto básico

BMP: Proteína Morfogenética Ósea

CGRP: Péptido Relacionado con el Gen que codifica a la Calcitonina

CG: Célula de la Granulosa

CS: Célula de Sertoli

DAB: Diaminobencidina

DHEA: Dehidroepiandrosterona

DHEA-S: Sulfato de dehidroepiandrosterona

eCG: Gonadotropina Coriónica Equina

eGF: Factor de Crecimiento Epidermal



ER: Receptor de Estrógeno

ESHRE: Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología

FasL: Ligando Fas

FSH: Hormona Foliculoestimulante

FSHR: Receptor a FSH

GCMS: Ganglio Celíaco Mesentérico Superior

GDF-9: Factor de Crecimiento y Diferenciación 9

GnRH: Hormona Liberadora de Gonadotropinas

H₂O₂: Peróxido de Hidrógeno

hCG: Gonadotropina Coriónica Humana

HDL: Lipoproteínas de Alta Densidad

IGF-I: Factor de Crecimiento Similar a la Insulina

KL: Ligando Kit

LDL: Lipoproteínas de Baja Densidad

LH: Hormona Luteinizante

MAPK: Proteína Quinasa Activadora de Mitógenos

NA: Noradrenalina

NGF: Factor de Crecimiento Nervioso

NIH: Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos

NOS: Nervio Ovárico Superior

NPO: Nervio del Plexo Ovárico

NPY: Neuropeptido Y

NV: Nervio Vago

PI3K: Fosfatidilinositol-3-quinasa

PKA: Proteína Cinasa A

PMSG: Gonadotropina de Suero de Yegua Preñada



POA: Área Preóptica
PT: Propionato de Testosterona
PVN: Núcleo Paraventricular
REL: Retículo Endoplasmático Liso
SHBG: Proteína Transportadora de Hormonas Sexuales
SNC: Sistema Nervioso Central
SOPQ: Síndrome de Ovario poliquístico
SP: Sustancia P
SST: Somatostatina
StAR: Proteína Reguladora de la Esteroidogénesis Aguda
TGF- α : Factor de Crecimiento Transformante α
TH: Tirosina Hidroxilasa
TNF- α : Factor de Necrosis Tumoral α
VE: Valerato de Estradiol
Vh : Vehículo
VIP: Péptido Intestinal Vasoactivo



RESÚMEN

El síndrome de ovario poliquístico (SOPQ) es un desorden multifactorial, que afecta del 5% al 10% de mujeres en edad reproductiva, se caracteriza por la presencia del hiperandrogenismo (clínico o bioquímico), oligo o anovulación y la aparición de quistes ováricos. En la rata, el SOPQ puede ser inducido a los 10 días de vida postnatal, por la inyección de una dosis de Valerato de Estradiol (VE), un estrógeno de larga actividad que logra reproducir algunas de las características reproductivas de la fisiopatología descritas en la mujer.

Existen varias teorías para explicar su origen, una de ellas plantea una falla neuroendocrina a nivel hipotalámico, donde aumentan los pulsos de secreción de la Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH), lo que resulta a nivel hipofisiario en una mayor secreción de la Hormona Luteinizante (LH) y una baja concentración de la Hormona Folículoestimulante (FSH). A nivel ovárico se observa el detenimiento del crecimiento de los folículos antrales, lo que favorece la formación de quistes ováricos. Al mismo tiempo se ha planteado la posibilidad de una falla a nivel del receptor a FSH (FSHR) presente en las células de la granulosa. Estas evidencias nos llevaron a plantear que, si se da un estímulo gonadotrópico adecuado, los folículos reactivarán su crecimiento y se producirá la ovulación. Para analizar esta posibilidad, en el presente estudio se utilizaron ratas con SOPQ, inducido por la inyección de VE, que a los 72 días de edad en diestro fueron estimulados con 10 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG) o bien con eCG y 56 horas después con 8 UI de gonadotropina coriónica humana (hCG). Los animales se sacrificaron al estro vaginal inmediato. Posterior al sacrificio, se recolectó el suero para poder realizar la cuantificación de estradiol, se recolectaron los ovarios para realizar cortes histológicos, con el objetivo de analizar la morfometría y también realizar la inmunohistoquímica al FSHR.



En comparación con el grupo Vehículo (Vh), los animales VE mostraron un bloqueo en la ovulación, ausencia de cuerpos lúteos, aumento de folículos atrésicos y quistes; así como disminución de folículos sanos, que se acompañó de una menor concentración de estradiol. Asimismo, la inyección de VE provocó un aumento del peso corporal, sin embargo, se observó una disminución de la masa ovárica y peso del útero. La expresión del FSHR aumentó en los folículos primarios, secundarios, prequistes y quistes, siendo mayor en el ovario derecho.

Los animales previamente inyectados con VE y con estimulación única (eCG) o secuencial (eCG+hCG) de gonadotropinas, mostraron un restablecimiento parcial de la ovulación cercano al 50% por el ovario derecho y un 20% por el izquierdo, con una cuota ovulatoria semejante a los animales Vh. En estos animales se observó la presencia de folículos sanos y cuerpos lúteos mientras que, en los folículos atrésicos se observó una disminución. La concentración de estradiol fue menor en animales con estimulación secuencial de gonadotropinas, respecto a los animales inyectados sólo con VE (VE+eCG+hCG: 273.2 ± 146.7 pg/mL vs VE: 22.7 ± 5.7 pg/mL; $p < 0.05$). No se observaron cambios en el peso corporal, peso del útero y masa ovárica. En animales VE+eCG, la expresión del FSHR en los folículos primarios y secundarios disminuyó por el ovario izquierdo, mientras que, en los animales VE+eCG+hCG, la expresión del FSHR en los folículos primarios fue similar por ambos ovarios, en los folículos secundarios, prequistes y quistes la expresión del FSHR fue mayor en el ovario derecho. Debido a lo anterior sugerimos que el tratamiento con gonadotropinas logró reactivar parcialmente el crecimiento folicular y restablecer la ovulación.



INTRODUCCIÓN

Los ovarios realizan dos funciones, la producción de hormonas esteroides y proteicas y la gametogénesis (Peters y McNatty, 1980). El eje hipotálamo-hipófisis-ovario coordina un circuito de retroalimentación que consta de la GnRH producida por el hipotálamo; las gonadotropinas las cuales son, la FSH y la LH, producidas por la hipófisis, mientras que los esteroides sexuales; como los estrógenos, la progesterona y los andrógenos, son producidos principalmente por el ovario (Gordon-Elliott y col., 2017). La GnRH provee un enlace entre los sistemas nervioso y endócrino. En la rata adulta es producida por un número relativamente pequeño de neuronas parvocelulares localizadas en el núcleo arqueado (ARC), el núcleo periventricular anteroventral (AVPV), el paraventricular (PVN) y el área preóptica (POA) del hipotálamo; de estas zonas la GnRH, es transportada a la eminencia media y liberada al sistema portal-hipotálamo-hipofisario (Prieto-Gómez y Velázquez-Paniagua, 2002).

Se postula que alteraciones en el eje hipotálamo-hipófisis-ovario afectan la sensibilidad en los sistemas de neurotransmisión y la función de los circuitos neuronales. Estas pueden llevar al desarrollo de patologías, tales como el SOPQ, el cual afecta entre el 5 y 10% de mujeres en edad reproductiva (Franks, 1995; Azziz y col., 2004; Ehrmann, 2005; Franks, 2008). De acuerdo con la Sociedad del Exceso de Andrógenos y del SOPQ, esta fisiopatología se caracteriza principalmente por la presencia de hiperandrogenismo (clínico o bioquímico), disfunción ovulatoria (oligo o anovulación), y la presencia ultrasonográfica de quistes ováricos (Dewailly y col., 2006). Una de las principales hipótesis sobre su origen es una alteración a nivel neuroendocrino en el patrón de secreción del pulso de GnRH (Blank y col., 2009; Blank y col., 2007). En una mujer sana el patrón de secreción de los pulsos de GnRH se da cada 90 minutos. Sin embargo, en mujeres con SOPQ, el patrón de secreción del pulso de GnRH incrementa en frecuencia y amplitud dándose cada 60 minutos (Waldstreicher y col., 1988), bajo estas condiciones a



nivel hipofisiario incrementa la secreción de la LH, mientras que la FSH comienza a disminuir o no se modifica (Gross y col., 1987; Haisenleder y col., 1991; Ciccone y Kaiser, 2009).

El incremento en la concentración de LH, estimula en las células de la teca ovárica una sobreexpresión de las enzimas esteroidogénicas como el citocromo p450c17 y la 3β -hidroxiesteroide-deshidrogenasa (3β -HSD), lo que favorece una mayor producción de andrógenos, mientras que, la disminución en los valores de FSH provocan un detenimiento en el desarrollo folicular, lo que conlleva a la formación de los quistes foliculares (Bremer y col., 2010), posiblemente provocado por una disminución en el número de FSHR (Lewis, 2001). Estas evidencias nos llevaron a pensar que, si en el animal con SOPQ se da un estímulo gonadotrópico adecuado, los folículos responderán y por consecuencia se producirá la ovulación. Para analizar esta posibilidad, en el presente estudio se utilizaron ratas hembra de la cepa CII-ZV, a las cuales se les indujo el SOPQ a los 10 días de vida mediante la administración de una dosis intramuscular de VE, al cumplir los 72 días de edad se les realizó una estimulación gonadotrópica única utilizando 8UI de eCG o secuencial con 8 UI de eCG y 56 horas después 10 UI de hCG. Los animales se sacrificaron al estro vaginal inmediato posterior a la estimulación gonadotrópica.



MARCO TEÓRICO

Estructura del Ovario

En la mujer los ovarios son dos cuerpos de consistencia dura, ovalados y en forma de almendra, cuyas dimensiones después de la pubertad son de 4 cm de longitud por 3 cm de grosor por 1 cm de ancho y se encuentran alojados en la pelvis, fijados a la superficie posterior del ligamento ancho por medio de un pliegue peritoneal denominado mesovario y tiene un peso aproximado de 15 gramos. Al igual que en la mujer, la rata presenta 2 ovarios, mientras que el tracto genital incluye los oviductos, el útero, el cuello uterino y la vagina. En la rata, el ostium del oviducto forma una cápsula completa llamada bursa ovárica, que envuelve al ovario. Los oviductos son pequeños tubos muy enrollados. El útero consta de dos cuernos uterinos separados, lo que permite que la rata tenga múltiple descendencia (Kent y Carr, 2001).

Su aporte nervioso, vascular y linfático transcurre precisamente a través del mesovario, que, junto con otras estructuras fibromusculares, mantienen el ovario en posición a la entrada de las trompas de Falopio y unido al útero. Después del quinto mes de vida fetal, el ovario presenta ya tres regiones distintas perfectamente estructuradas (**Figura 1**): una médula central, una corteza y un hilio interno en el punto de anclaje del ovario con el mesovario (Tresguerres y Castillo, 2005).

- Médula: Es la porción central del ovario, que contiene tejido conjuntivo, nervios y vasos sanguíneos (Higashida, 1991).
- Corteza: Es un delgado manto del estroma, usualmente menor a 1 mm de grosor, el cual envuelve al ovario dejando libre solo al borde donde se inserta el ovario (Reeves, 2002). La irrigación está dada por capilares y pequeñas arteriolas que se anastomosan formando una malla tridimensional (Reeves, 1999). Es a través de ella, donde los óvulos atraviesan por lo cual tiene características especiales que facilitan dicho fenómeno. Está cubierta



por epitelio simple grueso llamado epitelio germinativo, debajo del cual está el estroma cortical formado por tejido conjuntivo; entre las células del tejido conjuntivo se encuentran los folículos en desarrollo. La porción superficial del estroma se condensa formando una túnica albugínea que se pone en contacto con el epitelio germinativo (Tresguerres y Castillo, 2005).

- Hilio: Es el punto de anclaje del ovario con el mesovario. Los vasos sanguíneos, linfáticos y los nervios llegan al ovario a través del hilio (Tresguerres y Castillo, 2005).

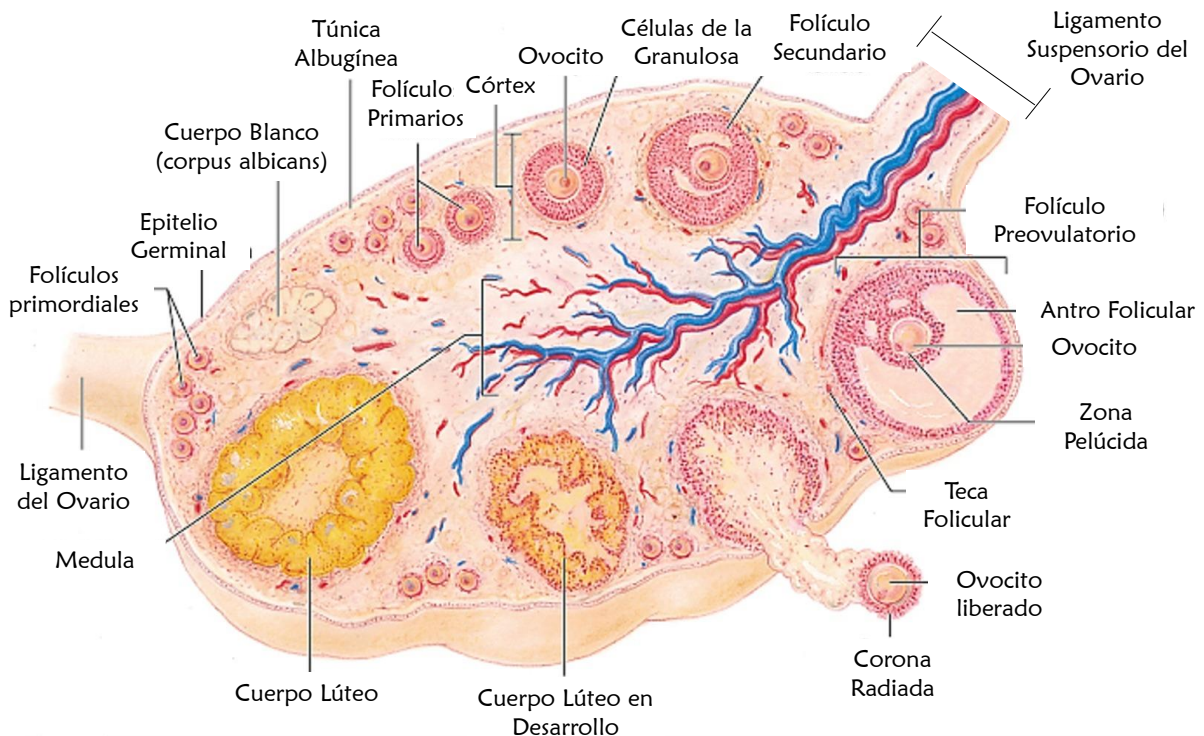


Figura 1. Representación esquemática de la estructura histológica del ovario, donde se muestra la médula, corteza e hilio y los estadios del desarrollo folicular (Tomado y modificado de Vantman y Vega, 2010).



Regulación de las funciones ováricas

El ovario es un órgano cuyas funciones son la producción de ovocitos, la secreción de hormonas esteroideas (estrógenos, progesterona, andrógenos), hormonas peptídicas (inhibina, activina, folistatina), y factores de crecimiento. La plena adquisición de estas funciones ocurre durante la adolescencia, una vez finalizado el desarrollo puberal el cual implica cambios anatómicos y funcionales (Ibáñez y Jaramillo, 2007). Las hormonas esteroideas son primordiales en la regulación de la secreción de gonadotropinas y transmiten información sobre el estado de la gónada al sistema neuroendocrino en el cerebro. El sistema neuroendocrino procesa esta información en el hipotálamo modulando la secreción de GnRH y en la hipófisis la secreción de gonadotropinas, asegurando así el éxito reproductivo (Clifton y Steiner, 2009). En conjunto estas señales neuroendocrinas (Albertini, 2015) regulan a través de circuitos de retroalimentación estimulantes (feedback positivo) o inhibitorios (feedback negativo) el eje hipotálamo-hipófisis-ovario (Clifton y Steiner, 2009; Levine, 2015).

El hipotálamo regula la síntesis y liberación pulsátil de GnRH, en él se encuentran áreas importantes en la secreción de la misma como el POA, el AVPV y el ARC. La GnRH es secretada de forma pulsátil por neuronas hipotalámicas especializadas y estimula la síntesis y secreción de gonadotropinas por parte de los gonadotrópos de la hipófisis (Mira, 2005). Por lo tanto, la FSH y la LH presentan una secreción pulsátil. Dicha pulsatilidad comienza sólo por la noche al aproximarse la pubertad y, una vez pasada esta se mantiene a lo largo de las 24 horas, con “picos” cada hora y media o dos horas durante la fase folicular, y cada 3-4 horas durante la fase lútea (Tresguerres y Castillo, 2005). La FSH actúa sobre los folículos en los que se encuentran los óvulos en desarrollo, produciendo su crecimiento (Prieto-Gómez y Velázquez Paniagua, 2002). En la mujer, durante la etapa folicular la FSH alcanza una concentración entre 1.8-10.5 UI/L (Cortés y col., 1999). Además, se inicia la secreción de estrógenos, la cual fluctúa entre 30 a 50 mg/día (70-100 pg/mL)



(Figuero-Ruiz y col; 2006). Mientras que la concentración de LH se encuentra entre 0.5-5.0 UI/L (Cortés y col., 1999). Posterior a la etapa folicular se inhibe la secreción hipofisiaria de FSH. La LH tiene un “pico” alcanzando una concentración entre 20.0-105.0 UI/L (Casarini y col., 2018), lo que resulta en la ruptura del folículo y la ovulación, mientras que, el folículo que nutrió por algún tiempo al ovulo, se luteiniza y da origen al cuerpo lúteo (Casarini y col., 2018). El cuerpo lúteo empieza a secretar progesterona, hormona indispensable en la preñez la cual alcanza valores entre 2 a 25 ng/mL durante la fase lútea (Prieto- Gómez y Velázquez-Paniagua, 2002). Durante esta fase las concentraciones de estrógenos se encuentran entre 150-250 pg/mL (Figuero-Ruiz y col., 2006).

En la rata, las concentraciones hormonales varían de acuerdo a la etapa del ciclo estral en el que se encuentre; así las concentraciones de estradiol aumentan al llegar a la etapa preovulatoria, debido al crecimiento folicular. Sin embargo, estas concentraciones disminuyen durante el estro pero comienzan a aumentar significativamente desde finales del metaestro hasta la mañana del diestro, alcanzando concentraciones máximas durante el proestro (Shaikh, 1971; Yoshinaga y col; 1969). Las concentraciones plasmáticas de testosterona y androstenediona siguen un patrón similar al del estradiol (Dupon y Kim, 1973; Gay y Tomacari, 1974). Las concentraciones de FSH y de LH se mantienen basales durante el diestro II, mientras que durante el proestro ocurren varios cambios, ya que es durante esta fase que la FSH desencadena el crecimiento folicular. Hacia la tarde del proestro tanto la FSH como la LH comienzan a elevarse llegando a su máxima concentración horas más tarde, lo que conlleva a una serie de eventos que posteriormente desencadena la ovulación en el estro, finalmente las concentraciones de las dos gonadotropinas descienden. Un segundo “pico” de FSH se presenta por la madrugada del estro esto con el objetivo de reclutar e iniciar el crecimiento de la siguiente cohorte de folículos, sin embargo, por la noche, su concentración vuelve a ser basal. Al llegar la mañana del estro las concentraciones de FSH y LH son basales (Freeman, 2006).



Desarrollo folicular

Los folículos son la unidad anatómica y funcional del ovario. Su función es mantener, nutrir, madurar y liberar al ovocito en el momento en el que este sea capaz de ser fecundado (Gartner y Hiatt, 2015). Las células germinales primordiales tienen un origen extragonadal y migran a ellas durante los primeros estadios del desarrollo embrionario. Una vez en las gónadas, estas células comienzan una fase de proliferación mitótica, momento a partir del cual reciben el nombre de ovogonias (Carlson, 2014). Según el grado de maduración, los folículos están formados por un ovocito primario o secundario, una membrana basal y una o varias capas de células de la granulosa y de la teca (Sepúlveda, 2014). El desarrollo del folículo es complejo y consiste en la integración de múltiples señales. El inicio del desarrollo folicular es dirigido por señales intra ováricas y nerviosas (Albertini, 2015; Pangas y Rajkovic, 2015). Estudios realizados por Malamed y colaboradores (1992), muestran que el ovario de ratas de 19 días de gestación presenta fibras inmunorreactivas a la tirosina hidroxilasa (TH), lo cual llevo a sugerir que el inicio del desarrollo folicular está sujeto a influencia catecolaminérgica directa, ya que en esta etapa el ovario es independiente del estímulo gonadotrópico.

Mayerhofer y colaboradores en 1997, mostraron que los ovarios de ratas de 2 días de edad son capaces de presentar FSHR biológicamente activos, ya que se observó un aumento en la producción de Adenosín monofosfato cíclico (AMPC) cuando estos ovarios son estimulados con neurotransmisores como el Péptido Intestinal Vasoactivo (VIP) y Noradrenalina (NA). La sensibilidad del folículo a las gonadotropinas se adquiere hasta el final de la primera semana de vida posnatal (Ben-Or, 1963; Lamprecht y col., 1973; Funkenstein y col., 1980; Sokka y Huhtaniemi, 1990).



Específicamente los folículos adquieren la expresión de los FSHR a partir de la etapa de folículo secundario. Al final del estadio secundario y principios del terciario se expresan ya receptores a LH (Vantman y Vega, 2010).

Los folículos ováricos se clasifican en función de su tamaño y complejidad morfológica en:

1.- **Folículos primordiales (Figura 2):** Tienen un diámetro de 25 μm (McGee y Hsueh, 2000) y son considerados la reserva de los folículos en reposo y se ubican en el estroma de la corteza ovárica, por debajo de la túnica albugínea (Ross y Pawlina, 2015). El citoplasma del ovocito, conocido como ovoplasma, contiene un Cuerpo de Balbiani, que a nivel ultraestructural consiste en una acumulación focalizada de vesículas y membranas de Golgi, retículo endoplásmico, centriolos, numerosas mitocondrias y lisosomas (Ross y Pawlina, 2015). Las células planas pre-granulosas secretan una matriz extracelular la cual constituyen a la lámina basal que rodea al folículo (Vantman y Vega, 2010). A este complejo de ovocito primario la capa de células planas pre-granulosas se le denomina folículo primordial (Picton, 2001).



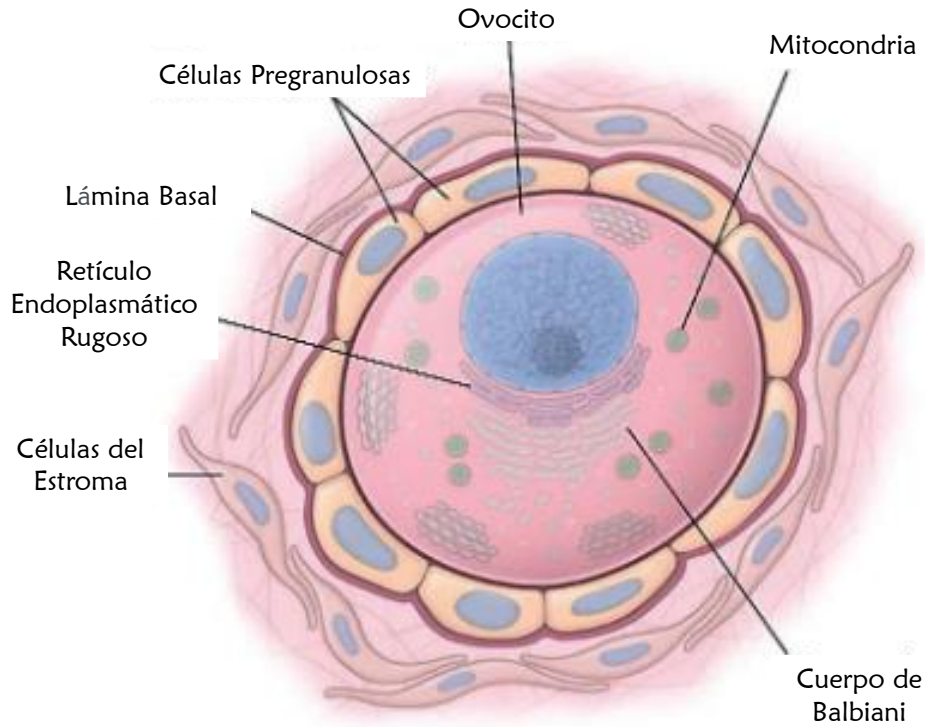


Figura 2. Representación esquemática de un folículo primordial (Tomado de Ross y Pawlina, 2015).

2.- Folículos primarios (Figura 3): El paso de folículo primordial a folículo primario puede durar meses e incluso años en el caso de los mamíferos, en el ovocito se da la primera detención meiótica (Peralta y Velázquez, 2013). En esta etapa las células pre-granulosas planas proliferan y se vuelven cúbicas. A través de una acción mitótica rápida, la capa simple de estas células pre-granulosas planas que rodean al ovocito da lugar a una capa o dos capas de células granulosas cúbicas (Peralta y Velázquez, 2013). Sin embargo, las células de la granulosa aún son independientes de la acción de las gonadotropinas y no producen hormonas esteroideas (Peralta y Velázquez, 2013).

También se comienza a formar la zona pelúcida, el cual es material glicoproteico de origen ovocitario, que rodea completamente al ovocito (Vantman y Vega, 2010). A través de ella las células de la granulosa emiten prolongaciones citoplasmáticas que mantienen estrecho contacto con la membrana del ovocito por



medio de uniones gap (Carlson, 2014). Las principales funciones de la zona pelúcida son la protección del ovocito ante la polispermia, protección del embrión de daños físicos y/o ambientales y el bloqueo de la fecundación heteroespecífica (Yanagimachi, 1994; Rath y col., 2006; Tsaadon y col., 2006).

Una vez que comienza la proliferación de las células granulosas en los folículos primarios, pueden también observarse cambios en las células del estroma perifolicular, las cuales comienzan a formar una capa de células de tejido conjuntivo que más adelante se convertirá en la teca folicular, justo por fuera de la lámina basal (Ross y Pawlina, 2015).

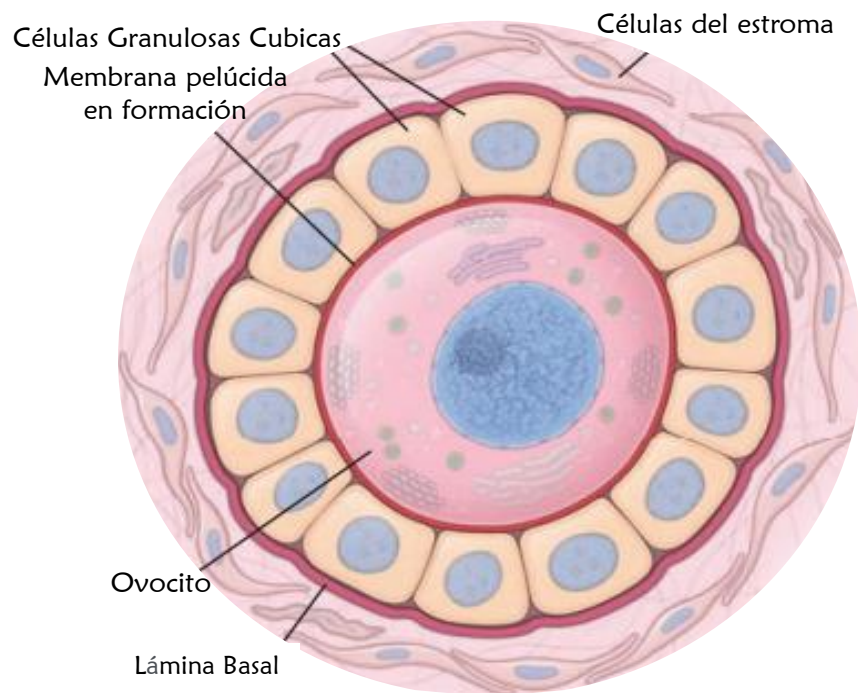


Figura 3. Representación esquemática de un folículo primario de 1 capa de células de la granulosa. (Tomado de Ross y Pawlina, 2015).



3.- Folículos secundarios (Figura 4): Tienen un ovocito primario y cuenta con 6 a 12 capas de células de la granulosa, entre ellas aparecen pequeños espacios llenos de líquido, conocidos como cuerpos de Call-Exner, los cuales consisten en material extracelular (Strauss y Williams, 2009; Ross y Pawlina, 2012). Este líquido es producido por las células de la granulosa y contiene, entre otros, progesterona, estradiol, inhibina y activina las cuales regulan la liberación de gonadotropinas, así como enzimas y proteoglicanos. Debido a la carga negativa de los proteoglicanos, atraen moléculas de agua y, conforme aumenta la secreción de estos, incrementa el volumen del líquido folicular (Sepúlveda, 2014; Gartner y Hiatt, 2015).

Las células de la teca proporcionan un soporte estructural, un aporte sanguíneo y producen andrógenos por acción de la LH. Durante esta etapa del desarrollo folicular, la teca se diferencia en dos capas (Peralta y Velázquez, 2013):

❖ **Teca interna:** Es una capa muy vascularizada, se conforma por las células tecales más alargadas, cercanas a la lámina basal que se van transformando en células epitelioides. Las células que ya están completamente diferenciadas son células productoras de esteroides. Además, las células de la teca interna poseen una gran cantidad de receptores a la LH (Ross y Pawlina, 2016).

❖ **Teca externa:** Las células tecales más externas mantienen su estructura alargada y se unen a las células del estroma. Contiene sobre todo células de músculo liso y haces de fibras de colágeno (Ross y Pawlina, 2016). También contiene células no esteroideogénicas con poca vascularización (Peralta y Velázquez, 2013). En este momento el folículo ya es sensible a la acción de las gonadotropinas debido a que se incrementa el número de receptores a las mismas, los FSHR se localizan en la capa de las células granulosas, mientras que los receptores para la LH están presentes en la teca folicular. De esta manera se regula la síntesis de estradiol y de progesterona (Peralta y Velázquez, 2013).



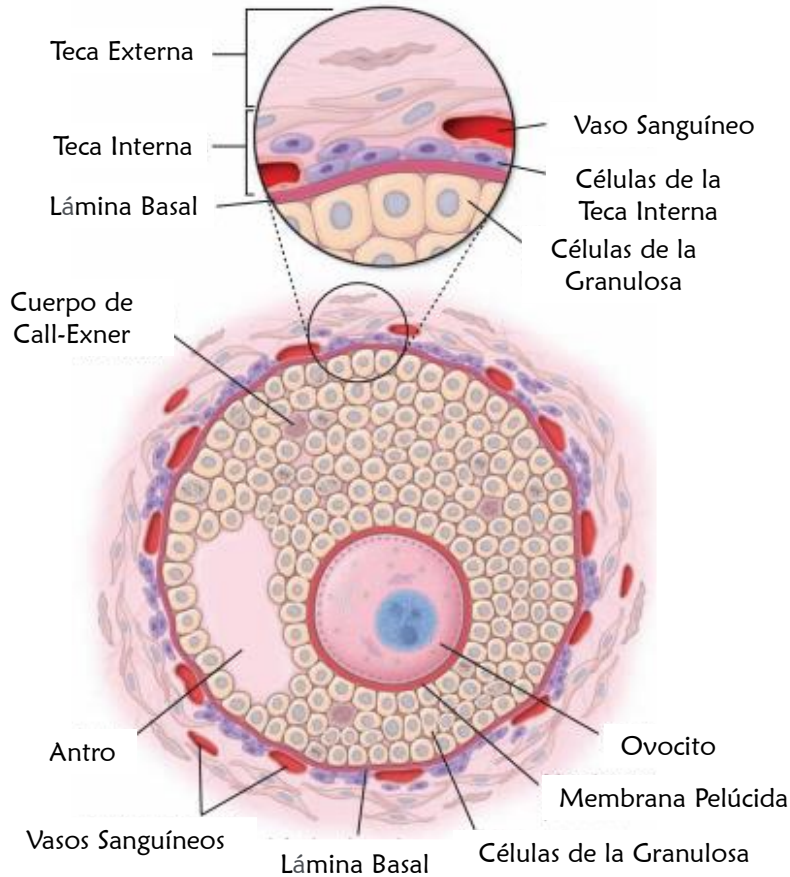


Figura 4. Representación esquemática de un folículo secundario (Tomado de Ross y Pawlina, 2015).

4.- Folículos terciarios o De Graaf (Figura 5): En esta etapa el ovocito ocupa una posición excéntrica rodeado de dos o tres capas de células granulosas. En este tipo folicular son visibles todas sus estructuras: células de la teca externa, células de la teca interna y varias capas de células de la granulosa, un cumulus ooforo, una corona radiada, y la zona pelúcida que rodea al ovocito secundario. El diámetro de estos folículos es de 500-800 μm (McGee y Hsueh, 2000). En este momento el folículo se extiende a través de todo el espesor de la corteza ovárica y sobresale en la superficie del ovario (Ross y Pawlina, 2016).



En la rata el folículo alcanza un tamaño aproximado de $>500 \mu\text{m}$. En el folículo terciario, las células granulosas presentan una disminución en el número de FSHR y un incremento en los receptores a LH, produciéndose un decremento en la concentración de estradiol y un aumento en la síntesis de progesterona. Estos cambios, preparan al folículo para la posterior expulsión del ovocito durante la ovulación. Las capas de células de la granulosa que rodean al ovocito reciben el nombre de células del cumulo y la capa de células de la granulosa más cercana al ovocito recibe el nombre de corona radiada, constituyendo así en su conjunto el cúmulo oóforo, el cual se proyecta dentro del antro (Ross y Pawlina, 2015; Vantman y Vega, 2010).

Después de la primera meiosis, el ovocito primario queda detenido en la profase I (en la etapa de diploteno en el humano y en roedores en dictioteno) (Domínguez y col., 1991). El ovocito ahora secundario, terminará la segunda división meiótica en el momento de la fecundación. Solo este folículo será el que al romperse libere al ovocito secundario junto con la corona radiada a la cavidad abdominal, donde será captado por las fimbrias de la trompa ipsilateral y transportado al interior del útero. De los restos foliculares hemorrágicos que quedan en el ovario, se produce la transformación de las células, y se comienza a formar el cuerpo lúteo el cual es el responsable de la secreción de progesterona (Tresguerres y Castillo, 2005).



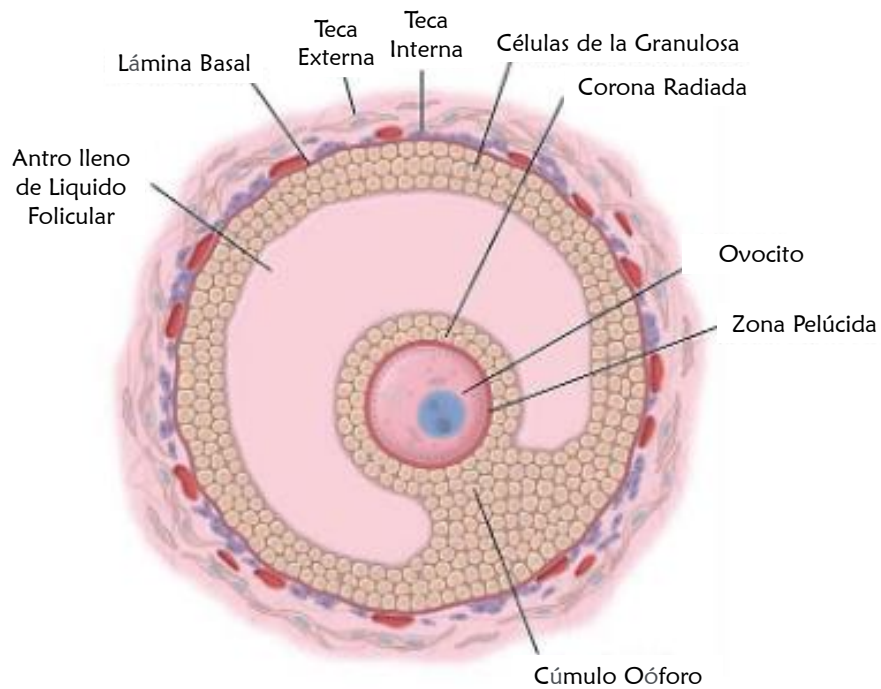


Figura 5. Representación esquemática de un folículo terciario o De Graaf (Tomado de Ross y Pawlina, 2015).

Ovulación

Al proceso de liberación del ovocito secundario, detenido en la metafase II de la meiosis II, desde el folículo preovulatorio se le conoce como ovulación (Peralta y Velázquez, 2013; Reed y Carr, 2018). La mujer puede ovular alrededor de 500 ovocitos a lo largo de su vida reproductiva (Lunenfeld e Insler, 1993). En los días previos a la ovulación, la FSH y la LH actúan de manera sinérgica, haciendo que el folículo secundario crezca rápidamente hasta alcanzar un diámetro de 25 mm (Sadler, 2008). El “pico” de LH estimula la reanudación de la meiosis en el ovocito y la liberación del primer cuerpo polar (Reed y Carr, 2018). Por lo que el ritmo de secreción de los estrógenos comienza a disminuir aproximadamente un día antes de la ovulación, a la vez que empiezan a secretarse cantidades crecientes de progesterona (Guyton y Hall, 2011). La progesterona determina que la mucosa



uterina alcance la fase progestacional, luteínica o estado secretor, preparándose para la implantación del embrión (Sadler, 2008).

Poco tiempo antes de la ovulación, la pared externa del folículo se hincha con rapidez y una pequeña zona del centro de la cápsula folicular, denominada estigma, se eleva. La teca externa comienza a liberar enzimas proteolíticas de los lisosomas, que disuelven la pared de la cápsula folicular debilitándola, causando así una presión adicional en todo el folículo y la degeneración del estigma. Así mismo, se produce el crecimiento rápido de nuevos vasos sanguíneos en el interior de la pared del folículo y comienzan a secretarse prostaglandinas (hormonas locales que provocan vasodilatación) en los tejidos foliculares. Estos efectos producen el paso de plasma al interior del folículo, lo que también contribuye a que este se hinche y finalmente se rompa para permitir la salida del ovocito secundario. Por último, se inicia el proceso de luteinización en las células de la granulosa y teca formando así el cuerpo lúteo el cual comienza a secretar progesterona (Sadler, 2008).

Luteinización

El cuerpo lúteo se forma del tejido remanente del folículo de Graaf, una vez que el ovocito ha sido liberado. Su función principal es la producción de progesterona para el establecimiento y mantenimiento de la preñez (Bravo-Benítez y col., 2021). También produce, aunque en menor concentración hormonas como andrógenos, estrógenos e inhibina (Ross y Pawlina, 2015). El aumento preovulatorio de las gonadotropinas y de la prolactina, favorecen cambios morfológicos en las células del folículo y se relacionan con los cambios bioquímicos que favorecen la luteinización (Clapp y col., 2015). La transición de un folículo preovulatorio a un cuerpo lúteo es un proceso con mecanismos complejos similares a la cicatrización de heridas y la formación de tumores, en la obtención de un suministro adecuado de nutrientes al acceder al sistema vascular del órgano (Bergers y Benjamín, 2003; Schams y Berisha, 2004). En principio, la hemorragia de los capilares en la teca



interna hacia la luz folicular conlleva a la formación del cuerpo hemorrágico con un coágulo central. El tejido conjuntivo desde el estroma invade la antigua cavidad folicular, mientras que las células de la capa granulosa y de la teca interna se diferencian en células lúteas granulosas y células luteínicas de la teca en el proceso denominado luteinización (Ross y Pawlina, 2015). Estas células granulosas-luteínicas que previamente eran avasculares comienzan a presentar un proceso de angiogénesis (Reynolds y col., 2000). En general las células luteínicas presentan cambios morfológicos drásticos porque aumentan de tamaño y se llenan de inclusiones lipídicas. El lipocromo en el citoplasma es el responsable de darles el aspecto amarillento. Estas células luteínicas presentan características relacionadas con las células esteroideogénicas, ya que presentan un Retículo Endoplasmático Liso (REL) abundante y mitocondrias con crestas tubulares (Ross y Pawlina, 2015).

Se identifican dos tipos de células luteínicas:

- ∞ Células luteínicas de la granulosa: Son células grandes de un diámetro de alrededor de $30 \mu\text{m}$, ubicadas en forma central derivadas de las células de la granulosa. Constituyen alrededor del 80 % del cuerpo lúteo y sintetizan estrógenos, progesterona e inhibina (Ross y Pawlina, 2015).
- ∞ Células luteínicas de la teca: Son células más pequeñas de alrededor de $15 \mu\text{m}$, teñidas con más intensidad y localizadas en forma periférica y derivan de las células de la capa de la teca interna. Estas corresponden al 20 % restante de las células del cuerpo lúteo, las cuales secretan andrógenos y progesterona (Ross y Pawlina, 2015).

La formación y duración limitada del cuerpo lúteo son críticas para la fertilidad, ya que la progesterona es la hormona esencial para la implantación del embrión y mantenimiento de la preñez hasta que se desarrolla la placenta. La actividad lútea depende de la interacción entre distintos factores, citocinas y hormonas (Silva y col., 2014). Finalmente ocurre la regresión lútea la cual consiste en dos procesos, el primero es la pérdida de su capacidad esteroideogénica, es decir, una regresión



funcional y el segundo es una regresión estructural la cual involucra muerte celular por apoptosis y degeneración de la matriz extracelular por medio de luteolisis (Quirk y col., 2013). La regresión del cuerpo lúteo es esencial para la ciclicidad normal (Juenguel y col., 1993).

La vida media del cuerpo lúteo, pueden ser dividida en tres categorías (Bravo-Benítez y col; 2021).

- ∞ Cuerpo lúteo de larga duración: Varía entre dos semanas y seis meses, las especies que tienen este tipo de cuerpo lúteo se les conoce como monoéstricas estacionales, por ejemplo, los perros y gatos, así como otros animales como los marsupiales.
- ∞ Cuerpo lúteo de corta duración: En este caso después de la ovulación se forma un cuerpo lúteo que es funcional durante dos semanas para permitir el movimiento del embrión y preparar al útero para la implantación. Está presente en las especies poliéstricas que incluye a los primates (mono y humano).
- ∞ Cuerpo lúteo de ultra-corta duración: Lo presentan las especies poliéstricas que no forman un cuerpo lúteo funcional como los roedores poliéstricos y algunos insectívoros, así como los ovuladores reflejos, en donde a través del apareamiento o la estimulación cervical se da la ovulación o pseudopreñez, como en el caso de los conejos y hurones.



Atresia

El proceso por el cual los folículos degeneran antes de alcanzar la ovulación se denomina atresia. Alrededor del 99.9% de los folículos presentan cambios degenerativos, los cuales se dan a través de la muerte celular por apoptosis. Este proceso es una parte integral dentro de la función ovárica (Hsueh y col., 1994; Tilly, 1996). La atresia comienza durante el desarrollo fetal y continúa hasta la menopausia (Baker, 1963; Faddy y col., 1992). Los folículos pueden volverse atrésicos en cualquier estadio del desarrollo, aunque en la mayoría de los mamíferos la gran parte de la eliminación ocurre entre los estadios preantral tardío y antral temprano (Tilly, 1996).

En mujeres adultas, la atresia asegura que solo los folículos más saludables con ovocitos de óptima calidad para la fertilización permanezcan disponibles (Townson y Combelles, 2012). Aunque las causas que originan la atresia aún no son claras, se sugieren distintos mecanismos que pueden estar participando, entre ellos se encuentran la ruptura de la vesícula germinal, un decremento en la síntesis de estrógenos, un incremento en la síntesis de progesterona y una disminución de los receptores a gonadotropinas (Hsueh y col., 1994). Una parte esencial en el mecanismo de selección folicular durante el ciclo reproductivo es la exposición de los folículos a FSH durante etapas críticas del desarrollo. Los folículos que reciben insuficiente aporte de FSH durante este período crítico degeneran. También se sabe que existen factores como los andrógenos, interleucina 6 (IL-6) y GnRH que tienen un efecto atretogénico, es decir inducen en ellos la atresia (Hsueh y col., 1994). Sin embargo, existen factores que rescatan a los folículos de la atresia llamados antiatretogénicos como las gonadotropinas, estrógenos, el factor de crecimiento epidérmico (eGF), factor de crecimiento transformante α (TGF α), factor de crecimiento de fibroblasto básico (bFGF), factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-I) (Hsueh y col., 1994), el factor de necrosis tumoral (TNF- α) y el Ligando Fas (FasL) (Kaipia y Hsueh., 1997).



Con base en criterios morfológicos y fisiológicos, este proceso de atresia folicular se divide en 3 etapas:

- La etapa I se caracteriza por un pequeño número (<10%) de células de la granulosa con núcleos picnóticos generalmente cerca del antro folicular, mientras que algunas de las células de la granulosa están todavía en mitosis (Byskov, 1974).
- La etapa II muestra muchas células granulosas picnóticas (10-30%), muy pocas células en mitosis y se observan restos celulares en el antro folicular. La membrana basal pierde su integridad y los linfocitos T se infiltran entre las capas de la granulosa. En esta etapa tan avanzada de la atresia, los folículos no pueden ser rescatados y son destinados a degenerar (Hirshfield, 1989).
- La etapa III se caracteriza por una reducción en el número de células de la granulosa, una reducción en la mitosis. La capa teal está hipertrofiada, y hay células que contienen gotas de lípidos. La membrana basal se separa y se fragmenta (Byskov, 1974).

Esteroidogénesis

Las células del folículo ovárico se encargan de secretar hormonas esteroides (progesterona, 17α -OH-progesterona, androstenediona, testosterona, estradiol y pequeñas cantidades de estrona) y peptídicas, entre las que se encuentran relaxina, activina e inhibina (Gore-Langton y Armstrong, 1994; Tresguerres, 1999). El precursor básico de la biosíntesis de esteroides en el ovario es el colesterol, a través de un proceso conocido como esteroidogénesis (González, 2020). El colesterol es un compuesto alicíclico cuya estructura comprende, el núcleo del ciclopentanoperhidrofenantreno, con sus cuatro anillos fusionados, un solo grupo hidroxilo en la posición C-3, un centro insaturado entre los átomos de carbono 5 y 6, una cadena hidrocarbonada ramificada de ocho carbonos y unida al anillo D en



la posición 17 y un grupo metilo (designado C-18) unido a la posición 13 (Figura 6) (Grew, 2004).

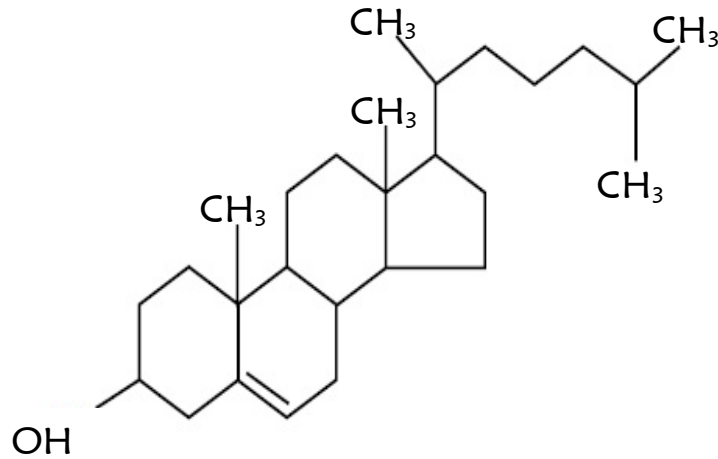


Figura 6. Estructura del colesterol. (Tomado y modificado de Valenzuela y Ronco, 2004).

Las células esteroideogénicas pueden obtener el colesterol a partir de tres vías (Tresguerres, 1999):

- En forma de lipoproteínas, que circulan en la sangre
- El que se sintetiza de *novo* dentro del ovario a partir de coenzima A
- El que se libera de los ésteres del colesterol almacenados en gotas lipídicas

La principal fuente de colesterol en la esteroidogénesis del ovario, procede de las lipoproteínas en la sangre. En la especie humana son utilizadas principalmente las lipoproteínas de baja densidad (LDL); mientras que en otras especies predominan las lipoproteínas de alta densidad (HDL) (González, 2020). Aunque otros tejidos pueden contribuir a la síntesis de las hormonas sexuales, la mayor parte procede de la secreción de dos tipos de células foliculares: las células de la teca y las células de la granulosa (González, 2020). Las señales para iniciar la síntesis de hormonas esteroideas proceden a partir de la LH que, al unirse con sus receptores específicos de membrana de las células de la teca activan la síntesis intracelular de AMPc, uno de los mediadores necesarios de la síntesis hormonal esteroidea.



El primer paso de la síntesis de hormonas esteroides, es la conversión de colesterol (27 carbonos) a pregnenolona (21 carbonos), para ello es necesario que el colesterol sea introducido a la mitocondria de la célula de la teca por la proteína reguladora de la esteroidogénesis aguda (StAR). Ya en la mitocondria enzimas de la familia de los citocromos P450, específicamente la enzima P450_{sc} la cual corta la cadena lateral de 6 carbonos del colesterol, convirtiéndolo en pregnenolona y ácido isocaproíco (Gore-Langton y Armstrong, 1994). A partir de la pregnenolona, se pueden seguir dos rutas metabólicas:

- 1) Ruta Δ^4 : La pregnenolona es convertida a progesterona por acción de la 3β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3β -HSD) también conocida como $\Delta^{5,4}$ -isomerasa en el retículo endoplásmico liso de las células tecales, granulosa y luteales (Gore-Langton y Armstrong, 1994; Tresguerres y Castillo, 2005). Esta enzima puede tener como sustrato a la progesterona y si este es el caso el producto será la 17α -OH-progesterona, que es convertida finalmente en androstenediona, regularmente esta ruta se realiza en las células luteínicas del cuerpo lúteo. Si no se produce embarazo, el cuerpo lúteo involuciona, pero durante la luteolisis aumenta la enzima 20α HSD, la cual cataliza la conversión de la progesterona a su metabolito inactivo 20α -OH (González, 2020).
- 2) Ruta Δ^5 : Esta ruta es utilizada en su mayoría por células de la teca y se lleva a cabo en el retículo endoplásmico liso. Las enzimas 17α -hidroxilasa y la $17, 20$ liasa pueden tener como sustratos la progesterona o la pregnenolona. En caso de que el sustrato de la 17α -hidroxilasa sea la pregnenolona, el primer producto que se biotransforma es la 17α -pregnenolona, y el segundo la dehidroepiandrosterona (DHEA), un andrógeno débil, producido por el ovario y las suprarrenales (González, 2020). La DHEA requiere una posterior transformación por la 3β HSD para dar lugar a la androstenediona. Finalmente, la 17β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (17β -HSD) transforma la



androstenediona a testosterona. Ambas hormonas pasan de la teca al torrente sanguíneo y posteriormente difunden hacia las células de la granulosa, donde la p450aromatasa convierte la testosterona en estrona y la androstenediona en estrona (González, 2020). La producción de estrógenos se encuentra bajo el control de ambas gonadotropinas. Los productos de secreción de las células de la teca son estimulados por la LH, mientras que los de la granulosa por FSH. Sin embargo, en la fase lútea las células de la granulosa del folículo dominante tienen receptores a LH, que producen progesterona y estrógenos (Figura 7) (Domínguez y Cruz-Morales, 2011).

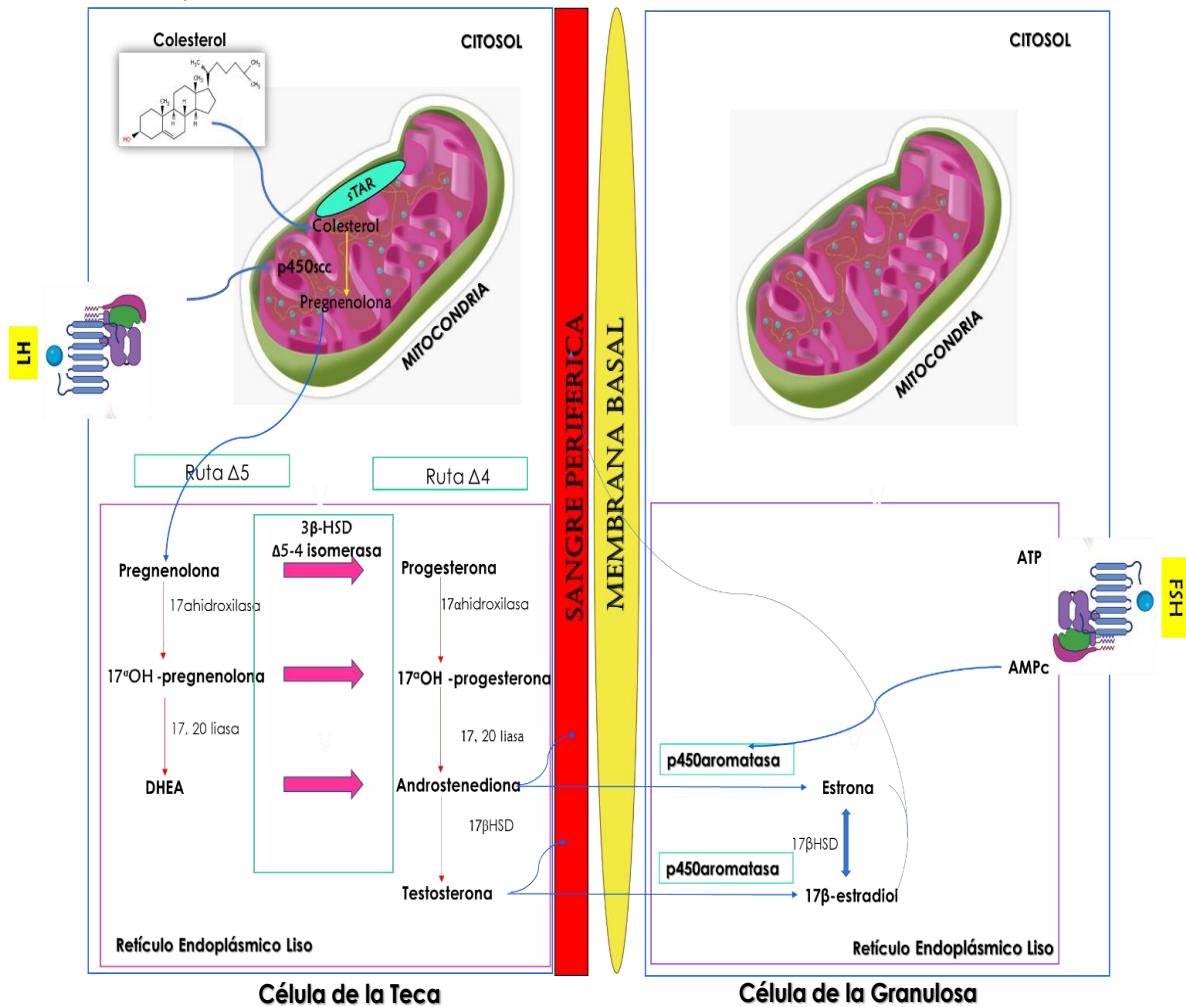


Figura 7. Esquema que muestra la síntesis de hormonas esteroideas por parte de las células foliculares (Tomado y modificado de Duffy y col., 2019).



Funciones de la progesterona

La progesterona es un esteroide de 21 átomos de carbono que procede de la pregnenolona y está, por lo tanto, muy al principio en la cadena de biosíntesis esteroidea (Tresguerres y Castillo, 2005). La progesterona es producida por el ovario bajo la influencia de las gonadotropinas, principalmente por el cuerpo amarillo que se presenta durante la segunda mitad del ciclo menstrual y a partir del tercer mes del embarazo, por la placenta. La secreción de la progesterona comienza antes de la ovulación. Durante la fase folicular, las concentraciones plasmáticas son alrededor de 0.5 ng/mL, su procedencia es tanto folicular como suprarrenal. A partir de la ovulación, el cuerpo lúteo es el productor principal, dado que la vía $\Delta 4$, da origen a la progesterona a través de la acción de la enzima 3β -HSD, debido a ello se produce un incremento muy marcado en la concentración, que puede llegar a ser de 10 a 40 veces los valores previos, hasta llegar a un máximo de 20 ng/mL. Cuando no se produce el embarazo, el cuerpo lúteo involuciona, disminuyen las concentraciones de progesterona y comienza la menstruación. Si el óvulo es fertilizado, el trofoblasto comienza a secretar hCG en la circulación materna, prolongando así la vida funcional del cuerpo lúteo. A partir de la segunda o tercera semana del embarazo, la placenta en desarrollo secreta estrógenos y progesterona en colaboración con las glándulas suprarrenales, entonces el cuerpo lúteo ya no es esencial para que se mantenga la gestación, Es por ello que, la placenta continúa produciendo estrógenos y progesterona en gran cantidad hasta el momento del parto. La progesterona influye en el desarrollo de la glándula mamaria y disminuye la contracción del músculo liso del útero durante el embarazo. Esta hormona ejerce una gran cantidad de acciones biológicas en sus tejidos blanco, previamente sensibilizados por los estrógenos (Orizaba-Chávez y col., 2013). Presenta receptores en el útero, endometrio y mama fundamentalmente. La progesterona disminuye la frecuencia de la pulsatilidad de la LH, sin afectar la de la FSH (Tresguerres y Castillo, 2005).



Para transportarse por vía sanguínea se une a la SHBG y posteriormente se une a sus receptores específicos, estos receptores se clasifican en dos tipos α y β , una vez que la hormona se acopla al receptor, se desencadena un estímulo iniciando con un mecanismo de cascada de fosforilación, formando un complejo hormona-receptor (Orizaba-Chávez y col., 2013). Además de unirse a sus receptores específicos la progesterona también es capaz de actuar en los sitios de unión de otros esteroides. Por lo tanto, la progesterona presenta actividad antiestrogénica, antiandrogénica y también antimineralocorticoide, el mecanismo de acción es similar al de todos los esteroides a nivel celular (Orizaba-Chávez y col., 2013).

Funciones de los estrógenos

El más importante y potente de los estrógenos es el 17β -estradiol, que a su vez es el principal producto de la secreción endócrina del ovario. Los estrógenos tienen 18 átomos de carbono. El estradiol tiene tres dobles ligaduras en el anillo A, un OH en el C3, y otro OH en el C17 en la posición β . Aunque también se secreta estrona, esta es un producto de oxidación del estradiol, e incorpora un grupo cetona en el C17 (Tresguerres y Castillo, 2005). La mayor parte de la estrona se forma en los tejidos periféricos a partir de andrógenos secretados por las cortezas suprarrenales y por las células de la teca ovárica (Guyton y Hall, 2011). El estrógeno más importante en la orina es el estriol el cual posee un OH adicional en el C16 (16-hidroxiestradiol) y es un producto oxidativo de la estrona y del estradiol, tiene baja potencia como estrógeno, pero elevada producción durante la gestación. Su conversión se lleva a cabo principalmente en el hígado (Tresguerres y Castillo, 2005; Guyton y Hall, 2011). En el plasma el estradiol viaja unido en un 40% a la proteína transportadora de hormonas sexuales (SHBG), que es la misma proteína transportadora que utiliza la testosterona y la 5α -DHT (Tresguerres y Castillo, 2005). Tiene una gran potencia estrogénica, ya que es 12 veces la de la estrona y 80 veces la del estriol, por lo que su efecto se considera mucho mayor que el de los



otros estrógenos juntos. Por esta razón, se considera que el estradiol es el estrógeno principal, aunque los efectos de la estrona también son importantes (Figura 8) (Guyton y Hall, 2011).

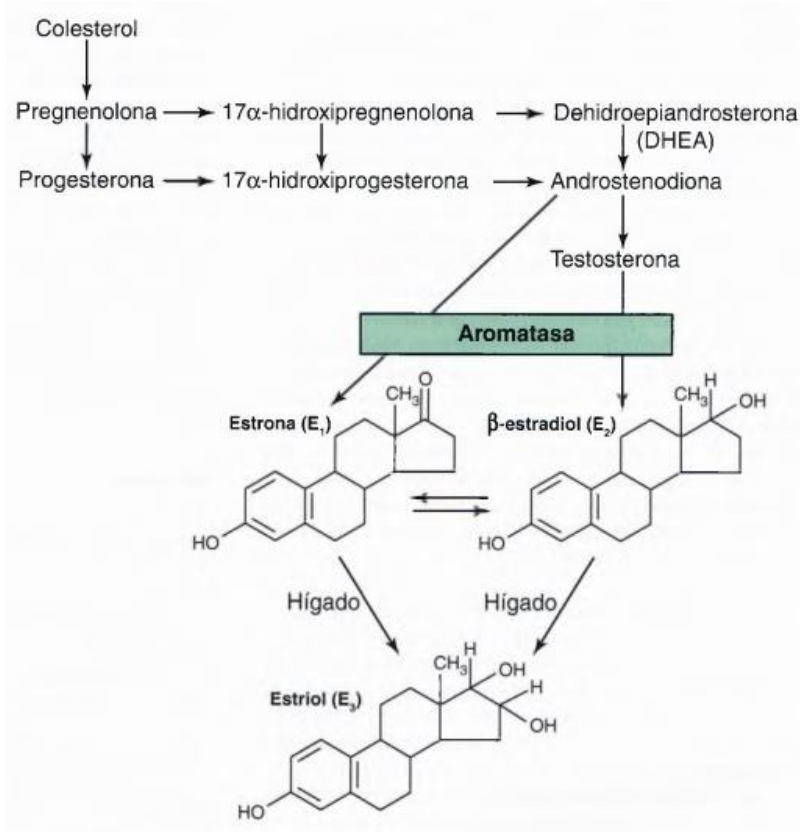


Figura 8. Síntesis y metabolismo de la estrona, β-estradiol y estriol. (Tomado de Guyton y Hall, 2011).

Los esteroides sexuales tienen un papel importante en procesos como el crecimiento, la diferenciación y la reproducción (Besedovsky y Del Rey, 1996). Estas funciones incluyen acciones tanto en los órganos reproductivos, así como en cerebro, huesos, hígado, corazón y vasos sanguíneos, por lo tanto, se consideran esenciales, es decir que están programados a través de la evolución para garantizar la salud y la fertilidad durante los años reproductivos y de esta manera promover así la supervivencia, sin embargo, también pueden promover el desarrollo de diversas patologías (Hammes y Levin, 2019).



Es durante la pubertad en la mujer que se estimula el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios femeninos induciendo el crecimiento mamario, la distribución de grasa corporal y el desarrollo de los genitales internos y externos. El útero aumenta de tamaño y prolifera el endometrio (Tresguerres y Castillo, 2005).

Si bien los estrógenos se consideran el esteroide sexual dominante en mujeres, las concentraciones de andrógenos séricos son más altas que las concentraciones de estrógenos la mayoría del tiempo (Hammes y Levin, 2019). Sin embargo, ocurre una excepción durante las fases preovulatorias y media luteal del ciclo menstrual, cuando las concentraciones de andrógenos y estrógenos son similares (Hammes y Levin, 2019). Los estrógenos actúan sobre el hipotálamo, regulando la síntesis de GnRH y de dopamina, con lo que disminuyen las concentraciones de gonadotropinas (Tresguerres y Castillo, 2005).

En las mujeres, los ovarios son la fuente principal de estrógenos, cuyas concentraciones fluctúan de acuerdo con las fases del ciclo menstrual. La producción local de estrógenos, también se encuentra en algunos otros tejidos femeninos como son los huesos y las mamas, posterior a la aromatización de los andrógenos. Tanto en hombres como mujeres, los estrógenos actúan al unirse a cualquiera de las dos isoformas de los receptores a estrógenos (ER), el receptor de estrógeno alfa (ER_{α}) y el receptor de estrógeno beta (ER_{β}), que modulan la cascada de señalización al interior de las células (Hammes y Levin, 2019).



Inervación Ovárica

La inervación ovárica, se ha clasificado en intrínseca y extrínseca (Lawrence y Burden, 1980). La inervación ovárica extrínseca, contiene fibras simpáticas, sensoriales y parasimpáticas (Burden, 1978). La inervación simpática se origina del segmento de la medula espinal T-11 ó T-12 al segmento L4 (Sporrong y col., 1991). La mayoría de las fibras que conforman esta inervación provienen de neuronas simpáticas postganglionares, cuyo soma se encuentra en el complejo del Ganglio Celíaco Mesentérico Superior (GCMS) (Klein y Burden, 1988) y el plexo renal (Lawrence y Burden, 1980). La distribución de las fibras simpáticas es similar en todas las especies, pero la densidad de las redes varía considerablemente entre ellas (Burden, 1985).

En la rata, el ovario recibe información simpática a través de:

- ∞ El nervio del plexo ovárico (NPO): es una extensión de los plexos aórtico y suprarrenal (Kuntz, 1945; Crosby y col; 1962, Mossman y Duke, 1973) viaja a lo largo de la arteria ovárica e inerva principalmente la vasculatura del ovario (Lawrence y Burden, 1980). Por el NPO viajan fibras sensoriales que contienen Sustancia P (SP) y el péptido relacionado con el gen que codifica a la calcitonina (CGRP); y también fibras simpáticas por donde viaja Noradrenalina (NA) (Aguado y Ojeda, 1984).

- ∞ El nervio ovárico superior (NOS): Este nervio es de naturaleza 100 % simpática, viaja junto con el ligamento suspensorio del ovario (Lawrence y Burden, 1980) e inerva vasos sanguíneos, células de la glándula intersticial y células de la teca de los folículos en crecimiento (Aguado y Ojeda, 1984), algunas fibras del NOS llegan a inervar al útero y al oviducto, sin embargo, no entran en el cuerpo lúteo ni en la capa de células de la granulosa. Los neurotransmisores que llegan al ovario por este nervio son NA, Neuropeptido Y (NPY) y VIP (Lawrence y Burden, 1980).



Por otro lado, el ovario recibe inervación parasimpática mediante el Nervio Vago (NV) y ramas del plexo hipogástrico (Stefenson y col., 1981). Se ha demostrado que en la rata esta inervación viene del NV (Burden y Lawrence, 1977). El soma de estas neuronas proviene del ganglio nodoso y de los ganglios de la raíz dorsal (Burden y col., 1983). El NV lleva fibras parasimpáticas y sensoriales (Burden y Lawrence, 1977; D´Albora y col; 2002). A través de el viajan moléculas como la SP, el péptido activador del adenilato ciclasa (PACAP), acetilcolina (ACh) y VIP. El NV inerva la vasculatura ovárica (Burden y col., 1983; Klein y Burden, 1988; Pastelín y col., 2017).

Síndrome de Ovario Poliquístico

Alrededor de los años 1925 y 1935, Stein y Leventhal, fueron los primeros en reconocer una asociación entre ovarios poliquísticos, signos de amenorrea, hirsutismo y obesidad (Jácome-Roca). Durante años el síndrome anterior descrito llevó sus nombres, pero en el siglo XXI dejó de llamarse así para cambiarlo por SOPQ (Jácome-Roca, 2018). El SOPQ afecta del 5 al 10% de las mujeres en edad reproductiva y es la primera causa de infertilidad en la mujer (Osuka y col., 2017). Además, es conocido por ser un factor de riesgo para múltiples enfermedades metabólicas y cardiovasculares (Lizneva y col., 2016). Tales como, la resistencia a la insulina, hiperinsulinemia, diabetes mellitus tipo II y problemas cardiovasculares (Goodarzi y col., 2011; Lobo y Carmina, 2000). También está relacionado con trastornos del estado de ánimo como la depresión y con patologías como el cáncer de ovario (Lobo y Carmina, 2000; Hollindrake y col., 2007; Dumesic y Lobo, 2013).



Con el desarrollo de la ultrasonografía se pudo caracterizar más al SOPQ y detectar que había mujeres sanas que presentaban ovarios poliquísticos sin el síndrome clínico y por otro lado pacientes con el síndrome clínico muy evidente, pero sin presentar ovarios poliquísticos (Polson y col; 1988).

Debido a la heterogeneidad del SOPQ en el año 1990 en una conferencia de consenso del Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos (NIH, por sus siglas en inglés) se definieron como criterios para el diagnóstico del SOPQ, el hiperandrogenismo clínico o bioquímico y la oligo-anovulación crónica, sin que exista otra causa para ello como la enfermedad adrenal o hipofisiaria (Zawadski y Dunaif, 1992). Sin embargo, esta definición no incluía el aspecto morfológico de ovario poliquístico (Sir y col., 2013).

Posteriormente en una conferencia de consenso realizada en Rotterdam en el 2003 la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología y la Sociedad Americana de Medicina Reproductiva (ESHRE/ASRM) añade a los establecido por NIH en 1990 un nuevo criterio de diagnóstico donde se incorporaba la presencia ultrasonográfica de ovarios poliquísticos. Se estableció que para el diagnóstico del SOPQ se requería la presencia de al menos 2 de los siguientes 3 criterios, hiperandrogenismo clínico o bioquímico, disfunción crónica ovulatoria (oligo o anovulación) y morfología ovárica poliquística. Sin embargo, en el año 2006 la Sociedad de Exceso de Andrógenos definió como criterio fundamental para el diagnóstico del SOPQ el hiperandrogenismo. Finalmente, en el año 2012 el NIH recomendó el uso de los criterios establecidos por ESHRE/ASRM en el 2003, pero acompañados con una descripción detallada de cada fenotipo (Carmina y col., 2005; Rosencrantz y col., 2011; Georgopoulos y col., 2014) (**Figura 9**).



Criterios de Diagnostico del SOPQ	
Fenotipo 1 (SOPQ clásico)	
✓	Evidencia clínica o bioquímica de hiperandrogenismo
✓	Evidencia de oligo-anovulación
✓	Evidencia ultrasonográfica de ovarios poliquísticos
Fenotipo 2 (NIH)	
✓	Evidencia clínica o bioquímica de hiperandrogenismo
✓	Evidencia de oligo-anovulación
Fenotipo 3 (SOPQ ovulatorio)	
✓	Evidencia clínica y/o bioquímica de hiperandrogenismo
✓	Evidencia ultrasonográfica de ovarios poliquísticos
Fenotipo 4 (SOPQ no hiperandrogénico)	
✓	Evidencia de oligo-anovulación
✓	Evidencia ultrasonográfica de ovarios poliquísticos

Figura 9. Criterios de Diagnostico del SOPQ basados en ESHRE/ASRM en el 2003 (Tomado y modificado de Rosenfield, 2015).

Hiperandrogenismo clínico o bioquímico

Dentro del hiperandrogenismo clínico se encuentra el hirsutismo el cual se define como el crecimiento excesivo de pelo terminal (vello largo, grueso y pigmentado) en la mujer siguiendo un patrón masculino de distribución, en zonas andrógeno-dependientes (Escobar-Morreale y col., 2012; Hatch y col., 1981; Sánchez y col., 2002). El hirsutismo es el signo clínico más importante de hiperandrogenismo (Goodman y col., 2015) y está presente en aproximadamente 70% de las pacientes con SOPQ (Fauser y col., 2012). El acné también puede ser un marcador de hiperandrogenismo clínico, pero es menos frecuente en el SOPQ y menos específico que el hirsutismo (Sirmans y Pate, 2013). Cuando el acné persiste después de la



adolescencia o se exagera a mediados de los 20 o 30 años, el hiperandrogenismo es común, y el acné puede ser considerado como un signo de hiperandrogenismo clínico (Goodman y col., 2015). Las mujeres que presentan acné severo, acné de inicio tardío o acné persistente y resistente a las terapias convencionales tienen más probabilidad de tener SOPQ (Zouboulis, 2014). Otra de las manifestaciones clínicas del SOPQ es la alopecia que en mujeres con hiperandrogenismo el patrón es variable (Fung, 2016).

En mujeres con hiperandrogenismo clínico la alopecia afecta fundamentalmente en la parte superior de la cabeza, las regiones fronto-temporales, siendo más difusa que la del varón (Escobar-Morreale y col., 2012). Mientras que en el hiperandrogenismo bioquímico las pacientes con SOPQ presentan andrógenos elevados en forma discreta o moderada ya sea testosterona, androstenediona, sulfato de dehidroepiandrosterona (DHEA-S) o todos. Sin embargo, la testosterona es el principal andrógeno activo circulante, por lo que la evaluación de la concentración total de testosterona sérica es la recomendación de primera línea para diagnosticar el exceso de andrógenos en la mujer (Stanczyk, 2006).

Disfunción ovulatoria (oligo o anovulación)

Tiene una prevalencia aproximada del 80-90% en las pacientes con SOPQ (Goodarzi y Azziz, 2006). Se sabe que la disfunción ovulatoria es consecuencia de un detenimiento en el crecimiento folicular durante las etapas preantral y antral temprana (Escobar-Morreale y col., 2012). La disfunción ovulatoria se clasifica en (Merino y col., 2009):

- 1) Oligoovulación: Pacientes que presentan menos de 9 menstruaciones al año o 3 ciclos de más de 38 días durante el último año.
- 2) Anovulación: Pacientes con ciclos mayores a 90 días.



De las pacientes afectadas con disfunción ovulatoria el 70% presentan oligomenorrea, mientras que la amenorrea se presenta en un 30% de ellas (Escobar-Morreale y col., 2012). Cuando se presenta cualquiera de las dos, es necesario medir las concentraciones de prolactina y LH con el objetivo de descartar alguna otra patología de origen hipotalámico o hipofisiario (Norman y col., 2007). En particular, en las mujeres sin hiperandrogenismo la presencia de ciclos menstruales regulares puede ser usado como evidencia de ovulación normal, pero en mujeres con hiperandrogenismo no se asegura la presencia de ovulación, ya que presentan algún tipo de disfunción ovulatoria (Azziz y col., 2006).

Debido a ello la AES/PCOS (Sociedad de Exceso de Andrógenos y Síndrome de Ovario Poliquístico) y el Consenso de Rotterdam sugieren que la presencia de disfunción ovulatoria en estas pacientes debe ser diagnosticada con la medición de progesterona en los días 20 a 24 del ciclo menstrual (Merino y col., 2009).

Morfología Ovárica Poliquística

Para definir a los ovarios como poliquísticos, debe observarse la presencia ultrasonográfica de 12 o más quistes en el ovario, que midan entre 2-9 mm de diámetro donde, un solo ovario afectado es suficiente para definir el SOPQ. La evidencia ultrasonográfica por sí sola no permite establecer el diagnóstico final y su normalidad no descarta que haya presencia del SOPQ (Sir y col., 2013).



Etiología del SOPQ

La causa del SOPQ es desconocida sin embargo se ha sugerido que hay factores que aumentan su aparición como la influencia genética, la restricción del crecimiento intrauterino, la pubertad precoz y la exposición prenatal a andrógenos (Bremer, 2010). Está claro que el desarrollo del SOPQ depende de múltiples interacciones, sin embargo, aún no se logran definir las causas primarias de la fisiopatología (Araya y col., 2004). Algunas hipótesis que explican su etiología son:

- ∞ **Disfunción neuroendocrina:** Esta hipótesis señala la existencia de una alteración a nivel neuroendocrino en la cual se plantea un incremento en la amplitud y frecuencia de los pulsos de la GnRH, lo cual estimula una mayor secreción de LH y una disminución en la secreción de FSH. También se ha postulado que esta alteración en los pulsos de GnRH es consecuencia de una falla en la retroalimentación hormonal ovárica en lugar de una aceleración inherente de la GnRH (Bremer, 2010). De estas hormonas la progesterona parece ser el principal modulador de la frecuencia del pulso de GnRH (Nippoldt y col., 1989). Se sugiere que el estradiol también juega un papel importante ya que induce la expresión de receptores a progesterona en el hipotálamo. Debido a la disfunción ovulatoria, la secreción endógena de progesterona se ve limitada. Además, la sensibilidad del hipotálamo a la progesterona se ve afectada por los andrógenos (Eagleson y col., 2000). Esto conlleva a un ciclo en el cual el hiperandrogenismo preexistente conduce a un mayor hiperandrogenismo al alterar la sensibilidad del generador de pulsos de GnRH a la progesterona, lo que lleva a un aumento de la secreción de LH estimulando así una mayor producción de andrógenos ováricos (Bremer, 2010).

Se ha demostrado que las hormonas esteroides (andrógenos y estrógenos) pueden modificar la naturaleza bioquímica de los oligosacáridos que se encuentran unidos a las gonadotropinas, condicionando la secreción y



eliminación de las isoformas. Por lo anterior se ha señalado que el aumento en los pulsos de secreción de GnRH, sumado al efecto del estrógeno conlleva a la secreción de isoformas básicas de LH que presentan mayor bioactividad, lo que produce un aumento en los niveles de andrógenos y en los niveles tónicos de estrógenos (Ropelato y col., 1999). Este desequilibrio genera a nivel ovárico una mayor secreción de andrógenos por parte de las células de la teca debido al aumento de LH, mientras que la disminución de FSH impide la aromatización de los andrógenos generando hiperandrogenismo, detenimiento del crecimiento folicular, disfunción ovulatoria y formación de quistes (Bremer, 2010).

- ∞ Disfunción ovárica: Una de las causas del hiperandrogenismo en las mujeres con SOPQ, podría deberse a una falla en la esteroidogénesis en el ovario, donde se observa un incremento en la actividad de la enzima P450c17 α , la cual tiene actividad 17- α -hidroxilasa y 17,20-liasa y de la 3 β -HSD (Bremer, 2010). En las células de la teca el complejo P450c17 α convierte a la progesterona en 17-hidroxiprogesterona y posteriormente en testosterona. Debido a este incremento en la actividad enzimática se produce una respuesta tecal aumentada en la biosíntesis de andrógenos. Se ha señalado que en el 80% de las pacientes con SOPQ existe un estado de hiperandrogenismo funcional ovárico (Rosenfield y Ehrmann, 2016). Además, se sabe que existe una disminución en la enzima aromatasa, la cual realiza la biosíntesis de estrógenos a partir de andrógenos, por lo que una deficiencia en esta enzima puede generar un aumento en la concentración de los andrógenos a nivel ovárico, lo que contribuye a la persistencia del SOPQ (Balceiro y col., 2019). Aunado a ello se ha demostrado que existe un aumento en el número de receptores a LH en las células de la teca, mientras que ocurre una disminución en el número de FSHR en las células de la granulosa (Pérez y Maroto, 2018).



∞ Hiperactividad simpática: El grupo de Lara en el 2000 señala que, la administración de VE provoca hiperactividad de las fibras simpáticas del ovario. La activación de los nervios simpáticos ováricos es antecedida por un incremento del Factor de Crecimiento Nervioso (NGF) y su receptor de baja afinidad, el p-75^{NTR} NGF viaja hasta el GCMS, al llegar genera un incremento en la actividad de la TH, enzima limitante en la síntesis de las catecolaminas. Con ello, aumenta la liberación de NA que viaja por el NOS hacia el ovario. Por lo tanto, un aumento en la producción de NGF es suficiente para iniciar varias de las alteraciones estructurales y funcionales asociadas con el desarrollo de quistes ováricos (Dissen y col., 2000). Se ha mostrado que la eliminación de la información simpática que viaja a través del NOS por métodos quirúrgico (Rosa-E-Silva y col., 2003; Morales y col., 2010) como la sección del NOS o farmacológicos por el bloqueo de la actividad de las fibras NA adrenérgicas (Espinoza y col., 2018; Venegas y col., 2019), puede llegar a restablecer la función ovárica (Barria y col., 1993; Rosa-E-Silva y col., 2003). Los ovarios de las ratas tratadas previamente con VE presentan un tamaño reducido en comparación con los controles y se caracterizan por folículos quísticos grandes, con capas reducidas de células de la granulosa e hipertecosis. También hay una alta incidencia de folículos secundarios atrésicos y ausencia de cuerpos lúteos (Brawer y col., 1986).

Modelos de inducción del SOPQ

El desarrollo de modelos animales es muy importante para ayudar a entender la etiología de patologías como el SOPQ (Azziz y col., 2009). Además, permiten identificar nuevos objetivos y tratamientos (Walters, 2018). Hasta la fecha, los roedores son el animal más utilizado para estudiar el SOPQ, debido a que presentan varias características que los vuelven ideales como su tamaño pequeño, vida corta, alto índice de reproducción y diferentes cepas genéticas (Abbott y col., 1998). La



investigación a partir de modelos animales respalda firmemente el papel fundamental del hiperandrogenismo en el origen de esta condición porque los modelos generados por medio de inducción de hiperandrogenismo producen animales que muestran características reproductivas, endocrinas y metabólicas propias del síndrome en la mujer (Walters y col., 2018). Sin embargo, al utilizar estos modelos la investigación es limitada en algunos aspectos como el metabólico, la diabetes y el riesgo cardiovascular (Danni y Donna, 2012). Dentro de los modelos más utilizados para inducir el síndrome, se encuentran los siguientes:

Andrógenos: El hiperandrogenismo es la manifestación primaria del SOPQ. Una hipótesis sobre la etiología del mismo señala que una temprana exposición a los andrógenos conduce al desarrollo del síndrome en la vida adulta. Previamente ha sido reportado que, en el roedor, las concentraciones elevadas de andrógenos afectan la maduración folicular y favorecen la formación de quistes (Danni y Donna, 2012). En la rata los andrógenos más utilizados para inducir una condición aguda de SOPQ es mediante la inyección diaria o implantes subcutáneos de DHEA, Propionato de Testosterona (PT) o 5 α -DHT. En estos modelos la inducción del SOPQ es transitoria y depende del tipo de andrógeno utilizado. Es por ello que el restablecimiento del ciclo ovárico se presenta después del cese de la administración de andrógenos (Danni y Donna, 2012). Foecking y colaboradores en el 2005, han reportado que en la rata la administración prenatal de andrógenos provoca, al llegar a la vida adulta, un desajuste permanente del sistema neurosecretor de GnRH, lo que lleva al incremento de la pulsatilidad de la GnRH. Estas ratas presentan algunos desórdenes metabólicos como son la obesidad, hiperinsulinemia y dislipidemias (Demissie y col., 2008).

Antiprogesterona: Se trata de un esteroide sintético (RU486 o mifepristona) que actúa como un antagonista de progesterona (Baulieu, 1991). Regularmente la progesterona es sintetizada por el cuerpo lúteo después de la ovulación, aunque también es secretada por la glándula adrenal, y tiene un papel importante en la regulación de la liberación de las gonadotropinas, el desarrollo folicular y la



ovulación (Buffler y Roser, 1974; Mori y col., 1977). La progesterona inhibe la frecuencia de los pulsos de la GnRH, pero cuando son tratados con RU486, la concentración de progesterona decrece, y la frecuencia de los pulsos de GnRH aumenta. Cuando esto ocurre la secreción de LH predomina y la proporción LH/FSH se eleva, lo que conlleva a un aumento en la secreción de testosterona ovárica (Sánchez-Criado y col., 1990; Rosenfield, 1999).

Letrozol: Una de las hipótesis del desarrollo del SOPQ es un decremento de la actividad aromatasa (Diamanti-Kandarakis, 2008). El letrozol es un inhibidor de esta actividad, que reduce la conversión de andrógenos a estrógenos en el ovario, lo que da como resultado incremento en la testosterona y un decremento de la producción de estrógenos (Corbin y col., 1999). La reducción del estrógeno debilita el feedback de retroalimentación negativo sobre la producción de LH, lo que resulta en el aumento de las concentraciones de LH (Ajika y col., 1972) y estímulo de las células de la teca para secretar testosterona. Por lo general, el tratamiento en ratas hembras se lleva a cabo a las 6 semanas de edad (pubertad) administradas por vía oral a dosis de 0.1, 0.5 y 1.0 mg/kg al día durante 21 días, después de lo cual se vuelven acíclicas, con características histológicas y bioquímicas del SOPQ (Danni y Donna, 2012).

Estrógenos: En la rata uno de los modelos de inducción del SOPQ más utilizado es la administración VE, el cuál es un estrógeno de larga actividad (Rosa-E-Silva y col., 2003) que reproduce algunas de las características del síndrome presentes en la mujer, como son la anovulación, hiperandrogenismo y quistes ováricos (Brawer y col., 1978).



Etapas del desarrollo postnatal en la rata

Aunque la pubertad de los roedores tiene diferencias muy marcadas a comparación de los primates, los mecanismos básicos que subyacen al proceso de maduración sexual están bien conservados en todas las especies. Dichos mecanismos incluyen, entre muchos otros, los que gobiernan el control transináptico y glial de la GnRH, los que controlan el feedback positivo y negativo de los esteroides, y el control hormonal/neural del desarrollo gonadal (Becú-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990).

Mientras que en los humanos el control neuroendocrino de la secreción de gonadotropinas parece ser completamente funcional al nacer, en el caso de la rata este es sumamente inmaduro (Tanner, 1974). El desarrollo posnatal en la rata se puede dividir en cuatro fases (Ojeda y col., 1980):

- ∞ **Etapas Neonatal:** Comienza el día del nacimiento y termina al día 7 de vida (Glydon, 1957). El inicio del desarrollo folicular es dirigido únicamente por señales intra ováricas y nerviosas (Albertini, 2015; Pangas y Rajkovic, 2015). Lo cual se encuentra respaldado por lo mostrado por Malamed y colaboradores en 1992, en el ovario de ratas de 19 días de gestación y en el de ratas recién nacidas se observó la presencia de fibras inmunorreactivas a la TH, lo cual sugiere que el inicio del desarrollo folicular está bajo influencia catecolaminérgica directa, y que esta controlado por las gonadotropinas a partir del día 5 de vida posnatal, en ese momento los folículos ya presentan FSHR (Raynaud, 1973; Lamprecht y col., 1976). Por este motivo las concentraciones de FSH se elevan a partir del día 5 de vida (Kragt y Dahlgren, 1972; McCann y col., 1974), así como la síntesis de la aromatasa, por lo que la conversión de testosterona a estrógenos aumenta, sin embargo se encuentran unidos a la alfafetoproteína (AFP), por lo que aún no pueden establecer un feedback estimulante o inhibitorio (Raynaud, 1973; Lamprecht y col., 1976).



∞ **Etapa infantil:** Es el periodo que comprende del día 8 al 21 de vida. Entre los días 12-18 se observan picos esporádicos de LH (Becú-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990). Lo cual es resultado de la activación de neuronas noradrenérgicas (Honma y col., 1979). Debido a la GnRH los niveles de FSH se mantienen altos alrededor del día 10 al 16, lo cual es muy importante ya que favorece el crecimiento folicular e incorpora folículos primarios al pool proliferativo (Schwartz, 1974; Hage y col., 1978). Durante este periodo algunos neurotransmisores tienen un papel importante sobre la síntesis de gonadotropinas, como la serotonina, que tiene efecto estimulante, sin embargo, el efecto va disminuyendo paulatinamente (Becú-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990). La dopamina actúa estimulando e inhibiendo a la LH (Steger y Morgen, 1985), mientras que los opioides, regulan de manera negativa a la FSH y a la LH (Becú-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990). Sin embargo, estos “picos” de LH desaparecen a medida que el animal entra en las siguientes etapas (Debeljuk y col., 1972). Las concentraciones de FSH disminuyen gradualmente, debido al establecimiento del sistema de inhibina, el cual es funcional en la hembra a los 20 días de edad y suprime activamente la liberación de FSH. A partir de ese momento, la inhibina se vuelve un componente principal de la regulación de la FSH, el cual continuará hasta la edad adulta (Becú-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990). Durante esta etapa la testosterona también presenta un papel importante en el feedback negativo de FSH y LH (Andrews y Ojeda, 1981). Sin embargo, el control neuroendocrino cambia radicalmente en esta etapa ya que la AFP va disminuyendo, por lo que el estradiol se vuelve biológicamente más activo (Becú-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990), con lo que se establece el feedback negativo de los estrógenos (Ojeda y Ramírez, 1973; Meijs-Roelofs y Kramer, 1979). Es por ello que, la sensibilidad de la FSH y LH a la GnRH y a la serotonina disminuye, también la regulación por parte de la dopamina y los opioides se vuelve menos eficiente (Becú-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990).



- ∞ **Etapa juvenil:** Comienza en el día 22 y culmina entre los 30-32 días (Heger y Ojeda, 2007). Al comienzo del período juvenil, las concentraciones de FSH disminuyen (Becú-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990), mientras que la LH se secreta de manera pulsátil (Andrews y Ojeda, 1981). Lo cual resulta ser eficaz para aumentar la síntesis de esteroides a nivel ovárico (Becú-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990).

- ∞ **Etapa peripuberal:** Comprende desde el día 33 de vida, y culmina con la primera ovulación que generalmente ocurre entre el día 38-40 (Heger y Ojeda, 2007). Durante este período se establece el patrón de liberación circadiana de la LH (Ojeda y Urbanski, 1994). Las concentraciones en plasma y la amplitud del pulso de LH son bajos por la mañana, sin embargo, se observa un aumento en la amplitud del pulso de LH durante la tarde (Urbanski y Ojeda, 1985). El aumento en LH, puede estimular la actividad ovárica, además de proporcionar el estímulo necesario para activar las etapas finales del desarrollo ovárico y aumentar la esteroidogénesis (Urbanski y Ojeda, 1985). Debido a lo anterior las concentraciones de hormonas esteroides a nivel circulatorio se elevan, propiciando un mecanismo de retroalimentación positivo, provocando la primera oleada preovulatoria de gonadotropinas. El folículo preovulatorio responde a este aumento brusco de la LH, lo cual culmina con la primera ovulación (Becú-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990).

- ∞ **Etapa puberal:** El evento que marca el comienzo de la pubertad es la apertura vaginal, la cual en algunos casos puede estar influida por factores externos. Se ha situado al momento de apertura vaginal de la rata Sprague-Dawley entre el día 37 y 39 de vida (Gullace, 2014). Este suceso en casi todos los casos, está estrechamente relacionado con un aumento en la circulación de



las concentraciones de gonadotropinas, lo que conlleva a la aparición de un proestro por la tarde, el cual precede a la primera ovulación con Inclusive es probable que la membrana se aperture horas antes (Ojeda y col., 1976).

Se ha postulado que entre más sensible es el epitelio vaginal, la apertura vaginal puede ocurrir de forma temprana (Ojeda y col., 1976). El aumento en la circulación de gonadotropinas y prolactina ocurre durante la tarde del proestro, una fase que se ha definido como el día en el cual existe una acumulación máxima de líquido intrauterino, por lo tanto, hay un aumento en el peso uterino. En el caso de la rata puberal ocurre un aumento muy marcado de las concentraciones de FSH, en comparación de las concentraciones encontradas en una rata adulta (Smith y col., 1975).

Ciclo estral en la rata

El ciclo reproductivo en la rata o ciclo estral dura aproximadamente de 4 a 5 días, la corta duración del ciclo estral en las ratas permite que esta sea una especie ideal para la investigación de los mecanismos fisiológicos que ocurren durante el ciclo reproductivo (Freeman, 2006). Es por ello que, para determinar las fases del ciclo estral, se utiliza la citología del exudado vaginal (Hoar y Hickman, 1975). La caracterización de cada fase está basada en la proporción entre los 3 tipos de células observados en el exudado vaginal: células epiteliales, células cornificadas y leucocitos, que se presentan en respuesta a las fluctuaciones en las concentraciones hormonales (**Figura 10**) (Gutiérrez y col., 2009). El ciclo estral en la rata comprende 4 etapas:

- ∞ **El estro** tiene una duración aproximada de 25 a 27 horas (Freeman, 2006; Hernández y col., 1999). En particular durante esta etapa se presenta aceptación del macho para la copula (Freeman, 2006). La FSH se mantiene



elevada hasta la mañana del estro, llegando posteriormente a concentraciones basales por la tarde. Mientras que las concentraciones de LH decaen durante la mañana de ese mismo día (Ojeda y col., 1976). Las células dominantes en esta etapa son las células epiteliales cornificadas o escamosas, estas células no tienen un núcleo visible, contienen en gran cantidad un citoplasma granular y su forma es irregular, aparecen en grupos.

- ∞ **El metaestro o diestro I** dura de 6 a 8 horas (Freeman, 2006). El tipo celular dominante es el leucocito, junto con un número significativo de células epiteliales nucleadas. Los leucocitos suelen ser pequeños y con un citoplasma granular (Freeman, 2006). Durante esta etapa, se prepara al tracto reproductivo para recibir al óvulo el cual puede estar fertilizado, después del periodo de celo (Freeman, 2006).

- ∞ **El diestro II** dura de 48 a 72 horas (Freeman, 2006). Durante el diestro II y hasta la mañana del proestro, incrementan los pulsos de secreción de la GnRH e incrementa la respuesta de la hipófisis ante esta neurohormona, por lo que se produce un “pico” de la LH en la tarde del proestro (Van der Beek, 1996; Levine, 2015). Este feedback positivo de estrógenos, es modulado por las altas concentraciones de progesterona (Van der Beek, 1996). Las células que predominan en esta etapa son leucocitos, neutrófilos, células nucleadas pequeñas y alargadas, pocas células epiteliales queratinizadas anucleadas, las cuales pueden volverse más redondas u organizarse en pequeños grupos (Cora y col., 2015).

- ∞ **El proestro** tiene una duración de 12 a 14 horas (Freeman, 2006). Citológicamente se caracteriza porque hay predominancia de células epiteliales, estas células son redondas, visiblemente nucleadas y aparecen en grupos o racimos. Durante esta etapa también pueden aparecer algunas



células epiteliales cornificadas o escamosas (Freeman, 2006). La progesterona aumenta durante la tarde del proestro, y ello facilita la acción estimulante del estradiol de dos maneras distintas, una de ellas es facilitar el pico de LH, mientras que la otra es inhibir el pico de LH, durante los otros días del ciclo (Van der Beek, 1996).

Durante el ciclo estral, la prolactina, la LH y la FSH permanecen bajas y aumentan en la tarde del proestro. Las concentraciones de estradiol comienzan a aumentar en el metaestro, alcanzando su máximo durante el proestro y volviendo a la línea basal en el estro (Figura 10). La secreción de progesterona también aumenta durante el metaestro y el diestro con una posterior disminución. Luego, el valor de la progesterona aumenta para alcanzar su segundo pico hacia el final del proestro (Spornitz y col., 1999; Smith y col., 1975).

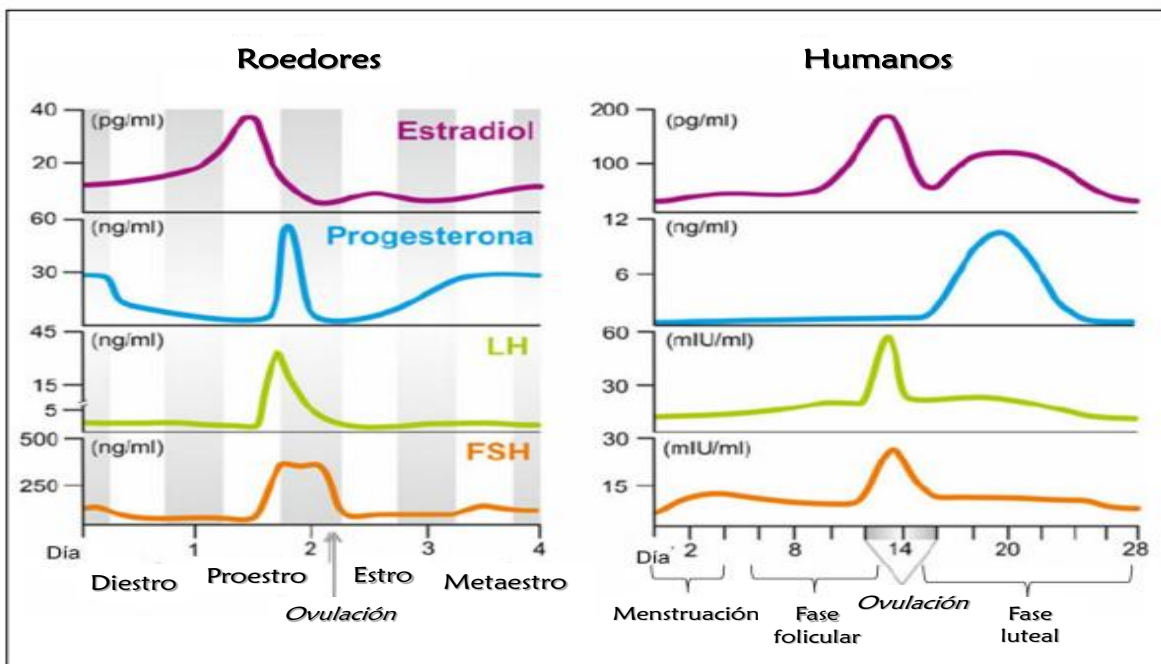


Figura 10. Esquema comparativo entre las concentraciones hormonales en el ciclo reproductivo de los roedores (de aproximadamente 4 días) y el ciclo menstrual humano (de aproximadamente 28 días). Se muestran las fluctuaciones promedio de las hormonas circulantes: 17-beta-estradiol, progesterona, LH y FSH en una rata hembra (izquierda) frente a una mujer (derecha) (Tomado y modificado de Donner y Lowry, 2013).



Características del FSHR

Los receptores de hormonas glicoproteicas, son miembros de la familia de los receptores acoplados a proteínas G (Simoni y col., 1997; Frediksson y col., 2003; Kleinau y col., 2013; Kreuchwig y col., 2013; Ulloa-Aguirre y Zarinan, 2016). También llamados miembros de la familia de receptores a la rodopsina. Estos receptores son proteínas, con siete dominios transmembranales, los cuales forman alfa-hélices unidas por secuencias o bucles alternantes extracelulares con numerosas terminaciones ricas en leucina, que ayudan a la especificidad del ligando (Bogerd, 2007; Brann y Mahesh, 1991; Dias y col., 2010; Lagerstrom y Schioth, 2008; Vassart y col., 2004). Mientras que los bucles intracelulares, tienen un extremo aminoterminal extracelular y una cola carboxilo terminal intracelular de longitudes variables (Ulloa-Aguirre y col., 2018).

La unión de la FSH al FSHR, provoca varios eventos de señalización, el más característico es el iniciado por el adenilato ciclasa, seguido de la inducción de AMPc, la activación de la proteína quinasa A, y la fosforilación de proteínas (Dorrington y Armstrong, 1979; Heindel y col., 1975). También se presenta un aumento de calcio intracelular y estimulación de inositol trifosfato (Flores y col., 1990; Seger y col., 2001; Tena-Sempere y col., 1999). Debido a que la FSH actúa exclusivamente a través de su receptor específico los mecanismos que controlan la expresión del receptor determinan la población celular que responde a la FSH, es decir, dirige la respuesta hormonal e influye en su sensibilidad a las hormonas (George y col., 2010).

Las gónadas poseen sitios de unión específicos para FSH (Vaitukaitis y col., 1971; Means y Vaitukaitis, 1972), en las hembras estos se encuentran predominantemente en las células de la granulosa de los folículos en desarrollo (Richards y Pangas, 2010) y en los machos en las células de Sertoli dentro de los túbulos seminíferos (Huhtaniemi, 2015). Evidentemente los receptores a gonadotropinas juegan un papel muy importante en la reproducción. En el ovario, la activación del FSHR



desencadena una cascada de señalización que promueve el crecimiento folicular a través de divisiones celulares. Por otro lado, también estimula la síntesis de las aromatasas, que son enzimas necesarias para la conversión de andrógenos en estrógenos (Richards y Pangas, 2010). Estas señales hormonales ejercidas por las hormonas esteroides mantienen un mecanismo de retroalimentación que mantiene el equilibrio del eje hipotálamo-hipófisis-ovario.

La resistencia hormonal es una condición causada por una reducida o ausente respuesta de un órgano efector a una hormona biológicamente activa, la cuál puede ser causada por un defecto en el receptor de la hormona o por un defecto post receptor (Rojas y Céspedes, 2014). Sin embargo, es probable que alteraciones en cualquiera de las secuencias primarias por mutaciones genéticas o por simples polimorfismos en los nucleótidos, puedan potenciar la función anormal del receptor y eventualmente llevar a una patología (Ulloa-Aguirre y col., 2018), como el SOPQ.

Antecedentes de la estimulación gonadotrópica

El trabajo pionero de Bernhard Zondek en 1920 y 1930, en el cual vinculaba la secreción de gonadotropinas provenientes de la hipófisis, y su efecto sobre el crecimiento folicular y la esteroidogénesis, abrió el camino hacia el uso de las gonadotropinas en la medicina clínica. Actualmente, estas gonadotropinas son extraídas de la orina de mujeres embarazadas, de ella se extrae la hCG entre otras (Anderson y col., 2018). Las gonadotropinas pueden usarse para inducir la ovulación, ya sea para estimular la mono-ovulación, como apoyo para lograr la concepción de manera natural y en técnicas de reproducción asistida, donde lo que se busca es una respuesta multifolicular, comúnmente conocida como “superovulación controlada” (Anderson y col., 2018). La terapia con gonadotropinas resulta ser una de las terapias más apropiadas en mujeres con



problemas de fertilidad, ya que estimula la ovulación y se logra el embarazo (Diamond y col., 2015).

LaPolt y colaboradores en el año 1992 realizaron un tratamiento en ratas de 25 días de edad con 10 UI de gonadotropina de suero de yegua preñada (PMSG, por sus siglas en inglés) para estimular el crecimiento folicular y 52 horas después una dosis de 30 UI hCG para inducir la ovulación y luteinización. Demostraron que la estimulación con PMSG está asociada con un incremento en los niveles de ARNm (ARN mensajero) del FSHR. En particular durante el desarrollo folicular inducido por PMSG, observaron una estrecha correlación entre el aumento de la unión de FSH y los cambios en los niveles de ARNm del FSHR. Mientras que la estimulación con hCG disminuyó los sitios de unión del ligando al FSHR y su transcripción. Estos cambios demuestran que las gonadotropinas regulan la transcripción del gen del FSHR, la estabilidad del ARNm y/o la síntesis del receptor.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

De acuerdo con la organización mundial de la salud, el SOPQ es la causa más común de infertilidad en mujeres en etapa reproductiva. Este se caracteriza por hiperandrogenismo, anovulación y presencia de quistes foliculares. En la rata, la administración de una dosis de VE es capaz de inducir la formación de quistes foliculares, el hiperandrogenismo y la falta de ovulación. Una de las hipótesis sobre la etiología del SOPQ es la alteración en los pulsos de la secreción de GnRH, que favorece un aumento en la concentración de LH, una disminución de FSH lo que provoca el detenimiento en el crecimiento folicular y posiblemente la formación de quistes foliculares. Dado que al momento se desconoce si esta alteración puede ser resultado de una menor respuesta del folículo a las gonadotropinas o a una alteración en el número o disponibilidad del FSHR, en el presente estudio se decidió analizar en animales con SOPQ, inducido por la inyección de una dosis de VE, el



efecto del estímulo único con eCG o secuencial con eCG más hCG sobre la expresión del FSHR, la respuesta ovulatoria, la morfología ovárica y la concentración de estradiol.

HIPÓTESIS

Dado que una de las causas del SOPQ es la alteración en el eje de regulación hipotálamo-hipófisis-ovario, que resulta en bajas concentraciones de FSH y detenimiento del crecimiento folicular, entonces, es posible que en ratas con SOPQ al restablecer las concentraciones de gonadotropinas se favorezca la expresión del FSHR y se reactive el crecimiento folicular.

OBJETIVO GENERAL

Analizar en ratas con SOPQ, el papel del FSHR como uno de los factores que influye en el mantenimiento del SOPQ.

OBJETIVOS PARTICULARES

Analizar en ratas con SOPQ, el efecto del estímulo gonadotrópico único (eCG) o secuencial (eCG+hCG) sobre:

- La respuesta ovulatoria
- La morfología y morfometría ovárica
- El peso de los órganos
- La concentración de estradiol
- La expresión del FSHR



MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron ratas hembra de la cepa CII-ZV de 10 días de edad, mantenidas en condiciones controladas de fotoperiodo de 14 horas de luz por 10 horas de oscuridad y una temperatura de $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Se colocaron en grupos de 5 o 6 individuos, en donde permanecieron con la madre hasta el día del destete (24 días de edad), a partir de entonces tuvieron libre acceso al alimento y al agua hasta el día del sacrificio. En todos los casos se siguió lo establecido por la Norma Oficial Mexicana, de Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999).

Diseño experimental

Los animales fueron asignados al azar a alguno de los siguientes grupos experimentales:

✚ **Grupo de ratas inyectadas con Vh o VE:** Ratas de 10 días de edad se inyectaron intramuscularmente con 0.1 mL de aceite de sésamo, que fungió como el Vh o con 2 mg de VE (Sigma Chemical Co., St Louis Mo.USA) disuelto en 0.1 mL de Vh, para inducir el SOPQ. La canalización vaginal único signo externo que indica la maduración sexual de los animales, se revisó diariamente a partir de la inyección del VE, una vez que los animales aperturaron la vagina se realizó la toma de frotis vaginal por un lapso de dos semanas y se reanudo dos semanas antes de realizar el estímulo gonadotrópico, aproximadamente a los 60 días de edad del animal. Una parte de los animales inyectado con Vh o VE, no recibieron estimulación gonadotrópica, para poder ser utilizados como grupos control.



✚ **Grupo con estímulo gonadotrópico único:** Con la finalidad de estimular el crecimiento y desarrollo folicular, cuando las hembras inyectadas con Vh o VE, cumplieron aproximadamente 72 días de edad y presentaron un diestro, precedido de un estro, se estimularon, vía subcutánea con 8 UI de (eCG).

✚ **Grupo con estímulo gonadotrópico secuencial:** Con la finalidad de estimular la ovulación, ratas previamente tratadas con Vh o VE fueron estimuladas aproximadamente a los 72 días de edad en el día del diestro, precedido de un estro, con 8 UI de eCG y 56 horas después con 10 UI de hCG.

Eutanasia de animales

Todos los animales se sometieron a eutanasia al estro vaginal inmediato posterior a la estimulación gonadotrópica. Algunos animales de cada grupo experimental se sacrificaron por perfusión intracardiaca (n=4 aproximadamente) con el objetivo de seguir la metodología de preservación de órganos para la obtención de cortes que fueron utilizados en la inmunohistoquímica para FSHR. La otra parte se sacrificó por decapitación (n=7 aproximadamente).

Eutanasia por decapitación

Este método de eutanasia permite obtener la sangre troncal de cada animal. Una vez obtenida se dejó coagular a temperatura ambiente durante 30 min, posteriormente se centrifugó a 3500 rpm (revoluciones por minuto) por 15 minutos, y se recolectó el suero el cual se almaceno a -20 °C hasta el momento de la cuantificación de estradiol. Para poder evaluar la ovulación se procedió a disecar el oviducto y se contó el número de ovocitos con ayuda de un estereoscopio. A la necropsia se disecaron y pesaron el útero, las adrenales y los ovarios. Mientras que



los ovarios se fijaron en Bouin por 24 horas, para posteriormente almacenarlos en alcohol al 70% hasta el momento de su análisis morfológico y morfométrico.

Cuantificación de estradiol en suero

La concentración plasmática de estradiol fue cuantificada mediante la técnica de quimioluminiscencia con ayuda del equipo IMMULITE 1000 (Siemens Healthcare Diagnostics, USA). Se tomaron alícuotas de muestra de suero, las cuales se colocaron en un microtubo, una vez dentro del equipo, este tomo una parte de la muestra y la coloco junto con la fase solida (microesfera) la cual esta recubierta con anticuerpo policlonal de conejo (anti-estradiol). Después se agregó la fase liquida, es decir la hormona conjugada con la enzima fosfatasa alcalina (obtenida del intestino bovino) y se incubo por 60 minutos. Durante este tiempo, la hormona libre presente en la muestra compite con la hormona conjugada con la enzima por un número limitado de sitios de unión del anticuerpo de la microesfera. La muestra no unida y el conjugado con la enzima se eliminaron después mediante lavados por centrifugación. Posteriormente se añadió a la unidad de análisis que contiene la microesfera, el sustrato quimioluminiscente incubándose por 10 minutos y por último se generó una señal en proporción a la enzima unida. La concentración de estradiol se expresó como pg/mL.

Eutanasia por perfusión intracardiaca

Este método de eutanasia permitió evaluar la expresión del FSHR. Los animales fueron inyectados intraperitonealmente con una dosis letal de pentobarbital sódico (40 mg/kg de peso corporal), después de ello se realizó una perfusión intracardiaca con una bomba peristáltica (PUMP MED FLOW 4.0-8.5 mL/min, Thomas Scientific), a través de la cual se pasaron 150 mL de solución salina (solución para



limpiar los órganos), seguido de 150 mL de paraformaldehído (PFA) al 4% (solución fijadora), a una velocidad de 8mL/min. Al finalizar la perfusión con la solución fijadora se extrajeron los ovarios. Como controles positivos para la evaluación de la expresión del FSHR se utilizaron testículos obtenidos de ratas macho de 72 días de edad, y como control negativo adrenales. Estos tejidos fueron conservados en solución fijadora por 24 horas, y posteriormente fueron lavados 2 veces con un buffer de fosfatos (PBS) y colocados en alcohol al 70%, 90%, 96% y 100% por 45 minutos en cada uno, posteriormente se pasaron a xilol 1 y a xilol 2, cada cambio de 1 hora respectivamente. Después de la deshidratación se incluyeron en paraplast durante 1 hora y media hasta la realización de los cortes histológicos que se utilizaron en la inmunohistoquímica. Para ello, los ovarios, los testículos y las adrenales se deshidrataron en alcohol a diferentes grados, y fueron transferidos a xilol para facilitar la penetración del paraplast en el tejido. Una vez incluidos se realizaron cortes seriados de la parte medular de testículo, adrenal y ovario a 10, 6 y 10 μm , respectivamente y se colocaron sobre portaobjetos previamente silanizados, en el caso del testículo se colectaron 2 cortes por lámina y 4 cortes por lámina en el caso de la adrenal y los ovarios.

Inmunohistoquímica del FSHR

La inmunorreactividad del FSHR, se detectó utilizando un protocolo convencional basado en el método ABC-peroxidasa:

Los cortes de ovario, testículo y adrenal se desparafinaron, deshidrataron e incubaron por 30 minutos con peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al 1% para desactivar la peroxidasa endógena. Después se incubaron por 10 minutos con borohidruro de sodio (NaBH_4) al 1% para reducir los grupos aldehídos. Para facilitar la interacción del anticuerpo con el antígeno se utilizó una solución de citrato de sodio+Tween 20 a 10 mM, en la cual permanecieron por 30 minutos.



Luego, las laminillas se incubaron dentro de una cámara húmeda con solución de suero normal de bloqueo por dos horas a temperatura ambiente. Posteriormente se incubaron toda la noche a 4 °C con el anticuerpo primario en una cámara húmeda. Al día siguiente, se incubaron con el anticuerpo secundario durante 1 hora a temperatura ambiente y después con la solución Avidina-Biotina (AB) durante 1 hora.

El revelado de la marca se realizó con DAB (Diaminobencidina), y las secciones se contratiñeron con hematoxilina QS. Después, los cortes se hidrataron y se cubrieron con medio de montaje (Permanent Mounting Medium, VectaMount, H-5000; Vector, Inc., Burlingame, CA) para ser observados en el microscopio.

Para analizar la inmunoreactividad al FSHR, se tomaron microfotografías (a 4X y 10X) con un microscopio óptico (Nikon ECLIPSE E400) acoplado a una cámara digital (NIKON DS-U2). La cuantificación de la inmunoreactividad, medida en píxeles, se realizó con el software NIS-Elements (Nikon, software versión 3.0). Mediante un ajuste de brillo y contraste se optimizaron las características morfométricas de la imagen para eliminar el ruido de fondo y resaltar el color positivo. Posteriormente, a partir del control positivo se estableció un rango de intensidad para los objetos positivos.

En cada microfotografía tomada a 10X, se delimitaron los folículos primarios, secundarios, preovulatorios, prequistes y quistes, se seleccionó la intensidad establecida para el FSHR y se obtuvo el porcentaje de área inmuno-reactiva. Este porcentaje de área se convirtió a porcentaje de píxeles basado en un área de campo total de 1920000 px² (establecida por el programa NIS-Elements). Para evitar un conteo doble, sólo se tomaron en cuenta aquellos folículos que presentaron núcleo y nucléolo.



Valoración de la dinámica folicular

Tres ovarios de cada grupo experimental que se obtuvieron mediante eutanasia por decapitación, fueron fijados en solución de Bouin por 24 horas, después se deshidrataron en alcohol a diferentes concentraciones (80%, 96%, 100%) y cloroformo. Posteriormente, se incluyeron en paraplast (Surgipath, Paraplast, REF 39601006, Tissue Infiltration/Embedding Medium For Laboratory Use). Se realizaron cortes histológicos seriados a 10 μm de grosor y se tiñeron por la técnica de hematoxilina y eosina. Para la determinación del diámetro folicular, se midió con ayuda de un ocular micrométrico (de 1/100 divisiones), el diámetro mayor (D1) y el perpendicular a éste (D2), que corresponden a la distancia de las membranas basales (**Figura 11**).

El diámetro promedio (DP) se calculó con la relación: $D_p = (D1 + D2) / 2$, y se determinó solo en aquellos folículos cuyo ovocito presentó núcleo y nucleolo bien definido.

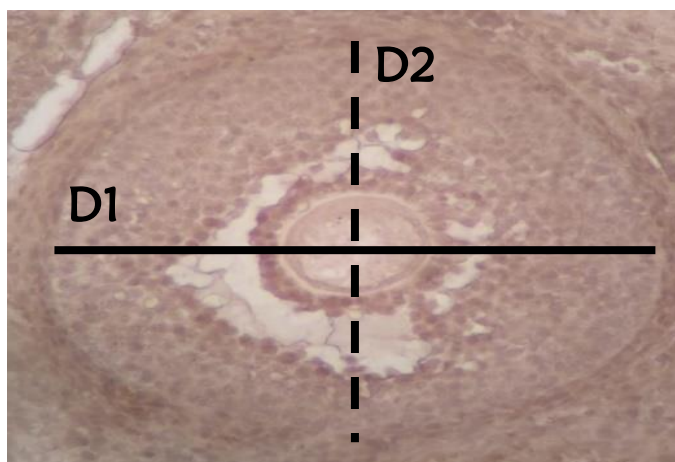


Figura 11. Representación esquemática de la medición del diámetro folicular. D1, diámetro mayor; D2, diámetro perpendicular.



La dinámica folicular se evaluó mediante el conteo y medición de folículos sanos, atrésicos, prequistes y quistes foliculares. Se clasificaron como folículos atrésicos aquellos que presentaron células granulosas picnóticas (Hirshfield, 1989), la capa tecal hipertrofiada, membrana basal separada y fragmentada (Byskov, 1974).

Como quistes aquellos que presentaron disminución de las capas de la granulosa, hiperplasia tecal, ausencia de ovocito y una amplia cavidad antral (Brawer y col., 1986; Lara y col., 2000). Y como prequistes a aquellos folículos que se encontraron en un estadio transitorio entre un preovulatorio normal y un quiste folicular, los cuales podían o no contener ovocito, con 4 a 5 capas de células de la granulosa, con una teca aparentemente normal, con invaginaciones y evaginaciones de la pared folicular (**Figura 12**) (Lara y col., 2000). Los folículos con un diámetro menor o igual a 349 μm se consideraron como folículos pequeños, los que presentaron un diámetro entre las 350 a 449 μm como folículos medianos y finalmente aquellos con un diámetro mayor o igual a 450 μm como folículos preovulatorios (Greenwald y Roy, 1994).

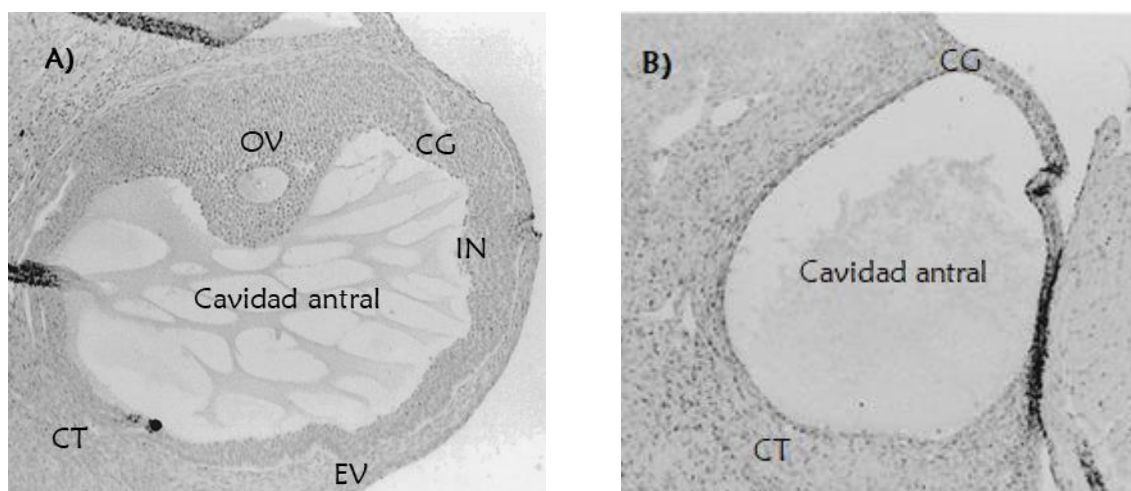


Figura 12. Aspectos morfológicos de a) prequiste y b) quiste folicular. CG, células de la granulosa; CT, células de la teca; OV, ovocito; IN, invaginaciones; EV, evaginaciones (Tomado y modificado de Lara y col., 2000).



Análisis estadístico

Los resultados del peso corporal, peso relativo de órganos (útero, adrenales y ovarios) y el porcentaje de pixeles de la expresión del FSHR se analizaron por la prueba de análisis de varianza multifactorial (ANDEVA), seguida de la prueba *post-hoc* de Tukey-Kramer. Cuando se realizó la comparación entre dos grupos se utilizó la prueba de “*t*” de Student. La tasa de animales ovulantes (número de animales ovulantes/número total de animales) se analizó por la prueba exacta de Fisher para proporciones. Los datos del número de ovocitos liberados y la dinámica del crecimiento folicular (folículos totales, sanos, atrésicos, prequistes y quistes) se muestran con la mediana y el rango intercuartil y se analizaron mediante la prueba U de Mann-Whitney. Un valor de p menor o igual a 0.05 fue considerado estadísticamente significativo. Todo el análisis estadístico se realizó utilizando el programa estadístico *GraphPad Prism 8.0.2*.

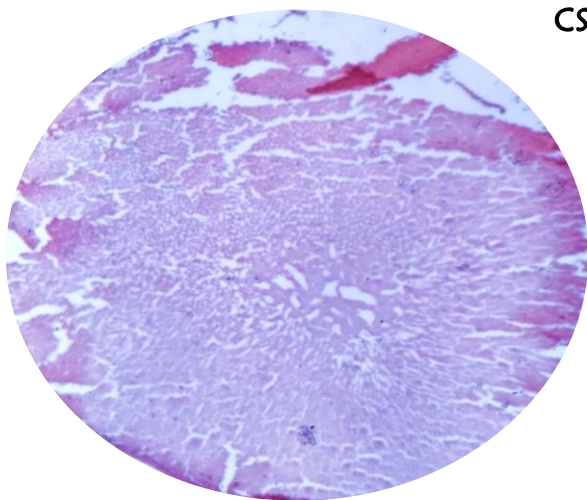


RESULTADOS

Efecto de la estimulación gonadotrópica sobre la expresión del FSHR en los folículos primarios, secundarios y preovulatorios de ovario de ratas con SOPQ.

La especificidad y validez de la técnica para la detección de la inmunorreactividad del FSHR se demostró a través de controles positivo y negativo. En la (Figura 13a) se observa la ausencia de la marca en color rojo-marrón en la adrenal (control negativo), en comparación con la (Figura 13b) donde se observa la marca en color rojo-marrón en las Células de Sertoli (CS)

a) Control negativo



Adrenal (8 μm)

b) Control positivo



Testículo (10 μm)

Figura 13. a) Corte histológico de adrenal a 8 μm , y tomada a (40X) donde se observa la ausencia de la expresión del FSHR (control negativo) y b) Corte histológico de testículo donde se muestra un túbulo seminífero a 10 μm y tomada a (40X) donde se observa la expresión de la marca del FSHR en las CS (control positivo).



Microfotografías del FSHR

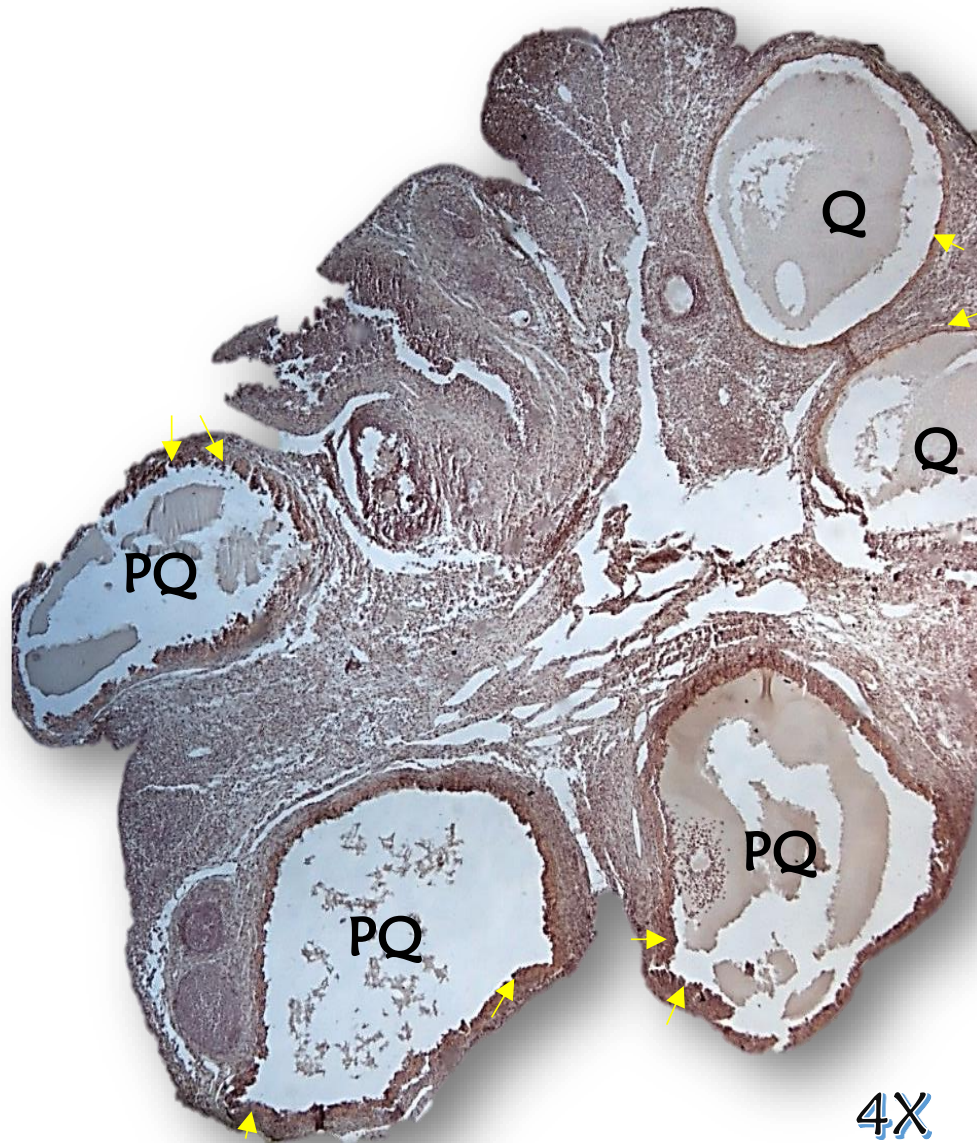


Figura 14. Microfotografía a 4X que muestra la expresión de la marca al FSHR en las células de la granulosa de los prequistes y quistes de ratas inyectadas a los 10 días de edad con Valerato de Estradiol (VE), las cuales fueron sometidas a eutanasia al estro vaginal inmediato a los 72 días de edad. Las flechas amarillas indican la expresión de la marca al FSHR. PQ: Prequiste; Q: Quiste.



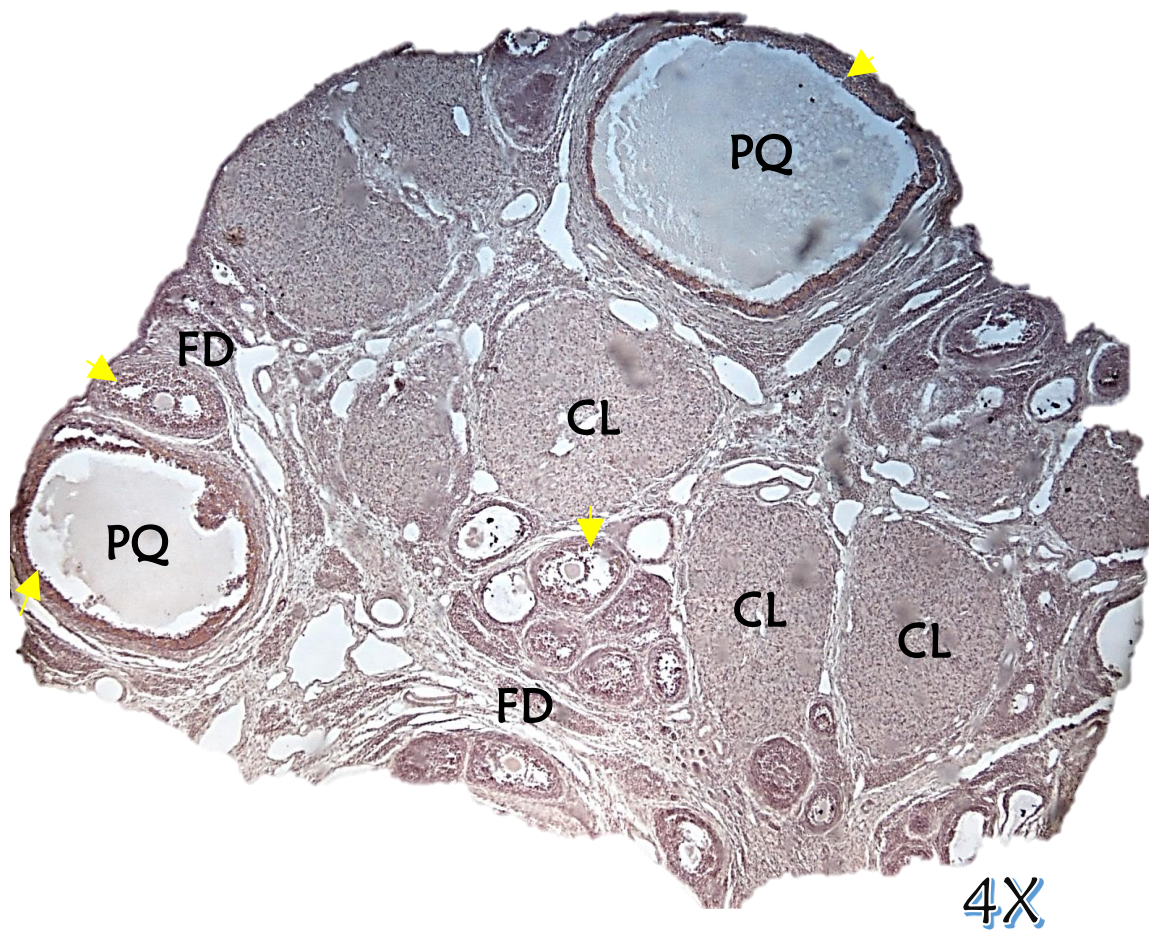


Figura 15. Microfotografía a 4X que muestra la expresión de la marca al FSHR en las células de la granulosa de los folículos en desarrollo y prequistes de ratas inyectadas a los 10 días de edad con Valerato de Estradiol (VE), que a los 72 días de edad se estimularon con 8 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG), las cuales fueron sometidas a eutanasia al estro vaginal inmediato a la estimulación gonadotrópica. Las flechas amarillas indican la expresión de la marca al FSHR. PQ: Prequiste; FD: Folículo en Desarrollo; CL: Cuerpo Lúteo.





4X

Figura 16. Microfotografía a 4X que muestra la expresión de la marca al FSHR en las células de la granulosa de los folículos en desarrollo y quistes de ratas inyectadas a los 10 días de edad con Valerato de Estradiol (VE), que a los 72 días de edad se estimularon con 8 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG), y 56 horas después con 10 UI de gonadotropina coriónica humana (hCG) las cuales fueron sometidas a eutanasia al estro vaginal inmediato a la estimulación gonadotrópica. Las flechas amarillas indican la expresión de la marca al FSHR. PQ: Prequiste; FD: Folículo en Desarrollo.



Folículos Primarios

En los animales Vh con estimulación secuencial, la expresión del FSHR en los folículos primarios, resultó menor respecto al grupo Vh estimulado con una gonadotropina. En los animales inyectados sólo con VE, la expresión del FSHR en estos folículos fue mayor por el ovario derecho respecto al ovario izquierdo del mismo grupo. En los animales VE con estimulación única la expresión del FSHR fue mayor en los folículos primarios observados en el ovario derecho, respecto al ovario izquierdo del mismo grupo. En comparación al ovario izquierdo de los animales tratados sólo con VE, se observó un aumento en la expresión del FSHR en aquellos animales tratados VE y estimulación secuencial (**Figura 17**).

Folículos Secundarios

La expresión del FSHR en los animales Vh con estimulación única fue mayor en los folículos secundarios, respecto a los animales inyectados sólo con Vh. En los animales Vh y estimulación secuencial la expresión del FSHR fue menor respecto al grupo Vh estimulado con una gonadotropina. En los animales inyectados con VE, la expresión del FSHR fue mayor cuando el estímulo gonadotrópico se realizó de manera secuencial en comparación con la estimulación única (**Figura 17**).

Folículos Preovulatorios

En los animales Vh con o sin estimulación gonadotrópica, se observó la expresión del FSHR en un folículo preovulatorio en la gónada derecha. En los animales tratados con VE, se observó presencia del FSHR en los folículos preovulatorios de animales con estimulación única y secuencial (**Figura 17**).



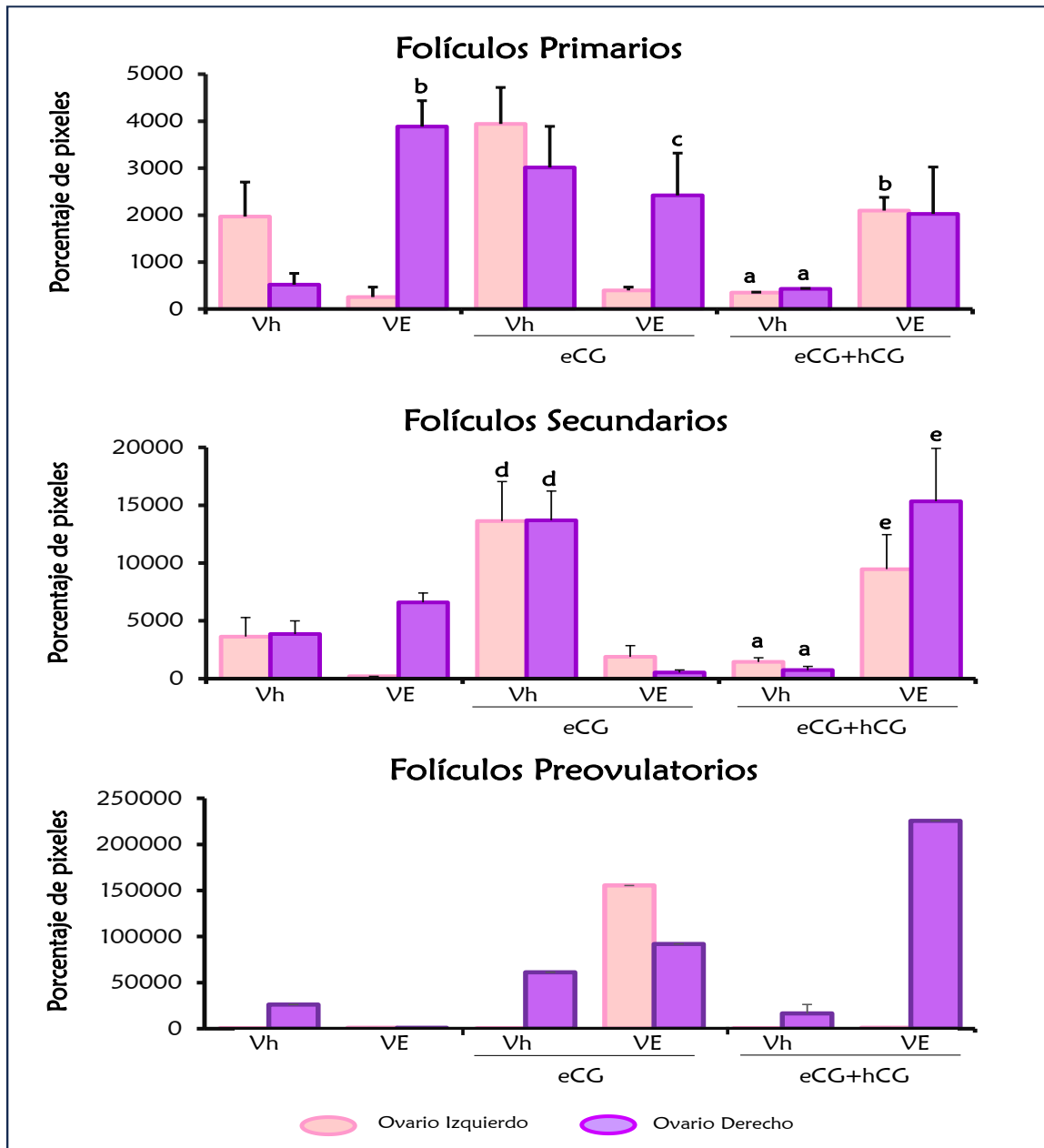


Figura 17. Media \pm eem del porcentaje de pixeles que representa la expresión del FSHR en **folículos primarios, secundarios y preovulatorios** del ovario izquierdo o derecho, de ratas inyectadas a los 10 días de edad con Vehículo (Vh) o Valerato de Estradiol (VE), que a los 72 días de edad algunos de ellos fueron estimulados con 8 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG), o bien con 8 UI de eCG y 56 horas después con 10 UI de gonadotropina coriónica humana (hCG) y sacrificados al estro inmediato a la estimulación gonadotrópica. a $p < 0.05$ vs Vh+eCG (su respectivo ovario); b $p < 0.05$ vs VE (ovario contralateral); c $p < 0.05$ vs VE+eCG (ovario contralateral), d $p < 0.05$ vs Vh (su respectivo ovario); e $p < 0.05$ vs VE+eCG (su respectivo ovario) (Prueba de ANDEVA, seguida de la prueba de Tuckey Kramer).



Efecto de la estimulación gonadotrópica sobre la expresión del FSHR en los prequistes, quistes y cuerpos lúteos de ovario de ratas con SOPQ.

Los cuerpos lúteos observados en los animales tratados con Vh y estimulación gonadotrópica no presentaron diferencias en la presencia del FSHR. En los animales tratados con VE no se observaron cuerpos lúteos (**Figura 18**). En el grupo Vh+eCG, se observó la presencia del FSHR solo en una estructura prequistica en la gónada derecha. En los animales tratados con VE, la expresión del receptor fue semejante en todos los grupos experimentales (**Figura 18**). En los animales Vh se observó la presencia de un quiste en el ovario izquierdo, un efecto similar se observó en los animales con estímulo gonadotrópico, pero en el ovario derecho. En los animales tratados con VE, y estimulación secuencial, la expresión del FSHR fue mayor en el ovario derecho, en comparación con el ovario izquierdo de este grupo (**Figura 18**).



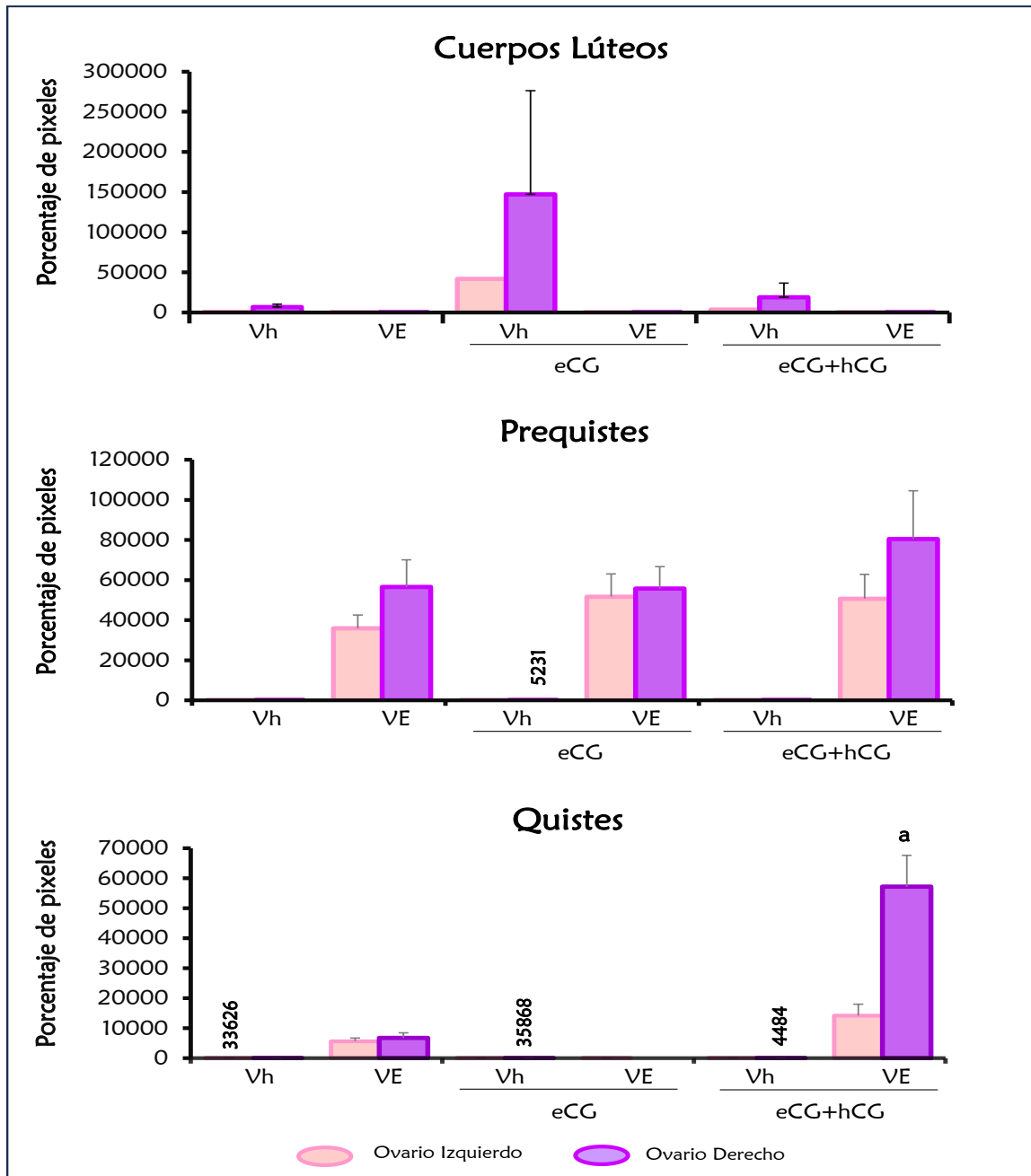


Figura 18. Media \pm eem del porcentaje de píxeles que representa la expresión del FSHR en **cuerpos lúteos**, **prequistes** y **quistes** del ovario izquierdo o derecho, de ratas inyectadas a los 10 días de edad con Vehículo (Vh) o Valerato de Estradiol (VE), que a los 72 días de edad algunos de ellos fueron estimulados con 8 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG), o bien con 8 UI de eCG y 56 horas después con 10 UI de gonadotropina coriónica humana (hCG) y sacrificados al estro inmediato a la estimulación gonadotrópica. a $p < 0.05$ vs VE+eCG+hCG (ovario izquierdo) (Prueba de ANDEVA, seguida de la prueba de Tuckey Kramer).



Efecto del estímulo gonadotrópico único o secuencial, sobre el peso corporal, la masa ovárica y el peso del útero.

En los animales inyectados con Vh y estimulación gonadotrópica secuencial, se observó un aumento en el peso corporal en comparación con los animales inyectados con Vh y estimulación única. Un efecto similar se observó en el peso de la masa ovárica respecto al grupo Vh. En los animales inyectados con VE y estimulación única o secuencial el peso del útero disminuyó, respecto a sus grupos Vh. En el grupo inyectado con VE+eCG la masa ovárica fue menor en comparación con el grupo Vh+eCG. En el grupo VE y estimulación gonadotrópica secuencial aumentó la masa ovárica en comparación con el grupo VE (**Cuadro 1**).

Cuadro 1. Media \pm eem del peso corporal y del peso relativo (mg/100 g de peso corporal) del útero y la masa ovárica, de ratas inyectadas a los 10 días de edad con Vehículo (Vh) o Valerato de Estradiol (VE), que a los 72 días de edad algunos de ellos fueron estimulados con 8 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG), o bien con 8 UI de eCG y 56 horas después con 10 UI de gonadotropina coriónica humana (hCG) y sacrificados al estro inmediato a la estimulación gonadotrópica.

Grupo	N	Peso corporal	Peso útero	Masa ovárica
Vh	7	229.9 \pm 18.9	128.9 \pm 22.6	21.4 \pm 4.6
Vh+eCG	7	217.6 \pm 6.0	159.9 \pm 4.8	31.2 \pm 0.9 ^a
Vh+eCG+hCG	7	238.7 \pm 5.5 ^b	158.9 \pm 7.2	33.8 \pm 2.7 ^a
VE	6	239.5 \pm 4.9	119.3 \pm 13.4	17.8 \pm 2.2
VE+eCG	11	227.3 \pm 6.8	117.4 \pm 8.7 ^b	21.6 \pm 2.4 ^b
VE+eCG+hCG	8	236.1 \pm 7.6	122.1 \pm 12.1 ^c	30.3 \pm 3.9 ^d

a $p < 0.05$ vs Vh; b $p < 0.05$ vs Vh+eCG; c $p < 0.05$ vs Vh+eCG+hCG; d $p < 0.05$ vs VE (Prueba de ANDEVA, seguida de Tukey Kramer).



Efecto del estímulo gonadotrópico único o secuencial sobre el número de folículos totales, sanos, atrésicos, quistes y cuerpos lúteos

En los animales inyectados con Vh o VE el tratamiento único o secuencial de gonadotropinas no modificó la mediana del número de folículos totales y sanos. En los animales inyectados con Vh y estimulación gonadotrópica única o secuencial se observó un aumento en la mediana de los folículos atrésicos en comparación con el grupo Vh. Un efecto similar se observó en los animales tratados sólo con VE. Sin embargo, en los animales VE+eCG se observó una disminución en la mediana de los folículos atrésicos respecto a los animales Vh+eCG. Los animales inyectados sólo con VE no mostraron cuerpos lúteos (**Cuadro 2**).

Cuadro 2. Mediana y rango intercuartílico del número de **folículos totales, sanos, atrésicos, quistes y cuerpos lúteos** de ratas inyectadas a los 10 días de edad con Vehículo (Vh) o Valerato de Estradiol (VE), que a los 72 días de edad algunos de ellos fueron estimulados con 8 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG), o bien con 8 UI de eCG y 56 horas después con 10 UI de gonadotropina coriónica humana (hCG) y sacrificados al estro inmediato a la estimulación gonadotrópica.

Tratamiento	Número de folículos				
	Totales	Sanos	Atrésicos	Quistes	Cuerpos lúteos
Vh	9 (2, 19)	10 (8.3, 40.3)	2 (1,5)	0	6 (6, 7)
Vh+eCG	20.5 (5, 40)	11.5 (1.8, 70)	22 (18, 30) ^a	0	6 (4, 8)
Vh+eCG+hCG	9 (4, 33)	9 (4.5, 57)	12.5 (3, 32.3) ^a	0	12 (10, 13)
VE	14.5 (3, 32)	16 (3, 42)	17.5 (5.3, 37.3) ^a	11 (5, 13)	0
VE+eCG	5.5 (2.3, 16)	4 (2, 28)	11 (2.5, 16) ^b	8 (4, 12)	6 (4, 7)
VE+eCG+hCG	5 (2, 29)	4.5 (2, 60)	13 (1.8, 26)	7 (3, 9)	9 (4, 9)

a $p < 0.05$ vs Vh; b $p < 0.05$ vs Vh+eCG (Prueba de U de Mann-Whitney).



Efecto de la estimulación gonadotrópica única o secuencial sobre el número de folículos sanos

En la histología ovárica de los animales tratados con Vh y estimulación secuencial no se observaron folículos con un diámetro de 50 a 100 μ m. Un efecto similar se observó en los animales tratados únicamente con VE (**Cuadro 3**).

Cuadro 3. Mediana y rango intercuartílico del número de **folículos sanos**, distribuidos en cuatro rangos de diámetro, de ratas inyectadas a los 10 días de edad con Vehículo (Vh) o Valerato de Estradiol (VE), que a los 72 días de edad algunos de ellos fueron estimulados con 8 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG), o bien con 8 UI de eCG y 56 horas después con 10 UI de gonadotropina coriónica humana (hCG) y sacrificados al estro inmediato a la estimulación gonadotrópica.

Tratamiento	Número de folículos sanos			
	50-100 μ	101-349 μ	350-449 μ	$\geq 450 \mu$
Vh	19(10,20)	51(47,113)	9(8,10)	8(2,10)
Vh+eCG	12(11,42)	74(68,87)	2(1,3)	1.5(1,2)
Vh+eCG+hCG	0	58(55,61)	8(5,9)	6.5(4,9)
VE	0	22(16,61)	3(3,3)	3(3,3)
VE+eCG	5(4,6)	44(28,59)	3(1,5)	2(1,3)
VE+eCG+hCG	5.5(4,7)	70(57,109)	3(2,5)	1.5(1,2)



Efecto de la estimulación única o secuencial sobre la respuesta ovulatoria

La inyección con VE bloqueó la respuesta ovulatoria en ambos ovarios. El estímulo único o secuencial, revierte parcialmente este bloqueo, donde el ovario derecho presenta un mayor porcentaje de animales ovulantes (**Figura 19a**). La mediana de la cuota ovulatoria de estos animales fue similar a la de los animales Vh (**Figura 19b**).

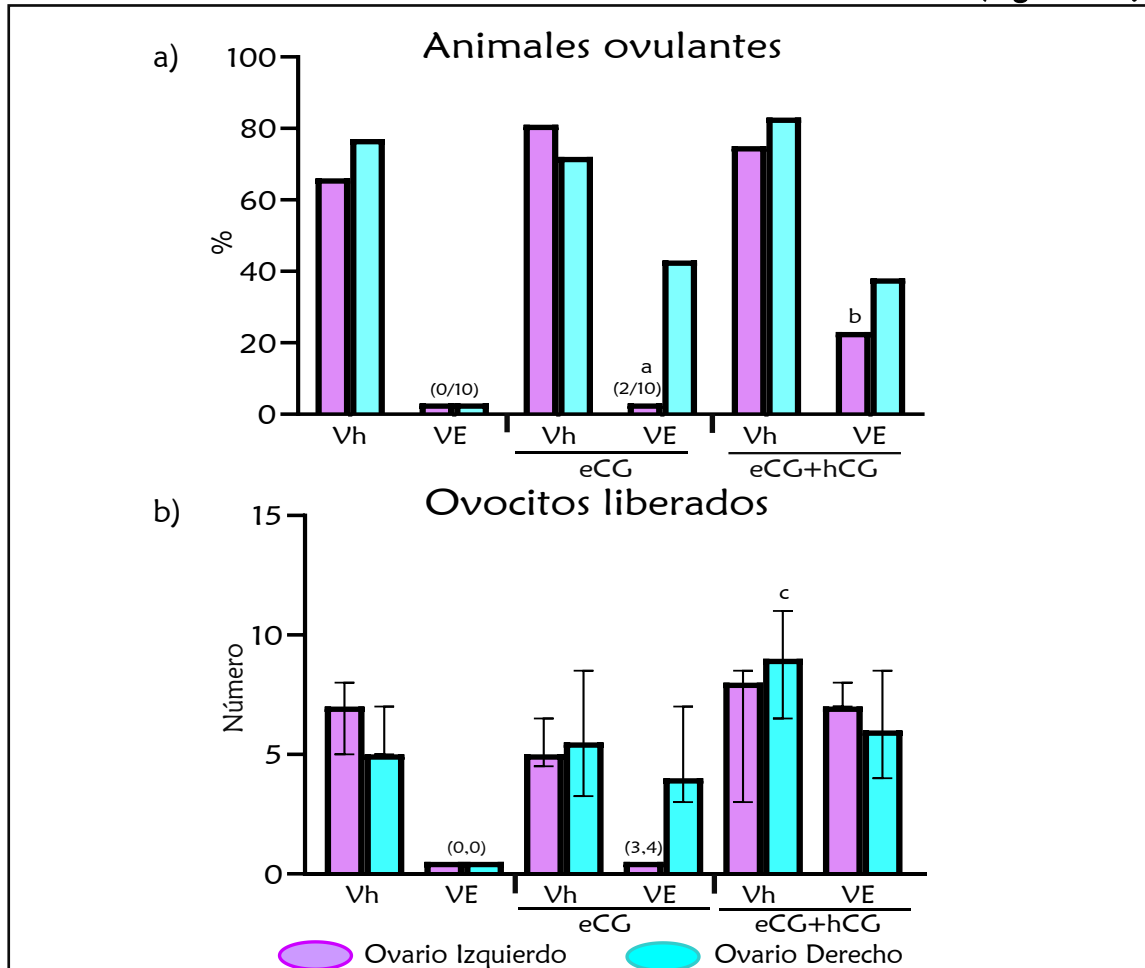


Figura 19. a) Porcentaje de animales ovulantes **b)** Mediana y el rango intercuartílico del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo y derecho de ratas inyectadas a los 10 días de edad con Vehículo (Vh) o Valerato de Estradiol (VE), que a los 72 días de edad algunos de ellos fueron estimulados con 8 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG), o bien con 8 UI de eCG y 56 horas después con 10 UI de gonadotropina coriónica humana (hCG) y sacrificados al estro inmediato a la estimulación gonadotrópica. a $p < 0.007$ vs. Vh+eCG (ovario izquierdo); b $p < 0.02$ vs. Vh+eCG+hCG (ovario izquierdo); c $p < 0.0302$ vs. Vh (ovario derecho) (Prueba exacta de Fisher para porcentaje de animales ovulantes y Prueba U de Mann-Whitney para número de ovocitos liberados).



Efecto del estímulo gonadotrópico sobre la concentración de estradiol

En los animales inyectados con Vh y estimulación gonadotrópica única o secuencial, se observó una disminución en la concentración de estradiol, respecto al grupo Vh. Un efecto similar se observó en los animales inyectados con VE, respecto al grupo Vh (**Figura 20**).

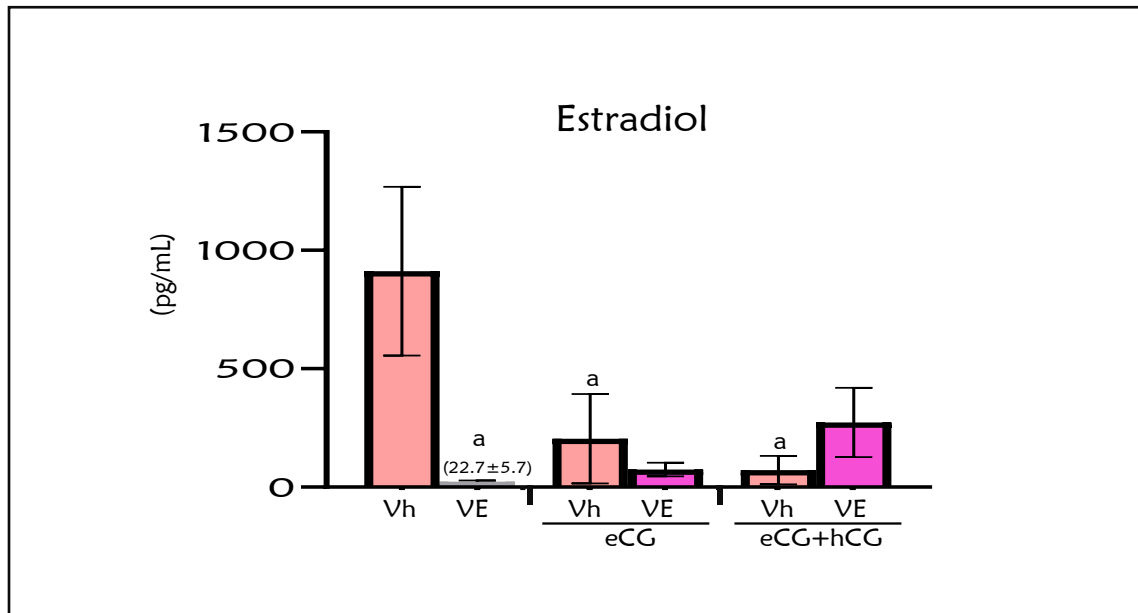


Figura 20. Media \pm eem de la concentración de estradiol de ratas inyectadas a los 10 días de edad con Vehículo (Vh) o Valerato de Estradiol (VE), que a los 72 días de edad algunos de ellos fueron estimulados con 8 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG), o bien con 8 UI de eCG y 56 horas después con 10 UI de gonadotropina coriónica humana (hCG) y sacrificados al estro inmediato a la estimulación gonadotrópica. a $p < 0.05$ vs Vh (Prueba "T" de Student).



DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Efecto del estímulo gonadotrópico en ratas con SOPQ

Los resultados del presente estudio muestran que, en los animales con VE y estimulación única o secuencial de gonadotropinas cerca del 40% de los animales ovularon, con una cuota ovulatoria semejante a la de animales Vh, esto se acompañó de la reactivación de la dinámica folicular y una mayor expresión del FSHR en folículos primarios y secundarios. No se observaron cambios en la concentración de estradiol. En el presente estudio se observó un bloqueo en la ovulación en los animales inyectados con VE, tal y como ha sido mostrado por otros autores (Barria y col., 1993; Rosa-E-Silva y col., 2003; Morales y col., 2010). Sin embargo, los animales con SOPQ y estimulación única o secuencial con gonadotropinas presentaron una ovulación parcial, estos resultados son una evidencia más de que el desarrollo del SOPQ se debe, en parte, a la modificación en los pulsos de secreción de la GnRH, tal y como ha sido sugerido por Hemmings y colaboradores en 1983.

Aunado al estímulo neuroendocrino se sabe que el desarrollo folicular que culmina con la ovulación es regulado por una vía nerviosa (Aguado y Ojeda, 1984), por lo que no descartamos que en nuestro modelo la acción de las gonadotropinas se vea amplificada por los neurotransmisores que llegan a la gónada vía la inervación extrínseca. En apoyo a esta interpretación Mayerhofer y colaboradores en 1997 mostraron que el cultivo de células de ovario de ratas de 2 días de edad en presencia de NA+FSH o VIP+FSH induce la formación de FSHR biológicamente activos, lo cual fue corroborado por el incremento en la concentración de AMPc. Este evento, aumenta la producción de estrógenos a través de las células de la granulosa, como resultado de una mayor actividad de las aromatasas (George y Ojeda, 1987). Por otro lado, en las células de la granulosa, aumenta la expresión del gen que codifica al Ligando Kit (KL) (Packer y col., 1994), la cual es una molécula de señalización intracelular involucrada en la regulación del crecimiento folicular



(Huang y col., 1993). El KL es secretado por las células de la granulosa de los folículos primordiales y primarios, actúa en el ovocito, la teca y las células del estroma. La unión del KL a su receptor activa las vías de señalización de la fosfatidilinositol-3-quinasa (PI3K) y la proteína quinasa activadora de mitógenos (MAPK) que actúan en diferentes etapas del desarrollo folicular, regulando su desarrollo y supervivencia (Driancourt y col., 2000). También se ha demostrado que el KL es un factor anti apoptótico para los ovocitos y los folículos en el cultivo ovárico (Abdi y col., 2015). Debido a lo anterior podemos sugerir que los neurotransmisores como el VIP y NA logran amplificar el efecto de las gonadotropinas en animales con SOPQ, desencadenando la activación de factores como KL reactivando así el desarrollo folicular. Sin descartar que, el AMPc regula el desarrollo folicular al inducir la síntesis de receptores a gonadotropinas (Mayerhofer y col., 1997).

En los animales VE aumentó el número de folículos atrésicos y se observó la presencia de quistes, estos resultados son semejantes a los encontrados por Rosa-E-Silva y colaboradores en el 2003. Es probable que la atresia se deba a un exceso de testosterona, la cual puede llegar a alterar etapas tempranas de la foliculogénesis lo que conlleva al detenimiento del crecimiento folicular (Rojas-García y col., 2014) y a la aparición de quistes con reducidas capas de la granulosa e hipertecosis (Brawer y col; 1986). Se ha señalado también que la formación de quistes, puede deberse a una hiperactivación de los nervios simpáticos que llegan al ovario. Esta activación está dirigida por un incremento de la expresión intraovárica de los genes que codifican al NGF, y su receptor de baja afinidad, el receptor p75 (Lara y col., 2000). El NGF viaja de manera retrograda hasta el GCMS, al llegar genera un incremento en la actividad de la TH la cual es la enzima limitante en la síntesis de las catecolaminas. Con ello aumenta la liberación de NA, lo que se traduce en una hiperactividad simpática que llega a la gónada vía el NOS favoreciendo la condición de hiperandrogenismo y estimulando la formación de quistes, aunque el mecanismo aun es desconocido.



En los animales con VE y estimulación gonadotrópica única o secuencial, se observó un aumento en el número de cuerpos lúteos, que se acompañó de la disminución de quistes foliculares. En los últimos años se ha establecido que la velocidad de crecimiento de los folículos depende también de factores secretados por ellos mismos y que están implicados en el desarrollo folicular y la maduración ovocitaria, algunos de ellos son los factores de crecimiento de fibroblastos (FGF), los cuáles constituyen un grupo de reguladores paracrinicos que actúan sobre el folículo (Van Der Hurk y Zhao, 2005). Entre sus funciones los FGF regulan la proliferación, diferenciación, migración, esteroidogénesis y angiogénesis celular (Itoh y Ornitz 2008; Beenken y Mohammadi 2009). Otras moléculas implicadas en la regulación de este proceso son el factor de crecimiento y diferenciación 9 (GDF-9), la proteína morfogenética ósea (BMP 15), las cuales estimulan la proliferación de las células de la granulosa (Gilchrist y col., 2004), y las activinas que promueven la proliferación celular y la esteroidogénesis (Thomas y col., 2008), todas estas moléculas aumentan ante la estimulación gonadotrópica. Asimismo, se ha postulado que la administración exógena de FSH reactiva el crecimiento folicular ya que al aumentar su concentración se induce la actividad aromatasa en las células de la granulosa, (Vantman y Vega, 2010). También se sugiere que los folículos que se encontraban en atresia temprana son rescatados debido a la actividad mitogénica de la FSH (Rojas, 1995). Incluso los folículos pueden llegar a tener una tasa normal de crecimiento (Messinis y col., 2010).

El mecanismo por el cuál la FSH rescata a los folículos de la atresia es a través del estímulo de la secreción de factores de supervivencia tales como, el Factor de Crecimiento Epidermal (eGF), el Factor de Crecimiento Transformante α (TGF α), bFGF, el Factor de Crecimiento similar a la Insulina (IGF-I) y los estrógenos (Hsueh y col., 1994).



La inhibición de la apoptosis mediada por gonadotropinas en células de la granulosa de los folículos está vinculada en parte con los cambios en la expresión de varios genes relacionados con la cascada de muerte celular (Rosales y Guzmán, 2008), y con la disminución de la expresión de Fas, una proteína proapoptica, que se une con su FasL en células foliculares y activa el mecanismo de la muerte por apoptosis. Por lo tanto, sugerimos que, en los animales con VE y estimulación única o secuencial con gonadotropinas, una posible explicación es que, disminuyó la expresión de Fas lo cual inhibió la apoptosis celular y rescató a los folículos de la atresia. Por lo tanto, podemos decir que a pesar de que las gonadotropinas son los factores más importantes para la sobrevivencia folicular y la ovulación, existen otros factores que actúan de manera endocrina, paracrina, autócrina y yuxtácrina sobre la maduración del folículo y regulan la ovulación (McGee y Hsueh, 2000).

En nuestro estudio, observamos que en los animales VE la masa ovárica disminuyó debido al detenimiento del crecimiento folicular y ausencia de cuerpos lúteos, tal y como ha sido reportado por Lara y colaboradores (1993). Mientras que, en los animales VE y estimulación secuencial aumentó el peso de la gónada debido a la reactivación del crecimiento folicular, sin embargo, la concentración de estradiol se mantuvo baja. Por lo anterior, nosotros sugerimos que la estimulación única o secuencial con gonadotropinas podría ser una alternativa de tratamiento en aquellas mujeres que padecen SOPQ asociado con alteración en la secreción de gonadotropinas, ya que dicho tratamiento estimula la reactivación del desarrollo folicular y con ello la ovulación.

En el presente estudio observamos que en nuestros animales inyectados solo con VE, la concentración de estradiol fue menor, esto lo atribuimos al detenimiento del crecimiento folicular. Cabe mencionar que con la disminución de estradiol también se ve disminuida la sensibilidad del folículo a la FSH (Adashi y Hsueh, 1982). Sin embargo, en los animales VE con estimulación de gonadotropinas se observó una reactivación del crecimiento folicular, aunque las concentraciones de estradiol se mantuvieron bajas. Estos resultados nos permiten sugerir que los eventos que



regulan el desarrollo folicular y la secreción de hormonas esteroides son diferentes, sin descartar los cambios en la sensibilidad de los receptores a las gonadotropinas.

En los animales tratados con VE la expresión del FSHR aumentó en los folículos primarios, secundarios, prequistes y quistes, siendo mayor en el ovario derecho. Es posible que, aunque el receptor este presente en estas estructuras, este no sea funcional o que existan fallas, al momento de la interacción hormona-receptor, que alteren la cascada de señalización, y que repercuta en la producción de AMPc, la activación de las proteínas cinasa A (PKA) y la subsecuente fosforilación de proteínas estructurales, enzimas y activadores de la transcripción (Simoni y col., 1997), lo cual explicaría el detenimiento del crecimiento folicular y la consecuente anovulación observada en estos animales.

En los animales VE con estimulación gonadotrópica única se observó un aumento en la expresión del FSHR, en los folículos primarios siendo mayor por el ovario derecho, en preovulatorios fue mayor por el ovario izquierdo, mientras que en los prequistes la expresión fue semejante en ambos ovarios. Sin embargo, en los animales con estimulación secuencial la expresión en los folículos primarios fue simétrica, mientras que, en los secundarios, preovulatorios, prequistes y quistes fue mayor por el ovario derecho. En ambos modelos esto se acompañó de la reactivación del crecimiento folicular. Estos resultados son una evidencia más de las asimetrías entre las gónadas. Ya que de acuerdo con Domínguez y Cruz-Morales (2003), las señales y respuestas del ovario izquierdo y el ovario derecho son diferentes. Es posible que estos resultados se deban a la diferencia en el aporte nervioso que reciben las gónadas. En apoyo a esta interpretación Klein y Burden (1988) mostraron que en ratas a las cuáles se les inyectó true blue, un marcador retrogrado, y posteriormente se les realizó la sección unilateral del NOS o del NPO, la gónada derecha presenta un mayor aporte nervioso que la gónada izquierda, por lo que sugieren que existe asimetría en el número de fibras que se proyectan desde el GCMS hacia los ovarios. Lo anterior explicaría las diferencias en la expresión del FSHR observadas en el presente estudio. Otra posible explicación es



que ésta diferencia en la expresión se deba a la presencia de varias moléculas involucradas en la activación del FSHR, una de ellas es la activina la cual es capaz de inducir la formación de FSHR en las células de la granulosa durante etapas tempranas del crecimiento folicular (Hasegawa y col., 1988; Nakamura y col., 1995). Además, se sabe que su efecto es sinérgico al de AMPc, lo cual estimula aún más la expresión del FSHR (Nakamura y col., 1995).

Efecto del estímulo gonadotrópico en ratas vh

En los animales con Vh y estimulación única o secuencial de gonadotropinas cerca del 100% de los animales ovularon, con una cuota ovulatoria semejante a los Vh, lo cual se acompañó de una disminución en la concentración de estradiol. Sin embargo, podemos decir que el estímulo con gonadotropinas ya sea único o secuencial, tiene un efecto potencial ya que reactivó la dinámica folicular y la ovulación. En cuanto a la expresión del FSHR, hay un aumento en los folículos primarios, secundarios y cuerpos lúteos.

En el presente estudio se observó que los animales Vh con estimulación única o secuencial con gonadotropinas ovularon de manera semejante a un animal Vh sin estímulo gonadotrópico. Sin embargo, los animales Vh con estímulo secuencial mostraron una tendencia al aumento en cuanto a la mediana del número de ovocitos liberados, aunque no llegó a ser estadísticamente significativo. Se ha mostrado que en el modelo de estimulación secuencial además del papel que ejerce la FSH sobre el crecimiento y la maduración folicular, la LH desencadena cascadas de eventos bioquímicos estrechamente relacionados con la liberación del ovulo y posteriormente con la diferenciación de los restos foliculares en cuerpos lúteos funcionales (Goh, 1994), por lo que la estimulación secuencial acelera el proceso de maduración; así como la liberación de los óvulos. También se ha sugerido que es importante administrar una dosis más alta de LH después de la estimulación con FSH, para garantizar que todos los ovocitos que maduran hasta la etapa adecuada



puedan ser ovulados (Tain y col., 2000). Durante el proceso de estimulación tanto el momento como la dosis de FSH determinan el número de folículos reclutados, por lo que la combinación de FSH y LH resulta ser un tratamiento efectivo, ya que la acción de ambas gonadotropinas se complementa para la adecuada maduración folicular y posteriormente la ovulación. De acuerdo a Rojas en 1995, se han sugerido varios mecanismos de acción de las gonadotropinas, que conllevan a un aumento en la tasa de ovulación, uno implica que los folículos que se encontraban en atresia temprana son rescatados como consecuencia del aumento de la actividad mitótica. Vantman y Vega en el 2010 detalló que el desarrollo folicular depende de los efectos tróficos de las gonadotropinas, generándose así una cohorte de folículos en crecimiento de los cuales se seleccionará el folículo dominante. En esta etapa de desarrollo, las CG que ya han expresado para los FSHR y estradiol, desarrollan, además, receptores para LH. A diferencia de lo descrito para los FSHR, la concentración de los receptores de LH cambia durante la diferenciación de las CG.

En los animales Vh se observaron folículos sanos, ausencia de quistes y presencia de cuerpos lúteos. En los animales con Vh y estimulación única o secuencial se observó un aumento en el número de folículos atrésicos. Aunque se dio el estímulo gonadotrópico, la atresia se puede presentar como un proceso natural. De acuerdo a Townson y Combelles (2012), en mujeres adultas la atresia asegura que solo los folículos más saludables con ovocitos de óptima calidad para la fertilización, permanezcan disponibles. Es por ello, que existe una relación entre el número de folículos en crecimiento, la velocidad de crecimiento y la proporción de folículos que se atrofian, evitando de esta forma que el número de folículos de todos los tamaños sea constante. Al variar alguno de estos tres procesos durante el ciclo estral, permite que haya ondas de folículos en crecimiento y, por lo tanto, el número de folículos de un determinado tamaño es diferente a lo largo del ciclo estral. La atresia parece ser el final del crecimiento folicular y los folículos que ovulan son la excepción (Hirshfield y Midgley, 1978). Se ha estimado que, a lo largo de la vida reproductiva, un 99.9% de todos los folículos se atrofian y sólo un 0.1%



eventualmente ovulan (Schwartz, 1974). El número de cuerpos lúteos aumento en los animales con estimulación secuencial, esto debido al efecto luteinizante de la hCG (Sadler, 2008).

El aumento en el peso de las gónadas observado en nuestros animales con estimulación única o secuencial, puede ser explicado por la reactivación del crecimiento folicular, así como por la formación de cuerpos lúteos. Aunque no descartamos que el peso de las gónadas esté dado por los otros compartimentos del ovario, como el intersticial (Ying y Zhang, 1999).

La concentración de estradiol en los animales Vh estimulados con gonadotropinas fue menor que la observada en los animales inyectados sólo con el Vh. De acuerdo a Góngora y Velásquez (2021), los folículos preovulatorios son los principales productores de estradiol debido a su alta capacidad esteroideogénica, en nuestro estudio observamos que los animales con estimulación gonadotrópica presentaron un menor número de folículos preovulatorios, lo cual explicaría la disminución en la concentración de estradiol.

La expresión del FSHR en los animales Vh, es evidente en los folículos primarios y secundarios. En el caso de los primarios la expresión fue mayor por el ovario izquierdo, sin embargo, en los folículos secundarios la expresión fue similar en ambos ovarios.

En animales con Vh y estimulación única, la expresión del FSHR está presente en los folículos primarios, secundarios y cuerpos lúteos. Sin embargo, en los folículos primarios la expresión fue mayor por el ovario izquierdo, en los secundarios la expresión fue simétrica y en los cuerpos lúteos la mayor expresión se observó en el ovario derecho. Es posible que la expresión del FSHR en estas estructuras pueda deberse a la activación de un mecanismo que permita rescatar a los folículos de la atresia. En apoyo a esta idea Zhou y colaboradores en el (2013) mostraron que las CG de folículos dominantes de ovarios de rata en presencia de FSH expresan bajas concentraciones de ARN mensajero (ARNm), de factores proapoptóticos como



BIM, caspasa-9 y caspasa-3, por lo que sugieren que la FSH previene la atresia folicular a través de la inhibición de la vía de la apoptosis mitocondrial.

En los animales Vh con estimulación secuencial la expresión del receptor fue menor en los folículos primarios y secundarios. Estos resultados se ven respaldados por los estudios de LaPolt y colaboradores en 1992, en donde la inducción de la ovulación con hCG disminuyó tanto la afinidad de unión del receptor, como las concentraciones de ARNm del FSHR dentro de las primeras 6 horas, con una inhibición máxima 24 horas después del tratamiento con hCG, a pesar de que las concentraciones de ARNm del FSHR aumentaron 5 días después de la estimulación con hCG, la afinidad del FSHR se mantuvo baja. Debido a lo anterior podemos asumir que la estimulación con hCG, puede estar provocando una desensibilización del FSHR y en consecuencia una disminución en la afinidad del FSHR hacia la hormona. Es relevante mencionar que también hay otros factores tanto endocrinos y paracrinos que pueden regular de manera inhibitoria la expresión del FSHR, tal como el eGF (Tilly y col., 1992).

Tomados en conjunto los resultados del presente estudio nos permiten sugerir que, en el SOPQ, la estimulación con gonadotropinas única o secuencial resulta ser un tratamiento efectivo para reactivar el crecimiento folicular y en consecuencia la ovulación.



MODELO EXPERIMENTAL

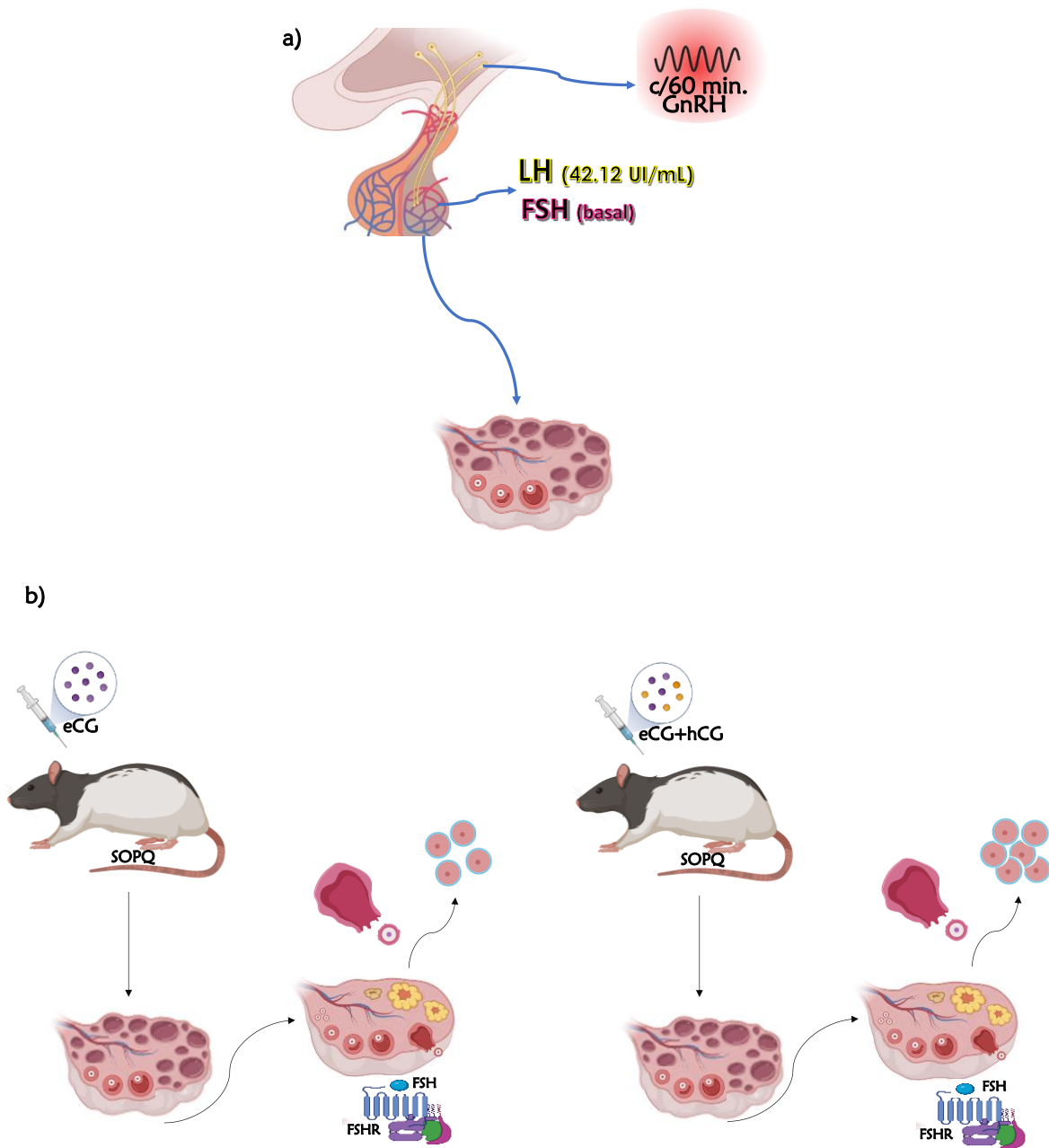


Figura 21. Modelo experimental donde se muestra que a) en ratas con SOPQ, inducido por la inyección de VE, se presenta un incremento en la frecuencia y amplitud de la GnRH, la cual ocurre cada 60 minutos, lo que favorece la condición de hiperandrogenismo, anovulación y la formación de quistes foliculares, características de diagnóstico del SOPQ. En b) se observa que la estimulación con eCG restablece el crecimiento folicular, lo cual culmina en ovulación, sin embargo, esta respuesta es mejor cuando se administra eCG+hCG, ya que los animales presentaron un mayor número de ovocitos liberados.



CONCLUSIONES

- ✚ La estimulación gonadotrópica única o secuencial resultó ser un tratamiento eficaz en los animales con SOPQ, ya que reactiva parcialmente el crecimiento folicular y la ovulación. La estimulación con gonadotropinas, probablemente activó mecanismos de rescate en los folículos atrésicos.
- ✚ La expresión del FSHR aumento en los animales con SOPQ.
- ✚ En ratas con SOPQ, la administración de gonadotropinas restablece el eje de regulación hipotálamo-hipófisis-ovario.



REFERENCIAS

- Abbott, H. Dumesic, A. Eisner, R. Colman, J. Kemnitz, W. (1998). Insights into the development of polycystic ovary syndrome (PCOS) from studies of prenatally androgenized female rhesus monkeys. *Trends Endocrinol Metab*, 9(2): 62-67.
- Abdi, S. Salehnia, M. Hosseinkhani, S. (2015). Kit ligand decreases the incidence of apoptosis in cultured vitrified whole mouse ovaries. *Reprod Biomed Online*, 30(5): 493-503.
- Adashi, E. Hsueh, A. (1982). Estrogens augment the stimulation of ovarian aromatase activity by follicle-stimulating hormone in cultured rat granulosa cells. *J. Biol. Chem*, 257(11): 6077-6083.
- Aguado, L. Ojeda, S. (1984). Prepubertal ovarian function is finely regulated by direct adrenergic influences. Role of noradrenergic innervation. *Endocrinology*, 114(5): 1845-1853.
- Ajika, K. Krulich, L. Fawcett, C. McCann, S. (1972). Effects of estrogen on plasma and pituitary gonadotropins and prolactin, and on hypothalamic releasing and inhibiting factors. *Neuroendocrinology*, 9(5): 304-315.
- Albertini, D. (2015). Cap. 2 The mammalian oocyte. En Knobil y Neill's (Eds.), *Physiology of Reproduction* (4° ed., pp.59-97). Estados Unidos de América: Editorial Academic Press.
- Anderson, R. Newton, C. Anderson, R. Millar, R. (2018). Gonadotropins and Their Analogs: Current and Potential Clinical Applications. *Endocrine Reviews*, 39(6): 911-937.
- Andrews, W. Ojeda, S. (1981). A Quantitative Analysis of the Maturation of Steroid Negative Feedbacks Controlling Gonadotropin Release in the Female Rat: Transition From an Androgenic to a Predominantly Estrogenic Control. *Endocrinology*, 108(4): 1313-1320.
- Araya, V. Jara, P. Lara, H. (2004). Cerebro, estrés y ovario poliquístico. Participación de la inervación simpática en el desarrollo de ovario poliquístico. *Endocrinol Nutr*, 51(8): 473-477.
- Azziz, R. Carmina, E. Dewailly, D. Diamanti-Kandarakis. Escobar-Morreale, H. Futterweit, W. Janssen, O. Legro, R. Norman, R. Taylor, A. Witchel, S. (2009). The Androgen Excess And PCOS Society criteria for the polycystic ovary syndrome: the complete task force report. *Fertility and Sterility*, 91(2): 456-488.



Azziz, R. Carmina, E. Dewailly, D. Diamanti-Kandarakis, E. Escobar-Morreale, H. Futterweit, W. Janssen, O. Legro, R. Norman, R. Taylor, A. Witchel, S. (2006). Androgen Excess Society. Positions statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an Androgen Excess Society guideline. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 91(11): 4237–4245.

Azziz, R. Woods, K. Reyna, R. Key, T. Knochenhauer, E. Yildiz, B. (2004). The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in an unselected population. *J Clin Endocrinol Metab*, 89(6): 2745–2749.

Baker, T. (1963). A Quantitative and Cytological Study of Germ Cells in Human Ovaries. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*, 22(158): 417-433.

Balceiro, L. Inda, D. Garay, M. Álvarez, M. Domínguez, Niurka. Quiñones, A. (2019). Síndrome de ovarios poliquísticos. Entidad que demanda diagnóstico temprano. *Revista Médica Electrónica*, 41(4): 940-958.

Barria, A. Leyton, V. Ojeda, S. Lara, H. (1993). Ovarian steroidal response to gonadotropins and β -adrenergic stimulation is enhanced in polycystic ovary syndrome: Role of sympathetic innervation. *Endocrinology*, 133(6): 2696-703.

Baulieu, E. (1991). The steroid hormone antagonist RU486. Mechanism at the cellular level and clinical applications. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 20(4): 873-91.

Becú-Villalobos, D. Lacau-Mengido, M. (1990). Control Hormonal del Desarrollo Puberal en la Rata Hembra. *Acta Physiology Pharmacology Latinoamerican*, 40(1): 1-17.

Beenken, A. Mohammadi, M. (2009). The FGF family: biology, pathophysiology and therapy. *Nat. Rev. Drug Discov*, 8(3): 235–253.

Ben-Or, S. (1963). Morphological and Functional development of the ovary of the mouse. *Journal of embryology and experimental morphology*, 11: 1-11.

Bergers, G. Benjamin, L. (2003). Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nat Rev Cancer*, 3(6): 401-10.

Besedovsky, H. Del Rey, A. (1996). Immune-neuro-endocrine interactions: facts and hypotheses. *Endocr. Rev*, 17(1): 64-102.

Blank, S. McCartney, C. Chhabra, S. Helm, K. Eagleson, C. Chang, R. Marshall, J. (2009). Modulation of gonadotropin releasing hormone pulse generator sensitivity



to progesterone inhibition in hyperandrogenic adolescent girls implications for regulation of pubertal maturation. *J Clin Endocrinol Metab*, 94(7): 2360–2366.

Blank, S. McCartney, C. Helm, K. Marshall, J. (2007). Neuroendocrine effects of androgens in adult polycystic ovary syndrome and female puberty. *Semin Reprod*, 25(5): 352–359.

Bogerd, J. (2007). Ligand-selective determinants in gonadotropin receptors. *Mol Cell Endocrinol*, 260–262: 144–52.

Brann, D. Mahesh, V. (1991). Role of corticosteroids in female reproduction. *The FASEB Journal*, 5(12): 2691-2698.

Bravo-Benítez, J. Medel, A. Mirto-Aguilar, N. Cruz, Y. Morán, C. (2021). El Cuerpo Lúteo, nuevos mecanismos de regulación y su asociación con la infertilidad. *Revista eNeurobiología*, 12(30): 1-15.

Brawer, J. Muñoz, M. Farookhi, R. (1986). Development of the polycystic ovarian condition. (PCOS) in the estradiol valerate-treated rat. *Biology of Reproduction*, 35(3): 647-655.

Brawer, J. Naftolin, F. Martin, J. Sonnenschein, C. (1978). Effects of a single injection of estradiol valerate on the hypothalamic arcuate nucleus and on reproductive function in the female rat. *Endocrinology*, 103(2): 274-279.

Bremer, M. Andrew, A. (2010). Polycystic Ovary Syndrome in the pediatric population. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*, 8(5): 375-394.

Buffler, G. Roser, S. (1974). New data concerning the role played by progesterone in the control of follicular growth in the rat. *Acta Endocrinologica*, 75(3): 569-78.

Burden, H. (1985). The adrenergic innervation of mammalian ovaries. En Ben-Jonathan, N. Bahr, J. Weiner, R. (Eds.), *Catecholamines as Hormone Regulators* (pp.261–278). Nueva York: Raven Press.

Burden, H. Leonard, M. Smith, C. Lawrence, I. (1983). The sensory innervation of the ovary: a horseradish peroxidase study in the rat. *The Anatomical Record*, 207(4): 623-627.

Burden, H. (1978). Ovarian innervation. En Jones, T. (Ed.), *The Vertebrate Ovary: Comparative Biology and Evolution* (pp. 615-638). Nueva York, Estados Unidos de América: Plenum Press.

Burden, H. Lawrence, I. (1977). The effect of denervation on compensatory ovarian hypertrophy. *Neuroendocrinology*, 23(6): 368–378.



Byskov, A. (1974). Cell kinetic studies of follicular atresia in the mouse ovary. *J Reprod Fertil*, 37(2): 277-285.

Carmina, E. Chu, M. Longo, R. Rini, G. Lobo, R. (2005). Phenotypic variation in hyperandrogenic women influences the findings of abnormal metabolic and cardiovascular risk parameters. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 90(59): 2545–2549.

Carlson, B. (2014). *Embriología humana y biología del desarrollo* (5° ed). Barcelona, España: Editorial Elsevier.

Cora, C. Koostra, L. Travlos, G. (2015). Vaginal Cytology of the Laboratory Rat and Mouse: Review and Criteria for the Staging of the Estrous Cycle Using Stained Vaginal Smears. *Toxicologic Pathology*, 43(6): 776-793.

Casarini, L. Santi, D. Brigante, B. Simoni, M. (2018). Two Hormones for One Receptor: Evolution, Biochemistry, Actions, and Pathophysiology of LH and hCG. *Endocrine Reviews*, 39(5): 549-592.

Ciccone, N. Kaiser, U. (2009). The biology of gonadotroph regulation. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 16(4): 321–327.

Clapp, C. Thebault, S. Macotela, Y. Moreno-Carranza, B. Triebel, J. Martínez de la Escalera, G. (2015). Regulation of blood vessels by prolactin and vasoinhibins. *Adv Exp Med Biol*, 846: 83-95.

Clifton, D. Steiner, R. (2009). Neuroendocrinology of Reproduction. En Strauss, J. Barbieri, R. (Eds.), *Reproductive Endocrinology* (pp. 3-33). Philadelphia, Estados Unidos de América: Saunders Elsevier.

Corbin, C. Trant, J. Walters, K. Conley, A. (1999). Changes in testosterone metabolism associated with the evolution of placental and gonadal isozymes of porcine aromatase cytochrome P450. *Endocrinology*, 140(11): 5202-5210.

Cortés, A. Ferrández, E. Mayayo, E. Labarta, J. (1999). Valores de referencia de FSH, LH, Testosterona total, testosterona libre, 17- β -estradiol y SHBG en niños sanos zaragozanos. *Anales Españoles de Pediatría*, 51(2): 159-166.

Crosby, E. Humphrey, T. Laver, E. (1962). Innervation of specific organs. *Correlative Anatomy of the Nervous System* (1° ed., pp. 542). Nueva York, Estados Unidos de América: The Macmillan Company.



D´Albora, H. Anesetti, G. Lombide, P. Les Dees, W. Ojeda, S. (2002). Intrinsic Neurons in the Mammalian Ovary. *Microscopy Research and Technique*, 59(6): 484-489.

Danni, S. Donna, F. (2012). Animal models of polycystic ovary syndrome: a focused review of rodent models in relationship to clinical phenotypes and cardiometabolic risk. *Fertility and Sterility*, 98(1): 185-193.

Debeljuk, L. Arimura, A. Schally, A. (1972). Studies on the pituitary responsiveness to luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) in intact male rats at different ages. *Endocrinology*, 90(2): 585-589.

Demissie, M. Lazic, M. Foecking, E. Aird, F. Dunaif, A. Levine, J. (2008). Transient prenatal androgen exposure produces metabolic syndrome in adult female rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 295(2): E262-E268.

Dewailly, D. Catteau-Jonard, S. Reyss, A. Leroy, M. Pigny, P. (2006). Oligoanovulation with polycystic ovaries but not overt hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab*, 91(10): 3922–3927.

Diamanti-Kandarakis, E. (2008). Polycystic ovarian syndrome pathophysiology, molecular aspects and clinical implications. *Expert Rev Mol Med*, 10(e3): 1-21.

Diamond, M. Legro, R. Coutifaris, C. Alvero, R. Robinson, R. Casson, P. (2015). Letrozole, gonadotropin, or clomiphene for unexplained infertility. *New England Journal of Medicine*, 373(13): 1230–1240.

Dias, J. Mahale, S. Nechamen, C. Davydenko, O. Thomas, R. Ulloa-Aguirre, A. (2010). Emerging roles for the FSH receptor adapter protein APPL1 and overlap of a putative 14-3-3 τ interaction domain with a canonical G-protein interaction site. *Molecular and cellular endocrinology*, 329(1-2): 17–25.

Dissen, G. Lara, H. Leyton, V. Paredes, A. Hill, D. Costa, M. Martinez-Serrano, A. Ojeda, S. (2000). Intraovarian excess of nerve growth factor increases androgen secretion and disrupts estrous cyclicity in the rat. *Endocrinology*, 141(3): 1073-82.

Domínguez, R. Chávez, R. Cruz, M. (1991). La regulación del crecimiento y del desarrollo del folículo ovárico. *Tópicos Selectos de Biología de la Reproducción* (pp.163-188). Programa Universitario de Investigación en Salud. Coordinación de la Investigación Científica UNAM.

Domínguez, R. Cruz-Morales, S. (2011). The Ovarian Innervation Participates in the Regulation of Ovarian Functions. *Endocrinology and Metabolic Syndrome*, 1: 2-10.



Domínguez, R. Morales, L. Cruz, M. (2003). Ovarian Assymetry. *Annu Rev Biomed Sci*, 5: 95-104.

Donner, N. Lowry, C. (2013). Sex differences in anxiety and emotional behavior. *Pflugers Arch - Eur J Physiol*, 465(5): 601–626.

Dorrington, J. Armstrong, D. (1979). Effects of FSH on gonadal functions. *Recent Prog Horm Res*, 35: 301-42.

Driancourt, M. Reynaud, K. Cortvrindt, R. Smitz, J. (2000). Roles of KIT and KIT LIGAND in ovarian function. *Rev Reprod*, 5(3): 143-52.

Duffy, D. Ko, C. Jo, M. Brannstrom, M. Curry, T. (2019). Ovulation: Parallels With Inflammatory Processes. *Endocrine Reviews*, 40(2): 369-416.

Dumesic, D. Lobo, R. (2013). Cancer risk and PCOS. *Steroids*, 78(8): 782-785.

Dupon, C. Kim, M. (1973). Peripheral plasma levels of testosterone, androstenedione, and oestradiol during the rat oestrous cycle. *The Journal of endocrinology*, 59(3): 653–654.

Eagleson, C. Gingrich, M. Pastor, C. Arora, T. Burt, C. Evans, W. Marshall, J. (2000). Polycystic ovarian syndrome: evidence that flutamide restores sensitivity of the gonadotropin-releasing hormone pulse generator to inhibition by estradiol and progesterone. *J Clin Endocrinol Metab*, 85(11): 4047-52.

Ehrmann, D. (2005). Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med*, 352(12): 1223–1236.

Escobar-Morreale, H. Carmina, E. Dewailly, D. Gambineri, A. Kelestimur, F. Moghetti, P. Pugeat, M. Qiao, J. Wijeyaratne, C. Witchel, S. Norman, R. (2012). Epidemiology, diagnosis and management of hirsutism: a consensus statement by the Androgen Excess and Polycystic Ovary Syndrome Society. *Hum Reprod Update*, 18(2): 146-170.

Espinoza, J. Alvarado, W. Venegas, B. Domínguez, R. Morales-Ledesma, L. (2018). Pharmacological sympathetic denervation prevents the development of polycystic ovarian syndrome in rats injected with estradiol valerate. *Reprod Biol Endocrinol*, 16(1): 86.

Faddy, M. Gosden, R. Gougeon, A. Richardson, S. Nelson, J. (1992). Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause. *Hum Reprod*, 7(10): 1342-1346.

Fauser, B. Tarlatzis, B. Rebar, R. Legro, R. Balen, A. Lobo, R. Carmina, E. Chang, J. Yildiz, B. Laven, J. Boivin, J. Petraglia, F. Wijeyaratne, C. Norman, R. Dunaif, A.



Franks, S. Wild, R. Dumesic, D. Barnhart, K. (2012). Consensus on women's health aspects of polycystic ovary syndrome (PCOS): The Amsterdam ESHRE/ASRM-Sponsored 3rd PCOS Consensus Workshop Group. *Fertil Steril*, 97(1): 28- 38.

Figuero-Ruíz, E. Prieto, I. Bascones-Martínez, A. (2006). Cambios hormonales asociados al embarazo. Afectación gingivo-periodontal. *Av Periodon Implantol*, 18(2): 101-113.

Flores, J. Veldhuis, J. Leong, D. (1990). Follicle-stimulating hormone evokes an increase in intracellular free calcium ion concentrations in single ovarian (granulosa) cells. *Endocrinology*, 127(6): 3172–3179.

Foeking, M. Szabo, M. Schwartz, B. Levine, E. (2005). Neuroendocrine consequences of prenatal androgen exposure in the female rat: absence of luteinizing hormone surges, suppression of progesterone receptor gene expression, and acceleration of the gonadotropin-releasing hormone pulse generator. *Biol Reprod*, 72(6): 1475-83.

Franks S. (2008). Polycystic ovary syndrome in adolescents. *Int Jobs*, 32(7): 1035–1041.

Franks, S. (1995). Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med*, 333(13): 853–861.

Frediksson, R. Lagerstrom, M. Lundin, L. Schioth, H. (2003). The G-Protein-Coupled Receptors in the Human Genome Form Five Main Families. Phylogenetic Analysis, Paralogon Groups, and Fingerprints. *Molecular Pharmacology*, 63(6): 1256-1272.

Freeman, M. (2006). Neuroendocrine control of the ovarian cycle in the rat. En Knobil, E. Neil, J. (Eds.), *Physiology of reproduction* (3° ed., pp. 327-330). Nueva York, Estados Unidos de América: Editorial Raven Press.

Fung, L. (2016). Diagnóstico clínico y bioquímico del síndrome de ovario poliquístico. *Revista de Obstetricia y Ginecología de Venezuela*, 76(1): 25-34.

Funkenstein, B. Nimrod, A. Lindner, H. (1980). The Development of Steroidogenic Capability and Responsiveness to Gonadotropins in Cultured Neonatal Rat Ovaries. *Endocrinology*, 106(1): 98-106.

Gartnet, M. Hiatt, J. (2015). Atlas en color y texto de Histología. (6° ed., pp.405-433). Madrid, España: Editorial Médica Panamericana.

Gay, V. Tomacari, R. (1974). Follicle-stimulating hormone secretion in the female rat: cyclic release is dependent on circulating androgen. *Science (New York, N.Y.)*, 184(4132): 75–77.



George, F. Ojeda, S. (1987). Vasoactive intestinal peptide enhances aromatase activity in the neonatal rat ovary before development of primary follicles or responsiveness to follicle-stimulating hormone. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 84(16): 5803–5807.

George, J. Dille, E. Heckert, L. (2010). Current Concepts of Follicle-Stimulating Hormone Receptor Gene Regulation. *Biology of Reproduction*, 84(1): 7-17.

Georgopoulos, N. Papadakis, E. Armeni, A. Katsikis, I. Roupas, N. Panidis, D. (2014). Elevated serum androstenedione is associated with a more severe phenotype in women with polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hormones (Athens, Greece)*, 13(2): 213–221.

Gilchrist, R. Ritter, L. Armstrong, D. (2004). Oocyte-somatic cell interactions during follicle development in mammals. *Anim Reprod Sci*, 82(83): 431-46.

Glydon, R. (1957). The development of the blood supply of the pituitary in the albino rat, with special reference to the portal vessels. *J. Anat*, 91(2): 237-244.

Goh, H. (1994). The gonadotrophin surge in human reproduction: endocrine and biochemical mechanisms. *Adv Clin Chem*, 31: 135– 176.

Góngora, A. Velásquez, H. (2021). Cap. 6 Ciclo estral. En Góngora, A. Velásquez, H. (Eds.), *Reproducción de los animales domésticos*. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia: Universidad Nacional Autónoma de México.

González, E. (2020). Cap. 2 Producción hormonal del ciclo genital femenino. Ciclo ovárico y endometrial. En González, E. González, J. (Eds.), *González-Merlo. Ginecología* (10° ed., pp.21-26). Barcelona, España: Elsevier.

Goodarzi, M. Azziz, R. (2006). Diagnosis, epidemiology, and genetics of the polycystic ovary syndrome. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 20(2): 193-205.

Goodarzi, M. Dumesic, D. Chazenbalk, G. Azziz, R. (2011). Polycystic ovary syndrome: etiology, pathogenesis and diagnosis. *Nat Rev Endocrinol*, 7(4): 219-231.

Goodman, N. Cobin, R. Futterweit, W. Glueck, J. Legro, R. Carmina, E. (2015). American Association of Clinical Endocrinologists, American College of Endocrinology, and Androgen Excess and PCOS Society Disease State Clinical Review: Guide to the best practices in the evaluation and treatment of Polycystic Ovary Syndrome - Part 1. *Endocr Pract*, 21(11): 1291-1300.



Gordon-Elliott, J. Ernst, C. Fersh, M. Albertini, E. Lusskin, S. Altemus, M. (2017). The hypothalamic-pituitary-gonadal axis and women's mental health: PCOS, premenstrual dysphoric disorder, and perimenopause. *Psychiatric Times*, 34(10): 5-8.

Gore-Langton, R. Armstrong, D. (1994). Follicular Steroidogenesis and Its Control. En: Knobil, E. Neill, J. (Eds.), *The Physiology of Reproduction* (2° ed., pp. 571-627). Nueva York, Estados Unidos de América: Raven Press, Ltd.

Greenwald, G. Roy, S. (1994). Follicular development and it's Control. En E. Knobil, JD. Neill (Eds.), *The Physiology of Reproduction* (2ª ed., Vol. 2, pp. 629-724). Nueva York, Estados Unidos de América: Raven Press, Ltd.

Grew, R. (2004). Metabolismo Lipídico II: Rutas Metabólicas de Lípidos Especiales. En Devlin, T. (Eds.), *Bioquímica Libro de Texto con Aplicaciones Clínicas* (pp. 395-444). Barcelona, España: Editorial Revert.

Gross, K. Matsumoto, A. Bremner, W. (1987). Differential control of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone secretion by luteinizing hormone-releasing hormone pulse frequency in man. *J Clin Endocrinol Metab*, 64(4): 675–680.

Gullace, F. (2014). Cap. 72 Reproducción de los animales de laboratorio. En Galassi, P. Gullace, F. (Eds.), *Reproducción en animales de laboratorio* (pp. 987-998). Buenos Aires, Argentina: Universidad de Buenos Aires.

Gutiérrez, A. Gámez, R. Pardo, B. Marrero, G. (2009). Longitud del ciclo estral en ratas Sprague Dawley tratadas in útero con extracto de *Roystonea regia*. *Revista Cubana de Farmacia*, 43(3): 1-7.

Guyton, A. Hall, J. (2011). *Tratado de Fisiología Medica*. (11° ed). Madrid, España: Editorial Elsevier.

Hage, A. Groen-klevant, A. Welschen, R. (1978). Follicle growth in the immature rat ovary. *Acta Endocrinol*, 88(2): 375-382.

Haisenleder, D. Dalkin, A. Girolamo, A. Ortolano, J. Shupnik, M. (1991). A pulsatile Gonadotropin-Releasing Hormone Stimulus is Required to Increase Transcription of the Gonadotropin Subunit Genes: Evidence for Differential Regulation of Transcription by Pulse Frequency In Vivo. *Endocrinology*, 128(1): 509-517.

Hammes, S. Levin, E. (2019). Impact of estrogens in males and androgens in females. *J Clin Invest*, 129(5): 1818-1826.

Hasegawa, T. Miyamoto, K. Abe, Y. Nakamura, T. Sugino, H. Eto, Y. Shibai, H. Igarashi, M. (1988). Induction of follicle stimulating hormone receptor by erythroid



differentiation factor on rat granulosa cell. *Biochem Biophys Res Commun*, 156(2): 668-674.

Hatch, R. Rosenfield, R. Kim, M. Tredway, D. (1981). Hirsutism: Implications, etiology, and management. *Am J Obstet Gynecol*, 140(7): 815-830.

Heger, S. Ojeda, S. (2007). Cap. 1 Control Puberty in Rodents. En Pescovitz, O. Walvoord, E. (Eds.), *When Puberty is Precocious* (pp. 3-33). Nueva Jersey, Estados Unidos de América: Contemporary Endocrinology. Humana Press.

Heindel, J. Rothenberg, R. Robinson, G. Steinberg, A. (1975). LH and FSH stimulation of cyclic AMP in specific cell types isolated from the testes. *Journal of Cyclic Nucleotide Research*, 1(2): 69-79.

Hemmings, R. Farookhi, R. Brawer, J. (1983). Pituitary and ovarian responses to luteinizing hormone releasing hormone in a rat with polycystic ovaries. *Biol Reprod*, 29(1): 239-48.

Hernández, E. Córtez, S. Fernández, F. (1999). Fundamentos teórico prácticos de la citología exfoliativa en medicina veterinaria. México: Universidad Autónoma Metropolitana.

Higashida, B. (1991). Ciencias de la Salud. México: Mc-Graw-Hill.

Hirshfield, A. (1989). Rescue of atretic follicles *in vitro* and *in vivo*. *Biol Reprod*, 40(1):181-190.

Hirshfield, A. Midgley, A. (1978). Morphometric analysis of follicular development in the rat. *Biol Reprod*, 19(3): 597-605.

Hoar, W. Hickman, C. (1975). Ovariectomy and the estrous cycle of the rat. En Hoar, W. Hickman, C (Eds.), *General and comparative physiology* (2^a ed., pp. 260-265). Nueva Jersey, Estados Unidos de América: Prentice-Hall.

Hollindrake, E. Abreu, A. Maifeld, M. Van Voorhis, B. Dokras, A. (2007). Increased risk of depressive disorders in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*, 87(6): 1369-76.

Honma, K. Hohn, K. Wuttke, W. (1979). Involvement of catecholamines in eliciting LH peaks in 15-day-old female rats: Effects of treatment with prolactin. *Brain Res*, 179(2): 271-279.

Hsueh, A. Billig, H. Tsafiri, A. (1994). Ovarian Follicle Atresia: A Hormonally Controlled Apoptotic Process. *Endocrinology Rev*, 15(6): 707-724.



Huang, E. Manova, K. Packer, A. Sanchez, S. Bachvarova, R. Besmer, P. (1993). The murine steel panda mutation affects kit ligand expression and growth of early ovarian follicles. *Dev Biol*, 157(1): 100–109.

Huhtaniemi, I. (2015). A short evolutionary history of FSH-stimulated spermatogenesis. *Hormones (Athens)*, 14(4): 468-78.

Ibáñez, L. Jaramillo, A. Enríquez, G. (2007). Polycystic ovaries after precocious pubarche: relation to prenatal growth. *Hum. Reprod*, 22(2): 395-400.

Itoh, N. Ornitz, D. (2008). Functional evolutionary history of the mouse FGF gene family. *Dev. Dyn*, 237(1): 18–27.

Jácome-Roca, A. (2008). Stein, Leventhal y el síndrome de ovarios poliquísticos. *Revista Colombiana de Endocrinología, Diabetes y Metabolismo*, 5(4): 46-47.

Juengel, J. Garverick, H. Johnson, A. Youngquist, R. Smith, M. (1993). Apoptosis during luteal regression in cattle. *Endocrinology*, 132(1): 249-54.

Kaipia, A. Hsueh, A. (1997). Regulation on ovarian follicle atresia. *Annu. Rev. Physiol*, 59(1): 349–63.

Kent, G. Carr, R. (2001). *Comparative Anatomy of the Vertebrates* (9^o ed). Nueva York, Estados Unidos de América: McGraw-Hill Companies.

Klein, C. Burden, H. (1988). Anatomical localization of afferent and postganglionic sympathetic neurons innervating the rat ovary. *Neuroscience Letters*, 85(2): 217-222.

Kleinau, G. Neumann, S. Gruters, A. Krude, H. Biebermann, H. (2013). Novel insights on thyroid-stimulating hormone receptor signal transduction. *Endocr Rev*, 34(5): 691–724.

Kragt, C. Dahlgren, J. (1972). Development of neural regulation of follicle stimulating hormone (FSH) secretion. *Neuroendocrinology*, 9(1): 30-40.

Kreuchwig, A. Kleinau, G. Krause, G. (2013). Research Resource: Novel Structural Insights Bridge Gaps in Glycoprotein Hormone Receptor Analyses. *Molecular Endocrinology*, 27(8): 1357-1363.

Kuntz, A. (1945). Anatomic structure and relationships, the female sex organs. En *The Autonomic Nervous System* (3^o ed., pp. 32-314). Philadelphia, Estados Unidos de America: Lea & Febiger.



Lagerstrom, M. Schioth, H. (2008). Structural diversity of G protein-coupled receptors and significance for drug discovery. *Nature Rev. Drug Discov*, 74(4): 339-357.

Lamprecht, S. (1973). Action of prostaglandin E2 and of luteinizing hormone on ovarian adenylate cyclase, protein kinase and ornithine decarboxylase activity during postnatal development and maturity in the rat. *J.Endocrinol*, 57(2): 217-233.

Lamprecht, S. Kohen, F. Ausher, J. Zor, U. Lindner, H. (1976). Hormonal Stimulation of Oestradiol-17 β Release from the Rat Ovary During Early Postnatal Development. *Journal Endocrinology*, 68(2): 343-344.

LaPolt, P. Tilly, J. Aihara, T. Nishimori, K. Hsueh, A. (1992). Gonadotropin-Induced Up- and Down-Regulation of Ovarian Follicle-Stimulating Hormone (FSH) Rec in Immature Rats: Effects of Pregnant Mare's Serum Gonadotropin, Human Chorionic Gonadotropin, and Recombinant FSH. *Endocrinology*, 130(3): 1289-1295.

Lara, H. Dissen, G. Leyton, V. Paredes, A. Fuenzalida, H. Fiedler, J. (2000). An increased intraovarian synthesis of nerve growth factor and its low-affinity receptor is a principal component of steroid-induced polycystic ovary in the rat. *Endocrinology*, 141(3): 1059-72.

Lara, H. Ferruz, J. Luza, S. Bustamante, D. Borges, Y. Ojeda, S. (1993). Activation of ovarian sympathetic nerves in polycystic ovary syndrome. *Endocrinology*, 133(6): 1-7.

Lawrence, I. Burden, H. (1980). The origin of the extrinsic adrenergic innervation to the rat ovary. *Anatomical Record*, 196(1): 51-59.

Levine, J. (2015). Cap. 26 Neuroendocrine Control of the Ovarian Cycle of the Rat. En Plant, T. Zeleznik, A. (Eds.), *Knobil and Neill's physiology of Reproduction* (pp. 1199-1257). Estados Unidos de América: Editorial Academic Press.

Lewis, V. (2001). Polycystic Ovary Syndrome. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*, 28(1): 1-20.

Lizneva, D. Suturina, L. Walker, W. Brakta, S. Gavrilova-Jordan, L. Azziz, R. (2016). Criteria, prevalence, and phenotypes of polycystic ovary syndrome. *Fertility and Sterility*, 106(1): 6-15.

Lobo, R. Carmina, E. (2000). The Importance of diagnosing the polycystic ovary syndrome. *Ann Inter Med*, 132(12): 989-993.



Lunenfeld, B. Insler, V. (1993). Follicular development and its control. *Gynecology and Endocrinology*, 74(4): 285–91.

Malamed, S. Gibney, J. Ojeda, S. (1992). Ovarian Innervation develops before initiation of folliculogénesis in the rat. *Cell Tissue Res*, 270(1): 87-93.

Mayerhofer, A. Disson, G. Costa, M. Ojeda, S. (1997). A role for neurotransmitters in early follicular development: induction of functional FSH receptors in newly formed follicles. *Endocrinology*, 138(8): 3320-3329.

McCann, S. Ojeda, S. Fawcett, C. Krulich, L. (1974). Catecholaminergic control of gonadotropin and prolactin secretion with particular reference to the possible participation of dopamine. *Advances in neurology*, 5: 435-45.

McGee, E. Hsueh, A. (2000). Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endocr Rev*, 21(2): 200-214.

Means, A. Vaitukaitis, J. (1972). Peptide hormone "receptors": specific binding of 3 H-FSH to testis. *Endocrinology*, 90(1): 39-46.

Meijs-Roelofs, H. Kramer, P. (1979). Maturation of the inhibitory feedback action of oestrogen on follicle-stimulating hormone secretion in the immature female rat. A role for alpha foetoprotein. *J. Endocrinol*, 81(2): 199-208.

Merino, P. Schulin-Zeuthen, C. Codner, E. (2009). Diagnóstico del síndrome de ovario poliquístico: nuevos fenotipos, nuevas incógnitas (Current diagnosis of polycystic ovary syndrome: expanding the phenotype but generating new questions). *Rev Med Chil*, 137(8): 1071-80.

Messinis, I. Messini, C. Dafopoulos, K. (2010). The role of gonadotropins in the follicular phase. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1205(1): 5–11.

Mira, A. (2005). Síndrome de Ovario Poliquístico -Teorías de su Fisiopatología. *Bioquímica y Patología Clínica*, 69(2): 12-33.

Morales, L. Linares, R. Rosas, G. Morán, C. Chavira, R. Cárdenas, M. Domínguez, R. (2010). Unilateral sectioning of the superior ovarian nerve of rats with polycystic ovarian syndrome restores ovulation in the innervated ovary. *Reprod Biol Endocrinol*, 8(99): 1-7.

Mori, T. Suzuki, A. Nishimura, T. Kambegawa, A. (1977). Inhibition of ovulation in immature rats by anti-progesterone antiserum. *J Endocrinol*, 73(1): 185-186.



Mossman, H. Duke, K. (1973). *The Ovary: Comparative Morphology of the Mammalian Ovary*. Madison, Estados Unidos de América: University of Wisconsin Press.

Nakamura, M. Nakamura, K. Igarashi, S. Tano, M. Miyamoto, K. (1995). Interaction between activin A and cAMP in the induction of FSH receptor in cultured rat granulosa cells. *J Endocrinol*, 147(1):103–110.

Nippoldt, T. Reame, N. Kelch, R. Marshall, J. (1989). The roles of estradiol and progesterone in decreasing luteinizing hormone pulse frequency in the luteal phase of the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab*, 69(1):67-76.

Norman, R. Dewailly, D. Legro, R. Hickey, T. (2007). Polycystic Ovary Syndrome. *Lancet*, 370(9588): 685-697.

Ojeda, S. Andrews, W. Advis, J. Smith-White, S. (1980). Recent advances in the endocrinology of puberty. *Endocr Rev*, 13(1): 228–257.

Ojeda, S. Ramirez, V. (1973). Short term steroid treatment on plasma LH and FSH in castrated rats from birth to puberty. *Neuroendocrinology*, 13(1): 100-114.

Ojeda, S. Urbanski, H. (1994). Puberty in the Rat. En Knobil, E. Neill, J. (Eds.), *The Physiology of Reproduction* (2^oed., pp. 363-382). Nueva York, Estados Unidos de América: Raven Press.

Ojeda, S. Wheaton, J. Jameson. H. McCann, S. (1976). The onset of puberty in the female rat: changes in plasma prolactin, gonadotropins, luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH), and hypothalamic LHRH content. *Endocrinology*, 98(3): 630-638.

Orizaba-Chávez, B. Alba-Jasso, G. Ocharan-Hernández, M. (2013) Farmacocinética de la progesterona. *Rev Hosp Jua Mex*, 80(1): 59-66.

Osuka, S. Iwase, A. Nakahra, T. Kondo, M. Saito, A. Bayasula. Nakamura, S. Goto, M. (2017). Kisspeptin in the Hypothalamus of 2 Rat Models of Polycystic Ovary Syndrome. *Endocrinology*, 158(2): 367-377.

Packer, A. Hsu, Y. Besmer, P. Bachvarova, R. (1994). The ligand of the c-kit receptor promotes oocyte growth. *Dev Biol*, 161(1): 194–205.

Pangas, S. Rajkovic, A. (2015). Cap. 21 Follicular development mouse, sheep and human models. En Knobil, E. y Neill (Eds.), *Physiology of Reproduction* (4^o ed., pp. 947-995). Estados Unidos de América: Editorial Academic Press.



Pastelín, C. Rosas, N. Morales-Ledesma, L. Linares, R. Domínguez, R. Morán, C. (2017). Anatomical organization and neural pathways of the ovarian plexus nerve in rats. *Journal of Ovarian Research*, 10(1): 1-14.

Peralta, I. Velázquez, P. (2013). Foliculogénesis: Camino hacia la sobrevivencia o la muerte celular. *Rev Educ Bioquímica*, 32(4): 128-136.

Pérez, J. Maroto, K. (2018). Síndrome de Ovarios Poliquísticos. *Medicina Legal de Costa Rica Edición Virtual*, 35(1): 94-105.

Peters, H. McNatty, K. (1980). The ovary. En Peters, H. McNatty, K. (Eds.), (pp. 98-106). Londres, Reino Unido: Granada Publishing.

Picton, H. (2001). Activation of follicle development: the primordial follicle. *Theriogenology*, 55(6): 1193-1210.

Polson, D. Wadsworth, J. Adams, J. Franks, S. (1988). Polycystic ovaries a common finding in normal women. *The Lancet*, 1(8590): 870-872.

Prieto-Gómez, B. Velázquez-Paniagua, M. (2002). Fisiología de la reproducción: hormona liberadora de gonadotropinas. *Revista Facultad de Medicina UNAM*, 45(6): 252-257.

Quirk, S. Cowan, R. Harman, R. (2013). Role of the cell cycle in regression of the corpus luteum. *Reproduction*, 145(2): 161-75.

Rath, D. Töpfer-Petersen, E. Michelmann, H. Schwartz, P. Von Witzendorff, D. Ebeling, S. Ekhlas-Hundrieser, M. Piehler, E., Petrunkina, A. Romar, R. (2006). Structural, biochemical and functional aspects of sperm-oocyte interactions in pigs. *Society of Reproduction and Fertility supplement*, 62: 317-330.

Raynaud, J. (1973). Influence of Rat Estradiol Binding Plasma Protein (EBP) on Uterotrophic Activity. *Steroids*, 21: 249-258.

Reed, B. Carr, B. (2018). The Normal Menstrual Cycle and the Control of Ovulation. En Feingold, K. Anawalt, B. Blackman, M. Boyce, A. Chrousos, G. Corpas, E. de Herder, W. Dhatariya, K. Dungan, K. Hofland, J. Kalra, S. Kaltsas, G. Kapoor, N. Koch, C. Kopp, P. Korbonits, M. Kovacs, C. Kuohung, W. Laferrère, B. Levy, M. McGee, E. McLachlan, R. New, M. Purnell, J. Sahay, R. Shah, A. Singer, F. Sperling, M. Stratakis, C. Trencé, D. Wilson, D. (Eds.), *Endotext*. Massachusetts, Estados Unidos de América: MDText.com, Inc.

Reeves G. (1999). El Ovario Humano II. Morfología y función. La corteza ovárica. (pp. 30-36). Rosario, Argentina: Revista Médica de Rosario.



Reeves G. (2002). La corteza y la médula del ovario tienen su estroma específico. Una revisión apasionada: 40 años de teoría y práctica. *Patología (Mex)*, 40(1): 7-25.

Reynolds, L. Grazul-Bilska, A. Redmer, D. (2000). Angiogenesis in the corpus luteum. *Endocrine*, 12(1): 1-9.

Richards, J. Pangas, S. (2010). The ovary: basic biology and clinical implications. *J Clin Invest*, 120(4): 963–972.

Rojas, F. (1995). Effects of ovulation induction with gonadotrophins on the ovary and uterus and their implications for assisted reproduction. *Human Reproduction*, 10(9): 2219-2237.

Rojas, J. Cespedes, C. (2014). Síndromes de resistencia hormonal por patología de receptores: mecanismos moleculares y fenotipos clínicos. *Rev Esp Endocrinol Pediatric*, 5(2): 37-49.

Rojas-García, P. Recabarren, M. Palma, S. Maliqueo, M. Carrasco, A. Petermann, T. Recabarren, S. (2014). Morfometría ovárica y expresión del ARN mensajero de hormona antimülleriana (AMH), receptor de FSH (FSHR) y factor nuclear kappa B (NFkB) en folículos en crecimiento de borregas expuestas prenatalmente a testosterona. *Archivos de medicina veterinaria*, 46(1): 13-21.

Ropelato, M. Garcia-Rudaz, M. Castro-Fernandez, C. Ulloa-Aguirre, A. Escobar, M. Barontini, M. Veldhuis, J. (1999). A preponderance of basic luteinizing hormone (LH) isoforms accompanies inappropriate hypersecretion of both basal and pulsatile LH in adolescents with polycystic ovarian syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*, 84(12): 4629-4636.

Rosa-E-Silva, A. Guimaraes, M. Padmanabhan, V. Lara, H. (2003). Prepubertal Administration of Estradiol Valerate Disrupts Cyclicity and Leads to Cystic Ovarian Morphology during Adult Life in the Rat: Role of Sympathetic Innervation. *Endocrinology*, 144(10): 4289-4297.

Rosales, A. Guzmán, A. (2008). Apoptosis en la atresia folicular y la regresión del cuerpo lúteo. *Revisión Técnica Pecuaria en México*, 46(2): 159-182.

Rosencrantz, M. Coffler, M. Haggan, A. Duke, K. Donohue, M. Shayya, R. Su, H. Chang, R. (2011). Clinical evidence for predominance of delta-5 steroid production in women with polycystic ovary syndrome. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 96(4): 1106–1113.



Rosenfield, R. (1999). Ovarian and adrenal function in polycystic ovary syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 28(2): 265-293.

Rosenfield, R. Ehrmann, D. (2016). The Pathogenesis of Polycystic Ovary Syndrome (PCOS): The Hypothesis of PCOS as Functional Ovarian Hyperandrogenism Revisited. *Endocrine reviews*, 37(5): 467–520.

Rosenfield, R. (2015). The Polycystic Ovary Morphology-Polycystic Ovary Syndrome Spectrum. *Journal of pediatric and adolescent gynecology*, 28(6): 412-419.

Ross, M. Pawlina, W. (2012). Cap. 23 Sistema Reproductivo Femenino. En Ross, M. Pawlina, W. (Eds.), *Histología, texto y atlas a color con biología celular y molecular* (6° ed., pp. 200-213). Barcelona, España. Editorial Médica Panamericana.

Ross, M. Pawlina, W. (2015). *Histología: Texto y atlas* (7° ed., pp. 898-906). Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.

Ross, M. Pawlina, W. (2016). *Histología. Texto Atlas color con Biología Celular y Molecular* (6ª ed). Madrid, España: Editorial Médica Panamericana.

Sadler, T. (2008). *Embriología Médica* (10ª ed). Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.

Sánchez, L. Pérez, M. Azziz, R. (2002). Laser hair reduction in the hirsute patient: A critical assessment. *Hum Reprod Update*, 8(2): 169-181.

Sánchez-Criado, J. Bellido, C. Galiot, F. López, F. Gaytán, F. (1990). A posible dual mechanism of the anovulatory action of antiprogestrone RU486 in the rat. *Biol Reprod*, 42(5-6): 877-86.

Schams, D. Berisha, B. (2004). Regulation of corpus luteum function in cattle--an overview. *Reprod Domest Anim*, 239(4): 241-251.

Schwartz, N. (1974). The role of FSH and LH and of their antibodies on follicle growth and on ovulation. *Biol Reprod*, 10(2): 236-272.

Seger, R. Hanoch, T. Rosenberg, R. Dantes, A, Merz, W. Strauss, J. Amsterdam, A. (2001). The ERK signaling cascade inhibits gonadotropin-stimulated steroidogenesis. *J Biol Chem*, 276(17): 13957-13964.

Sepúlveda, J. (2014). Cap. 15 Sistema Urinario. En Sepúlveda, J. (Ed.), *Texto atlas de histología: biología celular y tisular* (pp.220-225). México: McGraw-Hill Interamericana.



Silva, J. Ocarino, N. Serakides, R. (2014). Luteal activity of pregnant rats with hypo- and hyperthyroidism. *J Ovarian Res*, 7(75): 2-13.

Simoni, M. Gromoll, J. Nieschlag, E. (1997). The Follicle-Stimulating Hormone Receptor: Biochemistry, Molecular Biology, Physiology, and Pathophysiology. *Endocrine Reviews*, 18(6): 739-773.

Sir, T. Preisler, J. Magendzo, A. (2013). Síndrome de Ovario Poliquístico. Diagnóstico y manejo. *Rev. Med. Clin. Condes*, 24(5): 818-826.

Sirmans, S. Pate, K. (2013). Epidemiology, diagnosis, and management of polycystic ovary syndrome. *Clin Epidemiol*, 6:1-13.

Smith, M. Freeman, M. Neill, J. (1975). The Control of Progesterone Secretion During the Estrous Cycle and Early Pseudopregnancy in the Rat: Prolactin, Gonadotropin and Steroid Levels Associated with Recue of the Corpus Luteum of Pseudopregnancy. *Endocrinology*, 96(1): 219-226.

Shaikh, A. (1971). Estrone and estradiol levels in the ovarian venous blood from rats during the estrous cycle and pregnancy. *Biology of reproduction*, 5(3): 297-307.

Sokka, T. Huhtaniemi, I. (1990). Ontogeny of gonadotrophin receptors and gonadotrophin-stimulated cyclic AMP production in the neonatal rat ovary. *J.Endocrinol*, 127(2): 297-303.

Sporrong, B. Meshari, A. Owman, C. (1991). Innervation of the Ovary. En Familiari, G. Makabe, S. Motta, P. (Eds.), *Ultrastructure of the Ovary. Electron Microscopy in Biology and Medicine* (pp. 255-256). Boston, Estados Unidos de América: Springer.

Spornitz, U. Socin, C. Dravid, A. (1999). Estrous stage determination in rats by means of scanning electron microscopic images of uterine surface epithelium. *Anat Rec*, 254(1): 116-26.

Stanczyk, F. (2006). Diagnosis of hyperandrogenism: Biochemical criteria. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 20(2): 177-191.

Stefenson, A. Owman, C. Sjoberg, N. Sporrong, B. Waller, B. (1981). Comparative study of the autonomic innervation of the mammalian ovary, with particular regard to the follicular system. *Cell Tissue Res*, 215(1): 47-62.

Steger, R. Morgen, W. (1985). Dopaminergic control of pituitary hormone release. En Steger, R. Johns, A. (Eds.), *Handbook of Pharmacologic Methodologies for the Study of the Neuroendocrine System* (pp. 65-108). Boca Ratón, Estados Unidos de América: CRC Press.



Strauss, J. Williams, C. (2009). Cap. 8 The Ovarian Life Cycle. En Strauss, J. Barbieri, R. (Eds.), *Reproductives Endocrinology* (pp. 155-190). Philadelphia, Estados Unidos de América: Saunders Elsevier.

Tain , C. Goh, V. (2000). Effects of Hyperstimulation With Gonadotrophins and Age of Females on Oocytes and Their Metaphase II Status in Rats. *Molecular Reproduction and Development*, 55(1): 104–108.

Tanner, J. (1974). Sequence and tempo in the somatic changes in puberty. En Grumbach, M. Grave, G. Mayer, F. (Eds.), *The Control of the Onset of Puberty* (pp 448–470). Nueva York, Estados Unidos de América: John Wiley & Sons.

Tena-Sempere, M. Manna, P. Huhtaniemi, I. (1999). Molecular cloning of the mouse follicle-stimulating hormone receptor complementary deoxyribonucleic acid: functional expression of alternatively spliced variants and receptor inactivation by a C566T transition in exon 7 of the coding sequence. *Biol Reprod*, 60(6): 1515–1527.

Thomas, F. Ismail, R. Jiang, J. Vanderhyden, B. (2008). Kit ligand 2 promotes murine oocyte growth in vitro. *Biol. Reprod*, 78(1): 167-175.

Tilly, J. (1996). Apoptosis and ovarian function. *Rev Reprod*, 1(3): 162-172.

Tilly, J. LaPolt, P. Hsueh, A. (1992). Hormonal Regulation of Follicle-Stimulating Hormone Receptor Messenger Ribonucleic Acid Levels in Cultured Rat Granulosa Cells. *Endocrinology*, 130(3): 1296-1302.

Townson, D. Combelles, M. (2012). Cap. 2 Ovarian Follicular Atresia. En Darwish. A. (Eds.), *Basic Gynecology-Some Related Issues* (pp. 44-76). Rijeka, Croacia: InTechWeb.Org.

Tresguerres, J. (1999). *Fisiología Humana* (2° ed.) Madrid, España: Ediciones McGraw-Hill.

Tresguerres, J. Castillo, C. (2005). Cap. 79 Fisiología del eje hipotálamo-hipófiso-ovárico. En Tresguerres, J. Ariznavarreta, C. Cachofeiro, V. Cardinali, D. Escrich, E. Gil, L. Lahera, V. Mora, F. Romano, M. Tamargo, J. (Eds.), *Fisiología Humana* (pp. 1007-1023). Madrid, España: Ediciones McGraw-Hill Interamericana.

Tsaadon A, Eliyahu E, Shtraizent N, Shalgi R. (2006). When a sperm meets an egg: block to polyspermy. *Mol Cell Endocrinol*, 252(1-2): 107-114.

Ulloa-Aguirre, A. Zariñán, T. (2016). The Follitropin Receptor: Matching Structure and Function. *Molecular Pharmacology*, 90(5): 596-608.



Ulloa-Aguirre, A. Zariñán, T. Jardón-Valadez, E. Gutiérrez-Sagal, R. Días, J. (2018). Structure-Function Relationships of the Follicle-Stimulating Hormone Receptor. *Frontiers in Endocrinology*, 9(707): 1-17.

Urbanski, H. Ojeda, S. (1985). The juvenile peripubertal transition period in the female rat: Establishment of a diurnal pattern of pulsatile LH secretion. *Endocrinology*, 117(2): 644-649.

Vaitukaitis, J. Sherins, R. Ross, G. Hickman, J. Ashwell, G. (1971). A method for the preparation of radioactive FSH with preservation of biologic activity. *Endocrinology*, 89(6): 1356-60.

Valenzuela, A. Ronco, A. (2004). Fitoesteroles y fitoestanoles aliados naturales para la protección de la salud cardiovascular. *Revista chilena de nutrición*, 31(1): 161-169.

Van der Hurk, R. Zhao, J. (2005). Formation of mammalian oocytes and their growth, differentiation and maturation within ovarian follicles. *Theriogenology*, 63(6): 1717-51.

Van der Beek, E. (1996). Circadian control of reproduction in the female rat. *Prog Brain Res*, 111: 295-320.

Vantman, D. Vega, M. (2010). Fisiología reproductiva y cambios evolutivos con la edad de la mujer. *Rev. Med, Clin. Condes*, 21(3): 348-362.

Vassart, G. Pardoo, L. Costagliola, S. (2004). A molecular dissection of the glycoprotein hormone receptors. *Trends in biochemical sciences*, 29(3): 119-126.

Venegas B, De León Gordillo, L. Y. Rosas, G. Espinoza, J. A. Morán, C. Domínguez, R. Morales-Ledesma, L. (2019). In rats with estradiol valerate-induced polycystic ovary syndrome, the acute blockade of ovarian β -adrenoreceptors improve ovulation. *Reprod Biol Endocrinol*, 17(95): 1-10.

Waldstreicher, J. Santoro, N. Hall, J. Filicori, M. Crowley, W. (1988). Hyperfunction of the hypothalamic- pituitary axis in women with polycystic ovarian disease: indirect evidence for partial gonadotroph desensitization. *J Clin Endocrinol Metab*, 66(1): 165-172.

Walters, K. Bertoldo, B. Handelsman, D. (2018). Evidence form animal models on the pathogenesis of PCOS. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology and Metabolism*, 32(3): 271-281.



Yanagimachi R. (1994). Stability of the mammalian sperm nucleus. *Zygote*, 2(4): 383-4.

Ying, S. Zhang, Z. (1999). Ovarian hormones. En Knobil, E. Neil, J. (Eds.), *Physiology of Reproduction* (3° ed., pp 578-582). Estados Unidos de América: Academic Press.

Yoshinaga, K. Hawkins, R. Stocker, J. (1969). Estrogen secretion by the rat ovary in vivo during the estrous cycle and pregnancy. *Endocrinology*, 85(1): 103-112.

Zawadsky, J. Dunaif, A. (1992). Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: Towards a rational approach. En Dunaif, A. Givens, J. Haseltine, F. (Eds.), *Polycystic Ovary Syndrome* (pp. 377-384). Estados Unidos de América: Blackwell Scientific.

Zhou, X. Teng, R. Cao, H. Fu, K. Xiong, W. Sun, C. Zhu, X. Huang, P. Xiao, H. Liu, H. (2013). Rescue from dominant follicle atresia by follicle-stimulating hormone in mice. *Genet Mol Res*, 12(3): 2945-2952.

Zouboulis, C. (2014). Acne as a chronic systemic disease. *Clin Dermatol*, 32(3): 389-396.

