

11204

5

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
CENTRO MEDICO NACIONAL 20 DE NOVIEMBRE
ISSSTE
COORDINACION DE GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA
SERVICIO DE BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION HUMANA

**EL FACTOR DE CRECIMIENTO TRANSFORMANTE- α
(TGF- α) Y EL FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDERMIDE (EGF)
EN EL SINDROME DE OVARIOS POLIQUISTICOS:
POSIBLE PAPEL EN LA DISMINUCION DE LOS MECANISMOS
APOPTOTICOS EN EL FOLICULO**

299097

TRABAJO DE PUBLICACION QUE PARA OBTENER EL TITULO
EN LA SUBESPECIALIDAD DE
BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION HUMANA
P R E S E N T A:

DR. JAIME PAZ AVILA

ASESOR: DR LUCIANO FRANCISCO SAUCEDA GONZALEZ

2001



Universidad Nacional
Autónoma de México



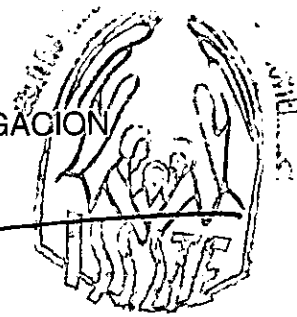
UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DR SIEGFRIED A. FIGUEROA BARKOW
SUBDIRECTOR DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION



Figueroa

DR LUCIANO FRANCISCO SAUCEDA GONZALEZ
PROFESOR TITULAR DEL CURSO

L. Saucedo

DR LUCIANO FRANCISCO SAUCEDA GONZALEZ
ASESOR DE TESIS

Jaime Paz Avila

DR JAIME PAZ AVILA
MEDICO RESIDENTE 2o. AÑO
BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION HUMANA



SUBDIVISION DE ESPECIALIZACION
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
U. N. A. M.

AGRADECIMIENTOS

AL VER CULMINADO MI PASO COMO EDUCANDO, QUIERO AGRADECER A DIOS POR HABER ILUMINADO MI CAMINO, Y HACER PROPICIO MI ENTORNO PARA LOGRAR LAS METAS PROPUESTAS, A QUIEN PIDO ME GUIE EN EL TRATO DIARIO EN LA RELACION MEDICO-PACIENTE.

AGRADEZCO

A MI MADRE DE QUIEN SUS BENDICIONES ME ACOMPAÑAN SIEMPRE

A MI PADRE A QUIEN EN EL RECUERDO CADA VEZ ADMIRO MAS

A MIS HERMANOS QUE SON EJEMPLO DE LUCHA Y TENACIDAD

A MI ESPOSA QUIEN HA PAGADO CON SACRIFICIO Y AMOR CADA DIA DE MI CARRERA. GRACIAS... ALMA

A MIS HIJOS QUE CON SUS SONRISAS ME HACEN OLVIDAR LOS MOMENTOS DIFICILES DE LA VIDA. GRACIAS... SARA Y OSCAR

A HECTOR EDUARDO QUIEN DE UNA FORMA FRATERNAL ME BRINDO SU AMISTAD Y SAPIENCIA..... GRACIAS AMIGO.

A TODOS MIS MAESTROS POR COMPARTIR CONMIGO TODOS SUS CONOCIMIENTOS Y EXPERIENCIAS Y A QUIENES CULPO DIRECTAMENTE DE ESTE GRAN LOGRO EN MI VIDA.

AL DR. SALVADOR GAVIÑO AMBRIZ A QUIEN DIOS HA LLENADO DE DONES, Y A QUIEN AGRADEZCO EL SER UN EXCELENTE SER HUMANO, AMIGO Y MAESTRO.

A TODAS AQUELLAS PERSONAS QUIEN DIRECTA E INDIRECTAMENTE DESDE 1987 A 2002 PARTICIPARON PARA HACER REALIDAD ESTE SUEÑO.

GRACIAS JORGE ¿TIENES ALGUNA OTRA PREGUNTA?

AGRADECIMIENTO

**AL PERSONAL DEL LABORATORIO DE BIOQUIMICA Y MEDICINA
EXPERIMENTAL DEL CENTRO MEDICO NACIONAL 20 DE NOVIEMBRE ISSSTE
POR HABER PERMITIDO SER PARTE DE ESTE PROYECTO**

DR. JOSE GUTIERREZ SALINAS

DR. JOSE ANTONIO MORALES GONZALEZ

El factor de crecimiento transformante- α (TGF- α) y el factor de crecimiento epidermoide (EGF) en el síndrome de ovarios poliquísticos: posible papel en la disminución de los mecanismos apoptóticos en el folículo

■ Dr. José Antonio Morales González,¹ Dr. José Gutiérrez Salinas,² Dr. Jaime Paz Avila,³ Dr. Luciano Francisco Saucedo González⁴ y Dr. José Luis Montes Balderas⁵

■ RESUMEN

El conocimiento en la regulación de las funciones del ovario se ha extendido del concepto clásico de la regulación endocrina por hormonas sexuales y gonadotropinas al conocimiento de regulación intraovárica, por medio de factores parácrinos y autócrinos. El crecimiento folicular y la esteroidogénesis es regulada principalmente por las gonadotropinas (hormona folículo estimulante, FSH; y la hormona luteinizante, LH) y los esteroides. Por otra parte, últimamente han aumentado las evidencias que revelan que los factores de crecimiento intraováricos juegan un papel importante en la modulación de los efectos de las gonadotropinas en las funciones del ovario.

Palabras clave: Apoptosis, esteroidogénesis, EGF, TGF- α , ovario poliquístico

(Morales González JA. *et al.* El factor de crecimiento transformante- α (TGF- α) y el factor de crecimiento epidermoide (EGF) en el síndrome de ovarios poliquísticos: posible papel en la disminución de los mecanismos apoptóticos en el folículo. *Ginec Obstet Mex* 2001; 69: 218).

■ SUMMARY

Knowledge on ovary function regulation is advancing. Classic concept about endocrine regulation by sexual hormones and gonadotrophin has turning to an hypothesis: autocrine and paracrine factors as intra-ovarian regulators. Follicular growth and steroidogenesis are mainly driven by follicle stimulating hormone (FSH), luteine hormone (LH) and steroids. On the other hand, the presence of intra-ovarian growth factors have an important role in modulation of gonadotrophin effects on ovarian functions. The influence of this factors on follicle growth are described.

Key words: Apoptosis, steroidogenesis, EGF, TGF- α , polycystic ovarian syndrome

(Morales González JA. *et al.* Effects of transforming growth factor- α (TGF- α) and and epidermal growth factor (EGF) in polycystic ovaric syndrome on follicle apoptosis. *Ginec Obstet Mex* 2001; 69: 218).

■ INTRODUCCIÓN

Desde el momento del nacimiento, hay gran cantidad de folículos primordiales debajo de la cápsula ovárica y cada uno contiene un óvulo inmaduro. Al iniciarse cada ciclo menstrual, varios de estos folículos aumentan de tamaño y se forma una cavidad alrededor del óvulo llamada antro que está llena de líquido folicular (Fig. 1). En el ser humano, uno de los folículos en un ovario comienza a crecer rápidamente hacia el sexto día y se convierte en el folículo dominante, mientras que los demás sufren regresión formando folículos

¹Profesor de Fisiología, Facultad de Odontología, UNAM; ²Laboratorio de Bioquímica y Medicina Experimental, Centro Médico Nacional "20 de Noviembre", ISSSTE; ³Ginecoobstetra, Médico Residente del Servicio de Biología de la Reproducción Humana, Centro Médico Nacional "20 de Noviembre", ISSSTE; ⁴Jefe de Sección, Servicio de Biología de la Reproducción Humana, Centro Médico Nacional "20 de Noviembre", ISSSTE; ⁵Jefe de la Clínica Universitaria de Salud Integral Iztacala, UNAM.

El factor de crecimiento transformante- α (TGF- α) y el factor de crecimiento epidermoide (EGF) en el síndrome de ovarios poliquísticos: posible papel en la disminución de los mecanismos apoptóticos en el folículo

■ Dr. José Antonio Morales González,¹ Dr. José Gutiérrez Salinas,² Dr. Jaime Paz Avila,³ Dr. Luciano Francisco Saucedo González⁴ y Dr. José Luis Montes Balderas⁵

■ RESUMEN

El conocimiento en la regulación de las funciones del ovario se ha extendido del concepto clásico de la regulación endocrina por hormonas sexuales y gonadotropinas al conocimiento de regulación intraovárica, por medio de factores parácrinos y autócrinos. El crecimiento folicular y la esteroidogénesis es regulada principalmente por las gonadotropinas (hormona folículo estimulante, FSH; y la hormona luteinizante, LH) y los esteroides. Por otra parte, últimamente han aumentado las evidencias que revelan que los factores de crecimiento intraováricos juegan un papel importante en la modulación de los efectos de las gonadotropinas en las funciones del ovario.

Palabras clave: Apoptosis, esteroidogénesis, EGF, TGF- α , ovario poliquístico

(Morales González JA. *et al.* El factor de crecimiento transformante- α (TGF- α) y el factor de crecimiento epidermoide (EGF) en el síndrome de ovarios poliquísticos: posible papel en la disminución de los mecanismos apoptóticos en el folículo. *Ginec Obstet Mex* 2001; 69: 218).

■ SUMMARY

Knowledge on ovary function regulation is advancing. Classic concept about endocrine regulation by sexual hormones and gonadotrophin has turning to an hypothesis: autocrine and paracrine factors as intra-ovarian regulators. Follicular growth and steroidogenesis are mainly driven by follicle stimulating hormone (FSH), luteine hormone (LH) and steroids. On the other hand, the presence of intra-ovarian growth factors have an important role in modulation of gonadotrophin effects on ovarian functions. The influence of this factors on follicle growth are described.

Key words: Apoptosis, steroidogenesis, EGF, TGF- α , polycystic ovarian syndrome

(Morales González JA. *et al.* Effects of transforming growth factor- α (TGF- α) and and epidermal growth factor (EGF) in polycystic ovarian syndrome on follicle apoptosis. *Ginec Obstet Mex* 2001; 69: 218).

■ INTRODUCCIÓN

Desde el momento del nacimiento, hay gran cantidad de folículos primordiales debajo de la cápsula ovárica y cada uno contiene un óvulo inmaduro. Al iniciarse cada ciclo menstrual, varios de estos folículos aumentan de tamaño y se forma una cavidad alrededor del óvulo llamada antro que está llena de líquido folicular (Fig. 1). En el ser humano, uno de los folículos en un ovario comienza a crecer rápidamente hacia el sexto día y se convierte en el folículo dominante, mientras que los demás sufren regresión formando folículos

*¹Profesor de Fisiología, Facultad de Odontología, UNAM; ²Laboratorio de Bioquímica y Medicina Experimental, Centro Médico Nacional "20 de Noviembre", ISSSTE; ³Ginecoobstetra, Médico Residente del Servicio de Biología de la Reproducción Humana, Centro Médico Nacional "20 de Noviembre", ISSSTE; ⁴Jefe de Sección, Servicio de Biología de la Reproducción Humana, Centro Médico Nacional "20 de Noviembre", ISSSTE; ⁵Jefe de la Clínica Universitaria de Salud Integral Iztacala, UNAM.

El factor de crecimiento transformante- α (TGF- α) y el factor de crecimiento epidermoide (EGF) en el síndrome de ovarios poliquísticos: posible papel en la disminución de los mecanismos apoptóticos en el folículo

■ Dr. José Antonio Morales González,¹ Dr. José Gutiérrez Salinas,² Dr. Jaime Paz Avila,³ Dr. Luciano Francisco Saucedo González⁴ y Dr. José Luis Montes Balderas⁵

■ RESUMEN

El conocimiento en la regulación de las funciones del ovario se ha extendido del concepto clásico de la regulación endocrina por hormonas sexuales y gonadotropinas al conocimiento de regulación intraovárica, por medio de factores parácrinos y autócrinos. El crecimiento folicular y la esteroidogénesis es regulada principalmente por las gonadotropinas (hormona folículo estimulante, FSH; y la hormona luteinizante, LH) y los esteroides. Por otra parte, últimamente han aumentado las evidencias que revelan que los factores de crecimiento intraováricos juegan un papel importante en la modulación de los efectos de las gonadotropinas en las funciones del ovario.

Palabras clave: Apoptosis, esteroidogénesis, EGF, TGF- α , ovario poliquístico

(Morales González JA. *et al.* El factor de crecimiento transformante- α (TGF- α) y el factor de crecimiento epidermoide (EGF) en el síndrome de ovarios poliquísticos: posible papel en la disminución de los mecanismos apoptóticos en el folículo. *Ginec Obstet Mex* 2001; 69: 218).

■ SUMMARY

Knowledge on ovary function regulation is advancing. Classic concept about endocrine regulation by sexual hormones and gonadotrophin has turning to an hypothesis: autocrine and paracrine factors as intra-ovarian regulators. Follicular growth and steroidogenesis are mainly driven by follicle stimulating hormone (FSH), luteine hormone (LH) and steroids. On the other hand, the presence of intra-ovarian growth factors have an important role in modulation of gonadotrophin effects on ovarian functions. The influence of this factors on follicle growth are described.

Key words: Apoptosis, steroidogenesis, EGF, TGF- α , polycystic ovarian syndrome

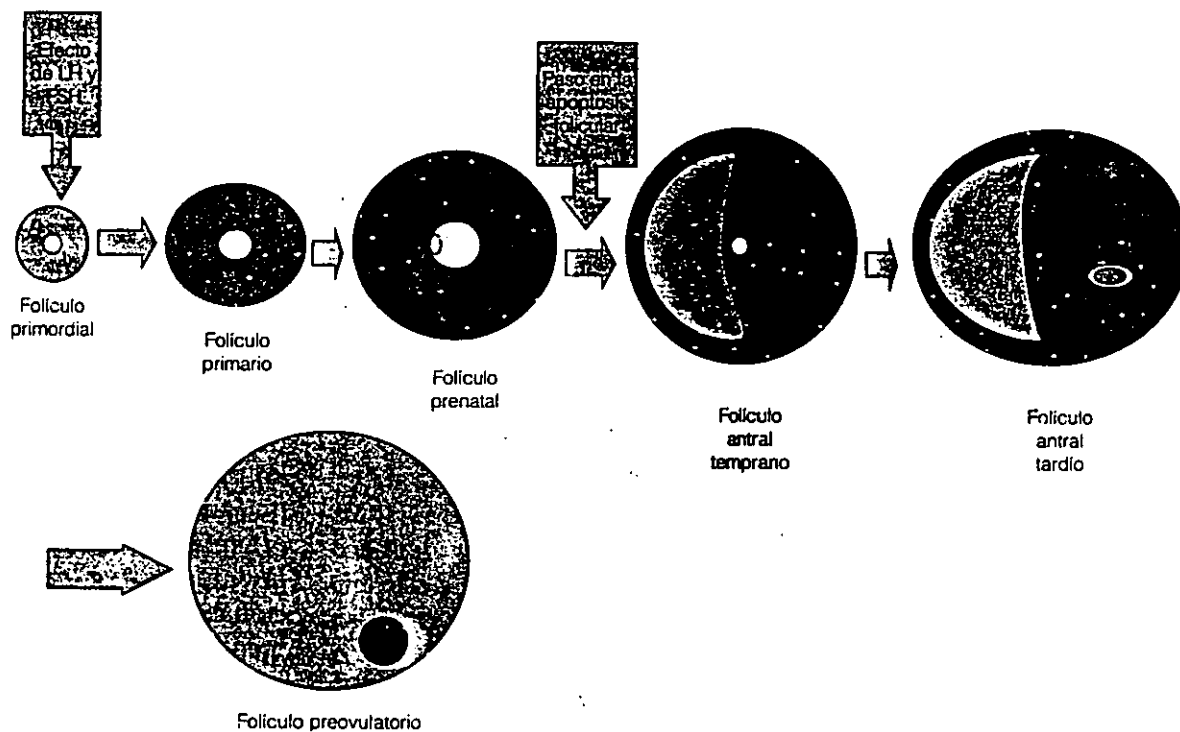
(Morales González JA. *et al.* Effects of transforming growth factor- α (TGF- α) and and epidermal growth factor (EGF) in polycystic ovarian syndrome on follicle apoptosis. *Ginec Obstet Mex* 2001; 69: 218).

■ INTRODUCCIÓN

Desde el momento del nacimiento, hay gran cantidad de folículos primordiales debajo de la cápsula ovárica y cada uno contiene un óvulo inmaduro. Al iniciarse cada ciclo menstrual, varios de estos folículos aumentan de tamaño y se forma una cavidad alrededor del óvulo llamada antro que está llena de líquido folicular (Fig. 1). En el ser humano, uno de los folículos en un ovario comienza a crecer rápidamente hacia el sexto día y se convierte en el folículo dominante, mientras que los demás sufren regresión formando folículos

¹Profesor de Fisiología. Facultad de Odontología, UNAM; ²Laboratorio de Bioquímica y Medicina Experimental, Centro Médico Nacional "20 de Noviembre", ISSSTE; ³Ginecoobstetra, Médico Residente del Servicio de Biología de la Reproducción Humana, Centro Médico Nacional "20 de Noviembre", ISSSTE; ⁴Jefe de Sección, Servicio de Biología de la Reproducción Humana, Centro Médico Nacional "20 de Noviembre", ISSSTE; ⁵Jefe de la Clínica Universitaria de Salud Integral Iztacala, UNAM.

Figura 1



Diferentes estadios del desarrollo folicular. El concepto clásico de cómo la FSH y la LH regulan el desarrollo del folículo.

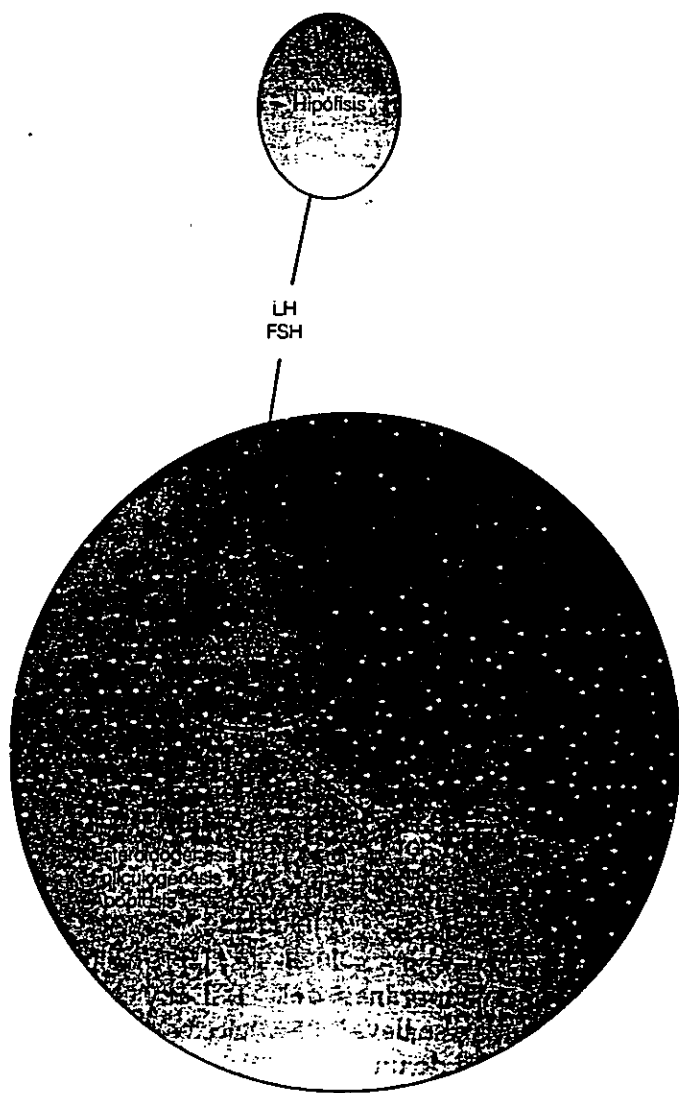
atrésicos. El proceso de atresia implica el fenómeno de apoptosis. No hay certeza acerca de cómo se selecciona un folículo para ser el dominante durante esta fase folicular del ciclo menstrual, pero parece estar relacionada con la capacidad del folículo para secretar en su interior el estrógeno necesario para la maduración final (Kenigsberg y col. 1995). En este mismo contexto, Tamura y col. (1995) sugieren al TGF- α como un regulador de la esteroidogénesis. La ausencia de TGF- α de los folículos de la fase lútea y de los folículos primordial y preantral sugiere que posiblemente el involucramiento de TGF- α va en relación con el estado de desarrollo del folículo.

■ TGF- α Y EGF

Durante etapas tempranas del desarrollo folicular, se lleva a cabo el reclutamiento de un folículo para la ovulación. Este proceso de reclutamiento es pobremente entendido, pero se sabe que las células de la granulosa juegan un papel muy importante. Los factores que promueven el crecimiento y la diferenciación de las células de la granulosa durante la fase folicular son sensibles a las hormonas FSH, estradiol y TGF- β (Bendell y Dorrington, 1991). Estudios recientes demuestran que los factores de crecimiento TGF- α y EGF desempeñan funciones importantes en el ovario.

La primera función para el TGF- α y el EGF implica múltiples efectos durante el desarrollo folicular y la maduración del ovocito. Esto se debe a que estimulan la diferenciación de las células de la granulosa (Yeh y col. 1993). Se ha descrito que la maduración del folículo del ratón está regulada de una forma dosis-dependiente por el EGF. Concentraciones de 1 ng/mL de este factor en un medio de cultivo permiten el aumento del número de folículos preovulatorios y una concentración alta de EGF (5-10 ng/mL) produce un aumento de los folículos atrésicos. Por otro lado, se ha encontrado que existen concentraciones muy elevadas de EGF en el fluido folicu-

Figura 2



Participación de los factores de crecimiento (TGF- α y EGF) en la regulación de la foliculogénesis, de la esteroidogénesis y la apoptosis. La hipófisis libera a la LH y FSH, estas hormonas estimulan en las células de la granulosa, la liberación del factor de crecimiento semejante a la insulina tipo 1 (IGF-1), que a su vez estimula a las células de la teca para la liberación de los factores de crecimiento (EGF y TGF- α) y éstos por su parte realizan las diferentes funciones en las células de la granulosa, los mecanismos exactos aún se desconocen.

lar en folículos que están en degeneración (Boland y Gosden, 1994). Durante el curso de la maduración folicular, la localización de estos factores de crecimiento cambia. Esto se comprobó utilizando

técnicas de inmunohistoquímica, en donde el TGF- α se detectó en ovocitos únicamente durante estadios tempranos de maduración, en donde las células de la granulosa y de la teca no demostraban

la expresión de este factor de crecimiento; posteriormente, las células de la teca comienzan a sintetizar al TGF- α y durante la regresión folicular permanecen positivas para el TGF- α . El EGF se observa durante las fases tardías del desarrollo folicular y durante la regresión del folículo. Por otra parte, las células de la granulosa no sintetizan ninguno de estos factores de crecimiento, sino que son las receptoras (Reeka y col. 1998) (Fig.2).

Otra función que se ha descrito para estos factores de crecimiento (TGF- α y EGF), es la inducción de la producción hormonal, dado que ambos tienen influencia en la esteroidogénesis de las células de la granulosa ya que en combinación con la FSH, estas células aumentan su producción de progesterona y 20- α -dihidroprogesterona (Yeh y col. 1993). El TGF- α y el EGF a su vez son inhibidores potenciales de la hormona FSH y tienen un efecto dosis-dependiente en la inhibición de la actividad de la enzima aromatasa inducida por FSH. Esto resulta en una inhibición en las concentraciones de estradiol en el ovario y en una supresión del desarrollo folicular (Bendell y Dorrington, 1990; Mason y col. 1990) (Fig.2).

Por último, otra función descrita para la acción del TGF- α y el EGF es el hecho de que al estimular a las células de la granulosa en la producción de progesterona, aparentemente previenen la apoptosis de estas células. Probablemente el aumento en la síntesis de progesterona es parte del mecanismo esencial por el cual el EGF y el TGF- α mantienen la viabilidad de las células de la granulosa al regular la esteroidogénesis en estas células (Luciano y col. 1994).

En varios estudios se ha demostrado que tanto la FSH como la LH tienen un efecto antiapoptótico sobre células foliculares en cultivo. Sin embargo, en cultivos únicamente de células de la granulosa no se observa este efecto, lo que indica la importancia de las células de la teca como mediadores de señales intracelulares que también podrían regular el fenómeno apoptótico. Se ha postulado que tanto la FSH como la LH inducen la producción del factor de crecimiento semejante a la insulina tipo I (IGF-I) por las células de la granulosa, el cual actúa en las células de la teca estimulando la secreción de TGF- α y de EGF, y estos dos factores difunden a las células de la granulosa para inhibir a la apoptosis (Billig y col, 1996) (Fig.2).

Al EGF y al TGF- α se les ha implicado como inhibidores de la apoptosis de las células de la granulosa *in vitro* (Tilly y col. 1992). Por otra parte, Billig y col. (1996) indican que tanto el TGF- α como EGF juegan un importante papel en la prevención de la apoptosis en las células de la granulosa en folículos preovulatorios. Considerando que la apoptosis es el mecanismo molecular que sustenta la atresia folicular, es evidente que dichos factores son inhibidores o por lo menos reguladores de este fenómeno.

■ APOPTOSIS

La apoptosis, también llamada muerte celular programada, es el mecanismo por medio del cual los tejidos tienden a regular la cantidad activa de células. La apoptosis es un proceso fisiológico esencial para el embrión normal en desarrollo y en la homeostasis del adulto (Clarke, 1990).

En los tejidos adultos, la apoptosis es algo común, dependiendo

del tipo de tejido de que se trate. En el sistema nervioso central, el corazón, el hígado y el riñón, donde la relación de proliferación es baja, se observa poca apoptosis bajo condiciones fisiológicas normales (Benedetti y col, 1988). Por otro lado, en los tejidos en donde existe una elevada relación de proliferación, como es el sistema hematopoyético, epitelio intestinal y testículo, la apoptosis es alta (Billig y col, 1995). En el ovario de los mamíferos existe una alta relación de apoptosis en las células foliculares durante la vida reproductiva (Hsueh y Jones, 1981).

La apoptosis se distingue por cambios morfológicos característicos tanto en el núcleo como en el citoplasma. Los cambios típicos nucleares durante la apoptosis consisten principalmente en la condensación de la cromatina, que resulta en la formación de zonas densas de heterocromatina. Estos cambios se continúan con la ruptura de la membrana nuclear y desintegración nuclear en fragmentos esféricos densos, que forman núcleos picnóticos (Wyllie, 1987). Independientemente de la condensación de la cromatina en el núcleo, se presenta la activación de DNasa endonucleolítica dependiente de Ca⁺⁺ y Mg⁺⁺; por acción de esta enzima, el DNA de las células apoptóticas presenta un patrón característico de rompimiento internucleosomal formando fragmentos de 180 a 200 pares de bases (pb). El citoplasma de una célula en apoptosis se caracteriza por una agregación y desorientación de los organelos citoplásmicos. Concomitantemente, la membrana plasmática muestra burbujas características de células en degeneración, lo cual ayuda a su reconocimiento por las células fagocí-

ticas para su eliminación (Wyllie, 1987).

Mucho de lo que se sabe sobre los mecanismos moleculares de la apoptosis es derivado del estudio genético en *Caenorhabditis elegans*. Estudios con mutaciones han identificado los genes que regulan la apoptosis en *C. elegans* (Driscoll, 1992). Dos de esos genes (ced-3, y ced-4) son necesarios para activar a la apoptosis y su inactivación por mutación resulta en el acúmulo de células que normalmente deberían morir. El gen ced-3 codifica para proteasas de cisteína, las cuales son similares en secuencia y función a las proteasas de cisteína de mamíferos conocidas como ECl (enzima convertidora de la interleucina 1 beta), la cual es proapoptótica (Zeleznik y col, 1989). El gen ced-4 codifica para proteínas que unen calcio y hasta la fecha no se ha mostrado homología con genes de mamíferos. El gen ced-9 en *C. elegans* se opone a la acción del ced-3 y de ced-4 y una mutación que inactiva a ced-9 resulta en muerte celular masiva y es letal durante el desarrollo. El ced-9 es similar en secuencia y función a bcl-2 de mamífero, que es un gen que pertenece a la familia de los protooncogenes (Hengartner y Horvitz, 1994) y su sobreexpresión inhibe la apoptosis en nemátodos, insectos y células de mamíferos (Alnemri y col, 1992; Hengartner y Horvitz, 1994). La proteína p53 es considerada como un "guardián del genoma" ya que esta proteína es expresada por la célula cuando existe daño al DNA y antes de entrar a la fase S del ciclo celular, y reparar al DNA, en caso de persistir esta condición en fase S, la proteína p53 se sobreexpresa y se lleva a cabo la apoptosis. La proteína p53 es inductora de la

En varios estudios se ha demostrado que tanto la FSH como la LH tienen un efecto antiapoptótico sobre células foliculares en cultivo. Sin embargo, en cultivos únicamente de células de la granulosa no se observa este efecto, lo que indica la importancia de las células de la teca como mediadores de señales intracelulares que también podrían regular el fenómeno apoptótico. Se ha postulado que tanto la FSH como la LH inducen la producción del factor de crecimiento semejante a la insulina tipo 1 (IGF-I) por las células de la granulosa, el cual actúa en las células de la teca estimulando la secreción de TGF- α y de EGF, y estos dos factores difunden a las células de la granulosa para inhibir a la apoptosis (Billig y col, 1996) (Fig.2).

Al EGF y al TGF- α se les ha implicado como inhibidores de la apoptosis de las células de la granulosa *in vitro* (Tilly y col. 1992). Por otra parte, Billig y col. (1996) indican que tanto el TGF- α como EGF juegan un importante papel en la prevención de la apoptosis en las células de la granulosa en folículos preovulatorios. Considerando que la apoptosis es el mecanismo molecular que sustenta la atresia folicular, es evidente que dichos factores son inhibidores o por lo menos reguladores de este fenómeno.

■ APOPTOSIS

La apoptosis, también llamada muerte celular programada, es el mecanismo por medio del cual los tejidos tienden a regular la cantidad activa de células. La apoptosis es un proceso fisiológico esencial para el embrión normal en desarrollo y en la homeostasis del adulto (Clarke, 1990).

En los tejidos adultos, la apoptosis es algo común, dependiendo

del tipo de tejido de que se trate. En el sistema nervioso central, el corazón, el hígado y el riñón, donde la relación de proliferación es baja, se observa poca apoptosis bajo condiciones fisiológicas normales (Benedetti y col, 1988). Por otro lado, en los tejidos en donde existe una elevada relación de proliferación, como es el sistema hematopoyético, epitelio intestinal y testículo, la apoptosis es alta (Billig y col, 1995). En el ovario de los mamíferos existe una alta relación de apoptosis en las células foliculares durante la vida reproductiva (Hsueh y Jones, 1981).

La apoptosis se distingue por cambios morfológicos característicos tanto en el núcleo como en el citoplasma. Los cambios típicos nucleares durante la apoptosis consisten principalmente en la condensación de la cromatina, que resulta en la formación de zonas densas de heterocromatina. Estos cambios se continúan con la ruptura de la membrana nuclear y desintegración nuclear en fragmentos esféricos densos, que forman núcleos picnóticos (Wyllie, 1987). Independientemente de la condensación de la cromatina en el núcleo, se presenta la activación de DNasa endonucleolítica dependiente de Ca⁺⁺ y Mg⁺⁺; por acción de esta enzima, el DNA de las células apoptóticas presenta un patrón característico de rompimiento internucleosomal formando fragmentos de 180 a 200 pares de bases (pb). El citoplasma de una célula en apoptosis se caracteriza por una agregación y desorientación de los organelos citoplásmicos. Concomitantemente, la membrana plasmática muestra burbujas características de células en degeneración, lo cual ayuda a su reconocimiento por las células fagocí-

ticas para su eliminación (Wyllie, 1987).

Mucho de lo que se sabe sobre los mecanismos moleculares de la apoptosis es derivado del estudio genético en *Caenorhabditis elegans*. Estudios con mutaciones han identificado los genes que regulan la apoptosis en *C. elegans* (Driscoll, 1992). Dos de esos genes (ced-3, y ced-4) son necesarios para activar a la apoptosis y su inactivación por mutación resulta en el acúmulo de células que normalmente deberían morir. El gen ced-3 codifica para proteasas de cisteína, las cuales son similares en secuencia y función a las proteasas de cisteína de mamíferos conocidas como ECl (enzima convertidora de la interleucina 1 beta), la cual es proapoptótica (Zeleznik y col, 1989). El gen ced-4 codifica para proteínas que unen calcio y hasta la fecha no se ha mostrado homología con genes de mamíferos. El gen ced-9 en *C. elegans* se opone a la acción del ced-3 y de ced-4 y una mutación que inactiva a ced-9 resulta en muerte celular masiva y es letal durante el desarrollo. El ced-9 es similar en secuencia y función a bcl-2 de mamífero, que es un gen que pertenece a la familia de los protooncogenes (Hengartner y Horvitz, 1994) y su sobreexpresión inhibe la apoptosis en nemátodos, insectos y células de mamíferos (Alnemri y col, 1992; Hengartner y Horvitz, 1994). La proteína p53 es considerada como un "guardián del genoma" ya que esta proteína es expresada por la célula cuando existe daño al DNA y antes de entrar a la fase 5 del ciclo celular, y reparar al DNA, en caso de persistir esta condición en fase 5, la proteína p53 se sobreexpresa y se lleva a cabo la apoptosis. La proteína p53 es inductora de la

apoptosis, ya que posee propiedades de activación transcripcional al ser capaz de activar genes que controlan la apoptosis tales como apo/fas, cd40, crm-A, ice, tnfr-1 (Gottlieb y Oren, 1996). Varios genes de mamíferos están involucrados en las señales de apoptosis contenidas en los dominios de muerte conservadas durante la evolución, estos dominios fueron inicialmente identificados en la cercanía de las regiones celulares del receptor tipo 1 del factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) y el antígeno Fas, el cual es un mediador importante de apoptosis. Además de éste, varias proteínas intracelulares han sido identificadas en base a su interacción con el dominio de muerte Fas.

La sobreexpresión de este dominio Fas en células de mamíferos produce apoptosis lo cual sugiere que éste puede ser el origen de las señales apoptóticas por un receptor de membrana plasmática (Nagata y Golstein, 1995).

Por medio de estudios en modelos experimentales de laboratorio se ha determinado que la expresión de las enzimas llamadas caspasas (del tipo 3, 6, 7, 8, 10) son indispensables para la muerte por apoptosis en muchos tipos celulares de mamíferos. Estas enzimas son una familia de proteasas cuya activación ocurre en dos etapas secuenciales. Las caspasas 8 y 10 (también denominadas FLICE y Mch4, respectivamente) participan en la fase de activación del programa de muerte, y son activadas en respuesta a la ocupación del receptor de TNF tipo 1 o de APO/FAS. Por otra parte, las caspasas 3, 6, 7 y 9 (también denominadas CPP32, Mch2, ICE-LAP3, e ICE-LAP6, respectivamente) forman parte de la fase de ejecución.

Estas caspasas pueden ser activadas como resultado de daño mitocondrial o bien por otros mecanismos independientes de la mitocondria aún no bien caracterizados (Cohen, 1997).

Además de la activación de la cascada de caspasas durante la muerte por apoptosis, se activan varios procesos bioquímicos que han sido considerados como vías paralelas que conducen a la muerte celular. Dentro de estos procesos bioquímicos que se han identificado y que contribuyen al mecanismo de muerte celular está la activación de una enzima de membrana llamada esfingomielinasa, la cual hidroliza a la esfingomielina produciendo ceramida. La ceramida así producida, actúa como segundo mensajero induciendo citostasis (arresto de la proliferación celular) o muerte celular por apoptosis, dependiendo del blanco celular. Por otra parte, la activación de la fosfolipasa del tipo A2 (PL-A2) en respuesta a estímulos apoptóticos, como el TNF- α , produce un aumento en el metabolismo del ácido araquidónico que ha sido asociado con la muerte celular, posiblemente por la generación de radicales libres. Si bien se desconoce aún cuáles de los metabolitos del ácido araquidónico (prostaglandinas, leucotrienos o tromboxanos) son relevantes para la muerte por apoptosis, existen varios informes que demuestran una clara correlación entre la actividad de PL-A2 y el programa de muerte (Golstein, 1997).

■ APOPTOSIS Y DESARROLLO FOLICULAR

Dos estados de degeneración celular se distinguen en el ovario: degeneración de células germinati-

vas, que ocurre principalmente en la etapa prenatal, y la degeneración del folículo (atresia), la cual ocurre durante la etapa posnatal en la vida reproductiva en el ovario. En el humano, se encuentran dos millones de ovocitos al nacimiento; al llegar a la pubertad están presentes sólo alrededor de 400,000 folículos y únicamente 400 folículos ovulan durante la vida reproductiva de la mujer (Kenigsberg y col, 1995). Lo anterior significa que a pesar de haber una gran cantidad de ovocitos, sólo un pequeño número ovula y la mayoría cae en apoptosis, por lo cual el ovario proporciona un modelo único para el estudio de la regulación de la apoptosis.

El folículo del ovario degenera a atresia en un proceso apoptótico controlado por hormonas, y los folículos en degeneración son eliminados al mismo tiempo. Usando la fragmentación del DNA como un marcador de apoptosis, se ha encontrado la atresia de los folículos en diferentes especies que van desde el pollo al humano (Quirk y col, 1995).

Se sabe que las gonadotropinas son requeridas para el crecimiento y desarrollo del folículo del ovario. En modelos experimentales con folículos preovulatorios en cultivo, la apoptosis se presenta espontáneamente al suprimir a las hormonas FHS y LH. La unión de las gonadotropinas a sus receptores de membrana en las células de la granulosa resulta en activación de la adenilato ciclasa y acumulación del AMPc, lo cual activa a proteínas cinasas que constituyen señales intracelulares que inhiben la apoptosis. Por otro lado, la hormona del crecimiento (GH) afecta el crecimiento folicular al estimular la acción de las gonadotropinas, lo

apoptosis, ya que posee propiedades de activación transcripcional al ser capaz de activar genes que controlan la apoptosis tales como apo/fas, cd40, crm-A, ice, tnfr-1 (Gottlieb y Oren, 1996). Varios genes de mamíferos están involucrados en las señales de apoptosis contenidas en los dominios de muerte conservadas durante la evolución, estos dominios fueron inicialmente identificados en la cercanía de las regiones celulares del receptor tipo 1 del factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) y el antígeno Fas, el cual es un mediador importante de apoptosis. Además de éste, varias proteínas intracelulares han sido identificadas en base a su interacción con el dominio de muerte Fas.

La sobreexpresión de este dominio Fas en células de mamíferos produce apoptosis lo cual sugiere que éste puede ser el origen de las señales apoptóticas por un receptor de membrana plasmática (Nagata y Golstein, 1995).

Por medio de estudios en modelos experimentales de laboratorio se ha determinado que la expresión de las enzimas llamadas caspasas (del tipo 3, 6, 7, 8, 10) son indispensables para la muerte por apoptosis en muchos tipos celulares de mamíferos. Estas enzimas son una familia de proteasas cuya activación ocurre en dos etapas secuenciales. Las caspasas 8 y 10 (también denominadas FLICE y Mch4, respectivamente) participan en la fase de activación del programa de muerte, y son activadas en respuesta a la ocupación del receptor de TNF tipo 1 o de APO/FAS. Por otra parte, las caspasas 3, 6, 7 y 9 (también denominadas CPP32, Mch2, ICE-LAP3, e ICE-LAP6, respectivamente) forman parte de la fase de ejecución.

Estas caspasas pueden ser activadas como resultado de daño mitocondrial o bien por otros mecanismos independientes de la mitocondria aún no bien caracterizados (Cohen, 1997).

Además de la activación de la cascada de caspasas durante la muerte por apoptosis, se activan varios procesos bioquímicos que han sido considerados como vías paralelas que conducen a la muerte celular. Dentro de estos procesos bioquímicos que se han identificado y que contribuyen al mecanismo de muerte celular está la activación de una enzima de membrana llamada esfingomielinasa, la cual hidroliza a la esfingomielina produciendo ceramida. La ceramida así producida, actúa como segundo mensajero induciendo citostasis (arresto de la proliferación celular) o muerte celular por apoptosis, dependiendo del blanco celular. Por otra parte, la activación de la fosfolipasa del tipo A2 (PL-A2) en respuesta a estímulos apoptóticos, como el TNF- α , produce un aumento en el metabolismo del ácido araquidónico que ha sido asociado con la muerte celular, posiblemente por la generación de radicales libres. Si bien se desconoce aún cuáles de los metabolitos del ácido araquidónico (prostaglandinas, leucotrienos o tromboxanos) son relevantes para la muerte por apoptosis, existen varios informes que demuestran una clara correlación entre la actividad de PL-A2 y el programa de muerte (Golstein, 1997).

■ APOPTOSIS Y DESARROLLO FOLICULAR

Dos estados de degeneración celular se distinguen en el ovario: degeneración de células germinati-

vas, que ocurre principalmente en la etapa prenatal, y la degeneración del folículo (atresia), la cual ocurre durante la etapa posnatal en la vida reproductiva en el ovario. En el humano, se encuentran dos millones de ovocitos al nacimiento; al llegar a la pubertad están presentes sólo alrededor de 400,000 folículos y únicamente 400 folículos ovulan durante la vida reproductiva de la mujer (Kenigsberg y col, 1995). Lo anterior significa que a pesar de haber una gran cantidad de ovocitos, sólo un pequeño número ovula y la mayoría cae en apoptosis, por lo cual el ovario proporciona un modelo único para el estudio de la regulación de la apoptosis.

El folículo del ovario degenera a atresia en un proceso apoptótico controlado por hormonas, y los folículos en degeneración son eliminados al mismo tiempo. Usando la fragmentación del DNA como un marcador de apoptosis, se ha encontrado la atresia de los folículos en diferentes especies que van desde el pollo al humano (Quirk y col, 1995).

Se sabe que las gonadotropinas son requeridas para el crecimiento y desarrollo del folículo del ovario. En modelos experimentales con folículos preovulatorios en cultivo, la apoptosis se presenta espontáneamente al suprimir a las hormonas FHS y LH. La unión de las gonadotropinas a sus receptores de membrana en las células de la granulosa resulta en activación de la adenilato ciclasa y acumulación del AMPc, lo cual activa a proteínas cinasas que constituyen señales intracelulares que inhiben la apoptosis. Por otro lado, la hormona del crecimiento (GH) afecta el crecimiento folicular al estimular la acción de las gonadotropinas, lo

cual suprime la apoptosis espontánea de los folículos en cultivo (Chun y col, 1994; Eisenhauer y col, 1995). Además de las hormonas endocrinas, se producen localmente factores de crecimiento que pueden regular la foliculogénesis. El EGF, uno de estos factores, es producido por células foliculares y su acción consiste en inhibir la fragmentación espontánea del DNA en los folículos preovulatorios, esta acción es bloqueada por la genisteína e inhibidores de tirosín cinasas (Tilly y col, 1992).

La presencia de estrógenos incrementa la división mitótica en células de la granulosa e incrementa el peso del ovario. Los folículos atrésicos presentan una disminución en la producción de estrógenos y de la relación de estrógenos/andrógenos en el fluido folicular, lo que sugiere la importancia de los estrógenos locales para mantener un folículo sano. Cuando son suprimidos los estrógenos en animales de experimentación el ovario presenta apoptosis masiva. Esta apoptosis es confinada principalmente a las células de la granulosa, lo que indica que este tipo celular es el que lleva a cabo el proceso preferencialmente de apoptosis (Billig y col, 1993; Peluso y Pappalardo, 1994).

La presencia de gonadotropinas induce la expresión de la proteína bcl-2 la cual es un factor conocido que suprime la apoptosis en muchos tipos celulares, incluyendo a las células de la granulosa. Lo anterior queda demostrado porque cuando las células somáticas del folículo incrementan su expresión de bcl-2, esto produce un aumento en la supervivencia de estas células, lo cual puede estimular la tumorigénesis de las células germinales (Hsu y col, 1996).

La selección del folículo, su maduración y su ovulación dependen críticamente del trabajo en conjunto de las gonadotropinas y de los factores parácrinos intraováricos, para suprimir la muerte celular de las células de la granulosa. La apoptosis de las células foliculares puede ocurrir en cualquier estadio del desarrollo folicular; sin embargo, la transición a la forma antral es el cuello de botella en el desarrollo del folículo (Hirdhfield, 1991) (Fig. 1).

La apoptosis es un proceso controlado por varios factores tanto hormonales como de crecimiento que promueven y mantienen la homeostasis. Estos factores son específicos de cada tipo celular ya que por ejemplo, los andrógenos promueven apoptosis de las células de la granulosa en el folículo, pero estos mismos promueven la proliferación celular en el testículo (Billig y col, 1993 y 1995).

La apoptosis es un importante mecanismo de regulación de la muerte celular. La atresia de muchos de los folículos del ovario es un proceso apoptótico regulado por hormonas en donde participan sistemas de segundo mensajero, gonadotropinas y factores locales tales como el óxido nítrico, la IL1- β , los estrógenos, el TNF- α y el EGF. El TNF- α actúa a través de receptores que poseen el dominio para la muerte; sin embargo, los mecanismos moleculares y de regulación hormonal de la apoptosis en las células foliculares del ovario aún no se conocen con precisión. El conocimiento de estos mecanismos seguramente ayudará en el desarrollo de nuevas modalidades terapéuticas para el tratamiento de desórdenes del ovario que se caracterizan por una degeneración celular excesiva e inferti-

lidad, como por ejemplo el síndrome del ovario poliquístico. Por otra parte, el estudio de los mecanismos celulares de la apoptosis del ovario puede ser la forma de entender una gran variedad de fenómenos patológicos tales como el cáncer, la infección viral, los desórdenes neurodegenerativos y las enfermedades autoinmunes.

Un buen modelo de estudio, en donde se ha encontrado un aparente problema en la regulación del crecimiento folicular es el síndrome del ovario poliquístico. El síndrome del ovario poliquístico es una de las causas más comunes de infertilidad en la mujer. Respecto a su frecuencia, se ha informado que se presenta entre 10-25% de las mujeres que no logran el embarazo (Bennink y col, 1998; Santbrink y col, 1995).

Este síndrome es único en humanos y es caracterizado por anomalías heterogéneas en diferentes aspectos tales como en la morfología del ovario, a niveles endocrinos y en las manifestaciones clínicas. Basados en el potente efecto inhibitorio de TGF- α y de EGF en la producción de estrógenos por las células de la granulosa y la elevación de EGF en el fluido folicular de mujeres con ovarios poliquísticos, se ha pensado que la función excesiva de EGF y de TGF- α pueda ser responsable del síndrome del ovario poliquístico. Lo anterior sugiere que dentro de la etiología del síndrome poliquístico, pueden estar involucrados estos factores de crecimiento (Almohbobi y col, 1996). Por otra parte, se ha demostrado que el TGF- α y el EGF bloquean el crecimiento del folículo antral y la síntesis de estrógenos *in vitro*, condiciones características en el humano para el síndrome del ovario poliquístico (Almohbobi y col, 1995).

Puesto que se sabe que tanto el TGF- α y el EGF en altas concentraciones producen apoptosis *in vitro*, es interesante averiguar si este fenómeno apoptótico está presente en el síndrome del ovario poliquístico, como una expresión del mal funcionamiento de la célula cuando se presentan estos factores en forma desregulada.

■ CONCLUSIONES

Es conocido el hecho de que el crecimiento del folículo y la esteroidogénesis son usualmente reguladas por la FSH y la LH; sin embargo, evidencias experimentales han revelado que los factores de crecimiento intraováricos modulan el efecto de estas gonadotropinas sobre la función del ovario. Se ha demostrado que el EGF y el TGF- α que se encuentran en el ovario, son importantes para facilitar el reclutamiento de un folículo por la hormona FSH e inducir la folículo-logénesis. Sin embargo, estos factores también son inhibidores potentes de la aromatización de la testosterona inducida por FSH en la célula de la granulosa (Mason y col, 1990; Findlay, 1993).

Se ha demostrado que en cultivos de tejidos el TGF- α y el EGF son inhibidores de la apoptosis de las células de la granulosa del folículo. Este fenómeno antiapoptótico se sugiere que es mediado por el aumento en la producción de la progesterona (Luciano y col, 1994). En estos mismos estudios, se ha observado que a dosis mínimas de estos factores se presenta la maduración del folículo con una clara función antiapoptótica. Por otro lado, concentraciones altas de estos factores en el medio de cultivo producen la atresia folicular mediada por la apoptosis (Bo-

land y Gosden, 1994). También se ha descrito que la presencia de estrógenos en las células de la granulosa favorece la maduración del folículo, y que el TGF- α y el EGF inhiben la producción de estos estrógenos, lo que puede ocasionar en teoría el fenómeno de apoptosis en las células de la granulosa (Bendell y Dorrington, 1990; Luciano y col. 1994).

De todo lo anterior se desprende el hecho de que los factores de crecimiento presentan acciones contradictorias, lo que sugiere que los mecanismos moleculares de acción y su regulación son muy complejos y que probablemente puede involucrar la presencia del receptor para EGF, que funciona tanto para EGE como para TGF- α , los cuales intervienen en todo el proceso folicular. No solamente el receptor puede estar involucrado, ya que como se ha visto, la presencia de las hormonas FSH y LH son un factor decisivo en el desarrollo del folículo. Por lo tanto, las señales intracelulares derivadas de estas hormonas pueden ser mediadores de la respuesta celular, por lo que los factores de crecimiento podrían alterar la respuesta intracelular de estas hormonas y modificar el comportamiento de la célula y producir, ya sea desarrollo o atresia folicular mediada por la apoptosis.

En la actualidad se ha sugerido que los factores de crecimiento (TGF- α y EGF) participan en la patogénesis del síndrome del ovario poliquístico (Almohbobi y col, 1995 y 1996; Alinohbobi y Trounson, 1996); sin embargo, existe poca información en cuanto a los mecanismos por medio de los cuales estos factores intervienen en el proceso de atresia folicular mediada por la apoptosis en este síndrome.

El síndrome del ovario poliquístico es caracterizado por múltiples folículos antrales pequeños, detenidos en su desarrollo pero viables y no atrésicos. La sobreexpresión de algunos factores (EGF y TGF- α) en este síndrome del ovario poliquístico, factores considerados de supervivencia o antiapoptóticos, conduce a la siguiente hipótesis: Debido a que se ha demostrado que el TGF- α y el EGF bloquean el crecimiento del folículo antral y la síntesis de estrógenos *in vitro*, condiciones características en el humano para el síndrome del ovario poliquístico, se sugiere que la elevación de estos factores de crecimiento (TGF- α y EGF) pueda estar estrechamente involucrada en la etiología de este síndrome, mecanismo probablemente mediado por la inhibición de la apoptosis que ocasiona la atresia folicular.

La disminución de la estimulación de FSH y el acúmulo de andrógenos podría explicar la detención del progreso en el estado preovulatorio. Es necesaria una investigación adicional en la patogénesis de este síndrome en relación con la modulación de genes supresores de tumores y genes de la apoptosis como *p53*, o *FAS*, y la sobreexpresión de genes de supervivencia como *bcl-2*. Es por ello que el estudio de los efectos de estos factores de crecimiento en el control de la apoptosis son de importancia capital para entender las relaciones que guarda la maduración de un folículo, la muerte de éste (apoptosis) o la degeneración que presenta en el síndrome del ovario poliquístico.

Por todo lo anterior, se deben realizar estudios que investiguen

Puesto que se sabe que tanto el TGF- α y el EGF en altas concentraciones producen apoptosis *in vitro*, es interesante averiguar si este fenómeno apoptótico está presente en el síndrome del ovario poliquístico, como una expresión del mal funcionamiento de la célula cuando se presentan estos factores en forma desregulada.

■ CONCLUSIONES

Es conocido el hecho de que el crecimiento del folículo y la esteroidogénesis son usualmente reguladas por la FSH y la LH; sin embargo, evidencias experimentales han revelado que los factores de crecimiento intraováricos modulan el efecto de estas gonadotropinas sobre la función del ovario. Se ha demostrado que el EGF y el TGF- α que se encuentran en el ovario, son importantes para facilitar el reclutamiento de un folículo por la hormona FSH e inducir la foliculogénesis. Sin embargo, estos factores también son inhibidores potentes de la aromatización de la testosterona inducida por FSH en la célula de la granulosa (Mason y col, 1990; Findlay, 1993).

Se ha demostrado que en cultivos de tejidos el TGF- α y el EGF son inhibidores de la apoptosis de las células de la granulosa del folículo. Este fenómeno antiapoptótico se sugiere que es mediado por el aumento en la producción de la progesterona (Luciano y col, 1994). En estos mismos estudios, se ha observado que a dosis mínimas de estos factores se presenta la maduración del folículo con una clara función antiapoptótica. Por otro lado, concentraciones altas de estos factores en el medio de cultivo producen la atresia folicular mediada por la apoptosis (Bo-

land y Gosden, 1994). También se ha descrito que la presencia de estrógenos en las células de la granulosa favorece la maduración del folículo, y que el TGF- α y el EGF inhiben la producción de estos estrógenos, lo que puede ocasionar en teoría el fenómeno de apoptosis en las células de la granulosa (Bendell y Dorrington, 1990; Luciano y col. 1994).

De todo lo anterior se desprende el hecho de que los factores de crecimiento presentan acciones contradictorias, lo que sugiere que los mecanismos moleculares de acción y su regulación son muy complejos y que probablemente puede involucrar la presencia del receptor para EGF, que funciona tanto para EGF como para TGF- α , los cuales intervienen en todo el proceso folicular. No solamente el receptor puede estar involucrado, ya que como se ha visto, la presencia de las hormonas FSH y LH son un factor decisivo en el desarrollo del folículo. Por lo tanto, las señales intracelulares derivadas de estas hormonas pueden ser mediadores de la respuesta celular, por lo que los factores de crecimiento podrían alterar la respuesta intracelular de estas hormonas y modificar el comportamiento de la célula y producir, ya sea desarrollo o atresia folicular mediada por la apoptosis.

En la actualidad se ha sugerido que los factores de crecimiento (TGF- α y EGF) participan en la patogénesis del síndrome del ovario poliquístico (Almohbobi y col, 1995 y 1996; Alimohbobi y Trounson, 1996); sin embargo, existe poca información en cuanto a los mecanismos por medio de los cuales estos factores intervienen en el proceso de atresia folicular mediada por la apoptosis en este síndrome.

El síndrome del ovario poliquístico es caracterizado por múltiples folículos antrales pequeños, detenidos en su desarrollo pero viables y no atrésicos. La sobreexpresión de algunos factores (EGF y TGF- α) en este síndrome del ovario poliquístico, factores considerados de supervivencia o antiapoptóticos, conduce a la siguiente hipótesis: Debido a que se ha demostrado que el TGF- α y el EGF bloquean el crecimiento del folículo antral y la síntesis de estrógenos *in vitro*, condiciones características en el humano para el síndrome del ovario poliquístico, se sugiere que la elevación de estos factores de crecimiento (TGF- α y EGF) pueda estar estrechamente involucrada en la etiología de este síndrome, mecanismo probablemente mediado por la inhibición de la apoptosis que ocasiona la atresia folicular.

La disminución de la estimulación de FSH y el acúmulo de andrógenos podría explicar la detención del progreso en el estado preovulatorio. Es necesaria una investigación adicional en la patogénesis de este síndrome en relación con la modulación de genes supresores de tumores y genes de la apoptosis como *p53*, o *FAS*, y la sobreexpresión de genes de supervivencia como *bcl-2*. Es por ello que el estudio de los efectos de estos factores de crecimiento en el control de la apoptosis son de importancia capital para entender las relaciones que guarda la maduración de un folículo, la muerte de éste (apoptosis) o la degeneración que presenta en el síndrome del ovario poliquístico.

Por todo lo anterior, se deben realizar estudios que investiguen

la relación que guardan las concentraciones de los factores de crecimiento (TGF- α y EGF) en mujeres con el síndrome del ovario poliquístico y la aparición de algunos marcadores de apoptosis como indicadores de atresia folicular; en el supuesto de que este fe-

nómeno de muerte celular programada, que es normal y natural en el folículo, no se presente o esté disminuido en esta patología. Esto puede traer como consecuencia la detención del desarrollo, del folículo que caracteriza a este síndrome. Además, se tiene que iden-

tificar si la sobreexpresión de estos factores ocasionan supresión de marcadores de apoptosis, como por ejemplo, *p53* y *Fas* y/o también si esta misma sobreexpresión ocasiona aumento de los niveles de factores de supervivencia como el *bcl-2*. ■

■ REFERENCIAS

- Almahbobi G, Nagodavithane A, Trounson AO. Effects of epidermal growth factor, transforming growth factor alfa and androstenedione on follicular growth and aromatization in culture. *Human Reprod* 1995; 10: 2767-72.
- Almahbobi G, Trounson AO. The role of intraovarian regulators in the etiology of the polycystic ovarian syndrome. *Reprod Med Rev* 1996; 5: 151-68.
- Almahbobi G, Anderiesz C, Hutchinson P, McFarlane JR, Wood C, Trounson AO. Functional integrity of granulosa cells from polycystic ovaries. *Clin Endocrinol* 1996; 44: 571-80.
- Alnemri ES, Robertson NM, Fernandes TF, Croce CM, Litwack G. Overexpressed fulllength human *bcl-2* extends the survival of baculovirus-infected *sf9* insect cell. *Proc Natl Acad Sci* 1992; 89: 7295-99.
- Bendell JJ and Dorrington JH. Epidermal growth factor influences growth and differentiation of rat granulosa cells. *Endocrinology* 1990; 127: 533-40.
- Bendell JJ and Dorrington JH. Estradiol-17 beta stimulates DNA synthesis in rat granulosa cells, action mediated by transforming growth factor-beta. *Endocrinology* 1991; 128: 2663-65.
- Bennink CHJT, Fauser DCJM, Out HJ. Recombinant follicle stimulating hormone (FSM, puregon) is more efficient than urinary FSH (metrodin) in women with clophene citrate-resistant, normogonadotrophic, chronic anovulation: a progressive, multicenter, assessor-blind, randomized, clinical trial. *Fertil Steril* 1998; 69: 19-25.
- Billig H, Furuta I, Hsueh AJW. Estrogens inhibit and androgens enhance ovarian granulosa cell apoptosis. *Endocrinology* 1993; 133: 2204-12.
- Sillig H, Furuta I, Rivier C, Tapanainen J, Parvinen M. Apoptosis in testis germ cells: developmental changes in gonadotrophin dependence and localization to selective tubule stages. *Endocrinology* 1995; 136: 5-12.
- Billig H, Chun SY, Eisenhauer K, Hsueh. Gonadal cell apoptosis, hormone regulated cell demise. *Hum Reprod Update*, 1996; 2: 103-17.
- Boland NI and Gosden RG. Effects of epidermal growth factor on the growth and differentiation of cultured mouse ovarian follicles. *J Rep Fert* 1994; 101: 369-74.
- Chun SY, Eisenhauer KM, Kubo M, Hsueh AJW. Interleukin-1beta suppresses apoptosis in rat ovarian follicles by increasing nitric oxide production. *Endocrinology* 1994; 136: 3120-27.
- Clarke PGH. Developmental cell death: morphological diversity and multiple mechanism. *Anat Embryol* 1990; 181: 195-213.
- Clement PB. Histology of the ovary. *Am J Surg Pathol* 1987; 11: 277-303.
- Ding J and Foxcroft GR. Epidermoidal growth factor enhances oocyte maturation in pig. *Mol Reprod Dev* 1994; 39: 30-40.
- Driscoll M. Molecular genetics of cell death in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *J Neurobiol* 1992; 23: 1327-51.
- Eisenhauer KM, Chun SY, Billig H, Hsueh AJW. Growth hormone suppression of apoptosis in preovulatory follicles and partial neutralization by insulin-like growth factor binding protein (IGFBP). *Biol Reprod* 1995; 53: 13-20.
- Findlay JK. An update on the roles of inhibin, activin, and follistatin as local regulators of folliculogenesis. *Biol Reprod* 1993; 48: 15-23.
- Fritz MA, Speroff L. The endocrinology of the menstrual cycle: The interaction of folliculogenesis and neuroendocrine mechanisms. *Fertil Steril* 1982; 38: 509-14.
- Gangrade BK, Davis JS and May JB. A novel mechanism for the induction of aromatase in ovarian cells in vitro: role of transforming growth factor alpha-induced protein tyrosine kinase. *Endocrinology* 1991; 129: 2790-92.
- Golstein P. Controlling cell death. *Science* 1997; 275: 1081-82.
- Gottlieb TM y Oren M. *p53* in growth control and neoplasia. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1287: 77-102.
- Hasegawa JI, Kamada S, Kamiike W, Shimizu S, Imazu T, Matsuda H, Tsujimoto Y. Involvement of CPP3 2/Yama (-like) proteases in Fas-mediated apoptosis. *Cancer Res* 1996; 56: 1713-18.
- Hengartner MO and Horvitz HR. *Caenorhabditis elegans* cell survival gene *ced-9* encodes a functional homolog of the mammalian proto-oncogene *bcl-2*. *Cell* 1994; 76: 665-76.
- Hirdhfield AN. Development of follicles in the mammalian ovary. *Int Rev Cytol* 1991; 124: 43-101.
- Hsu SY, Lai RJM, Chun SY, Hsueh AJW. Targeted overexpression of *bcl-2* in ovaries of transgenic mice decreases follicle apoptosis, increases litter size, and enhances tumorigenesis. *Endocrinology* 1996; 137: 4837-43.
- Hsueh AJ and Jones PB. Extrahypothalamic actions of gonadotropin-releasing hormone. *Endocr Rev* 1981; 2: 437-61.
- Kenigsberg D, Rosenwax Z and Hodgen GD. Ovarian follicular maturation ovulation and ovulation induction. In *Endocrinology*. Leslie J DeGroot (ed) WB Saunders Company. Philadelphia, Pennsylvania, 1995; 2031-45.
- Luciano AM, Pappalardo A, Ray C. Epidermal growth factor inhibits large granulosa cell apoptosis by stimulating progesterone synthesis and regulating the distribution of intracellular free calcium. *Biol Reprod* 1994; 51: 646-54.
- Mason MD, Margara R, Winston RML. Inhibition of oestradiol production by epidermal growth factor in human granulosa cells of normal and polycystic ovaries. *Clin Endocrinol* 1990; 33: 511-17.

la relación que guardan las concentraciones de los factores de crecimiento (TGF- α y EGF) en mujeres con el síndrome del ovario poliquístico y la aparición de algunos marcadores de apoptosis como indicadores de atresia folicular; en el supuesto de que este fe-

nómeno de muerte celular programada, que es normal y natural en el folículo, no se presente o esté disminuido en esta patología. Esto puede traer como consecuencia la detención del desarrollo, del folículo que caracteriza a este síndrome. Además, se tiene que iden-

tificar si la sobreexpresión de estos factores ocasionan supresión de marcadores de apoptosis, como por ejemplo, p53 y Fas y/o también si esta misma sobreexpresión ocasiona aumento de los niveles de factores de supervivencia como el bcl-2. ■

■ REFERENCIAS

- Almahbobi G, Nagodavithane A, Trounson AO. Effects of epidermal growth factor, transforming growth factor alfa and androstenedione on follicular growth and aromatization in culture. *Human Reprod* 1995; 10: 2767-72.
- Almahbobi G, Trounson AO. The role of intraovarian regulators in the etiology of the polycystic ovarian syndrome. *Reprod Med Rev* 1996; 5: 151-68.
- Almahbobi G, Anderiesz C, Hutchinson P, McFarlane JR, Wood C, Trounson AO. Functional integrity of granulosa cells from polycystic ovaries. *Clin Endocrinol* 1996; 44: 571-80.
- Alnemri ES, Robertson NM, Fernandes TF, Croce CM, Litwack G. Overexpressed fulllength human bcl-2 extends the survival of baculovirus-infected sf9 insect cell. *Proc Natl Acad Sci* 1992; 89: 7295-99.
- Bendell JJ and Dorrington JH. Epidermal growth factor influences growth and differentiation of rat granulosa cells. *Endocrinology* 1990; 127: 533-40.
- Bendell JJ and Dorrington JH. Estradiol-17 beta stimulates DNA synthesis in rat granulosa cells, action mediated by transforming growth factor-beta. *Endocrinology* 1991; 128: 2663-65.
- Bennink CHJT, Fauser DCJM, Out HJ. Recombinant follicle stimulating hormone (FSM, puregon) is more efficient than urinary FSH (metrodin) in women with clomiphene citrate-resistant, normogonadotrophic, chronic anovulation: a progressive, multicenter, assessor-blind, randomized, clinical trial. *Fertil Steril* 1998; 69: 19-25.
- Billig H, Furuta I, Hsueh AJW. Estrogens inhibit and androgens enhance ovarian granulosa cell apoptosis. *Endocrinology* 1993; 133: 2204-12.
- Billig H, Furuta I, Rivier C, Tapanainen J, Parvinen M. Apoptosis in testis germ cells: developmental changes in gonadotrophin dependence and localization to selective tubule stages. *Endocrinology* 1995; 136: 5-12.
- Billig H, Chun SY, Eisenhauer K, Hsueh. Gonadal cell apoptosis, hormone regulated cell demise. *Hum Reprod Update*, 1996; 2: 103-17.
- Boland NI and Gosden RG. Effects of epidermal growth factor on the growth and differentiation of cultured mouse ovarian follicles. *J Rep Fert* 1994; 101: 369-74.
- Chun SY, Eisenhauer KM, Kubo M, Hsueh AJW. Interleukin-1beta suppresses apoptosis in rat ovarian follicles by increasing nitric oxide production. *Endocrinology* 1994; 136: 3120-27.
- Clarke PGH. Developmental cell death: morphological diversity and multiple mechanism. *Anat Embryol* 1990; 181: 195-213.
- Clement PB. Histology of the ovary. *Am J Surg Pathol* 1987; 11: 277-303.
- Ding J and Foxcroft GR. Epidermoidal growth factor enhances oocyte maturation in pig. *Mol Reprod Dev* 1994; 39: 30-40.
- Driscoll M. Molecular genetics of cell death in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *J Neurobiol* 1992; 23: 1327-51.
- Eisenhauer KM, Chun SY, Billig H, Hsueh AJW. Growth hormone suppression of apoptosis in preovulatory follicles and partial neutralization by insulin-like growth factor binding protein (IGFBP). *Biol Reprod* 1995; 53: 13-20.
- Findlay JK. An update on the roles of inhibin, activin, and follistatin as local regulators of folliculogenesis. *Biol Reprod* 1993; 48: 15-23.
- Fritz MA, Speroff L. The endocrinology of the menstrual cycle: The interaction of folliculogenesis and neuroendocrine mechanisms. *Fertil Steril* 1982; 38: 509-14.
- Gangrade BK, Davis JS and May JB. A novel mechanism for the induction of aromatase in ovarian cells in vitro: role of transforming growth factor alpha-induced protein tyrosine kinase. *Endocrinology* 1991; 129: 2790-92.
- Golstein P. Controlling cell death. *Science* 1997; 275: 1081-82.
- Gottlieb TM y Oren M. p53 in growth control and neoplasia. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1287: 77-102.
- Hasegawa JI, Kamada S, Kamiike W, Shimizu S, Imazu T, Matsuda H, Tsujimoto Y. Involvement of CPP3 2/Yama (-like) proteases in Fas-mediated apoptosis. *Cancer Res* 1996; 56: 1713-18.
- Hengartner MO and Horvitz HR. *Caenorhabditis elegans* cell survival gene ced-9 encodes a functional homolog of the mammalian proto-oncogene bcl-2. *Cell* 1994; 76: 665-76.
- Hirdhfield AN. Development of follicles in the mammalian ovary. *Int Rev Cytol* 1991; 124: 43-101.
- Hsu SY, Lai RJM, Chun SY, Hsueh AJW. Targeted overexpression of bcl-2 in ovaries of transgenic mice decreases follicle apoptosis, increases litter size, and enhances tumorigenesis. *Endocrinology* 1996; 137: 4837-43.
- Hsueh AJ and Jones PB. Extrapituitary actions of gonadotropin-releasing hormone. *Endocr Rev* 1981; 2: 437-61.
- Kenigsberg D, Rosenwax Z and Hodgen GD. Ovarian follicular maturation ovulation and ovulation induction. In *Endocrinology*. Leslie J DeGroot (ed) WB Saunders Company, Philadelphia, Pennsylvania, 1995; 2031-45.
- Luciano AM, Pappalardo A, Ray C. Epidermal growth factor inhibits large granulosa cell apoptosis by stimulating progesterone synthesis and regulating the distribution of intracellular free calcium. *Biol Reprod* 1994; 51: 646-54.
- Mason MD, Margara R, Winston RML. Inhibition of oestradiol production by epidermal growth factor in human granulosa cells of normal and polycystic ovaries. *Clin Endocrinol* 1990; 33: 511-17.

31. May JV, and Schomberg DW. Granulosa cell differentiation in vitro: effect of insulin on growth and functional integrity. *Biol Reprod* 1981; 25: 421-31.
32. Nagata S, Golstein P. The Fas death factor. *Science* 1995; 267: 1449-56.
33. Peluso JJ and Pappalardo A. Progesterone and cell adhesion interact to regulate granulosa cell apoptosis. *Biochem Cell Biol* 1994; 72: 547-51.
34. Quirk SM, Cowam RG, Joshi SG, Henrikson KP. Fas antigen-mediated apoptosis in human granulosa/luteal cells. *Biol Reprod* 1995; 52: 279-87.
35. Reeka N, Berg FD, Brucker. Presence of transforming growth factor alpha and epidermal growth factor in human ovarian tissue and follicular fluid. *Human Reprod* 1998; 13: 2199-205.
36. Rodriguez-Tarduchy G, Collins M, Lopez-Rivas A. Regulation of apoptosis in interleukin-3-dependent hemopoietic cells by interleukin-3 and calcium ionophores. *EMBO J* 1990; 9: 2997.
37. Santbrink EJP, Donderwinkel PFJ, Van Dessel TJHM. Gonadotrophin induction of ovulation using a step-down dose regimen: single center clinical experience in 82 patients. *Hum Reprod* 1995; 10: 1048-53.
38. Tamura M, Sasano H, Suzuki T, Fukaya T, Funayama Y, Takayama K, Takaya R, Yajima A. Expression of epidermal growth factors and epidermal growth factor receptor in normal cycling human ovaries. *Human Reprod* 1995; 10: 1891-96.
39. Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 1995; 267: 1442-50.
40. Tilly JL, Billig H, Kowalski KI, Hsueh AJW. Epidermal growth factor and basic fibroblast growth factor suppress the spontaneous onset of apoptosis in culture rat granulosa cells and follicles by a tyrosine kinase-dependent mechanism. *Mol Endocrinol* 1992; 6: 1942-50.
41. Trounson AO, Wood C, Kausche A. In vitro maturation and the fertilisation and developmental competence of oocytes recovered from untreated polycystic ovarian patients. *Fertil Steril* 1994; 62: 353-62.
42. Wyllie AH. Apoptosis: cell death in tissue regulation. *J Pathol* 1987; 153: 313-16.
43. Yeh J, Lee GY and Anderson E. Presence of transforming growth factor alpha messenger ribonucleic acid (mRNA) and absence of epidermal growth factor mRNA in rat ovarian granulosa cells, and the effects of these factors on steroidogenesis in vitro. *Biol Reprod* 1993; 48: 1071-81.
44. Zeleznik AJ, Ihrig L, Bassett SG. Developmental expression of Ca²⁺/Mg²⁺-dependent endonucleases activity in rat granulosa and luteal cells. *Endocrinology* 1989; 125: 221v-20.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA