



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA**

**CARRERA DE BIOLOGÍA**

**EFFECTOS DE LA INGESTA CRÓNICA DE  
PICOLINATO DE CROMO EN LA RESPUESTA  
OVULATORIA ESPONTÁNEA DE  
RATONES HEMBRA ADULTOS**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**BIÓLOGA**

**PRESENTA**

**IBETH AURORA ESPINOSA CRUZ**

**DIRECTORA DE TESIS: DRA. PATRICIA ROSAS SAUCEDO**



**Ciudad de México**

**Abril, 2016**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA**

**CARRERA DE BIOLOGÍA**

**EFFECTOS DE LA INGESTA CRÓNICA DE  
PICOLINATO DE CROMO EN LA RESPUESTA OVULATORIA  
ESPONTÁNEA DE RATONES HEMBRA ADULTOS**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**BIÓLOGA**

**PRESENTA**

**IBETH AURORA ESPINOSA CRUZ**

**DIRECTORA DE TESIS  
DRA. PATRICIA ROSAS SAUCEDO**

**Realizado en el Laboratorio de Neuroinmunoendocrinología de la Unidad de  
Investigación en Biología de la Reproducción. Unidad Multidisciplinaria  
de Investigación Experimental Zaragoza. Facultad de Estudios  
Superiores Zaragoza, UNAM**

**Para la realización de esta tesis se contó con el apoyo de la  
DGAPA-PAPIIT clave IN223715, UNAM**



**Ciudad de México**

**2016**

## DEDICATORIA

*Quiero dedicar el presente a las personas que me apoyaron y respaldaron siempre, con todo cariño:*

*Mi padre y mis hermanos*

*Agradezco primeramente a mi padre Juan Eloy, que ha dado todo su esfuerzo para que yo, ahora este culminando esta etapa de mi vida, su apoyo incondicional en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha infundado para ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor. Gracias a él y mi esfuerzo, ahora puedo ser una gran profesionista y un gran orgullo para él y para todos los que confiaron en mí.*

*A mi hermana Jacqueline, que a pesar de que tengamos nuestras eventuales discusiones y malos encuentros, y que tal vez seamos polos opuestos en ciertas cuestiones, has sido siempre una de las principales personas involucradas en ayudarme a que este proyecto fuera posible así como muchos otros más. Porque, si tener una mejor amiga es increíble, cuando tu hermana es tu mejor amiga, es ¡lo máximo!*

*A mi hermano Israel, le agradezco no solo por estar presentes aportando buenas cosas a mi vida, sino por los grandes lotes de felicidad y de diversas emociones que siempre me ha causado, estuvo presente en la evolución y posterior desarrollo total de mi tesis, le agradezco mucho por estar conmigo incondicionalmente.*

*A Víctor Hugo:*

*Por la ayuda que me brindaste, ha sido sumamente importante, estuviste a mi lado inclusive en los momentos y situaciones más tormentosas, siempre ayudándome. No fue sencillo culminar con éxito este proyecto, sin embargo siempre fuiste muy motivador y esperanzador, me decías que lo lograría perfectamente. Me ayudaste hasta donde te era posible, incluso más que eso, muchas gracias.*

*A mis amigos:*

*Que nos apoyamos mutuamente en nuestra formación profesional y que hasta ahora, seguimos siendo amigos: Zuuridisay, Cynthia, Armando, Adolfo, Héctor, Carlos, Ángel, por su amistad, por compartir su tiempo conmigo, por esos momentos de trabajo y de estrés, porque son personas que fueron y serán parte de mi vida y que de alguna u otra manera me ayudaron a caminar siempre hacia adelante.*

*A mis amigos y compañeros de laboratorio:*

*Juan Carlos M, Gabriela D, Karla C, Claudia O, Andrea C. Por todos aquellos momentos de trabajo y de diversión dentro y fuera de laboratorio, como su gran apoyo en la realización de esta investigación.*

*Y a todas aquellas personas que de una u otra forma, colaboraron o participaron en la realización de esta investigación, hago extensivo mi más sincero agradecimiento.*

*A la Universidad Nacional Autónoma de México que me dio la bienvenida al mundo como tal desde muy temprana edad, y me otorgó la oportunidad de desenvolverme en ella, intelectual y emocionalmente para llegar a ser un profesionalista preparado y digno de esta máxima casa de estudios. Y a la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza por permitirme ser parte de una generación más.*

## *AGRADECIMIENTOS*

A la Dra. Patricia Rosas Saucedo.

Quien se ha tomado el arduo trabajo de transmitirme sus diversos conocimientos, especialmente del campo y de los temas que corresponden a mi profesión. Pero además de eso, ha sido ella quién ha sabido orientarme por el camino correcto, y quien me ha ofrecido sabios conocimientos y consejos para lograr mis metas y lo que me propongo. Por su paciencia, esfuerzo, dedicación, la gran fe y confianza que siempre tuvo hacia mi persona, para llevar a término el presente trabajo.

A los miembros del jurado:

Dra. María Esther Cruz Beltrán

Dra. Patricia Rosas Saucedo

Biól. Carlos Martínez Montoya

Dra. Leticia Morales Ledesma

M. en ISBH. Angélica Flores Ramírez

Por su colaboración y sus importantes aportaciones, además de su disponibilidad, paciencia y orientación durante la revisión de esta tesis.

A la MVZ. Adriana Altamirano y a el MVZ Román Hernández y al personal técnico del bioterio de la FES-Zaragoza por el mantenimiento y cuidado brindado a los animales utilizados en este proyecto.

A cada uno de mis compañeros de la Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
 "ZARAGOZA"  
 DIRECCIÓN

JEFE DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
 P R E S E N T E.

Comunico a usted que la alumna **ESPINOSA CRUZ IBETH AURORA**, con número de cuenta **103001016**, de la carrera de Biología, se le ha fijado el día **05 de abril** a las **11:00 hrs.**, para presentar examen profesional, el cual tendrá lugar en esta Facultad con el siguiente jurado:

**PRESIDENTE** Dra. MARÍA ESTHER CRUZ BELTRÁN

**VOCAL** Dra. PATRICIA ROSAS SAUCEDO

**SECRETARIO** Biól. CARLOS MARTÍNEZ MONTOYA

**SUPLENTE** Dra. LETICIA MORALES LEDESMA

**SUPLENTE** M. en IBSH. ANGÉLICA FLORES RAMÍREZ



El título de la tesis que presenta es: **Efectos de la ingesta crónica de picolinato de cromo en la respuesta ovulatoria espontánea de ratones hembra adultos.**

Opción de titulación: Tesis.

Agradeceré por anticipado su aceptación y hago propia la ocasión para saludarle.

ATENTAMENTE  
 "POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"  
 México, D. F., a 12 de febrero de 2016



DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ  
 DIRECTOR

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
 "ZARAGOZA"  
 DIRECCIÓN



RECIBÍ  
 OFICINA DE EXÁMENES  
 PROFESIONALES Y DE GRADO

VO. BO.  
 M. en C. ARMANDO CERVANTES SANDOVAL  
 JEFE DE CARRERA

---

---

<b>ÍNDICE</b>	<b>Página</b>
<b>Resumen</b> .....	1
<b>Introducción</b> .....	3
1. Funciones del ovario.....	3
- Ovogénesis .....	4
- Foliculogénesis y desarrollo folicular .....	5
- Ovulación .....	7
- Esteroidogénesis .....	9
2. Regulación de las funciones del ovario.....	12
- Eje hipotálamo-hipófisis-ovario .....	12
- Ciclo estral .....	14
3 .Fertilidad e infertilidad .....	16
4. Picolinato de cromo.....	17
- Cromo .....	17
- Ácido picolínico .....	19
- Picolinato de cromo como suplemento alimenticio.....	20
<b>Planteamiento del problema</b> .....	23
<b>Hipótesis</b> .....	24
<b>Objetivos</b> .....	24
<b>Materiales y Métodos</b> .....	25
<b>Resultados</b> .....	28
<b>Discusión</b> .....	34

<b>Conclusiones</b> .....	40
<b>Bibliografía</b> .....	41

## RESUMEN

Comercializado como suplemento alimenticio, el picolinato de cromo (PicCr) ha sido promocionado como constructor muscular y agente de pérdida de peso, lo que ha llevado al uso y abuso en su consumo, principalmente por adultos jóvenes en edad reproductiva.

Al respecto la literatura muestra datos muy controversiales. Sin embargo estudios con diferentes modelos biológicos describen al PicCr como agente mutagénico, clastogénico, citotóxico y fetotóxico. En varones adultos jóvenes, la ingesta de PiCr disminuye la calidad espermática. En ratones hembra disminuye la respuesta ovulatoria frente al estímulo gonadotrópico, así como la fertilidad. Mientras que en ratones hembra preñados se ha observado que su consumo durante la gestación provoca defectos esqueléticos en la descendencia.

A la fecha no se conocen los efectos de la ingesta diaria de PicCr por largos periodos sobre la función reproductiva de la hembra, considerando que la administración prolongada o excesiva de este suplemento provoca la acumulación del metal en el organismo. Por lo que en el presente trabajo se estudiaron los efectos de la ingesta crónica de PicCr sobre la respuesta ovulatoria espontánea, utilizando como modelo al ratón hembra adulto.

Se utilizaron ratones hembra adultos que se dividieron en los siguientes grupos experimentales: testigo, animales sin tratamiento alguno (antes); PicCr (1.2  $\mu$ g) por 40, 60 u 80 días (durante), PicCr (1.2  $\mu$ g) por 80 días y sacrificados en grupos de 10 a los 15, 30, 45, 60 ó 90 días de haber suspendido el tratamiento (después). Se contó con un grupo al cual sólo se le administró aceite de maíz (vehículo [Vh]). Se utilizó el PicCr disponible comercialmente para consumo humano. Todos los animales se sacrificaron según el protocolo cuando presentaron estro vaginal precedido de proestro. Se analizó la respuesta ovulatoria espontánea, evaluando la tasa de animales ovulantes (TAO) y la media $\pm$ e.e.m. del número de ovocitos liberados (NOL). Todos los animales fueron pesados cada semana hasta el momento del sacrificio.

Los resultados obtenidos del peso corporal final muestran que no hay diferencias respecto al inicial en ningunos de los grupos experimentales. Durante el tiempo de tratamiento con PicCr, la tasa de animales ovulantes se evaluó en grupos experimentales sacrificados a los 40, 60 u 80 días de ingesta del suplemento. No se observaron diferencias entre los grupos testigo y Vh, sólo el tratamiento con PicCr por 60 días disminuyó significativamente la TAO (10/10, 10/11 vs. 6/10,  $p<0.05$ ) y el NOL (13.4 $\pm$ 1.1, 12.6 $\pm$ 1.3 vs. 6.7 $\pm$ 1.5,  $p<0.05$ ) respecto a estos grupos.

Después de 15 días de haber suspendido el tratamiento con PicCr el 100% de los animales ovuló, sin embargo el NOL fue menor. Comparado con los testigos, los grupos de 30 y 60 días post tratamiento presentaron menor TAO (10/10 vs. 8/12, 4/10,  $p<0.05$ ) pero no mostraron diferencias en el NOL, mientras que después de 45 días de haber suspendido el tratamiento, ambos parámetros fueron menores (10/10 vs. 6/8;  $13.4\pm 1.1$  vs.  $6.7\pm 1.8$ ,  $p<0.05$ ). Los animales del grupo de 90 días después de suspender la ingesta de PicCr perdieron su ciclicidad y presentaron diestro continuo en los frotis vaginales.

En conjunto los resultados muestran que el consumo de PicCr disminuye la respuesta ovulatoria espontánea, cuyo comportamiento es hormético tanto durante la ingesta como después de suspender el tratamiento con el suplemento, aunado a la pérdida del ciclo estral, lo cual sugiere que el uso, abuso o consumo prolongado del PicCr como suplemento alimenticio es perjudicial a la salud reproductiva.

## **INTRODUCCIÓN**

El sistema reproductor de la hembra se compone de la porción craneal y la pélvica. El componente craneal incluye el hipotálamo y la hipófisis. La parte pélvica consta de los ovarios (órganos sexuales primarios), oviductos, útero y vagina (órganos sexuales secundarios) (Dailey, 1999).

Las funciones del sistema reproductor femenino son: generar óvulos (gametos femeninos), transportar los gametos femeninos y masculinos hasta el lugar donde se llevará a cabo la fecundación, nutrir y mantener a los embriones implantados durante el periodo de gestación, parir y secretar las hormonas inherentes a estas funciones (Banks, 1986; Cormack, 1986; Dailey, 1999; Yeh y Adashi, 2001; Strauss III y Lessey, 2009).

### **1. Funciones del ovario**

Los ovarios son las gónadas femeninas cuyas funciones son: 1) generar óvulos capaces de ser fertilizados, mismos que son liberados del ovario mediante la ovulación y 2) secretar hormonas esteroides (progesterona, andrógenos y estrógenos) y proteicas (inhibina, activina y folistatina) en cantidades variables a lo largo del desarrollo sexual y ciclos reproductivos (Domínguez y col., 1991; Dailey, 1999; Yeh y Adashi, 2001; Strauss III y Lessey, 2009; Tresguerres, 2010).

Los ovarios están fijados a la superficie posterior del ligamento ancho por medio de un pliegue peritoneal denominado mesovario (Tresguerres, 2010). El ovario está constituido por un tejido en constante transformación, con una estructura multicompartimental caracterizada por propiedades biológicas diferentes y cambiantes (Yeh y Adashi, 2001). La médula se ubica en el centro del ovario y está compuesta por tejido conectivo con abundantes vasos sanguíneos, vías linfáticas y fibras nerviosas; la corteza se encuentra en la periferia del ovario, está compuesta por una red de tejido conectivo llamada estroma y por células germinales

(ovocitos) rodeadas de una capa de células del estroma (foliculares) que darán origen a los folículos en diferentes etapas de desarrollo y el hilio que surge en el punto de anclaje del ovario con el mesovario y contiene nervios, vasos sanguíneos y linfáticos, tejido conectivo de sostén y algunas células esteroideogénicas denominadas células hiliares (Dissen y col., 2004; Tresguerres, 2010).

El folículo es la unidad anatómico-funcional del ovario (Domínguez y col., 1991; Yeh y Adashi, 2001), ya que da origen a los tres compartimentos funcionales: a) folicular, formado por folículos en diferentes etapas de desarrollo, b) luteal, que se forma a partir de las células de la granulosa y de la teca interna de los folículos que expulsaron al ovocito y c) intersticial, que incluye tanto a las células teco-intersticiales de los folículos en crecimiento, como a las células de la teca de los folículos que no llegaron a ovular (atrésicos) (Domínguez y col., 1991; Yeh y Adashi, 2001).

### ***Ovogénesis***

La ovogénesis es el desarrollo y diferenciación del gameto femenino u ovocito (célula haploide funcional) mediante la división meiótica (Cormack, 1986; Palomero y col., 1998; Gilbert, 2006). Los gametos tienen su origen a partir de las células germinales primordiales, derivadas de las células del epiblasto adyacentes al ectodermo extraembrionario (Donovan, 1999). Estas células migran a través de los tejidos embrionarios hasta alcanzar la cresta genital, donde se dividen y dan lugar a las ovogonias. Algunas ovogonias interrumpen su mitosis y entran en la profase de la primera división meiótica, dando lugar al ovocito primario que queda detenido en esta fase de la división. Poco antes de la ovulación, se reinicia la primera división meiótica, se expulsa el primer corpúsculo polar y se forma el ovocito secundario. Se inicia la segunda división meiótica hasta metafase. Solo si el ovocito es fecundado por un espermatozoide continuará la maduración del ovocito con expulsión del segundo corpúsculo polar y la formación de una célula haploide como resultado de las dos

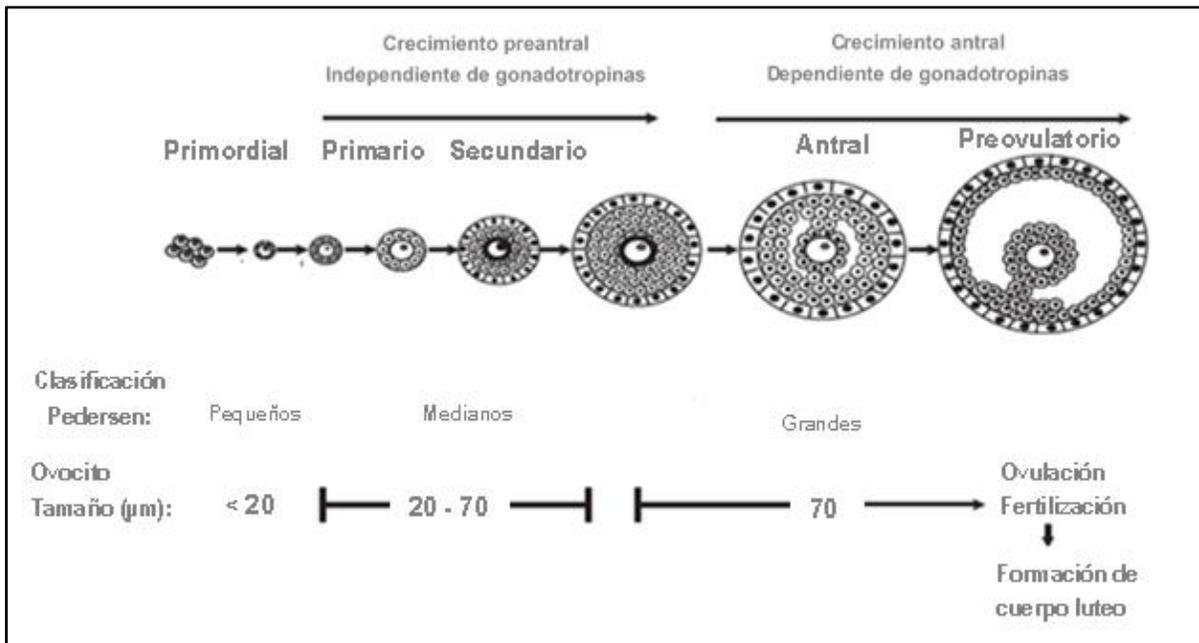
divisiones nucleares (Dailey, 1999; Yeh y Adashi, 2001; Sadler, 2004; Parker y Schimmer, 2006; Tresguerres, 2010).

### ***Foliculogénesis y desarrollo folicular***

La foliculogénesis es el proceso por el cual los ovocitos primarios son rodeados por una capa de células del estroma aplanadas denominadas foliculares (pregranulosas) y una membrana basal, dando origen a los folículos primordiales (Van Voorhis, 1999a; Yeh y Adashi, 2001).

Los folículos primordiales representan la única fuente disponible de ovocitos durante la vida reproductiva de la hembra (Ninomiya, 1995; Dailey, 1999; Sadler, 2004; Rajkovic y col., 2006). En el ratón, los folículos primordiales se ubican en la corteza del ovario (Rajkovic y col., 2006).

El desarrollo folicular es una secuencia altamente regulada del crecimiento y diferenciación de los folículos, en la que participan tanto factores endócrinos, como paracrinos y autocrinos sintetizados por el propio folículo (Chedrese, 2003). Pedersen y Peters (1968) clasifican a los folículos en diferentes etapas con base en el tamaño de los ovocitos, el número de células de la granulosa y la morfología folicular dividiéndolos en tres grupos: pequeños, medianos y grandes. La clasificación de Rajkovic y colaboradores (2006) divide a los folículos según las etapas del desarrollo en folículos primordiales, primarios, secundarios o preantrales y terciarios o antrales (Figura 1).



**Figura 1.** Clasificación de los folículos de ratón. De izquierda a derecha, el desarrollo folicular posparto comienza en la etapa primordial hasta la etapa antral. Antes de la formación del antro, el crecimiento del folículo es independiente de gonadotropinas hipofisarias. Después de la ovulación, las células de la granulosa y de la teca interna se transforman en luteínicas dando lugar al cuerpo lúteo (Tomado y modificado de Rajkovic y col., 2006).

Los folículos primarios se distinguen por el tamaño del ovocito (más de 20  $\mu\text{m}$ ) y por la conversión de las células foliculares en células cuboides, llamadas células de la granulosa (Dailey, 1999; Van Voorhis, 1999a; Rajkovic y col., 2006).

Los folículos secundarios presentan más de una capa de células de la granulosa y las células del estroma cercano a la membrana basal forman la teca indiferenciada. El ovocito es rodeado por la zona pelúcida, formada por mucopolisacáridos y proteínas secretados por las células de la granulosa y el propio ovocito (Dailey, 1999; Van Voorhis, 1999a; Rajkovic y col., 2006).

Conforme los folículos secundarios crecen, las células de la teca se diferencian en teca interna y teca externa. La primera es adyacente a la membrana basal y está formada por células

secretoras de esteroides; la segunda conserva las células en forma de huso que se funden con el estroma circundante, además de fibras colágenas y musculares lisas (Domínguez y col, 1991; Van Voorhis, 1999a). La formación de la teca interna conlleva el desarrollo de numerosos vasos sanguíneos pequeños (Rajkovic y col., 2006) (Figura 2).

Los folículos terciarios se forman cuando el ovocito alcanza su diámetro final de aproximadamente 70  $\mu\text{m}$ . Se encuentra rodeado por varias capas de células de la granulosa cuya secreción, aunada a la extravasación de componentes plasmáticos, forma áreas dispersas que eventualmente se unen para formar la cavidad antral llena de líquido folicular, el cual aumenta de tamaño con el desarrollo del folículo, por lo que también se les denominan folículos antrales (Dailey, 1999; Van Voorhis, 1999a; Rajkovic y col., 2006).

### ***Ovulación***

En el folículo antral, el ovocito se mueve desde su posición central hacia la pared del folículo. Las células de la granulosa que rodean inmediatamente el ovocito, son llamadas células del *cumulus oophorus*, mientras que las células más cercanas a la cavidad antral se conocen como basales y las células adyacentes a la membrana basal del folículo son llamadas murales (Dailey, 1999; Van Voorhis, 1999a).

En cada ciclo ovárico comienzan a desarrollarse varios folículos. En especies mono-ovulantes sólo uno alcanza la madurez completa, los otros degeneran y se tornan atrésicos (Dailey, 1999; Sadler, 2004).

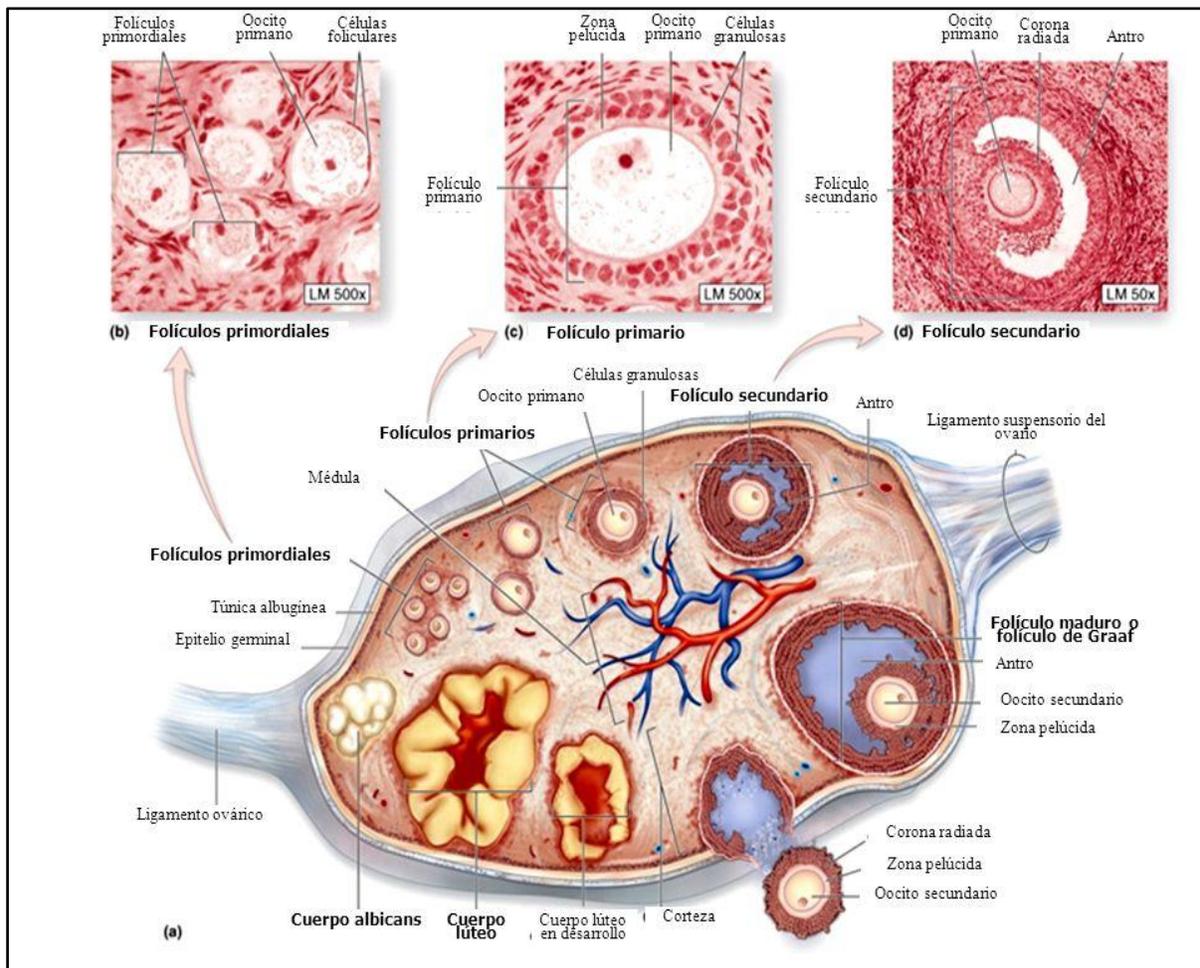
El pequeño folículo antral continúa creciendo rápidamente por la multiplicación celular y la acumulación de líquido en el antro hasta que la hormona luteinizante (LH) induce el proceso de ovulación. Durante las etapas finales del desarrollo folicular, el folículo preovulatorio se convierte en una estructura muy vascularizada y pocas horas antes de la ovulación, la pared

granulosa que carecía de vasos sanguíneos se satura de sangre con la invasión de estos (Van Voorhis, 1999a).

La superficie del ovario comienza a presentar un abultamiento local, en cuyo vértice aparece una mancha avascular llamada estigma. Una elevada concentración de LH aumenta la actividad de colagenasa, resultando en la digestión de las fibras de colágeno que rodean al folículo. Las concentraciones de prostaglandinas también se incrementan en respuesta al aumento brusco de LH y causan contracciones musculares locales en la pared del ovario. Estas contracciones expulsan al ovocito que, junto con las células del *cumulus oophorous*, se desprende y flota fuera del ovario (ovulación). Algunas de las células del *cumulus oophorous* se reorganizan alrededor de la zona pelúcida y forman la corona radiada (Sadler, 2004) (Figura 2).

Después de la ovulación, las células de la granulosa que quedan en la pared del folículo, junto con las células de la teca interna, se vascularizan y se tornan poliédricas. Por influencia de la LH se convierten en células luteínicas dando lugar al cuerpo lúteo y secretan progesterona (Sadler, 2004).

Los esteroides sexuales estimulan el crecimiento del endometrio uterino como preparación para la implantación del embrión. Si la fecundación no se produce, el cuerpo lúteo involuciona (Dailey, 1999; Sadler, 2004).



**Figura 2.** Esquema que muestra la secuencia del crecimiento y desarrollo de un folículo, la ovulación y la formación del cuerpo lúteo (Tomado y modificado de: [http://academic.kellogg.cc.mi.us/herbransonc/bio201\\_McKinley/f28-4a-\\_ovary\\_c.jpg](http://academic.kellogg.cc.mi.us/herbransonc/bio201_McKinley/f28-4a-_ovary_c.jpg)).

### *Esteroidogénesis*

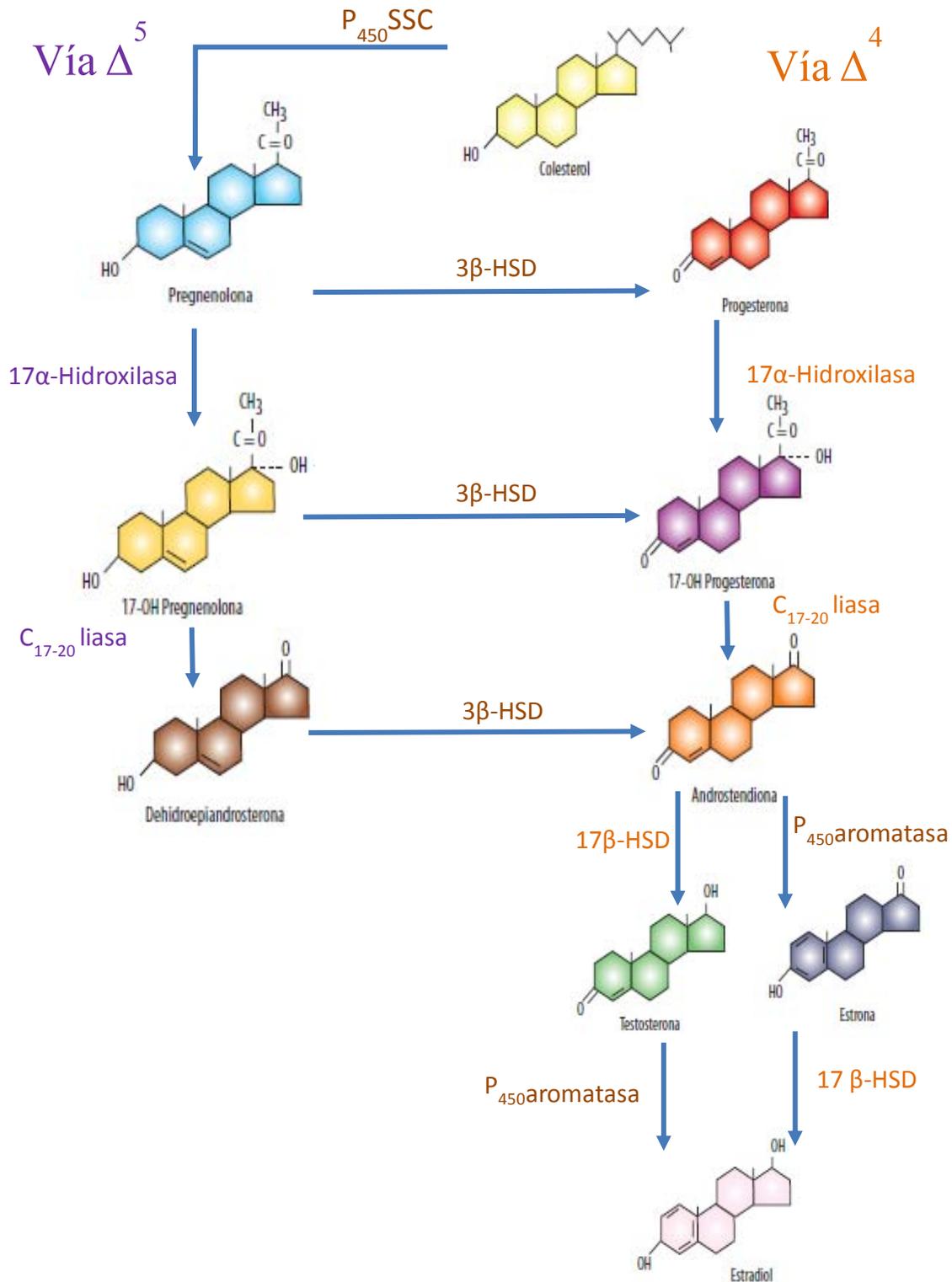
Los ovarios secretan pregnenolona, progesterona,  $17\alpha$ -hidroxiprogesterona, dehidroepiandrosterona, androstenediona, testosterona, estrona y  $17\beta$ -estradiol. La progesterona y la  $17\alpha$ -hidroxiprogesterona se secretan en mayor proporción en el cuerpo lúteo.

Se ha mostrado que las células de la granulosa aisladas son capaces de producir progesterona, 17  $\alpha$ -hidroxiprogesterona y estrógenos, mientras que las células de la teca aisladas sintetizan progesterona, 17 $\alpha$  -hidroxiprogesterona y androstenediona (Yeh y Adashi, 2001).

Las hormonas sexuales producidas en el ovario son fundamentalmente el estradiol y la progesterona. Las hormonas esteroideas derivan del colesterol que se obtiene a partir de tres fuentes principales: el colesterol que circula en la sangre como lipoproteínas, el que se sintetiza de nuevo dentro del ovario a partir de acetilcoenzima A, y el que se libera de los ésteres del colesterol almacenados en las gotas lipídicas (Van Voorhis, 1999b; Tresguerres, 2010).

El colesterol, independientemente de su origen, es transportado a las membranas mitocondriales por la proteína reguladora de la esteroidogénesis aguda (StAR) donde comienza la biosíntesis esteroidea. La esteroidogénesis depende de las siguientes enzimas, la que escinde la cadena lateral del colesterol (citocromo P<sub>450</sub>sc), la 3 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3 $\beta$ -HSD), 17 $\alpha$ -hidroxilasa, C<sub>17-20</sub>-liasa, 17 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa (17 $\beta$ -HSD) y la P<sub>450</sub> aromatasa (Strauss III, 2009; Strauss III y Williams, 2009).

Estas enzimas catalizan la conversión de colesterol a estrógenos por dos vías: la  $\Delta$ 5 pasando por pregnenolona, 17-hidroxipregnenolona, dehidroepiandrosterona y la  $\Delta$ 4 pasando por progesterona, 17 $\alpha$ -hidroxiprogesterona, androstenediona y testosterona. Por último, los andrógenos se aromatizan a 17 $\beta$ -estradiol (Strauss III, 2009; Strauss III y Williams, 2009; Tresguerres, 2010) (Figura 3).



**Figura 3.** Esquema que muestra las rutas biosintéticas de los esteroides sexuales (Tomado y dmodificado de Tresguerres, 2010).

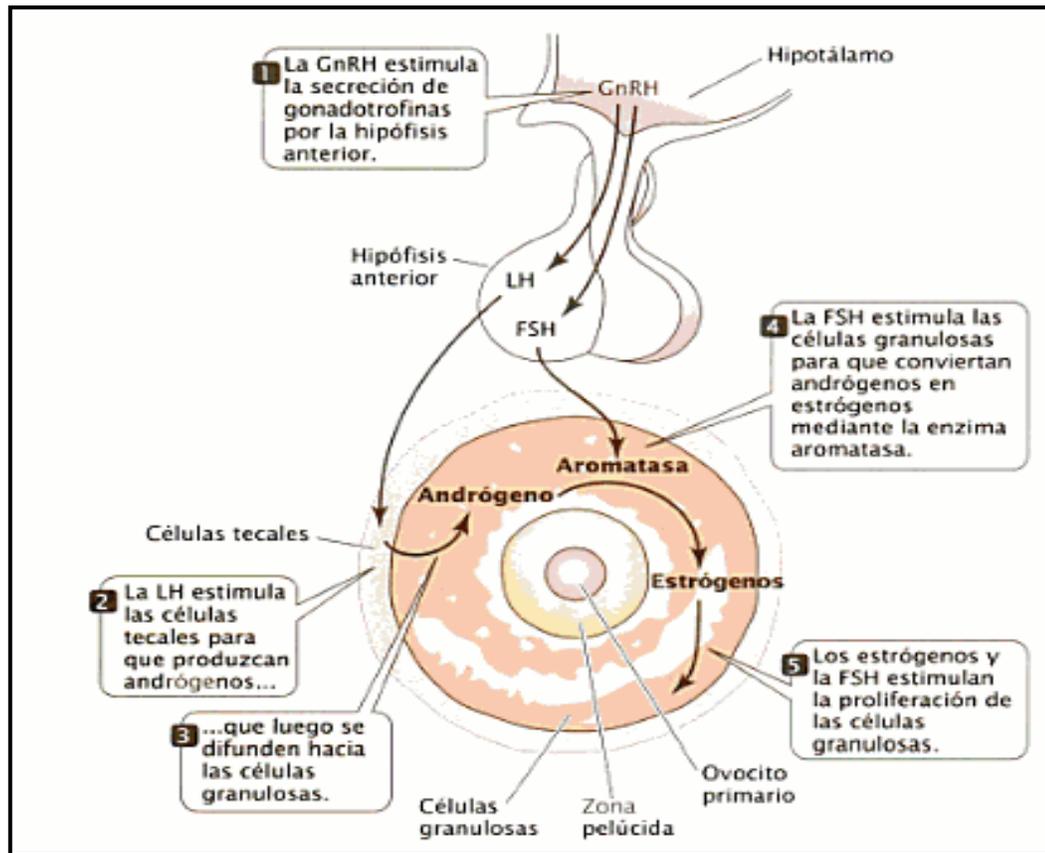
En el ovario, las células de la granulosa, las células de la teca interna y las células luteales son las responsables de la producción de esteroides, ya que poseen el sistema enzimático requerido para la formación de dichas hormonas (Van Voorhis, 1999b; Tresguerres, 2010).

## 2. Regulación de las funciones del ovario

### *Eje hipotálamo-hipófisis-ovario*

El eje de regulación neuroendócrina de la reproducción de la hembra consta de tres niveles de organización: 1) la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) de origen hipotalámico, 2) la hormona estimulante del folículo (FSH) y la LH, ambas gonadotropinas secretadas por la adenohipófisis en respuesta al estímulo de la GnRH y 3) las hormonas esteroides progesterona, testosterona y estrógenos que son secretadas por los ovarios bajo el estímulo gonadotrópico (Guyton, 2001).

La GnRH es un decapeptido sintetizado por neuronas hipotalámicas, liberado de manera pulsátil al plexo capilar de la eminencia media y transportado a la adenohipófisis por el sistema porta hipotálamo-hipofisario. La FSH y LH son glicoproteínas compuestas por una subunidad  $\alpha$  común en ambas y una subunidad  $\beta$  que les confiere su especificidad (Rajkovic y col., 2006) (Figura 4).



**Figura 4.** Diagrama que muestra la regulación neuroendócrina del eje hipotálamo-hipófisis-ovario (Tomado de Hill y col., 2006).

Los folículos antrales participan activamente en la regulación del eje hipotálamo-hipófisis-ovario. En los folículos dominantes, la LH estimula a las células de la teca para la producción de andrógenos, mientras que la FSH estimula la proliferación de las células de la granulosa, la aromatización de los andrógenos a estrógenos y la expresión del receptor de LH. Los estrógenos ejercen un sistema de retroalimentación a nivel hipotálamo-hipofisario promoviendo la secreción preovulatoria de gonadotropinas y la liberación brusca de LH (pico) que precede a la ovulación. La compleja red de interacciones entre el ovocito, células de la granulosa, células de la teca, adenohipófisis e hipotálamo selecciona los folículos que serán ovulados (Rajkovic y col., 2006).

### ***Ciclo estral***

En los mamíferos no primates el ciclo sexual se denomina ciclo estral. El término *estro* significa “calor” y corresponde al tiempo de la ovulación en el que la hembra es receptiva a la monta del macho (Ninomiya, 1995; Ganong, 2010).

La evaluación de los cambios en la morfología del epitelio vaginal ha sido utilizada como un método no invasivo para detectar los ciclos reproductivos en mamíferos y determinar su ciclicidad. Además, la citología vaginal proporciona un índice del estado funcional del eje hipotálamo-hipófisis-ovario (Goldman y col., 2007; Caligioni, 2009).

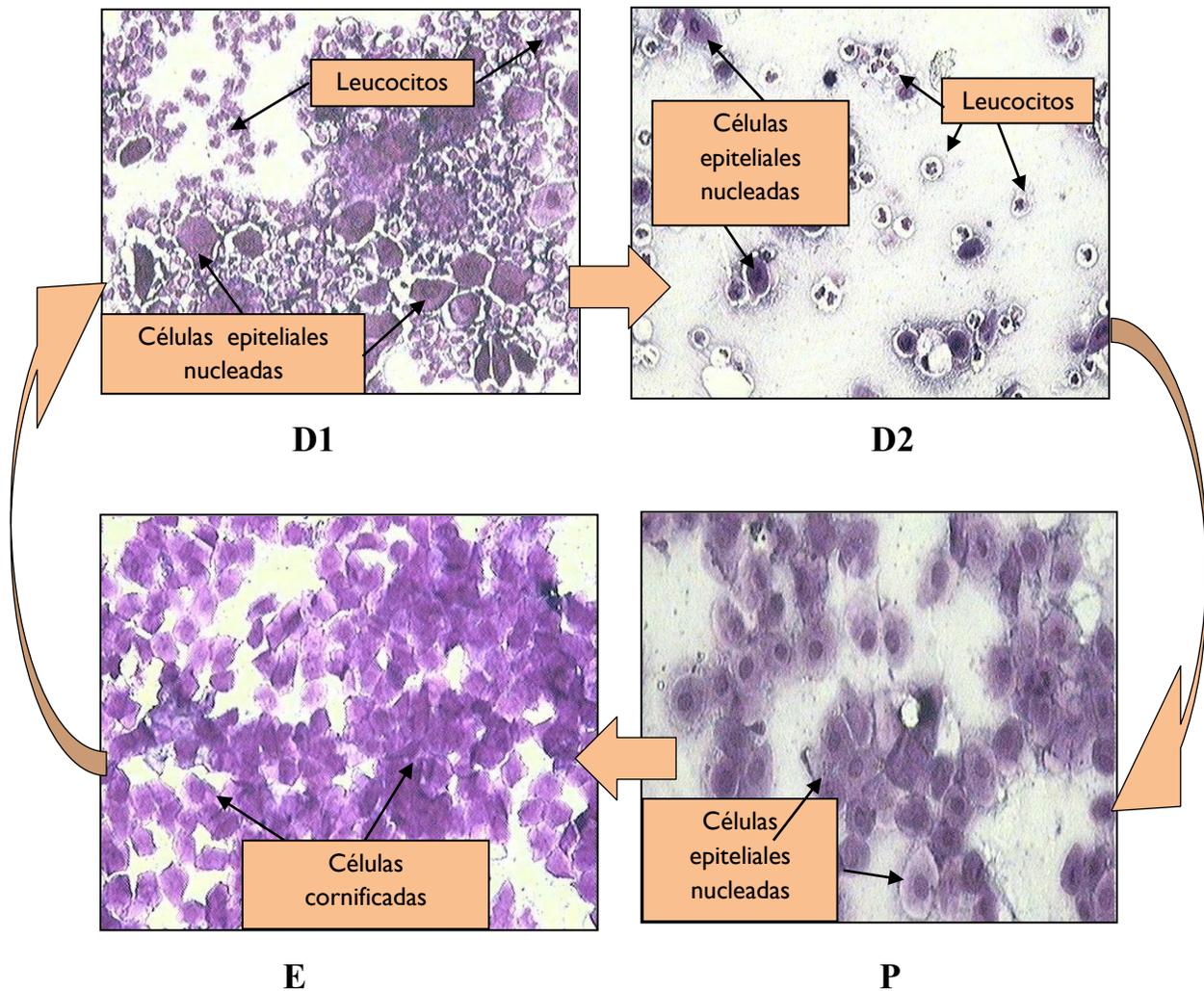
En la rata y el ratón, las fases del ciclo estral se distinguen por los siguientes cambios en la citología vaginal que se correlacionan con cambios en útero y ovarios asociados a los esteroides sexuales y gonadotropinas (Mendiola y col., 1993; Allen, 2005) (Figura 6):

**Diestro 1 (metaestro).** La mucosa vaginal es invadida por leucocitos, con pocas células epiteliales anucleadas (escamas cornificadas) y es de apariencia lechosa. En los ovarios se forman los cuerpos lúteos, responsables de la secreción de elevadas concentraciones de progesterona.

**Diestro 2.** Mucosa vaginal húmeda con abundancia de leucocitos, muy pocas células anucleadas y ocasionalmente células nucleadas. En los ovarios comienza la regresión de los cuerpos lúteos (si no hubo fecundación) por lo que bajan las concentraciones de progesterona. El útero es poco contráctil.

**Proestro.** Mucosa vaginal con predominancia de células epiteliales nucleadas y escasos leucocitos. En los ovarios, bajo la influencia de la FSH, una serie de folículos ováricos crecen rápidamente aumentando también la secreción de estrógenos. El útero se va engrosando progresivamente.

Estro. La mucosa vaginal presenta gran cantidad de células anucleadas y muy pocas células nucleadas. La secreción de estrógenos alcanza su nivel máximo inhibiendo la liberación de FSH y aumentando la de LH, lo cual produce la ovulación. El útero permanece engrosado.



**Figura 6.** Fotomicrografías que muestran la cantidad y tipo de células que caracterizan las fases del ciclo estral: diestro 1 (D1), diestro 2 (D2), proestro (P) y estro (E) (Tomado y modificado de Hernández, 2002).

### **3. Fertilidad e infertilidad**

La fertilidad se define como la capacidad de concebir y procrear y así perpetuar la especie (Barbieri, 2001). La Organización Mundial de la Salud considera una pareja fértil aquella que logra un embarazo después de un año de relaciones sexuales regulares, sin utilizar métodos anticonceptivos y describe a la infertilidad como una enfermedad del sistema reproductivo caracterizada por la incapacidad de lograr un embarazo clínico después de 12 meses o más de relaciones sexuales no protegidas (OMS, 2002).

En 2010, se estimó que 48.5 millones de parejas en todo el mundo eran infértiles. De éstas, el 40% se debe a factor masculino, otro 40% a factor femenino y el 20% restante son de origen desconocido (Mascarenhas y col., 2012). La infertilidad se puede atribuir a alteraciones anatómicas, genéticas, endócrinas e inmunes (OMS, 2002).

En la mujer infértil el 40% se debe a incapacidad para ovular, 40% a daño tubárico y endometriosis, 10% a anormalidades uterinas y el otro 10% a otras causas (OMS, 2002). Entre estas últimas se encuentran la edad promedio a la cual la mujer desea quedar embarazada por primera vez, la exposición a contaminantes ambientales, el estrés debido al ritmo de vida actual, los cambios en los hábitos alimenticios, el consumo de drogas, los tratamientos oncológicos (Hernández y col., 1999) y recientemente al uso de compuestos que controlan el peso con fines de salud o estéticos, muchos de ellos formulados con cromo, como lo es el picolinato de cromo (PicCr).

#### 4. Picolinato de cromo

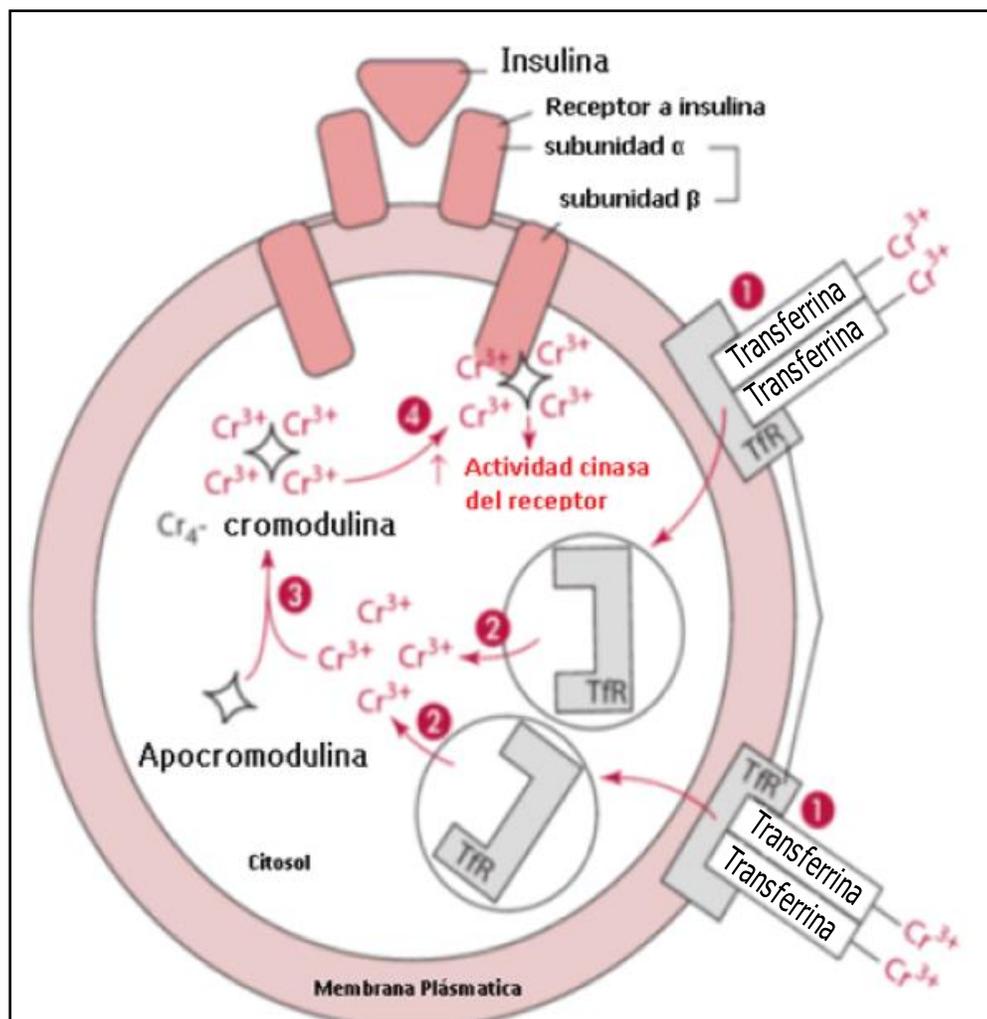
##### *Cromo*

El cromo (Cr) es un mineral que se encuentra en diferentes estados de oxidación de los cuales el cromo trivalente (CrIII) y el cromo hexavalente (CrVI) son ampliamente usados en la industria (Alvarado y col., 2002; Vincent y Stallings, 2007).

El CrIII es un mineral esencial en el metabolismo de los carbohidratos y de los lípidos, que potencia la unión de la insulina a las células sensibles a ésta (Vincent, 2001). La deficiencia de CrIII se relaciona con diabetes tipo II, enfermedades cardiovasculares y desórdenes del sistema nervioso (Vincent y Stallings, 2007).

En el cuerpo humano, los órganos que almacenan altas cantidades de cromo son riñón, hígado, músculo, bazo, corazón, páncreas y hueso. Se absorbe a lo largo del intestino delgado, especialmente en el yeyuno. Se excreta principalmente por el riñón y en menor cantidad por sudor, heces y cabello (Gropper y col., 2009; Yoshida y col., 2010).

El mecanismo propuesto por Vincent (2000) para el transporte de los iones de CrIII se muestra en la figura 5. 1) en las células dependientes de insulina, la unión de ésta a su receptor permite la entrada del CrIII existente en la sangre mediante la proteína transferrina (endocitosis), 2) dentro de la célula el CrIII es liberado para unirse a la apocromodulina, 3) cuando cuatro iones de CrIII se unen a la apocromodulina, ésta se convierte en cromodulina (forma activa de la apocromodulina), 4) la acción primaria del CrIII como complejo Cr-cromodulina es mediante un sistema de amplificación de la señal de la insulina, por la activación de la región tirosina-cinasa en la subunidad  $\beta$  del receptor de insulina, lo que activa la cascada de las cinasas modificando así la captura de la glucosa y el metabolismo de los lípidos. Cuando la concentración de insulina disminuye la cromodulina se libera del receptor y se revierten sus efectos (Davis y Vincent, 1997; Vincent, 2000).

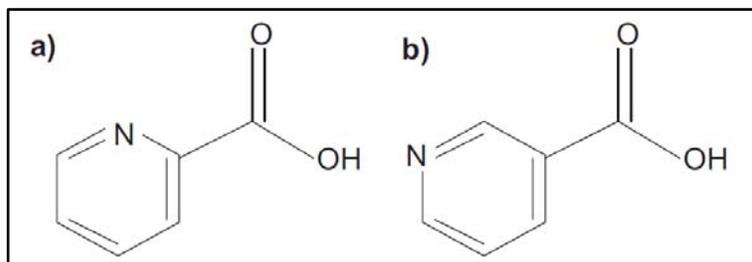


**Figura 5.** Mecanismo propuesto para la activación de la región cinasa del receptor de insulina. TfR, receptor de transferrina.  $\text{Cr}^{3+}$ , cromo trivalente. apocromodulina en respuesta a la insulina (Tomado y modificado de Gropper y col., 2009).

El  $\text{Cr}^{3+}$  se encuentra en una gran cantidad de alimentos que forman parte de la dieta diaria. La dosis de  $\text{Cr}^{3+}$  diaria recomendada para hombres es de 25 a 35  $\mu\text{g}$  y para mujeres de 20 a 25  $\mu\text{g}$  (Food and Nutrition Board, 2001).

### Ácido picolínico

El ácido picolínico (AcPic) es un isómero del ácido nicotínico (Evans y Johnson, 1980). La característica física más investigada del AcPic es su propiedad como agente quelante (substancia que al combinarse con iones metálicos forma complejos estables desprovistos de toxicidad y eliminables por la orina) de metales pesados como Fe, Ni, Zn, Cd, Pb, Cu y Cr (Evans y Johnson, 1980; Grant y col., 2009).



**Figura 6.** Estructuras químicas de los isómeros de a) ácido picolínico y b) ácido nicotínico (Tomado y modificado de Grant y col., 2009).

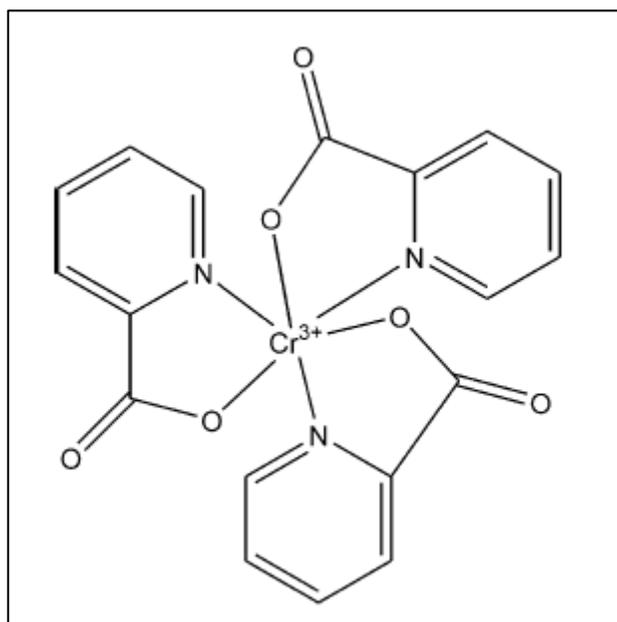
El AcPic se sintetiza a partir de L-triptófano por la vía de la quinurenina, que implica la derivación enzimática de un aminocarboxisemialdehído intermedio hacia AcPic sobre la síntesis no enzimática de la neurotoxina ácido quinolínico. La activación de esta vía ocurre en todos los tipos celulares del tejido nervioso (Ruddick y col., 2006; Grant y col., 2009).

El AcPic se ha detectado en una gran variedad de fluidos biológicos incluyendo el líquido cefalorraquídeo, el plasma, la leche materna, el jugo pancreático y el homogenado intestinal (Evans y Johnson, 1980; Grant y col., 2009).

Por la eficacia de sus propiedades de quelación en los complejos AcPic-metálico se utiliza ampliamente como un medio de introducción de metales bioactivos en los sistemas biológicos (Grant y col., 2009).

### ***Picolinato de cromo como suplemento alimenticio***

El PicCr es un compuesto que tiene un peso molecular de 418.30 g/mol y consta de tres complejos de ácido picolínico y un centro de CrIII (Figura 7), cuya formulación incrementa la biodisponibilidad del CrIII (Berner y col., 2004; Havel, 2004).



**Figura 7.** Estructura química del picolinato de cromo (Tomado y modificado de Berner y col., 2004).

Comercializado como suplemento alimenticio, el PicCr ha sido promocionado como constructor muscular y como un agente de pérdida de peso, al incrementar el músculo esquelético por su acción sobre la insulina (Evans y Browman, 1992). Los beneficios

derivados de la amplificación de la señal de la insulina son el incremento de la masa magra y disminución de la masa grasa y el peso corporal (Anderson, 1998).

La dosis de PicCr recomendada para consumo humano es de 50 a 200 µg diario (Alvarado y col., 2002). El PicCr al ser un suplemento alimenticio ampliamente comercializado en las últimas dos décadas, se estima que más de diez millones de personas han tomado algún suplemento que contiene PicCr (Komorowski y Cefalú, 2001).

Sin embargo, se ha revelado que los posibles efectos benéficos del PicCr son mínimos o nulos, e incluso se han detectado posibles repercusiones negativas como consecuencia de la acumulación de CrIII en distintos órganos (Marcus y Coulston, 1990).

Se ha mostrado en ratas sometidas a la ingesta de PicCr, que las concentraciones de CrIII en hígado y riñón son más altas en comparación con los testigos y aumentan linealmente con la dosis en función del tiempo (Yoshida y col., 2010).

Utilizando cultivo de células de ovario de hámster chino, se ha clasificado al PicCr como agente clastogénico por su capacidad para producir aberraciones cromosómicas (Stearns y col., 1995).

En *Drosophila melanogaster* la adición de PicCr al medio de cultivo disminuye la capacidad para llegar al estadio de pupa y la viabilidad de las mismas, retrasa el desarrollo y eclosión de la pupa e induce mutantes letales dominantes y esterilidad (Hepburn y col., 2003c).

También se han estudiado los efectos del PicCr durante el desarrollo fetal utilizando ratones preñados a los cuales se les suplementó la dieta con 200 mg de PicCr/Kg de alimento del día 6 al 17 de gestación. El análisis de la descendencia mostró que la ingesta materna de PicCr provoca alteraciones morfológicas en el desarrollo de los fetos tales como bifurcación en el segundo arco cervical (Bailey y col., 2006).

En cultivo de linfocitos de sangre periférica de humano, el PicCr es citotóxico ya que induce apoptosis como consecuencia de la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO) (Jana y col., 2009).

El PicCr adicionado al cultivo de células de la granulosa de mujer, incrementa la secreción de progesterona espontánea y estimulada por FSH e induce fragmentación del ADN (Ortega, 2011).

En varones adultos jóvenes, la ingesta diaria de 200 µg de PicCr por 21 días disminuye progresivamente la movilidad y vitalidad espermática y el porcentaje de espermatozoides con morfología normal (Cuapio y col., 2009), efectos que se acompañan del incremento en las concentraciones de CrIII y disminución en las de zinc y calcio en el suero y semen (Castillo, 2013).

En ratones hembras adultos, la ingesta diaria de PicCr disminuye la respuesta ovulatoria frente al estímulo gonadotrópico y la tasa de fertilidad (Chávez, 2013).

También se ha mostrado el efecto fetotóxico del PicCr, aún después de haber suspendido el tratamiento, ya que los fetos de hembras que fueron consumidoras de PicCr antes de la gestación muestran incremento en la frecuencia de anomalías esqueléticas en cabeza, extremidades, cola y esternones (Chávez, 2013).

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Algunos estudios han mostrado que los suplementos a base de cromo como el PicCr incrementan la acción metabólica de la insulina, lo que le confiere la propiedad de quemar grasas. El PicCr es comercializado como suplemento alimenticio para aumentar la musculatura y reducir la grasa corporal. Esto ha llevado al uso y abuso indiscriminado en su consumo por adultos jóvenes en edad reproductiva.

En diversos modelos biológicos se ha mostrado que el PicCr provoca efectos mutagénicos, clastogénicos citotóxicos y fetotóxicos. En varones adultos jóvenes disminuye la calidad espermática. En ratones hembra disminuye la respuesta ovulatoria frente al estímulo gonadotrópico, así como la fertilidad.

Sin embargo, no se conoce cuál es el efecto de la ingesta diaria de PicCr por largos periodos sobre la salud reproductiva, considerando que la administración prolongada o excesiva de este suplemento provoca la acumulación del metal en el organismo. Por lo que en el presente estudio se analizó la respuesta ovulatoria espontánea antes, durante y después de la ingesta crónica del PicCr.

## **HIPÓTESIS**

Si en ratones hembra adultos la administración de picolinato de cromo es capaz de disminuir la respuesta ovulatoria estimulada con gonadotropinas, entonces la ingesta diaria y prolongada de dosis altas de este suplemento, llevará a la disminución progresiva de la ovulación espontánea, misma que no se recuperará después de suspender el tratamiento.

## **OBJETIVOS**

- ❖ Evaluar el peso corporal de ratones hembra adultos antes, durante y después de la ingesta diaria de PicCr por 80 días.
  
- ❖ Analizar la respuesta ovulatoria espontánea de ratones adultos antes, durante y después de la ingesta diaria de PicCr por 80 días.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Animales*

Se utilizaron ratones hembra vírgenes adultos de tres meses de edad de la cepa CD1, mantenidos en condiciones convencionales de bioterio, con fotoperiodo de 14 h de luz y 10 h de oscuridad (luces encendidas de 5:00 a 19:00 h), humedad relativa del 40%, temperatura de  $21\pm 2^{\circ}\text{C}$  y libre acceso al agua y al alimento.

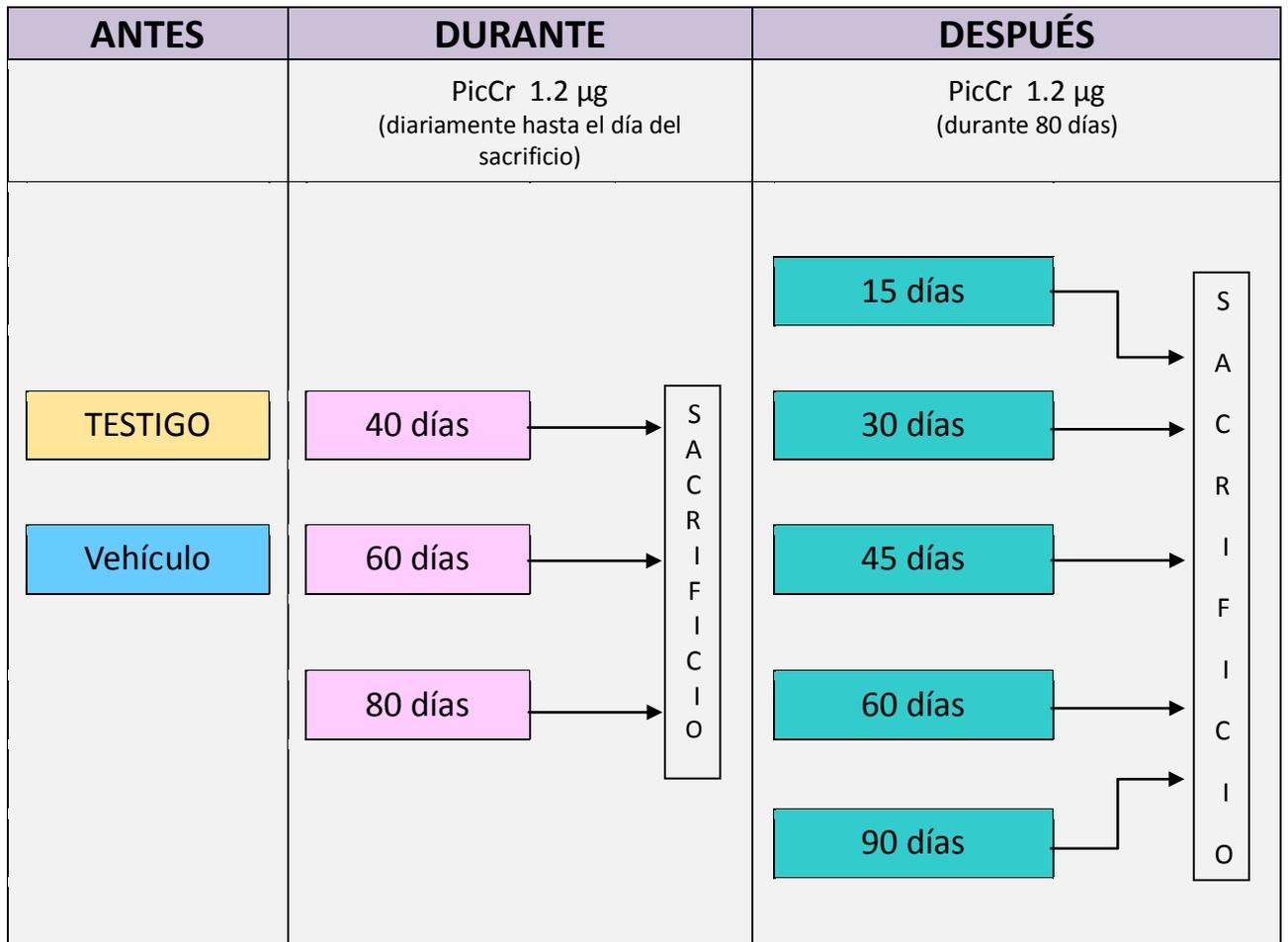
### *Administración oral de PicCr*

Se utilizó el PicCr disponible comercialmente para consumo humano (General Nutrition Center [GNC]) en presentación de tabletas (550 mg) con 200  $\mu\text{g}$  de PicCr cada una. Las tabletas se pulverizaron en un mortero para preparar una concentración de 1.2  $\mu\text{g}$  (10 veces la dosis recomendada) en un volumen de 50  $\mu\text{l}$  de aceite de maíz. La concentración se determinó a partir de la dosis de 200  $\mu\text{m}/\text{día}$  que es la recomendada para consumo humano (peso corporal aproximado de 60 Kg) (National Research Council, 1989), lo que corresponde a 0.12  $\mu\text{g}/\text{día}$  para un ratón adulto (peso corporal aproximado de 35 g).

El tratamiento se aplicó por vía oral con la ayuda de un combitubo (Eppendorf) de 2.5 ml acoplado a un repipeteador (Eppendorf). La administración del compuesto se realizó diariamente entre las 10:00 y 11:00 h.

### *Diseño experimental*

Los animales se dividieron en los siguientes grupos experimentales: Un grupo Testigo, que fueron animales sin tratamiento alguno y que corresponden a la valoración **antes del tratamiento**; Tres grupos de PicCr (1.2  $\mu\text{g}$ ) que fueron animales sometidos a la ingesta diaria del suplemento por 40, 60 u 80 días (2, 3 y 4 ciclos ováricos respectivamente), sacrificados al terminar el tratamiento y que corresponden a la evaluación **durante el tratamiento**; y otro lote de animales tratados con 1.2  $\mu\text{g}$  de PicCr por 80 días, que se sacrificaron en grupos de 10 a los 15, 30, 45, 60 ó 90 días de haber suspendido el tratamiento con PicCr y que corresponden a la determinación **después del tratamiento**. Se contó con un grupo al cual sólo se le administró aceite de maíz (vehículo [Vh]) (Cuadro 1). Todos los animales fueron pesados cada semana hasta el momento del sacrificio.



**Cuadro 1.** Grupos experimentales antes, durante y después de la ingesta diaria de 1.2µg de PicCr.

*Sacrificio y autopsia*

En todos los grupos experimentales, siete días antes de terminar el tratamiento se inició la toma diaria de frotis vaginal y cuando se presentó la citología de estro (precedido de proestro), se sacrificaron por dislocación cervical. A la autopsia se disecaron los oviductos y se buscó la presencia de ovocitos, en cuyo caso se contaron con la ayuda de un microscopio estereoscópico.

***Análisis estadístico***

El número de ovocitos liberados se expresó como la media  $\pm$  e.e.m. y se analizó con la prueba de U de Mann Whitney. La tasa de animales ovulantes (TAO) se calculó de la siguiente manera:

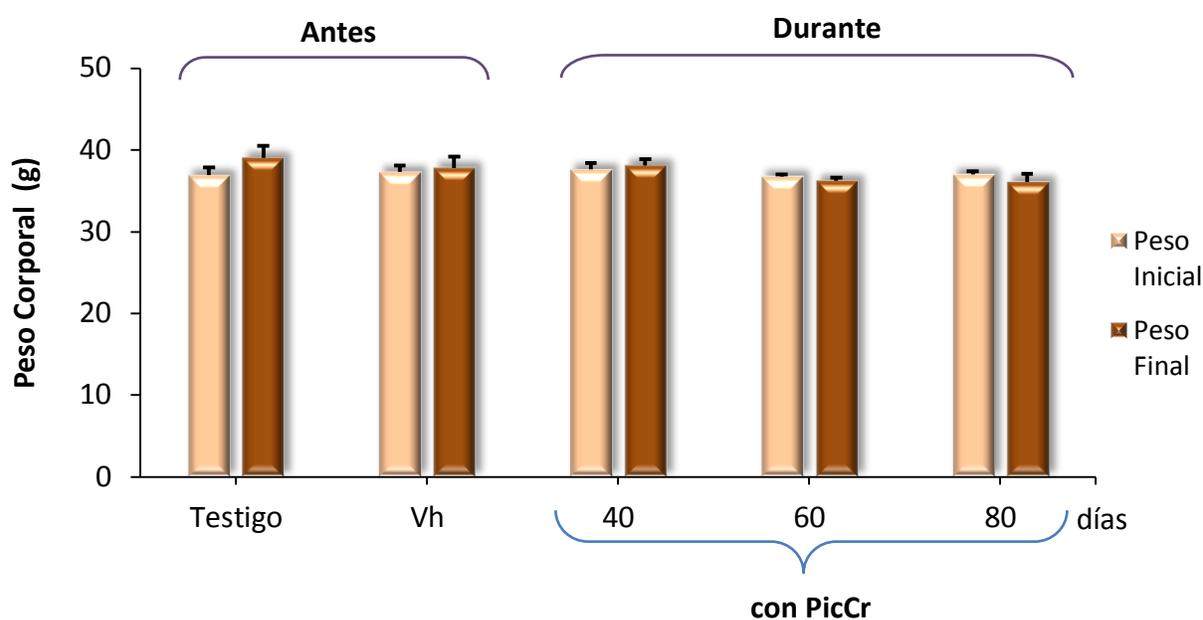
$$\text{TAO} = \frac{\text{Número de animales que ovulan}}{\text{Número total de animales}} \times 100$$

Y se comparó utilizando la prueba de probabilidad exacta de Fisher para proporciones (Graph Pad Software InStat). Se consideraron como significativas aquellas diferencias cuya probabilidad fue igual o menor a 0.05.

## RESULTADOS

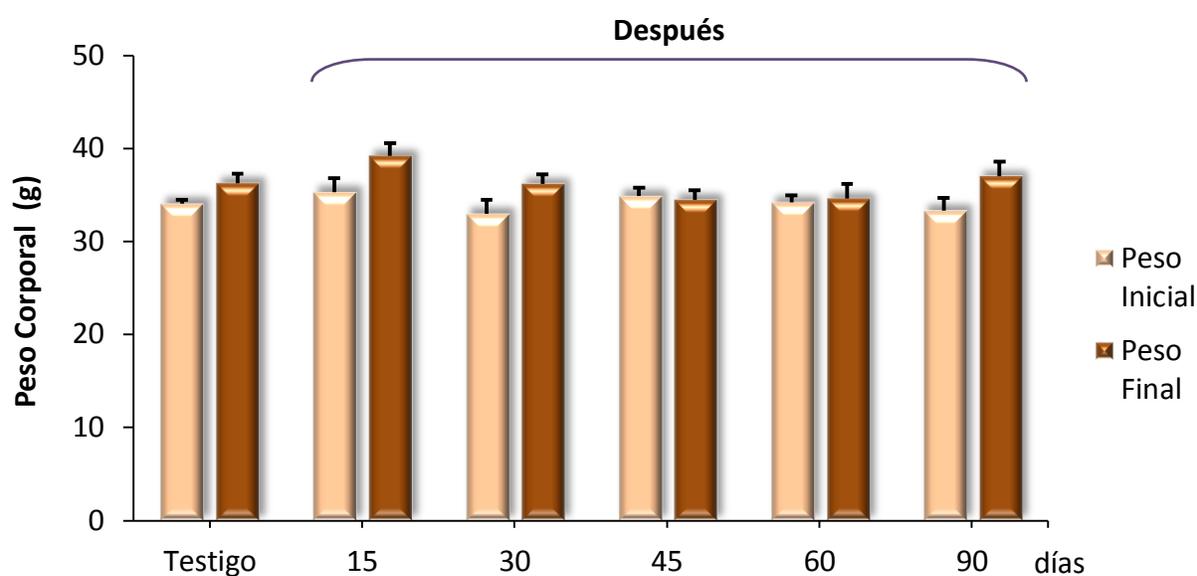
### ❖ *Peso corporal de ratones hembra adultos antes, durante y después de la ingesta diaria de PicCr por 80 días*

El peso corporal final no mostró diferencias significativas respecto al peso inicial en ninguno de los grupos experimentales (Figura 6).



**Figura 6.** Media  $\pm$  e.e.m. del peso corporal (g) inicial y final de ratones hembra adultos sin tratamiento (testigo) o tratados con vehículo (Vh) o sometidos a la ingesta diaria de 1.20  $\mu$ g de PicCr por 40, 60 u 80 días.

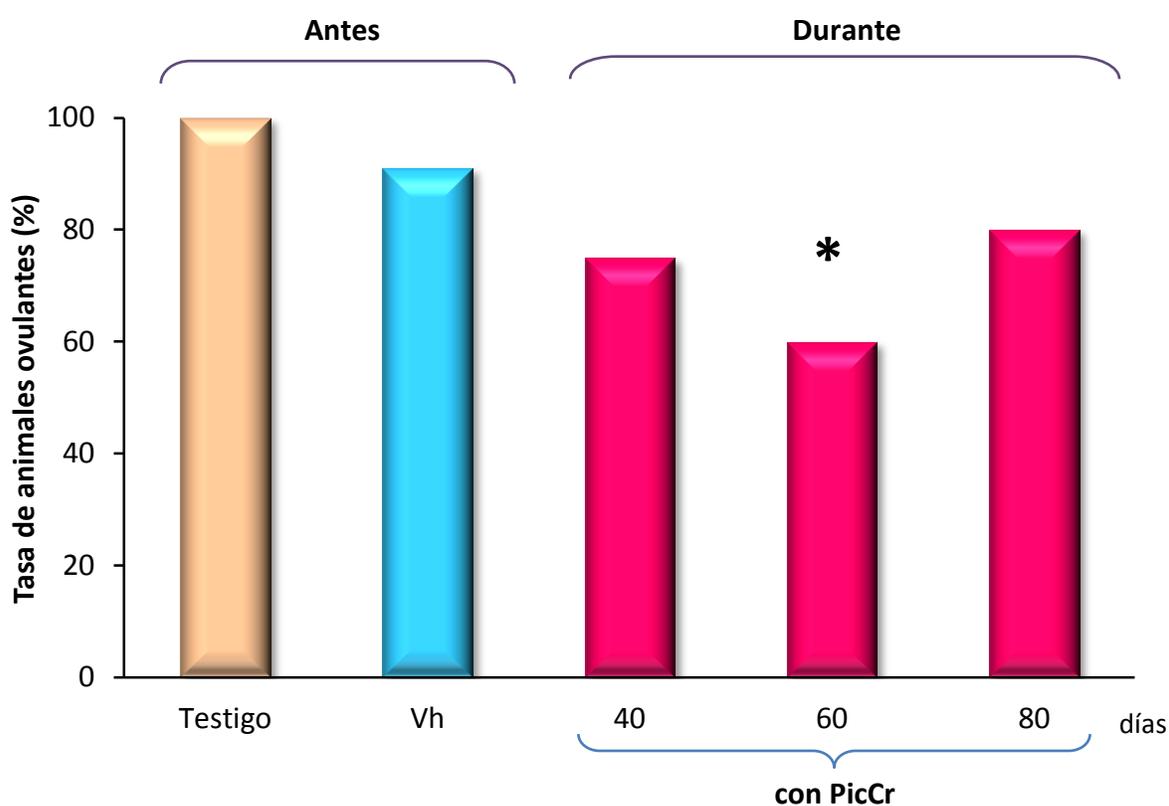
El peso corporal inicial y final de los grupos experimentales tratados con PicCr por 80 días y sacrificados 15, 30, 45, 60 ó 90 días después de haber suspendido el tratamiento, no mostraron diferencias significativas (Figura 7).



**Figura 7.** Media  $\pm$  e.e.m. del peso corporal (g) inicial y final de ratones hembra adultos sin tratamiento (testigo) o después de 15, 30, 45, 60 y 90 días de haber suspendido la ingesta de 1.2  $\mu$ g de PicCr por 80 días.

❖ *Respuesta ovulatoria espontánea de ratones adultos antes y durante la ingesta diaria de PicCr por 80 días*

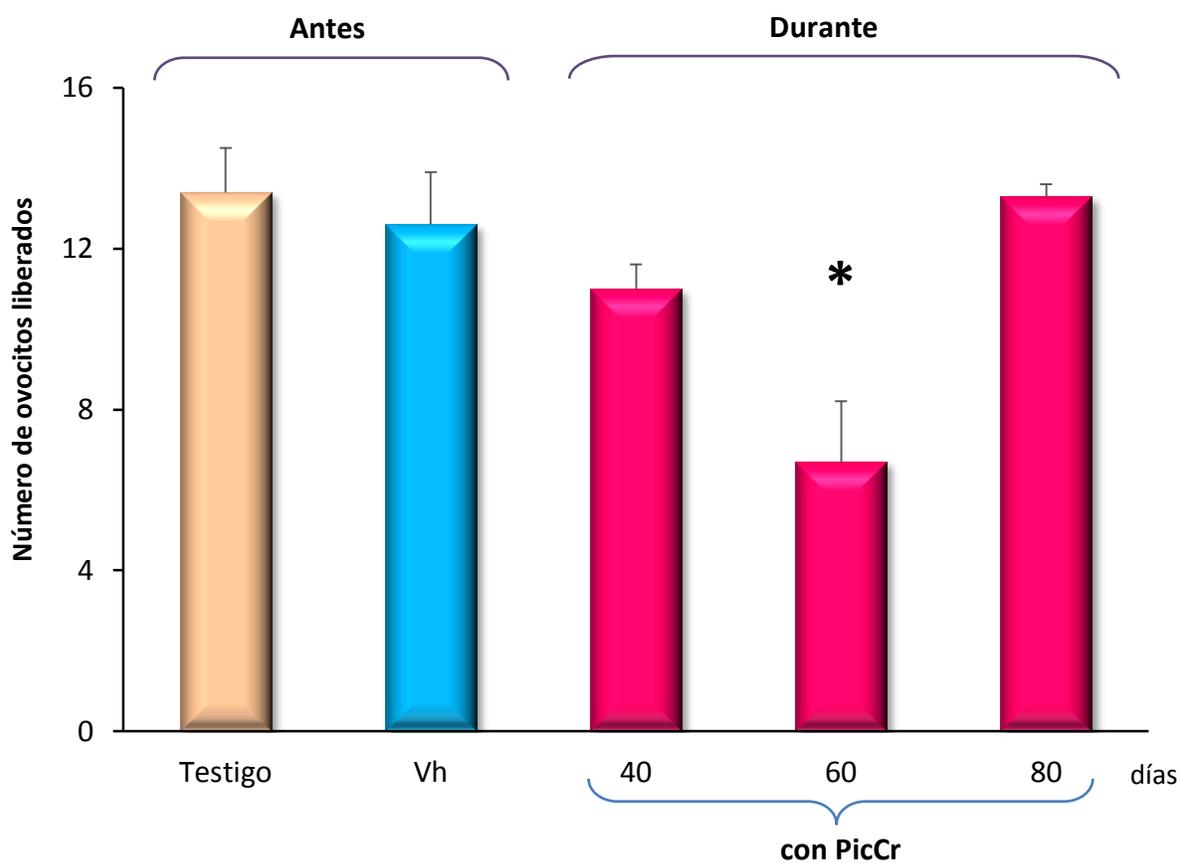
Durante el tiempo de tratamiento con PicCr, la tasa de animales ovulantes se evaluó en grupos experimentales sacrificados a los 40, 60 u 80 días de ingesta del suplemento. No se observaron diferencias entre los grupos testigo y Vh, sólo el tratamiento con PicCr por 60 días disminuyó significativamente la tasa de animales ovulantes respecto a estos grupos (Figura 8).



\*  $p < 0.05$  vs. testigo y Vh.

**Figura 8.** Tasa de animales ovulantes de ratones adultos sin tratamiento (testigo) o tratados con vehículo (Vh) o con 1.2  $\mu\text{g}$  de PicCr por 40, 60 u 80 días y sacrificados en estro vaginal.

El número de ovocitos liberados fue similar entre los grupos testigo y Vh. Solamente en los animales tratados por 60 días con PicCr la cuota ovulatoria fue significativamente menor comparada con el grupo tratado con Vh (Figura 9).

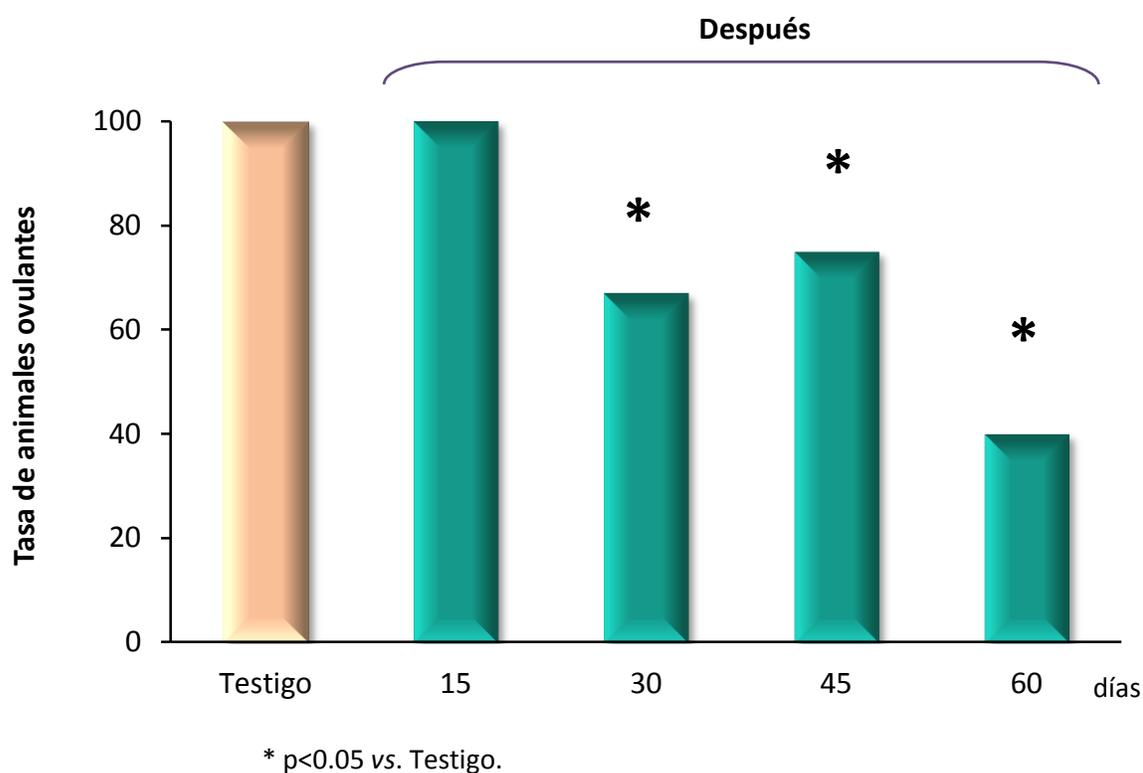


\*  $p < 0.05$  vs. testigo y Vh.

**Figura 9.** Media  $\pm$  e.e.m. del número de ovocitos liberados por ratones adultos sin tratamiento (testigo) o tratados con vehículo (Vh) o con 1.2  $\mu$ g de PicCr por 40, 60 u 80 días y sacrificados en estro vaginal.

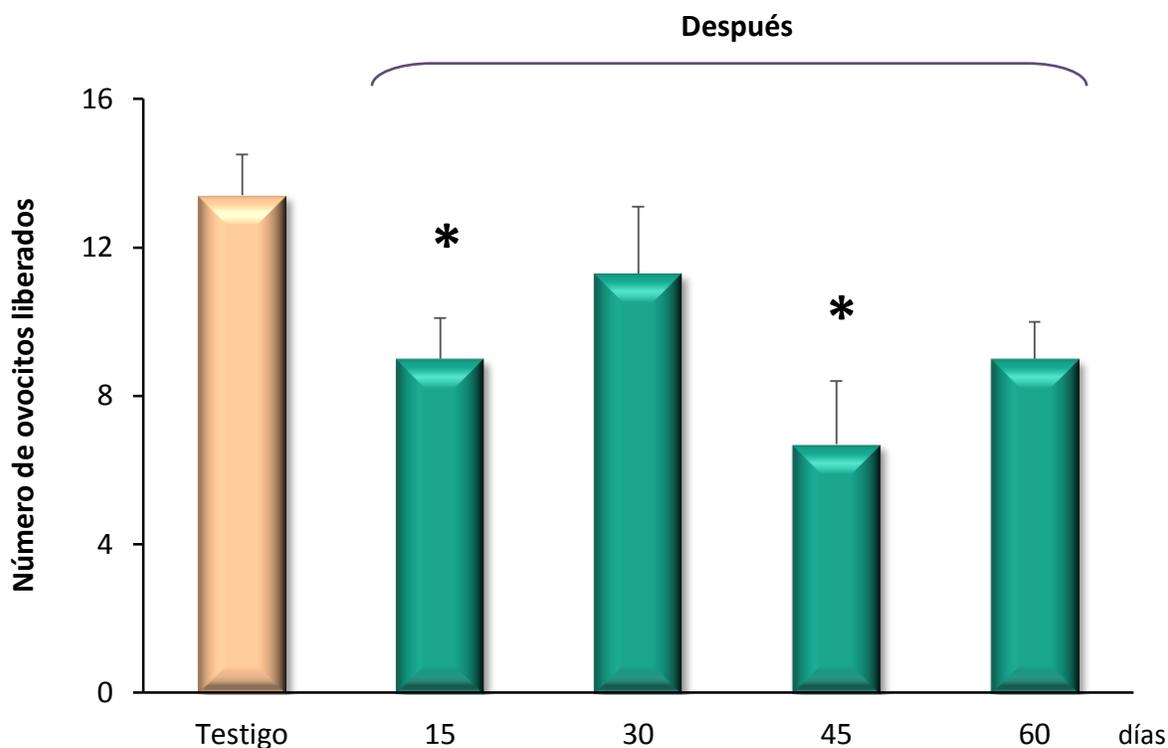
❖ *Respuesta ovulatoria espontánea de ratones adultos después de la ingesta diaria de PicCr por 80 días*

La tasa de animales ovulantes a los 15 días de suspenderse el tratamiento con PicCr fue igual al grupo testigo (100%). Sin embargo, los grupos de 30, 45 y 60 días postratamiento presentaron menor porcentaje de animales ovulantes (Figura 10). Los animales del grupo de 90 días después de suspender la ingesta de PicCr perdieron su ciclicidad, no cumplieron con la condición de Proestro-Estro y presentaron diestro continuo en los frotis vaginales.



**Figura 10.** Tasa de animales ovulantes de ratones adultos sin tratamiento (testigo) o después de 15, 30, 45 y 60 días de haber suspendido la ingesta de 1.2  $\mu$ g de PicCr por 80 días.

El número de ovocitos liberados a los 15 y 45 días después de la suspensión del tratamiento con PicCr fue significativamente menor que lo observado en el testigo, mientras que a los 30 y 60 días no se presentaron diferencias significativas (Figura 11).



\* $p < 0.05$  vs. Testigo.

**Figura 11.** Media  $\pm$  e.e.m. del número de ovocitos liberados por ratones adultos sin tratamiento (testigo) o después de 15, 30, 45 y 60 días de haber suspendido la ingesta de 1.2  $\mu\text{g}$  de PicCr por 80 días.

## DISCUSIÓN

Los resultados muestran que durante la ingesta diaria de dosis altas de PicCr se disminuye la respuesta ovulatoria espontánea. Después de suspender el tratamiento, la tasa de animales que ovulan y la cuota ovulatoria no se recuperaron, aunado a la pérdida de la ciclicidad. El PicCr no modificó el peso corporal durante y después del consumo prolongado.

Se ha relacionado a los suplementos de cromo con la pérdida de peso y grasa corporal, lo que ha llevado al PicCr a ganar popularidad como suplemento dietético, especialmente entre quienes integran programas de reducción de peso. Sin embargo, no existen evidencias que indiquen que los suplementos de cromo incrementen la masa muscular a un nivel mayor al que se produce con una dieta saludable y ejercicio físico (Caffaratti y Briñon, 2005). Stout y colaboradores en 2009, muestran que la adición de PicCr a la dieta diaria de ratas y ratones de ambos sexos durante dos años no modifica el peso corporal a lo largo del experimento; resultados similares a los que obtuvo Chávez en 2013. Tomando en consideración el peso al iniciar los tratamientos comparado con el obtenido al término de éstos, se pudo observar que la ingesta prolongada de PicCr no modifica el peso corporal de los ratones hembra.

Estudios epidemiológicos en humanos expuestos a cromo y los estudios en modelos *in vivo* e *in vitro* expuestos a compuestos de cromo se correlacionan con daño al ADN en las células somáticas y elevación de las tasas de cáncer en seres humanos (Katz y col., 2001). Estos estudios indican que el CrVI, CrV y CrIV son particularmente fuertes en la inducción de efectos genotóxicos, mientras que el CrIII parece ser sustancialmente inocuo. Sin embargo, se ha mostrado en diversos modelos biológicos de prueba que el CrIII en forma de PicCr es potencialmente capaz de producir daño oxidante y rupturas cromosómicas (Stearns y col., 1995; Speetjens y col., 1999; Hepburn y col., 2003a). Estos estudios son de considerable preocupación dada la popularidad del PicCr como suplemento alimenticio reductor de peso, teniendo en cuenta el uso y abuso de este suplemento tanto en dosis como su ingesta a largo plazo.

Previamente mostramos que la ingesta prolongada de concentraciones medias y altas de PicCr modifica la capacidad ovulatoria de ratones que fueron estimulados con la gonadotropina coriónica equina y la gonadotropina coriónica humana, ya que inhibe la frecuencia de animales ovulantes en un 50%, pero no modifica la cuota ovulatoria (Chávez, 2013). Nuestros resultados muestran que la dosis de 10 veces la recomendada para consumo humano y administrada durante dos o tres ciclos ováricos, disminuye la frecuencia de animales que ovulan, así como el número de ovocitos que liberan, lo que sugiere que la estimulación gonadotrópica enmascaró los efectos del PicCr sobre la cuota ovulatoria al rescatar los folículos de la atresia.

El ciclo estral de la rata y el ratón reflejan la relación endócrina que se establece entre las concentraciones de gonadotropinas y las hormonas ováricas (Goldman y col., 2007; Caligioni, 2009). En estos roedores los cambios en esta relación se repiten de manera cíclica cada 4 ó 5 días, siendo el proestro donde ocurre la elevación brusca de las concentraciones de gonadotropinas, lo que culmina con la ovulación en el día del estro (Benavides y Guénet, 2003). En este estudio se evaluaron los efectos del PicCr sobre la respuesta ovulatoria espontánea, por lo cual el requisito para evaluar la ovulación fue la presencia de estro pero siempre precedido de proestro.

Las alteraciones en el ciclo estral pueden presentarse como variaciones en las proporciones relativas de las células del frotis vaginal, lo cuál sería indicador directo de alteraciones del ciclo ovárico y uterino (Álvarez y col., 2009). A su vez, la fisiología ovárica y uterina puede ser influida por factores externos no dependientes del ciclo hormonal endógeno, como son los xenoestrógenos (XEs) o estrógenos ambientales también conocidos como disruptores endócrinos, que son agentes capaces de alterar el equilibrio hormonal y que actúan a dosis muy bajas (Chichizola y col., 2009; Iavicoli y col., 2009). Una clase de XEs son los metaloestrógenos, que incluyen metales pesados y metaloides como el cadmio, níquel, arsénico, mercurio y cromo, entre otros. Estos metaloestrógenos interfieren con las acciones

de los estrógenos endógenos, debido a que son capaces de unirse a los receptores de éstos y de esta forma alterar sus concentraciones (Chichizola y col., 2009; Iavicoli y col., 2009; Bergman y col., 2013). Al respecto, Ortega (2011) mostró que el PicCr adicionado al cultivo de células de la granulosa de mujer, aumenta la secreción de estradiol y progesterona tanto basal como estimulada con FSH. Altas concentraciones de esteroides gonadales ejercen un efecto inhibitorio sobre la secreción de FSH y LH (Batra y Miller, 1985; Krey y Kamel, 1990; Kyeong-Hoon y Kaiser, 2006). Con base en lo anterior, una posible explicación a la disminución del número de ovocitos liberados y la frecuencia de animales ovulantes, podría ser el incremento en las concentraciones de esteroides gonadales producto del tratamiento prolongado con PicCr, lo que inhibe la secreción de gonadotropinas, resultando en disminución de la respuesta ovulatoria. Otra posible explicación sería basándose en la propiedad del PicCr para amplificar la señal de la insulina (Chen y col., 2006), misma que estimula la proliferación de las células de la granulosa (Spicer y col., 1993), lo que podría traducirse en una concentración elevada de esteroides sexuales.

Para explicar la relación dosis-respuesta de un compuesto dado, recientemente se ha descrito un fenómeno llamado hormesis (Calabrese y Baldwin, 2002; Calabrese, 2004; Mattson, 2008). Las curvas horméticas no siguen un patrón lineal, por el contrario adoptan diversas formas como U, U invertida, J y sigmoidea, entre otras. En términos biológicos, la hormesis representa la sobrecompensación de una célula u organismo para garantizar el mantenimiento de la homeostasis (Calabrese y Baldwin, 2002; Mattson, 2008). Nuestros resultados muestran que la respuesta ovulatoria espontánea durante la ingesta diaria de PicCr por 80 días tiene un comportamiento hormético en forma de U, ya que a los 40 y 60 días se observa una disminución progresiva, pero al final del tratamiento se presenta una clara recuperación.

El comportamiento sigmoideo del PicCr se ve reflejado en la cuota ovulatoria obtenida después de haber suspendido el tratamiento, ya que el número de ovocitos disminuyó a los 15 y 45 días postratamiento, a diferencia de lo observado a los 30 y 60 días. Efecto que también se manifiesta en la frecuencia de animales ovulantes a los 15 días de suspender la ingesta

diaria con PicCr, donde todos los animales ovularon, pero en días subsiguientes este parámetro ya no se recupera, siendo cada vez menor la cantidad de animales que ovulan.

Los mecanismos que llevan a un comportamiento hormético son tan diversos como los agentes que los presentan. Ortega en 2011, mostró que los efectos del PicCr sobre la secreción de estradiol por las células de la granulosa seguían un patrón hormético, lo que es consistente con nuestros resultados; también mostró que el PicCr adicionado al cultivo de células de la granulosa de mujer, provoca daños al ADN. Así como Stearns y colaboradores en 1995 describieron que concentraciones altas de PicCr provocan daño cromosómico en las células de ovario de hámster chino, al exceder los límites que pueden soportar las células *in vivo*. Tarin, (1995) señala una reducción de la habilidad del ovocito y de las células de la granulosa por contrarrestar las acciones de las especies reactivas del oxígeno (ERO), éstas son uno de los factores fisiológicos más importantes inductores de lesiones celulares asociadas al envejecimiento. Por lo tanto, este comportamiento hormético puede explicarse por la acción del PicCr para incrementar las especies reactivas de oxígeno (Hepburn y col., 2003b; Jana y col., 2009), que puede sugerir la sobrecompensación de las células para llegar a la homeostasis tras un posible daño.

En roedores, la estropausia (estado acíclico anestro) es el evento que marca la senescencia reproductiva, la cual inicia entre los nueve y doce meses de edad para luego entrar en un período de estro o diestro persistente (Aihara y Hayashi, 1989; Maffucci y Gore, 2006). Está descrito que la fertilidad del ratón hembra se prolonga hasta una edad muy avanzada (13 a 14 meses de vida) (Loeb y col., 1996; Benavides y Guénet, 2003). Nuestros resultados muestran que 90 días después de suspender el tratamiento con PicCr, los animales perdieron la ciclicidad caracterizándose por la presencia de diestro continuo en la citología vaginal. Para este momento, las hembras no tienen más de nueve meses de edad, lo que sugiere que el PicCr induce estropausia adelantada, no vinculada con la edad.

La administración excesiva o durante periodos prolongados o ambos de PicCr, provoca la acumulación del CrIII en hígado y riñón (Yoshida y col., 2010). En varones, la ingesta de PicCr por tiempos cortos y en la dosis recomendada, muestra que el CrIII está presente en suero sanguíneo y plasma seminal, mismo que va decreciendo lentamente después de interrumpir el tratamiento (Castillo, 2013). Por otra parte, se ha descrito que un diestro persistente es provocado por un tratamiento prolongado con estrógenos (Aihara y col., 1988). Con base en lo anterior, una posible explicación a la pérdida de la ciclicidad sería la bioacumulación del metal y que éste aún siga provocando la amplificación de la señal de la insulina (Chen y col., 2006), lo que aumentaría las concentraciones de estrógenos (Spicer y col., 1993), induciendo un diestro persistente y comprometiendo así la respuesta ovulatoria tras la suspensión del tratamiento con PicCr.

El PicCr es un sustituto no farmacéutico de gran demanda entre la población mexicana que busca un recurso mágico como tratamiento del sobrepeso y de la obesidad (Zárate y col., 2005; COFEPRIS, 2010; Saucedo y Bañuelos, 2013). Generalmente comercializado como un producto alternativo para la reducción del peso, por empresas a las que le generan ventas millonarias, que siguen vendiendo el suplemento sin restricción (COFEPRIS, 2010).

Existe evidencia de que el PicCr no es efectivo en la reducción de la grasa corporal y no debe recomendarse como adyuvante en los programas de pérdida de peso (Mandrile, 1997). Por el contrario, se han ocasionado alteraciones de la actividad renal (González y col., 2006), se ha visto nefrotoxicidad inducida por CrIII, al ser ingerido en forma de PicCr en un paciente que había ingerido 600 µg al día durante 6 semanas (Walter y col., 1997). También se ha descrito la ingesta de 6 a 12 veces más la dosis diaria recomendada (1200-2400 µg por día) durante 4 ó 5 meses, causando insuficiencia renal y toxicidad secundaria (Cerulli y col., 1998). Por otro lado, un estudio para la pérdida de peso en mujeres, mostró que la ingesta diaria de la dosis recomendada (200 µg) de PicCr incrementó las concentraciones de CrIII en suero sanguíneo y en las excreciones urinarias (Lukaski y col., 2007). Con base en estos hechos y nuestros resultados se puede sugerir que en las hembras, la ingesta de 10 veces la dosis recomendada de

PicCr, llevaría al aumento del metal en el individuo causando un daño tóxico, que por periodos prolongados comprometerían la ovulación.

En resumen, debido a la disminución de la respuesta ovulatoria, el comportamiento hormético durante la ingesta y la pérdida del ciclo estral después del tratamiento con PicCr, sugerimos que el uso, abuso o consumo prolongado del PicCr como suplemento alimenticio es perjudicial a la salud reproductiva.

## CONCLUSIONES

- ④ En ratones hembra adultos, la ingesta diaria de PicCr no modifica el peso corporal.
  
- ④ La ingesta de dosis altas de PicCr durante 80 días reduce la frecuencia de animales que ovulan y la cuota ovulatoria.
  
- ④ La tasa de ovulación y el número de ovocitos liberados aminora progresivamente aún después de suspender el tratamiento con PicCr, hasta perder la ciclicidad (estado de diestro continuo).
  
- ④ El PicCr durante y después de la ingesta prolongada, presenta un comportamiento hormético sobre la respuesta ovulatoria espontánea.

---

---

## BIBLIOGRAFÍA

- Aihara M y Hayashi S. (1989). Induction of persistent diestrus followed by persistent estrus is indicative of delayed maturation of tonic gonadotropin-releasing systems in rats. *Biology of reproduction*, **40**: 96-101.
- Aihara M, Kobayashi H, Kimura T, Hayashi S y Kato J. (1988). Changes in uterine estrogen receptor concentrations in persistent estrous and persistent diestrous rats. *Endocrinol Japon*, **35**: 57-70.
- Allen E. (2005). The oestrous cycle in the mouse. *American Journal of Anatomy*, **30**: 297-371.
- Alvarado GA, Blanco SR y Mora ME. (2002). El cromo como elemento esencial en los humanos. *Revista Costarricense de Ciencias Médicas*, **23**: 55-68.
- Álvarez DA, Pérez EH, De la Cruz MHT, Quincosa TJ y Sanchez PA. (2009). Fisiología animal comparada. Editorial Universidad de Antioquia. Colombia, pp. 72-124.
- Anderson RA. (1998). Effects of chromium on body composition and weight loss. *Nutrition Reviews*, **56**: 266-270.
- Bailey M, Boohaker J, Sawyer R, Behling J, Rasco J, Jernigan J, Hood R y Vincent J. (2006). Exposure of pregnant mice to chromium picolinate results in skeletal defects in their offspring. *Birth Defects Research. B*, **77**: 244-249.
- Banks WJ. (1986). Aparato reproductor del macho y hembra. En: *Histología veterinaria aplicada*. Manual Moderno, México, pp. 606-657.
- Barbieri RL. (2001). Infertilidad. En: *Endocrinología de la reproducción. Fisiología, fisiopatología y manejo clínico*. Yen SC, Jaffe RB, Barbieri RL Eds. Médica Panamericana. Argentina, pp.164-202.
- Batra SK y Miller WL. (1985). Progesterone decreases the responsiveness of ovine pituitary cultures to luteinizing hormone-releasing hormone. *Endocrinology*, **117**: 436-440.
- Benavides FJ y Guénet JL. (2003). *Manual de Genética de Roedores de Laboratorio, principios básicos y aplicaciones*. SECAL. Laboratory Animals Ltd. Universidad de Alcalá, pp. 59-81.
- Bergman A, Heindel JJ, Jobling S, Kidd KA y Zoeller RT. (2013). *State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals*, United Nations Environment Programme and the World Health Organization.

- Berner TO y Murphy MM, Slesinski. (2004). Determining safety of chromium tripicolinate for addition to foods as nutrient supplement. *Food Chemical Toxicology*, **42**: 1029-1042.
- Caffaratti M y Briñon MC. (2005). Suplementos dietarios: Picolinato de cromo (Revisión) Centro de Información de Medicamentos (CIME).
- Calabrese EJ y Baldwin LA. (2002). Defining hormesis. *Human and Experimental Toxicology*, **21**: 91-97
- Calabrese EJ. (2004). Hormesis: a revolution in toxicology, risk assessment and medicine. *EMBO*, **5**: S37-S40.
- Caligioni CS. (2009). Assesing reproductive status stage in mice. *Current Protocols in Neuroscience*, **4**: 41.
- Castillo GL. (2013). Efectos del picolinato de cromo sobre las características seminales y las concentraciones de zinc y calcio en semen y suero sanguíneo en humanos. Tesis Doctoral. Doctorado en ciencias aplicadas al aprovechamiento de los recursos naturales. CEJUS, Sinaloa, México.
- Cerulli J, Grabe DW, Gauthier I, Malone M y McGoldrick MD. (1998). Chromium picolinate toxicity. *Ann Pharmacother*, **32**: 428-31.
- Chakraborty TR y Gore AC. (2004). Aging-related changes in ovarian hormones, their receptors, and neuroendocrine function. *Experimental Biology and Medicine. (Maywood)* **229**: 977-987.
- Chávez S GN. (2013). Efecto de la ingesta diaria de picolinato de cromo sobre la respuesta ovulatoria, la tasa de fertilidad y el desarrollo prenatal de la progenie del ratón adulto. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. UNAM.
- Chedrese J. (2003). Conferencia Regulación autocrina y paracrina del desarrollo folicular I: efectos de los esteroides, **16**: 171-182.
- Chen G, Liu P, Pattar GR, Tackett L, Bhonagiri, Strawbridge AB y Elmendorf JS. (2006). Chromium activates glucose transporter 4 trafficking and enhances insulin-stimulated glucose transport in 3T3-L1 adipocytes via cholesterol-dependent mechanism. *Molecular Endocrinology*, **20**: 857-870.
- Chichizola C, Scaglia H, Franconi C, Ludueña B, Mastandrea C y Ghione Pelayo A. (2009). Disruptores endócrinos y el sistema reproductivo. Bioquímica y Patología Clínica. Asociación Bioquímica Argentina, Buenos Aires. *Redalyc*. **73**: 9-23,
- COFEPRIS, 2010. La Comisión Federal para la Protección contra Riesgos. <http://www.cofepris.gob.mx/Paginas/Inicio.aspx>

- Cormack DH. (1986). Fundamentos de Histología. Editorial Harla. México, pp. 451- 478.
- Cuapio P, Rosas P, Rocha F, Domínguez R, Pellicer A. (2009). Effects of chromium picolinate on seminal parameters of Young adult males. 9<sup>th</sup> International Congress of Andrology. *Journal of Andrology*, **30**: P118. Barcelona, España.
- Dailey RA. (1999). Female reproductive system, nonhuman mammals. En: Encyclopedia of Reproduction. Vol. **2**, Knobil E y Neill JD Eds. *Academic Press*, USA, pp. 230-239.
- Davis C y Vincent J. (1997). Chromium oligopeptide activates insulin receptor kinase activity. *Biochemistry*, **36**: 4382-4385.
- Dissen GA, Paredes A, Romero C, Dees LW y Ojeda SR. (2004). Neural and Neurotrophic Control of Ovarian Development. En: The Ovary. 2<sup>a</sup> Edición. Leung CK y Adashi EY Eds. *Elsevier*. USA, pp. 3-23.
- Domínguez R, Chávez R y Cruz ME. (1991). La regulación del crecimiento y del desarrollo del folículo ovárico. En: Tópicos Selectos de Biología de la Reproducción. Ed. Domínguez R. PUIS-UNAM. Miguel Ángel Porrúa. México, pp.163-192.
- Donovan PJ. (1999). Primordial Germ Cells. En: Encyclopedia of Reproduction. Vol. **3**, Knobil E y Neill JD Eds. *Academic Press*, USA, pp. 1064-1072.
- Evans GM y Bowman TD. (1992). Chromium picolinate increase membrane fluidity and rate of insulin internalization. *Journal of Inorganic Biochemistry*, **46**: 243-250.
- Evans GW y Johnson JE (1980). Characterization and quantitation of a zinc-binding ligand in human milk. *Pediatric Research*, **14**: 876-880.
- Food Nutrition Board, Institute of Medicine, (2001). Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. *National Academy Press*, Washintong. D.C., pp. 1-28.
- Ganong WF. (2010). Fisiología médica. 23<sup>a</sup> edición. McGraw-Hill Interamericana. México, pp. 391-428.
- Gilbert, SF. (2006). Biología del Desarrollo. 7<sup>a</sup> edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, pp. 674-691
- Goldman JM, Murr AS y Cooper RL. (2007). The rodent estrous cycle: characterization of vaginal citology and its utility in toxicological studies. *Birth Defects Research. B*, **80**: 84-97.

- González MJ, Meseguer I, Martínez MC, Aguilar MV y Bernao A. (2006). Repercusiones del picolinato de cromo en el metabolismo proteico en función de la edad. *Nutrición hospitalaria*, **21**: 709-714.
- Grant RS, Coggan SE y Smythe GA. (2009). The physiological action of picolinic acid in the human brain. *International Journal of Tryptophan Research*, **2**: 71-79.
- Gropper SS, Smith JL y Groff JL. (2009). Advanced nutrition and human metabolism. 5ª Edición. Cengage Learning. Canadá, pp. 527-530.
- Guyton AC. (2001). Tratado de Fisiología médica. 10ª Edición. McGraw-Hill Interamericana. México, pp.1005-1029, 1117-1133.
- Havel PJ. (2004). A scientific review: The role of chromium in insulin resistance. *Nutrition*, **21**: 2-14.
- Hepburn DDD y Vincent JB. (2003a). Tissue and subcellular distribution of chromium picolinate with time after entering the bloodstream. *Journal of Inorganic Biochemistry*, **94**: 86-93.
- Hepburn DDD, Burney JM, Wosolki SA y Vincent JB. (2003b). The nutritional supplement chromium picolinate generate oxidative DNA damage and peroxidized lipids in vivo. *Polihedron*, **22**: 455-463.
- Hepburn DDD, Xiao J, Bindom S, Vincent JB y O'Donnell JO. (2003c), Nutritional supplement chromium picolinate causes sterility and lethal mutations in *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **100**: 3766-3771.
- Hernández GM. (2002). Motivación animal y humana. Editorial El Manual Moderno. México, pp. 127-146.
- Hernandez HA, Padron DRS y Seuc JA. (1999). Caracterización de la mujer infértil: resultados de un estudio estandarizado. *Revista Cubana de Endocrinología*, **10**: 16-24.
- Hill RW, Wyse GA y Anderson M. (2006). Fisiología animal. Editorial Médica Panamericana. España, pp. 423-443.
- Iavicoli I, Fontana L y Bergamaschi A. (2009). The effects of metals as endocrine disruptors. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part B: Critical Reviews*, **12**: 206-223.
- Jana M, Rajaram A y Rajaram R. (2009). Chromium picolinate induced apoptosis lymphocytes and the signaling mechanisms thereof. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **237**: 331-344.
- Katz AJ, Chiu A, Beaubier J y Shi X. (2001). Combining *Drosophila melanogaster* somatic mutation-recombination and electron spin resonance spectroscopy data to

interpret epidemiologic observations on chromium carcinogenicity. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **222**: 61-68.

- Komorowski JR, De La Harped J, Cefalu WT, Zhang XH, Wang ZQ y Greenberg D. (2001). JCR-LA-cp rats showed improved lipid profiles in response to diets containing chromium picolinate and biotin. *Appetite*, **36**: 230.
- Krey L y Kamel F. (1990). Progesterone modulation of gonadotropin secretion by dispersed rat pituitary cells in culture. I. Basal an gonotropin-releasing hormone-stimulated luteinizing hormone release. *Molecular and Cellular Endocrinology*, **68**: 85-94.
- Kyeong-Hoon J y Kaiser UB. (2006). Gonadotropin-Releasing Hormone Regulation of Gonadotropin Biosynthesis and Secretion. En Knobil and Neill's Physiology of Reproduction, Vol. 1. 6° ed. Neill JD, Plant TM, Pfaff DW, Challis JRG, Kretser DM, Richards JS y Wassarman PM. Eds. Elsevier, San Diego, EUA, pp. 313-336.
- Loeb WF, Das SR, Harbour LS, Turturro A, Bucci TJ y Clifford CB. (1996). En: Pathobiology of the Aging Mouse, Vol. 1. Mohr U, Dungworth DL, Capen CC, Carton WW, Sundberg y Ward JM. Eds. ILSI Press. Washington, pp. 3-19.
- Lukaski CH, Siders AW y Penland GJ. (2007). Chromium picolinate supplementation in women: effects on body weight, composition, and iron status. *Elsevier Nutrition*, **23**: 187-195.
- Maffucci JA y Gore AC. (2006). Age-related changes in hormones and their receptors in animal models of female reproductive senescence. En: Handbook of Models for Human Aging, Conn PM. Ed. Elsevier, Boston, pp. 533-552.
- Mandrile M. (1997). Centro de Información sobre Medicamentos. CIME. Suplementos dietarios.
- Marcus R y Coulston AM. (1990). The vitamins. En: Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics. Gilman AG, Rall TW, Nies AS y Taylor P, Eds. Mc-Graw-Hill. New York, pp. 1524-1527.
- Mascarenhas MN, Flaxaman SR, Boerma T, Vanderpoel S y Stevens GA. (2012). National, Regional, and Global Trends in Infertility Prevalence since 1990: A Systematic Analysis of 277 Health Surveys. *PLOS Medicine*, **9**: 1-12.
- Mattson MP. (2008). Hormesis defined. *Ageing Research Reviews*, **7**: 1-7.
- Mendiola P, Penalva A y Pérez-Llamas F. (1993). Ciclo estral de la Rata. En: Manual de clases prácticas de fisiología animal. Costa de J, Madrid JA y Zamora S. Eds. Editorial Universidad de Mursia. España, pp. 147-150.
- National Research Council. (1989). Recommended dietary allowances. The most

- authoritative source of information on nutrient allowances for healthy people. 10<sup>a</sup> Edición. *National Research Council*, Washington, pp. 241-243.
- Ninomiya JG. (1995). Fisiología humana, endocrinología y metabolismo. Manual Moderno. México, 335-373.
  - OMS. (2002). Infertility. Report of a meeting on “Medical, Ethical and Social Aspects of Assisted Reproduction” held at WHO headquarters in Geneva. Vayena E, Rowwe PJ y Griffin PD. Eds. Ginebra, pp. 15-75.
  - Ortega C. (2011). Efectos del Picolinato de cromo sobre la esteroidogénesis y la integridad cromosómica de las células de la granulosa en cultivo. Tesis de Maestría. Posgrado en Ciencias Biológicas. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. UNAM.
  - Palomero G, Vázquez MT, Vega JA, Naves FJ y Rodríguez C. (1998). Lecciones de embriología. Editorial Servicios de Publicaciones Universidad de Oviedo, España, pp.20-33.
  - Parker KL y Schimmer BP. (2006). Embryology and Genetics of the Mammalian Gonads and Ducts. En: Knobil and Neill’s Physiology of Reproduction. 3<sup>a</sup> Edición. Neill JDM Ed. *Elsevier*, pp. 313-336.
  - Pedersen T y Peters H. (1968). Proposal for a classification of oocytes and follicles in the mouse ovary. *Journal of Reproduction and Fertility*, **17**: 555-557.
  - Rajkovic A, Stephanie A, Pangas y Matzuk M. (2006). Follicular Development: Mouse, Sheep and Human Models. En: Knobil and Neill’s Physiology of Reproduction. 3<sup>a</sup> Edición. Neill JDM Ed. *Elsevier*, pp. 383-410.
  - Ruddick JP, Evans AK, Nutt DJ, Lightman SL, Rook GWA y Lowry CA. (2006). Tryptophan metabolism in the central nervous system: medical implications. *Cambridge University Press*, **8**: 1-27.
  - Sadler T. (2004). Langman. Embriología médica. Con orientación clínica. 9<sup>a</sup> Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, pp. 3-47, 309-317.
  - Saucedo TM y Bañuelos FN. (2013). Productos Alternativos para tratar sobrepeso y obesidad más expendidos en Hermosillo, Sonora. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*, **16**: 8-14.
  - Speetjens JK, Collins RA, Vincent JB y Worski SA. (1999). The nutrition supplement chromium (III) Tris (picolinate) cleaves DNA. *Chemical Research in Toxicology*, **12**: 283-487.
  - Spicer LI, Alpizar E y Echtenkamp SE. (1993). Effects of insulin, insulin-like growth factor I, and gonadotropins on bovine granulosa growth factor I production in vitro cell proliferation, progesterone production, estradiol production, and (or)

- insulin-like. *Journal Animal Science*, **71**: 1232-1241.
- Stearns DM, Wise JP SR , Patierno SR y Wetterhahn, (1995). Chromium (III) picolinate produces chromosome damage in chinese hamster ovary cells. *The FASEB Journal*. **9**: 1643-1648.
  - Stout MD, Nyska A, Collins BJ, Witt KI, Kissling GE, Malarkey y Hooth MJ. (2009). Chronic toxicity and carcinogenicity studies of chromium picolinate monohydrate administered in feed to F344/N rats and B6C3F1 mice for 2 years. *Food and Chemical Toxicology*, **47**: 729-733.
  - Strauss III JF y Lessey BA. (2009). The Structure, Function, and Evaluation of the Female Reproductive Trac. En: Yen and Jaffe's Reproductive endocrinology: Physiology, Pathophysiology, and clinical Management. 6ª Edición, Elsevier. Philadelphia, pp. 191-233.
  - Strauss III JF, (2009). The synthesis and metabolism of steroid hormones. En: Yen and Jaffe's Reproductive endocrinology: Physiology, Pathophysiology and clinical Management. 6ª Edición, Strauss JF, Barbieri Eds. Elsevier. Philadelphia, pp. 79-104.
  - Strauss III JF, Williams CJ. (2009). The ovarian life cycle. En: Yen and Jaffe's Reproductive endocrinology: Physiology, Pathophysiology, and clinical Management. 6ª Edición, Strauss JF, Barbieri Eds. Elsevier. Philadelphia, pp.155-190.
  - Tarin JJ. (1995). Aetiology of age-associated aneuploidy: a mechanism based on the 'free radical theory of ageing'. *Human Reproduction: Oxford Journals*, **10**: 1563 - 1565.
  - Tresguerres JAF. (2010). Fisiología del eje hipotálamo-hipófiso-ovárico. En: Fisiología Humana. 4ª Edición. Tresguerres JA Ed. McGraw-Hill Interamericana. México, pp. 1041-1058.
  - Van Voorhis BJ. (1999a). Follicular Development. En: Encyclopedia of Reproduction. Vol. **2**, Knobil E y Neill JD Eds. *AcademicPress*, USA, pp. 230-239.
  - Van Voorhis BJ. (1999b). Follicular Steroidogenesis. En: Encyclopedia of Reproduction. Vol. **2**, Knobil E y Neill Eds. *AcademicPress*, USA, pp. 389-395.
  - Vincent JB y Stallings D. (2007). Introduction: A history of Chromium studies (1955-1995). En: The Nutritional Biochemistry of Chromium (III). *Elsevier*, Amsterdam, **13**: 978.
  - Vincent JB, (2001). The bioinorganic chemistry of chromium (III). *Elsevier Science Polyhedron*, **20**: 1-26.

- Vincent JB. (2000). The biochemistry of chromium. *American Society for Nutritional Sciences*. **130**: 715-718.
- Walter WG, Feldman NS y D'Agati VD. (1997). Chronic renal failure after ingestion of over-the-counter chromium picolinate. *Annals Internal Medicine Journal*, **126**: 410.
- Yeh J y Adashi EY. (2001). El ciclo ovárico. En: Endocrinología de la reproducción. Fisiología, fisiopatología y manejo clínico. 4ª Edición. Yen SC, Jaffe RB, Barbieri RL. Eds. Editorial Médica Panamericana. Argentina, pp.164-202.
- Yoshida M, Hatakeyama E, Hosomi R, Kanda S, Nishiyama, T y Fukunaga K. (2010). Tissue accumulation and urinary excretion of chromium in rats fed diets containing graded levels of chromium chloride or chromium picolinate. *Journal Toxicology Science*, **35**: 485-491.
- Zárate A, Saucedo R, Basurto L. (2005). Sustitutos no farmacéuticos que se usan para reducir el peso corporal. *Acta Médica Ángeles*, **3**: 115-117.