

# Eje hipotálamo-hipófisis-ovario

**HUGO E. SCAGLIA<sup>†</sup>**

INSTITUTO DE ANÁLISIS BIOQUÍMICOS DE ENDOCRINOLOGÍA (IABE)

## Resumen

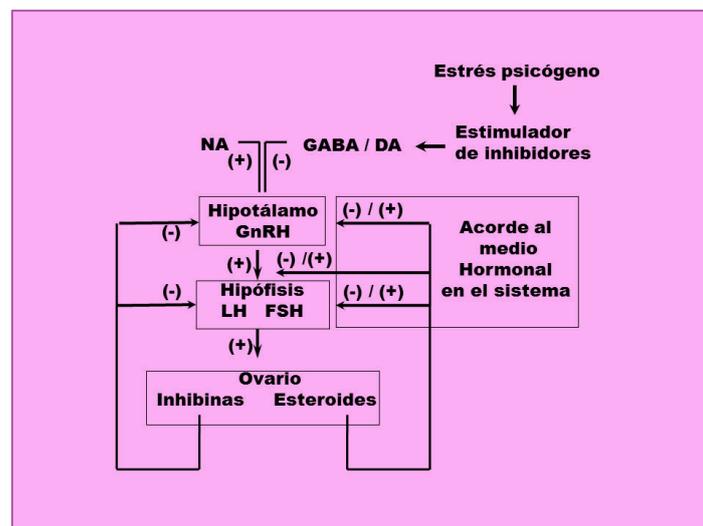
La integración hormonal que expresa el eje hipotálamo-hipófiso-ovárico tiene impacto desde el origen de la vida a lo largo de los diferentes ciclos vitales de la mujer: niñez, menarca, adolescencia, madurez sexual, climaterio y senescencia. Progresivamente se producen cambios fisiológicos y ante noxas diferentes (funcionales u orgánicas) expresa la acción no sólo de los esteroides sino de distintas expresiones, como hormonas liberadoras, factores de transcripción, hormonas estimulantes e inhibidoras, entre otros. A través de estos procesos bioquímicos la Endocrinología Ginecológica y la Medicina Reproductiva han logrado avances diagnósticos y terapéuticos notablemente sorprendentes. Este capítulo plantea, en forma ordenada y precisa, la acción del eje hipotálamo-hipófiso-gonadal con sus respectivos mecanismos de acción.

## Palabras clave

Eje hipotálamo-hipófiso-ovárico; hormonas; mecanismos de acción.

## Introducción

La integración del eje hipotálamo-hipófisis-ovario involucra una acción regulada cronológicamente entre el sistema nervioso central produciendo GnRH, el gonadotropo, que, respondiendo a la hormona hipotalámica secreta LH y FSH, que actúan sobre los ovarios y producen esteroides y diversas proteínas, las cuales, por un lado, actúan en sus órganos blanco para ejercer su acción biológica y, por otro, a nivel central por un mecanismo de retroalimentación neurohipofisario positivo o negativo, según el medio hormonal, fenómeno que mantiene el equilibrio homeostático del sistema.<sup>(1)</sup> El fenómeno de retroalimentación positivo o negativo será desarrollado en el ciclo menstrual. Este sistema es influenciado por el medio ambiente y el estrés, influyendo sobre la secreción de neurotransmisores activando o inhibiéndolo. La **FIGURA 1** muestra un esquema del proceso descrito.



**FIGURA 1. ESQUEMA DE LA INTEGRACIÓN DEL EJE DESDE EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL (MEDIO AMBIENTE-ESTRÉS, ESTIMULACIÓN O INHIBICIÓN POR NEUROTRANSMISORES) DEL EJE HIPOTÁLAMO-HIPÓFISIS-OVARIO.**

ESTOS EVENTOS PRODUCEN A NIVEL GONADAL ESTEROIDES Y PROTEÍNAS QUE, POR MECANISMO DE RETROALIMENTACIÓN POSITIVA O NEGATIVA, SEGÚN EL MEDIO HORMONAL, REGULAN LA SECRECIÓN NEUROENDOCRINA DE GONADOTROFINAS ESTABLECIENDO UN EQUILIBRIO HOMEOSTÁTICO

## Desarrollo de los folículos ováricos

Los folículos ováricos son las unidades básicas de la biología reproductiva femenina. Consisten de una **célula gamética** (el ovocito), rodeada de células diploides denominadas granulosa, y por fuera se encuentran las células de la teca. Durante su desarrollo, esta unidad biológica llamada *folículo*, genera una estructura, el *antro*, que se produce por la acumulación de líquido en su interior.

La **FIGURA 2** muestra un esquema del desarrollo folicular desde el nacimiento hasta la pubertad, en la edad reproductiva, y finalmente el agotamiento del aparato folicular en la menopausia.

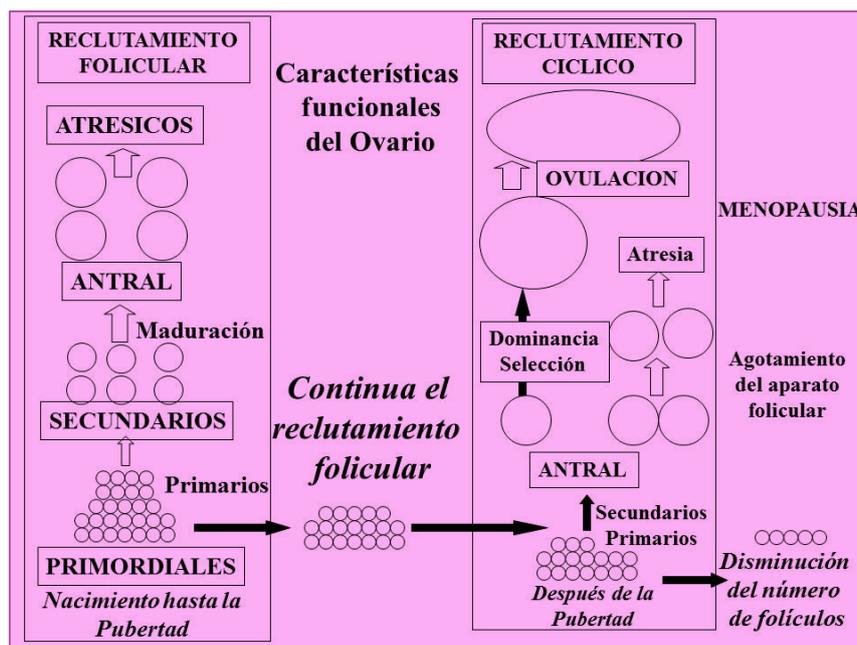


FIGURA 2. DESARROLLO DE LOS FOLÍCULOS PRIMORDIALES PRIMARIOS A SECUNDARIOS QUE MADURAN PERO NO OVULAN, YENDO A LA ATRESIA DESDE EL NACIMIENTO HASTA LA PUBERTAD (IZQUIERDA DE LA FIGURA).

CONTIÚA EL RECLUTAMIENTO Y EN LA PUBERTAD SE PRODUCE LA SELECCIÓN Y DOMINANCIA DE UN FOLÍCULO QUE PODRÍA SER FERTILIZADO. EL RESTO DE LOS FOLÍCULOS VAN A LA ATRESIA (PARTE MEDIA DE LA FIGURA). ESTE PROCESO CONTIÚA HASTA EL AGOTAMIENTO FOLICULAR, PRODUCIENDO LA MENOPAUSIA

El número de folículos ováricos es fundamental para determinar la edad de la menopausia. El número de células foliculares está determinado antes del nacimiento, cuando los ovocitos en la mitad de la gestación, tienen hasta un máximo de 6-7 millones. Hacia finales de la gestación, todos los ovocitos presentes en el ovario fetal, están detenidos en profase I de la meiosis (primer reposo meiótico) y formando parte del folículo primordial. Al momento del nacimiento, la población de folículos primordiales presentes en ambos ovarios es alrededor de 2 millones, los que constituyen el potencial reproductivo de la mujer.

Posteriormente, los ovocitos se pierden rápidamente debido a la apoptosis, dando lugar a una población de 700.000 al nacer y 300.000 en la pubertad. Con la continuidad de la apoptosis, a medida que se van perdiendo los ovocitos a lo largo de 400-500 ciclos de reclutamiento folicular durante una vida reproductiva normal (a veces participan varios folículos por ciclo), al llegar a la mediana edad se produce el agotamiento final de estas células y sobreviene la menopausia.<sup>(2)</sup>

La menarca y la continuidad fértil dependen entre otros factores de que el tejido adiposo distendido, constituido por el aumento de la masa de adipocitos, produzca leptina. Se necesita doce kilogramos de grasa para que produzca la energía necesaria que, en conjunción con la leptina, aumente la pulsatilidad de GnRH y paralelamente la de LH y FSH. Se activa la función gonadal y el desarrollo puberal, se inician los ciclos menstruales ovulatorios y la fertilidad. La disminución cuantitativa de la grasa produce amenorrea hipotalámica. La producción de andrógenos ováricos inducen en los adipocitos la producción de estradiol (E2). La **FIGURA 3** muestra un esquema de este proceso.

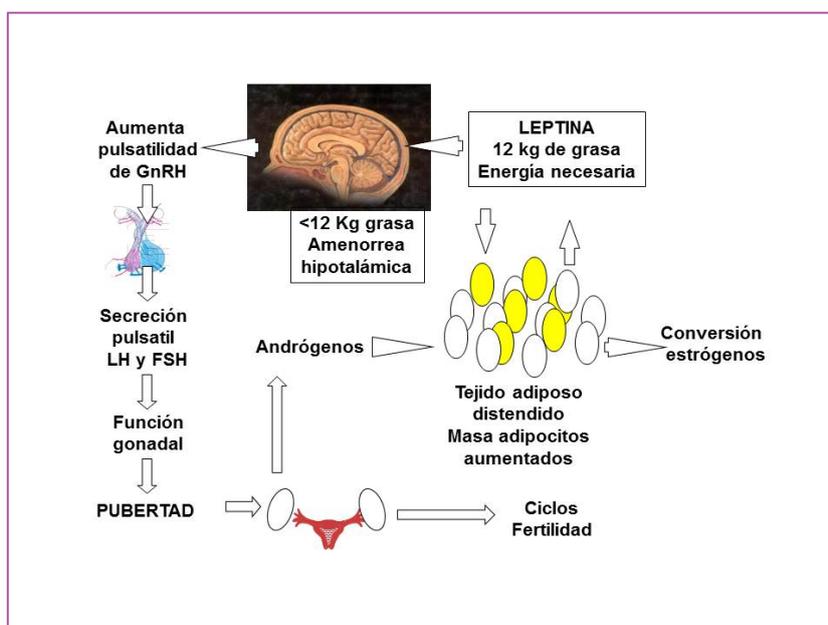


FIGURA 3. MECANISMO DEPENDIENTE DE LA GRASA CORPORAL PARA EL INICIO DE LA MENARCA Y EL MANTENIMIENTO DEL CICLO MENSTRUAL REPRODUCTIVO (ADAPTADO DE LA CONFERENCIA DEL DR. ARTURO ROLLA: «ADIPOCITO. PECADO O NECESIDAD», EN EL CONGRESO SAEM 2007)

## Desarrollo del aparato folicular a lo largo de la vida

En la fase prepuberal, comienza la formación de los folículos primordiales, que presentan el ovocito rodeado de una monocapa celular, constituida en lo general por 4 a 8 células de la granulosa de forma fusiforme (alargadas). Estos folículos se forman a partir de la octava semana de gestación y miden 25  $\mu\text{m}$  de diámetro aproximadamente. Aún no presentan receptores para la hormona, lo que significa que todavía no han sido reclutados para iniciar el desarrollo folicular.

A la semana 20-24 de gestación, las células fusiformes de algunos folículos primordiales se transforman en células granulosas cuboides, formándose el *folículo primario unilaminar*.

Estos folículos constan de una monocapa celular que rodea al ovocito, pero cuyas células de la granulosa tienen forma cuboides. Estas células granulosas se dividen, formando varias capas alrededor del oocito y el

complejo se convierte en un folículo secundario o *folículo primario multilaminar*.

Los folículos secundarios tienen más de una capa de células de granulosa, y sobre estas se observan células de la teca (de forma alargada). Las células granulosas segregan mucopolisacáridos que forman un halo protector alrededor del oocito, la zona o membrana pelúcida. Este folículo, el folículo antral, crece hasta alcanzar un diámetro de unas 150 µm y presenta una cavidad entre las células granulosas, llena de líquido folicular (rico en lípidos y algunas proteínas). Esta estructura, llamada antrum, terminará rodeando completamente al ovocito hasta la ovulación.

Los folículos maduros o **folículos de Graaf** son de tipo antral, de gran tamaño en comparación a los otros tipos de folículos, y tienen varias capas de células de la granulosa.

Se forman de la siguiente manera: las prolongaciones citoplasmáticas de las células granulosas continúan penetrando en la zona pelúcida y proporcionan nutrientes y señales hormonales a los ovocitos primarios en maduración. Este paso es dependiente de FSH que, además de inducir la proliferación de las células de la granulosa, incrementa su número de receptores, potenciando su propio efecto. Además, la LH induce la diferenciación de las células tecales que rodean al folículo. El oocito ahora se desplaza hacia una posición excéntrica y se rodea de una capa llamada *cumulus oophorus* o disco prolífero de dos o tres células de grosor. Al final de esta fase el complejo folículo preovulatorio o de Graaf alcanza un diámetro medio de 2 a 5 mm (**FIGURA 4**). Son estos folículos los que llegan a la etapa de la ovulación.<sup>(3-6)</sup>

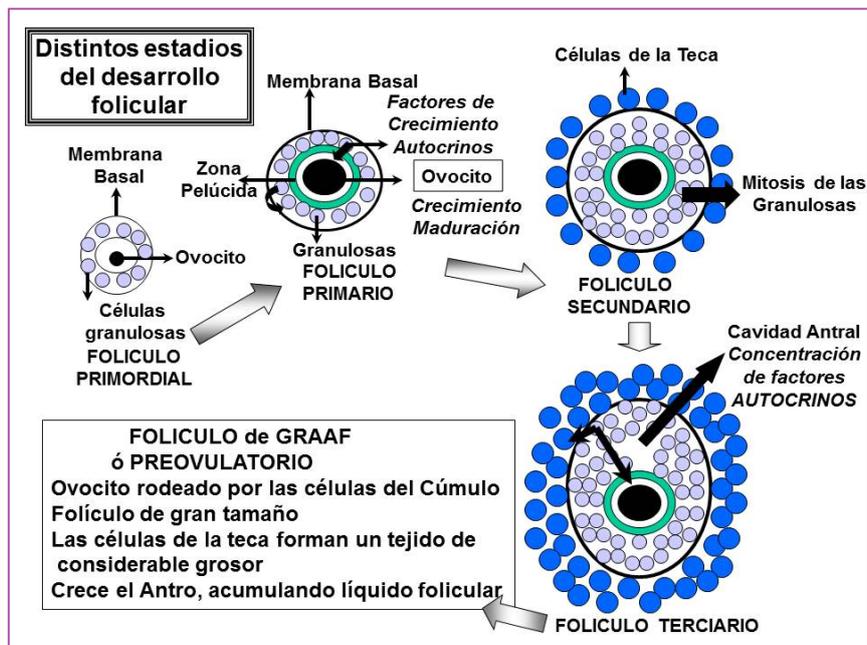


FIGURA 4. DISTINTOS ESTADIOS DEL DESARROLLO FOLICULAR. A LA IZQUIERDA SE MUESTRA UN ESQUEMA DEL FOLÍCULO PRIMORDIAL QUE POR DISTINTOS FACTORES DE CRECIMIENTO DE ACCIÓN AUTOCRINA SE TRANSFORMA EN PRIMARIO. EL FOLÍCULO PRIMARIO ESQUEMATIZADO EN EL CENTRO DE LA FIGURA NO TIENE CÉLULAS DE LA TECA, PERO TUVO UN CRECIMIENTO IMPORTANTE DEL OVOCITO. ESTE FOLÍCULO PRIMARIO SE TRANSFORMA EN SECUNDARIO, ARRIBA A LA DERECHA DE LA FIGURA, EN EL CUAL SE PRODUJO UN INCREMENTO DE LAS CÉLULAS DE LA GRANULOSA Y LA APARICIÓN DE CÉLULAS DE LA TECA. LA EVOLUCIÓN DE ESTE FOLÍCULO SE TRANSFORMA EN TERCIARIO, ABAJO A LA DERECHA DE LA FIGURA, EN EL CUAL SE MANIFIESTA UN INCREMENTO DE LA TECA Y LA GRANULOSA, ESTAS CÉLULAS FORMAN UNA CAVIDAD ANTRAL DONDE SE CONCENTRAN FACTORES DE ACCIÓN AUTOCRINOS. POR ESTOS FACTORES SE COMPLETA LA MADURACIÓN FORMÁNDOSE EN FOLÍCULO DE GRAAF O PREOVULATORIO

El proceso de foliculogénesis es el resultado de la interacción entre todos los componentes celulares que constituyen el folículo, además intervienen una multitud de factores producidos ya sea por el ovocito, las células de la granulosa o las de la teca, los cuales actúan en la diferenciación folicular por efectos autocrinos, paracrinos o endocrinos. Se enumeran entre otros aquellos reconocidos por su origen y el posible mecanismo de acción:

- 1. Células somáticas:** receptor c-Kit. Actúa en la migración de las células germinales. La proteína CD117 es una glicoproteína

transmembrana que forma parte de receptor celular c-KIT. Proteína que se encuentra en la superficie de muchos tipos diferentes de células.

**2. Endodermo extra embrionario:** las proteínas BMP4 y 8b y la conexina 43. Actúan en la generación de células germinales.

**a)** Las BMPs (siglas en inglés de *Bone Morphologic Protein*) en este proceso la 4 y 8b, son proteínas morfológicas del hueso; son miembros de la súper familia de los TGT- $\beta$  ampliamente distribuidas en el cuerpo, cuyas acciones biológicas se desarrollan durante la vida pre y post-natal. Además de su acción en el desarrollo folicular, están involucradas en el desarrollo óseo.

**b)** La conexina 43 participa en los eventos biológicos relacionados con el control del crecimiento y diferenciación celular, la muerte celular programada y la sincronización de funciones celulares.

**3. Ovocitos:** Fig  $\alpha$ , GDF 9 y FGF $\beta$ .

**a)** Fig  $\alpha$ : codifica la zona pelúcida.

**b)** GDF 9: participa en la diferenciación de las células de la granulosa, proceso conjunto con la acción de las BMPs. La GDF9 es una proteína codificada por el gen GDF9. Se expresa en el ovocito y participa en su función y crecimiento, requerido para la foliculogénesis.

**c)** FGF $\beta$ : produce estimulación de mitosis y diferenciación de las células de la granulosa.

**4. Insulina:** de origen endocrino. Participa en la transición del folículo primordial a primario.

## 5. Células de la granulosa: HAM, activina, AhR, CTGF.

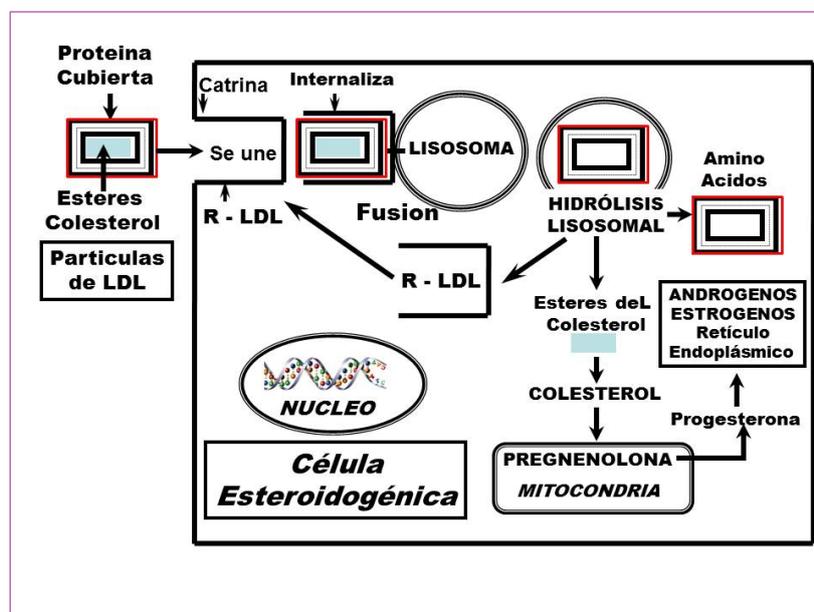
- a) Hormona anti-mulleriana: actúa en la inhibición del desarrollo de los folículos primordiales.
- b) Activinas: proliferación celular y estimulación de la esteroidogénesis.
- c) AhR: participa en la regulación del tamaño del ovocito. El receptor de hidrocarburos de arilo también conocido como AhR o AHR o ahr o ahR, es una **proteína** que en los humanos está codificada por el **gen** AHR. El receptor de hidrocarburos de arilo es un **factor de transcripción** que regula la expresión génica, es un miembro de la familia de **factores básicos de transcripción de hélice-bucle-hélice**.
- d) CTGH (siglas en inglés: *Connective Tissue Growth Factor*). Actúa en el reclutamiento de la teca. Además de las células de la granulosa se expresa en varias formas de otros tejidos fibrosos.

**6. Células de la teca:** KGF. El KGF (siglas en inglés: *Keratinocyte Growth Factor*), conjuntamente con el BMP7 y el EGF (*Epidermal Growth Factor*), son factores secretados por las células de la teca, desempeñan un papel relevante en la proliferación y crecimiento folicular.

## Mecanismo de esteroidogénesis

La biosíntesis de esteroides se realiza a partir del colesterol biosintetizado *de novo* a partir del lípidos de baja densidad (LDL).

Las LDL entran a las células por un proceso de **endocitosis mediada por receptores** específicos para estas lipoproteínas. El receptor de LDL es una glicoproteína transmembrana que se une de manera específica a apoB-100 y **apoE**. La catrina introduce el complejo LDL-R-LDL dentro de la célula, se une en el lisosoma, en el cual se realiza la hidrólisis lisosomal, produciendo los siguientes eventos: liberar los aminoácidos y el R-LDL, este recircula a la membrana y finalmente una lipasa libera el colesterol a partir de los ésteres de colesterol que migra a la mitocondria para la biosíntesis de pregnenolona. Este proceso, mediado por la acción de la StAR (*steroidogenic acute regulatory* o proteína reguladora en agudo de la esteroidogénesis), es considerado como un paso limitante y da lugar a la conversión del colesterol en pregnenolona, catalizada por la CYP11A1-P450scc. A partir de este precursor se produce la formación de andrógenos y estrógenos.<sup>(5)</sup> La **FIGURA 5** muestra un esquema de este proceso.



**FIGURA 5. FORMACIÓN DE ESTEROIDES A PARTIR DE PARTÍCULAS DE LDL FORMADAS POR ÉSTERES DE COLESTEROL CUBIERTO DE PROTEÍNAS. ESTAS PARTÍCULAS SE UNEN AL RECEPTOR DE LDL (R-LDL), LA CATRINA INTERNALIZA EL COMPLEJO QUE SE FUSIONA AL LISOSOMA DONDE POR HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA SEPARA LAS PROTEÍNAS DE COBERTURA, EL R-LDL QUE VUELVE A LA MEMBRANA Y LOS ÉSTERES DEL**

COLESTEROL QUE POR HIDRÓLISIS ENZIMÁTICAS PRODUCEN COLESTEROL LIBRE QUE EN LA MITOCONDRIA SE  
CONVIERTE A PREGNENOLONA Y EN EL RETÍCULO ENDOPLÁSMICO EN ESTEROIDES SEXUALES

El mecanismo descrito está inducido por la acción de la LH y FSH mediado por sus receptores que se encuentran en las células de la granulosa y de la teca, dependiendo del estadio del ciclo menstrual. La **FIGURA 6** muestra un esquema de la acción de LH que al unirse con su receptor activa la proteína G, liberando la subunidad  $\alpha$  que por medio de la adenil ciclasa transforma el ATP en el segundo mensajero intracelular, el AMP cíclico, se une a la proteína quinasa A (PKA) y produce dos efectos: 1) activa la colesterol-éster-hidroxilasa que libera el colesterol libre de los ésteres del colesterol y 2) inicia una reacción de fosforilación induciendo la biosíntesis de proteínas que transportan el colesterol a la membrana interna de la mitocondria. En esta organela el colesterol produce pregnenolona, que en el retículo endoplásmico se transforma en esteroides.

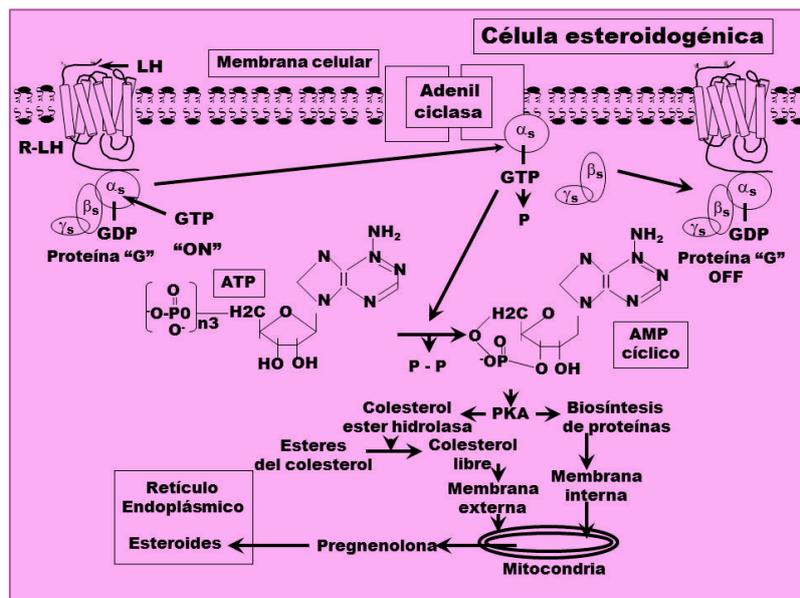


FIGURA 6. MECANISMO DE ACCIÓN DE LH EN UNA CÉLULA ESTEROIDOGÉNICA

## Ciclo menstrual

El *ciclo menstrual* o ciclo sexual femenino normal es el proceso que prepara al **útero** para el embarazo, mediante el desarrollo de los gametos femeninos y una serie de cambios hormonales fisiológicos que inducen los mecanismos de ovulación.

Normalmente presenta tres fases: la *pre-ovulatoria* o *fase folicular*, la *ovulatoria* y la *post-ovulatoria* o *fase lútea*.

La fase folicular presenta tres etapas: reclutamiento folicular, selección y dominancia, y folículo pre-ovulatorio.

### Reclutamiento folicular

Para la esteroidogénesis en el ovario se necesita una relación estrecha entre las células de la teca y las de las células de la granulosa. Las células de la granulosa producen dos de los esteroides sexuales más importantes: estradiol y progesterona. A pesar de que las células de la granulosa son capaces de producir progesterona de manera independiente, en la etapa del reclutamiento la biosíntesis de estrógenos requiere de la cooperación entre las células de la granulosa y las de la teca. La participación de estos dos tipos celulares y de las gonadotrofinas FSH y LH en la biosíntesis de estrógenos en el ovario, sostiene la teoría llamada *dos células-dos gonadotrofinas*.<sup>(6)</sup>

Los folículos reclutados presentan el R-LH en las células de la teca y el R-FSH en las granulosas. Ambas células están separadas por una membrana. La esteroidogénesis, como expresáramos en párrafos previos, se produce a través de los LDL que se unen en las células de la teca a su R-LDL; esto es específico en la teca en este estadio porque las LDL no pueden pasar la membrana. El proceso de esteroidogénesis se realiza por la acción de la LH mediada por su R-LH a través de las LDL por las vías

metabólicas descritas previamente, produciendo androstenodiona (A4) y testosterona (TT). La FSH actúa en la granulosa mediada por su R-FSH induciendo la síntesis de su propio receptor, de la aromatasa y de Inhibinas. La TT y su precursor A4 pasan a través de la membrana y por acción de la aromatasa se convierten en estradiol (E2). El E2 induce la mitosis de las células de la granulosa y de la teca. La FIGURA 7 muestra un esquema de este proceso.

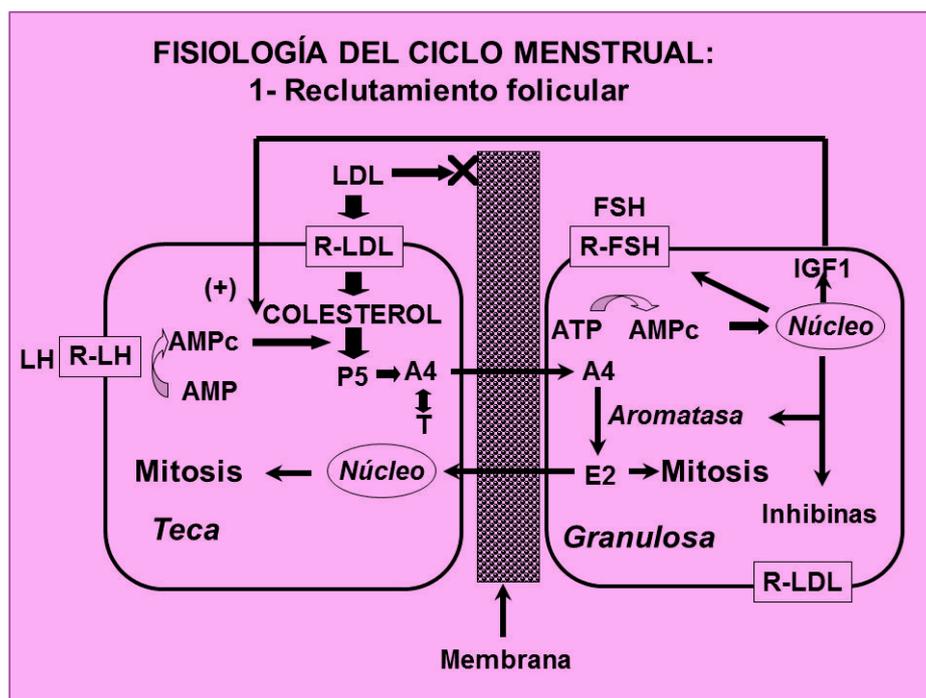


FIGURA 7. ACCIÓN HORMONAL EN LOS FOLÍCULOS RECLUTADOS EN LA FASE INICIAL DEL CICLO MENSTRUAL. LA CÉLULA DE LA TECA PRESENTA RECEPTORES PARA LH (R-LH) MIENTRAS QUE LA GRANULOSA PARA FSH (R-FSH). AMBAS CÉLULAS TIENEN RECEPTORES PARA LDL (R-LDL). LA LDL MEDIADA POR SU R-LDL SOLO EN LA TECA, DEBIDO A QUE NO PUEDE PASAR LA MEMBRANA PRODUCE COLESTEROL. LA LH MEDIADA POR EL R-LH ACTIVA EL AMPc Y TRANSFORMA EL COLESTEROL EN PREGNENOLONA (P5) Y POR DISTINTAS REACCIONES ENZIMÁTICAS SE FORMA ANDROSTENODIONA (A4) Y TESTOSTERONA (T). EN LA CÉLULA DE LA GRANULOSA LA FSH MEDIADA POR SU R-FSH INDUCE SU PROPIO R-FSH, AROMATASAS E INHIBINAS. LA A4 Y T PASAN A TRAVÉS DE LA MEMBRANA A LA GRANULOSA Y POR LA ACCIÓN DE LA AROMATASA SE TRANSFORMAN EN ESTRADIOL (E2). EL E2 ACTIVA LA MITOSIS CELULAR EN AMBAS CÉLULAS DEL FOLÍCULO

El término *reclutamiento* se ha utilizado para distinguir dos procesos importantes en el desarrollo folicular relacionados con el destino de cada folículo. Los folículos primordiales inactivos o latentes permanecen reclutados hasta que inician su crecimiento de manera continua, y por otra parte, una vez que se incrementa la secreción de FSH en cada ciclo reproductivo se recluta una cohorte de folículos antrales. Durante el reclutamiento inicial se desconocen los factores intraováricos o factores externos que estimulan a algunos folículos para iniciar el crecimiento, mientras que otros folículos permanecen latentes por meses o años. Sin embargo, este proceso de latencia pudiera estar relacionado con la liberación de un estímulo inhibitorio de origen local o sistémico que mantenga a los folículos en latencia.<sup>(7)</sup>

### **Selección y dominancia**

Elucidar los mecanismos reguladores del desarrollo folicular es difícil porque el ovario tiene una estructura complicada y los folículos primordiales tardan mucho tiempo en convertirse en folículos de Graaf. Por lo tanto, no es posible observar el desarrollo folicular temprano mediante procedimientos convencionales, por ejemplo la ecografía. Generalmente, el tamaño folicular se considera un parámetro importante para la selección de un folículo inactivo; sin embargo, el mecanismo de selección no se ha definido completamente. Existen dos mecanismos posibles:

- la sensibilidad a la FSH selecciona el folículo;
- los folículos más grandes inhiben el desarrollo de otros folículos por un factor desconocido.

La **FIGURA 8** muestra un esquema posible de la mayor sensibilidad a la FSH en el folículo dominante. Existen evidencias de que el folículo que será el dominante tiene un número mayor de R-FSH que el resto de los

folículos reclutados. La población de R-LH son similares en la teca de todos los folículos. La producción de andrógenos es normal en el folículo dominante que por su aromatización induce mayor número de R-FSH e incrementa la mitosis celular. En la teca los andrógenos no se aromatizan en la granulosa debido a que la disminuida acción de FSH no produce aromatasa. Por esta razón los andrógenos se acumulan en la teca, activan la 5 $\alpha$ -reductasa, se transforman en dihidrotestosterona que participa en la atresia de esos folículos.

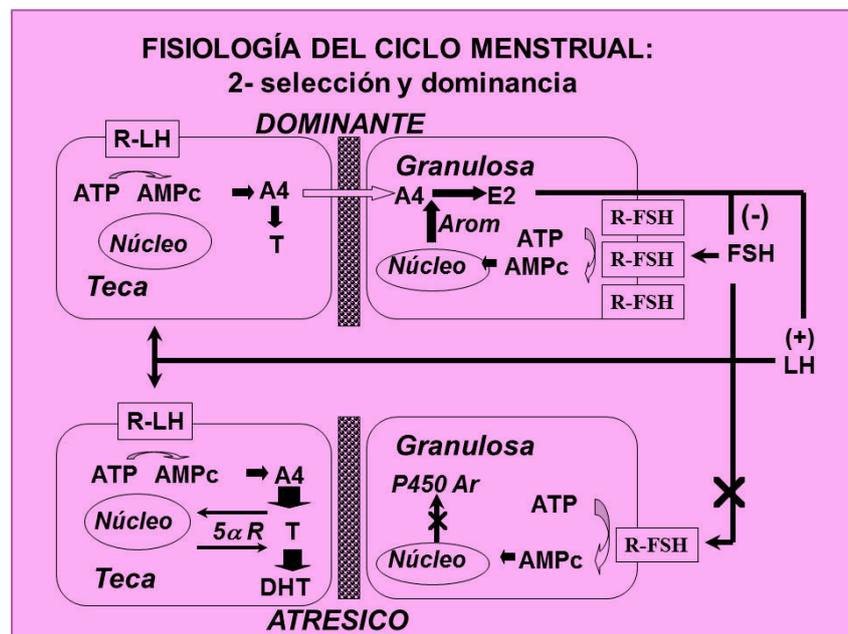
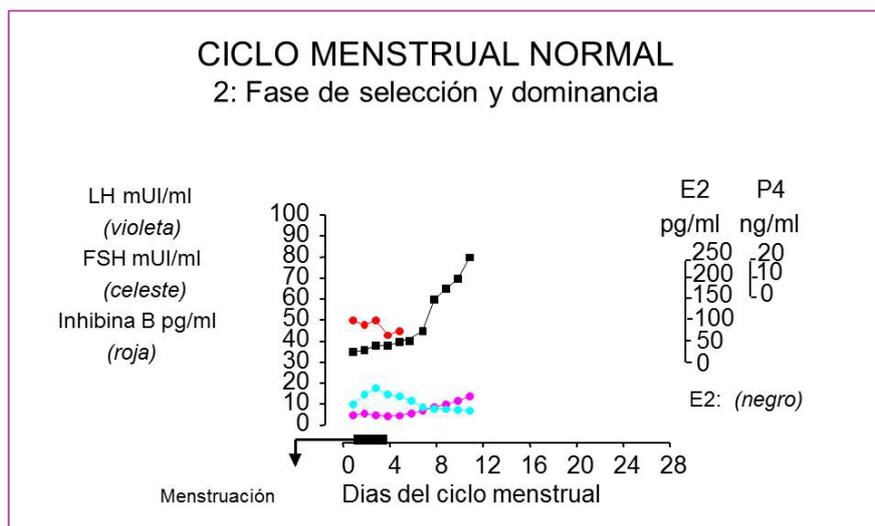


FIGURA 8. ACCIÓN HORMONAL EN EL FOLÍCULO DOMINANTE Y EN LOS NO DOMINANTES QUE IRÁN A LA ATRESIA. LA LH ACTÚA EN FORMA SIMILAR EN AMBOS TIPOS DE FOLÍCULOS PRODUCIENDO ANDROSTENODIONA (A4) Y TESTOSTERONA (T). EN LAS CÉLULAS DE LA GRANULOSA SE INDUCE LA FORMACIÓN DEL RECEPTOR DE LH (R-LH), EN LAS DEL FOLÍCULO DOMINANTE SE PRODUCE UN NÚMERO SIGNIFICATIVAMENTE MAYOR DE LOS RECEPTORES DE FSH (R-FSH). EN SANGRE PERIFÉRICA DISMINUYEN LOS NIVELES DE FSH, EN CONSECUENCIA LA HORMONA EJERCE SU ACCIÓN EN EL FOLÍCULO DOMINANTE ACTIVANDO LA PRODUCCIÓN DE E2. LOS ANDRÓGENOS EN LOS FOLÍCULOS NO DOMINANTES NO SE AROMATIZAN DEBIDO AL POCO EFECTO DE LA FSH, GENERANDO UN INCREMENTO LOCAL QUE INDUCE LA EXPRESIÓN DE LA 5 $\alpha$ -REDUCTASA PRODUCIENDO 5 $\alpha$ -DHT DE ACCIÓN SOBRE LA ATRESIA FOLICULAR

HSUEH y cols.<sup>(8)</sup> estudiaron el fenómeno de atresia folicular. Sus principales conclusiones fueron que más del 99 % de los folículos ováricos se someten a un proceso degenerativo llamado *atresia* durante la vida reproductiva. En ratas como modelo experimental, se han utilizado gonadotrofinas, factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento transformante  $\alpha$  (TGF $\alpha$ ), factor de crecimiento básico de fibroblastos (bFGF), factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF-1) y estrógenos cuyos resultados permitió identificarlos como factores de supervivencia del folículo capaces de suprimir la fragmentación del ADN apoptótico. Los andrógenos, la interleucina-6 (IL-6) y la GnRH son posibles factores que favorecen la atresia folicular.

Estos resultados aportan datos, sugiriendo que la mayor producción *in situ* de DHT en los folículos reclutados no dominantes, en conjunto con otros factores como los descritos, producirían la atresia folicular.

La producción hormonal en este período del ciclo menstrual se caracteriza por un aumento de la relación FSH/LH en los primeros días del ciclo. Simultáneamente se produce un incremento diario en los niveles de E2, disminuyendo los valores de FSH y aumentando los de LH. Se observan niveles detectables de Inhibina B que disminuyen aproximadamente a partir del día 5. La Inhibina B que es secretada por los folículos en crecimiento suprime la secreción de FSH de la glándula pituitaria y favorece el desarrollo de un folículo dominante. En síntesis, hay un incremento de estradiol con una pendiente leve hasta el día 5 y más pronunciado a partir de ese día, fenómeno que induce la disminución de FSH que actuará en el folículo, en las células de la granulosa del folículo posiblemente, solo en el folículo dominante por el mayor número de R-FSH (FIGURA 9).



**FIGURA 9. NIVELES CIRCULANTES EN LA ETAPA DE SELECCIÓN Y DOMINANCIA DEL CICLO MENSTRUAL. SE INCREMENTAN DIARIAMENTE LOS NIVELES DE ESTRADIOL (E2) Y CON UNA MENOR PENDIENTE LOS DE LH. DISMINUYEN LOS VALORES CIRCULANTES DE FSH**

En estudios realizados tendientes a una mejor comprensión de los mecanismos de desarrollo folicular, se cultivaron dos folículos en crecimiento con o sin contacto físico. Entre ellos, solo uno de los dos folículos con contacto físico se convirtió en folículo antral, mientras que se suprimió el crecimiento del otro. Sin embargo, los dos folículos sin contacto físico se desarrollaron de manera similar. Esto indicó que el contacto entre dos folículos es importante para la selección del folículo dominante.<sup>(9)</sup> El número de folículos en crecimiento que estaban rodeados por otros folículos primordiales o que estaban ubicados cerca del borde de la superficie ovárica fue menor que en otros lugares. Los investigadores concluyeron que los folículos primordiales y el epitelio ovárico inhibían el desarrollo de folículos primordiales cercanos. Estos hallazgos indicaron que podría liberarse un factor inhibitorio de los folículos primordiales y las células epiteliales de los ovarios. Sin embargo, los mecanismos exactos permanecen indefinidos. Las BMP 4 y 7 están presentes en las células tecaes de los folículos primarios y secundarios y estimulan la transición

del folículo primordial al primario. El factor básico de crecimiento de fibroblastos se expresa en los ovocitos de los folículos primordiales y primarios en algunas especies y promueve el desarrollo folicular primordial. Estos factores también pueden influir en los folículos vecinos por difusión.

Los autores mostraron previamente que el factor inhibidor de la leucemia (LIF) se difundió desde los folículos donde se produjo y reprimió el crecimiento de los folículos primarios, secundarios y antrales vecinos. En este experimento, se agregaron LIF recombinante y un anticuerpo neutralizador anti-LIF al medio de cultivos de tejido ovárico. El anticuerpo neutralizante anti-LIF promovió el crecimiento de folículos secundarios y antrales. Si LIF actuara solo en el folículo donde se produjo, entonces el anticuerpo no podría neutralizar LIF porque el anticuerpo sería demasiado grande para entrar en el folículo. Estos resultados indicaron que LIF se liberó del folículo al medio de cultivo y reprimió el crecimiento de los folículos circundantes.

Es probable que se liberen otros factores del folículo y el gradiente de concentración de estos factores podría cambiar durante la ovulación, la atresia folicular y la formación del cuerpo lúteo. Estos cambios pueden controlar el crecimiento folicular en varias etapas de desarrollo. Con este enfoque, es posible analizar los mecanismos reguladores del desarrollo folicular. La fisiología ovárica es complicada y los folículos primordiales tardan mucho tiempo en convertirse en folículos de Graaf. Por lo tanto, es difícil determinar los mecanismos reguladores del desarrollo folicular. Los métodos para observar el desarrollo folicular en el ovario deben mejorarse en el futuro para tratar de optimizar las técnicas de reproducción.

## Folículo pre-ovulatorio

El folículo en estadio preovulatorio experimenta un fenómeno cualitativo significativo. Las células de la granulosa adquieren R-LH, posiblemente por el efecto del incremento del E2. Mediado por su R-LH la LH induce la producción de 17hidroxi-progesterona (17OHP4). El E2 a la concentración en esta etapa del ciclo menstrual ejerce un efecto bipotencial, aumenta la secreción hipofisaria de LH, mecanismo a nivel hipotalámico, estimulando la noradrenalina (catecolamina estimulante del GnRH) e inhibiendo dopamina (inhibidor de GnRH). Estos resultados sinérgicamente producen un incremento de GnRH que a nivel hipofisario aumenta los niveles de LH. Por otro lado, el E2 posiblemente a nivel hipofisario inhibe la acción de GnRH sobre la biosíntesis de FSH. Como para producir la ovulación fisiológicamente ambas gonadotropinas deben incrementar sus valores (pico preovulatorio de LH y FSH), esto se produce por efecto de la 17OHP4 que inhibe el efecto inhibitorio del E2 sobre la FSH. La **FIGURA 10** muestra un esquema de este proceso.

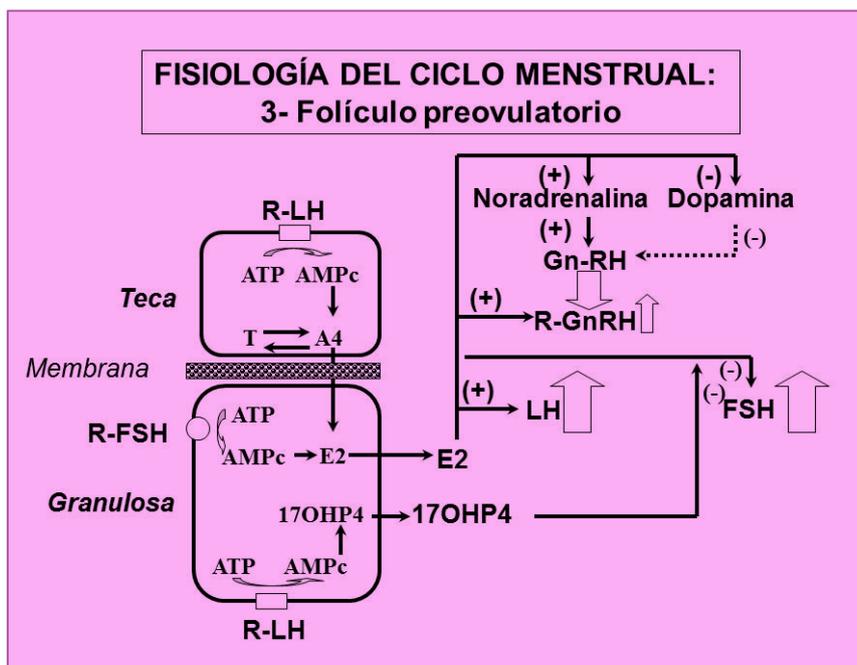


FIGURA 10. ESQUEMA DE LA PRODUCCIÓN HORMONAL EN EL FOLÍCULO PRE-OVULATORIO. MEDIADO POR SU R-LH LA LH INDUCE LA PRODUCCIÓN DE 17 HIDROXI-PROGESTERONA (17OHP4). EL E2 AUMENTA LA SECRECIÓN HIPOFISARIA DE LH MECANISMO A NIVEL HIPOTALÁMICO ESTIMULANDO LA NORADRENALINA, CATECOLAMINA ESTIMULANTE DEL GnRH E INHIBIENDO DOPAMINA, INHIBIDOR DE GNRH. ESTOS RESULTADOS SINÉRGICAMENTE PRODUCEN UN INCREMENTO DE GNRH QUE A NIVEL HIPOFISARIO AUMENTA LOS NIVELES DE LH. POR OTRO LADO, EL E2 POSIBLEMENTE A NIVEL HIPOFISARIA LA FSH. EL PICO PREOVULATORIO DE LH Y FSH SE PRODUCE POR EFECTO DE LA 17OHP4 QUE INHIBE EL EFECTO INHIBITORIO DEL E2 SOBRE LA FSH. FIGURA ADAPTADA DE MARGULIES ET AL.<sup>(40)</sup>

Los cambios hormonales en esta etapa se muestran en la **FIGURA 11**. Las modificaciones más significativas fueron, entre los días 8 a 12, una disminución de FSH y un incremento de E2. Entre los días 12 al 18 se produce el pico preovulatorio de LH y FSH, así como una disminución creciente de los niveles de E2.

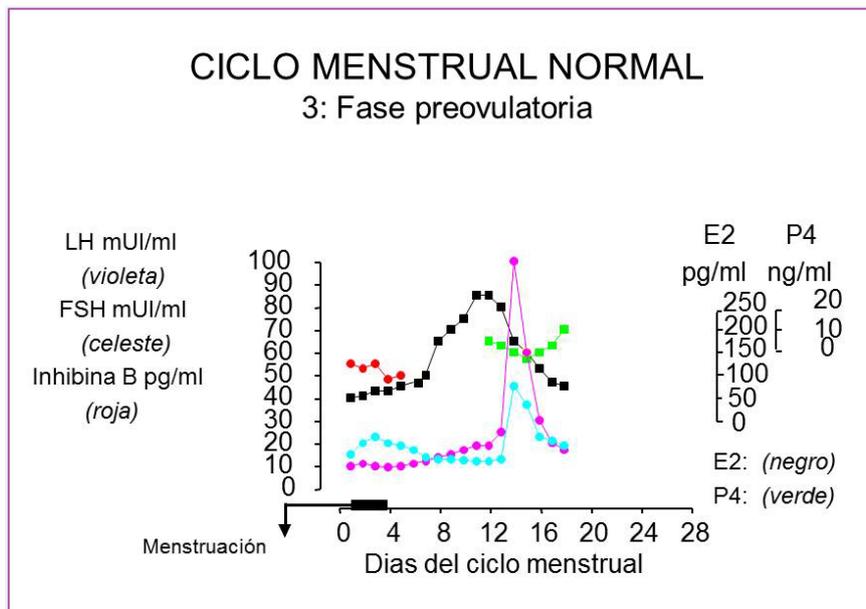


FIGURA 11. NIVELES CIRCULANTES INDUCIDOS POR LOS CAMBIOS HORMONALES EN EL FOLÍCULO DOMINANTE

El E2 actúa como una potente molécula de retroalimentación entre el ovario y las neuronas hipotalámicas de GnRH, y ejerce acciones reguladoras tanto positivas como negativas sobre la síntesis y secreción de GnRH. Sin embargo, la medida en que estas acciones están mediadas por receptores de estrógenos (R-E2) expresados en neuronas GnRH ha sido controvertida. B-Hu y cols.<sup>(9)</sup> estudiaron el R-E2 por RT-PCR unicelular y se reveló la expresión de las isoformas RE $\alpha$  y RE $\beta$  en neuronas de GnRH hipotalámicas de rata fetales y adultas cultivadas. Tanto RE $\alpha$  como RE $\beta$  individualmente se expresaron en 94 % de las neuronas de GnRH fetales cultivadas. RE $\alpha$  ejerció marcados efectos inhibitorios mediados por proteína G inhibitoria sobre la activación del potencial de acción espontáneo, la producción de AMPc y la secreción pulsátil de GnRH, lo que indica su capacidad para la regulación negativa de la función neuronal de GnRH. Por el contrario, el aumento de la concentración de E2 y los agonistas de RE $\beta$  aumentan la velocidad de activación de la acción espontánea, la secreción de GnRH y la producción de AMPc, sugiriendo una regulación positiva de la secreción de GnRH dependiente de RE $\beta$ .

En el humano, el RE $\alpha$  se encuentra primordialmente en el útero, el oviducto, el hígado, el riñón y el sistema cardiovascular, así como en los huesos y otros tejidos. Al RE $\beta$  se le encuentra en una alta concentración en el timo, estómago, intestino delgado, duodeno, bazo, hueso y otros tejidos en el humano. El estradiol se une bien a ambos receptores estrogénicos, RE $\alpha$  y RE $\beta$ , a diferencia de ciertos otros estrógenos, en particular las medicaciones que actúan en solo uno de estos receptores. Estas medicaciones son llamadas **moduladores selectivos de los receptores estrogénicos**, o por el acrónimo en inglés SERM (*Selective estrogen receptor modulators*). Es posible que los efectos antagónicos pudieran ser opuestos en diferentes tejidos donde se expresan. Los SERM constituyen un grupo de fármacos con una estructura química que les confiere afinidad para unirse a los receptores estrogénicos y que, dependiendo del tejido diana donde se realiza esta unión, inducen efectos agonistas estrogénicos (tejido óseo, sistema cardiovascular, hígado, etc.) o antagonistas estrogénicos (mama, endometrio).

En conclusión, respecto a los eventos involucrados en el reclutamiento folicular, de los folículos seleccionados, aproximadamente en el día 7 del ciclo se constituye el *folículo dominante*, sobre el que se va a producir la ovulación. Produce mayor cantidad de E2, porque adquiere mayor cantidad de receptores para FSH. La producción de E2 por este folículo aumenta diariamente en forma significativa hasta el estadio preovulatorio. El resto de los folículos reclutados con menor número de receptores para FSH van a la atresia.

El mecanismo fisiológico de la selección y dominancia no puede justificarse solamente con la disminución de la secreción de FSH después de la dominancia y la menor expresión de receptores para FSH en los folículos que van a la atresia. Este proceso parecería mucho más complejo

e involucraría el sistema de los factores de crecimiento insulínico (IGFs), las proteínas de unión de los IGFs (IGFBPs) y las proteasas. También intervendría la regulación autocrina y paracrina ovárica.

### **Eje del Factor de Crecimiento Insulínico (IGFs)**

Los IGF son **proteínas** con una alta **similitud de secuencia** con la **insulina**. Los IGFs son parte de un **sistema complejo** que las células usan para comunicarse con su entorno **fisiológico**. Este sistema complejo consiste de dos e (IGF1R y IGF2R), dos **ligandos** (IGF-1 y IGF-2), y una familia de seis **proteínas transportadoras** (IGFBP 1-6) de alta afinidad. También participan en el denominado «eje del IGF» **enzimas** degradantes de la IGFBP, denominadas colectivamente como **proteasas**.

Hay evidencias que el IGF-2 es un **factor de crecimiento** primario requerido para el desarrollo temprano, mientras que la expresión de **IGF-1** es necesaria para lograr el máximo crecimiento.

El receptor de IGF-1 es un **receptor tirosina quinasa**, su señal causa la adición de una molécula de fosfato en ciertas tirosinas. El receptor de IGF-2 se une exclusivamente al **IGF-2** y actúa como un «receptor de eliminación», no generando ninguna vía de señalización.

El IGF-1 y IGF-2 son regulados por una familia de proteínas conocidas como **proteínas fijadoras de IGF**. Actualmente, hay seis proteínas fijadoras de IGF caracterizadas como IGFBP (de 1 a 6).<sup>(10)</sup>

La regulación de la actividad biológica de la IGF1 y 2 dependerá de la acción de las IGFBP y las proteasas. La **FIGURA 12** muestra un esquema de la actividad biológica de las IGFs. La IGFBP neutraliza las IGFs disminuyendo su actividad biológica. Las proteasas sobre las IGFBPs producen fragmentos en la proteína de unión, impidiendo que capture las IGFs

aumentando la porción libre y la actividad biológica. Sobre el complejo formado IGFs/IGFBPs las proteasas liberan las IGFs manteniendo su actividad biológica.

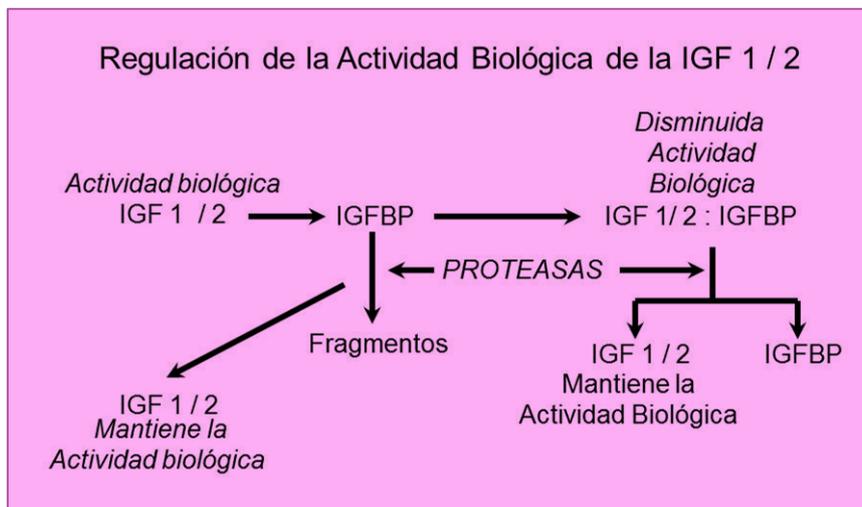


FIGURA 12. LA IGF 1/2 SE UNE A LA IGFBP, EL COMPLEJO DISMINUYE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA. LAS PROTEASAS ACTÚAN SOBRE LAS IGFBPs, IMPIDEN LA UNIÓN DE LAS IGFs MANTENIENDO SU BIOLÓGICA. SOBRE EL COMPLEJO IGFs/IGFBPs LAS PROTEASAS LIBERAN LA IGFs MANTENIENDO SU ACTIVIDAD

Los IGF1 y 2 tienen actividad anabólica y mitogénica y desempeñan un papel fundamental en la regulación del crecimiento celular y tisular a lo largo de la vida y en el mantenimiento de la homeostasis de la glucosa.

Circulan al menos en tres formas, sin unirse a la IGFBPs: 1) fracción libre, 2) en complejos binarios con proteína de unión a IGF (IGFBP) de las cuales se han identificado 6, y 3) en complejos ternarios que contienen una IGFBP y la glicoproteína rica en leucina de aproximadamente 85 kDa conocida como la subunidad lábil ácida (ALS). IGFBP-3 ha sido ampliamente documentado como uno entre los IGFBP en su capacidad de formar complejos ternarios con los IGF y ALS. Por lo tanto, se cree que estos complejos forman un reservorio circulante de IGFBP-3 e IGF porque, a

diferencia de los complejos binarios y libres de la IGF, parecen incapaces de pasar por vía transcápilar a los tejidos y tienen una vida media circulante prolongada. La IGFBP-5 tiene similitudes estructurales y reguladoras con IGFBP-3, lo que aumenta la posibilidad de que IGFBP-5 también pueda formar complejos ternarios con ALS. IGFBP-3 e IGFBP-5 tienen una secuencia común de 18 aminoácidos muy básica en su región carboxilo terminal que, en el caso de IGFBP-3, se ha implicado en la interacción con las IGFs. Los niveles de IGFBP-3 e IGFBP-5 en suero muestran una alta correlación con los niveles de IGF, al contrario de los hallazgos para IGFBP-1, IGFBP-2, IGFBP-4 y IGFBP-6. La IGFBP-5, como IGFBP-3, se une a ALS en presencia de IGF y es detectable en forma de alto peso molecular en suero humano.<sup>(11)</sup>

Casi todo el IGF en la circulación está unido en un complejo heterotrimérico compuesto por IGF, IGFBP 3 y la subunidad ALS. Los clones que codifican ALS se han aislado de bibliotecas de ADNc de hígado humano usando sondas basadas en datos de secuencia de aminoácidos de la proteína purificada. Estos clones codifican una proteína madura de 578 aminoácidos precedida por una secuencia hidrófoba de 27 aminoácidos, indicativa de una señal de secreción. La expresión de los clones de ADNc en células de cultivo de tejidos de mamíferos da como resultado la secreción en el medio de cultivo de actividad de ALS, que puede formar el complejo esperado con IGF1 y proteína de unión a IGF. La secuencia de aminoácidos de ALS está compuesta en gran parte por 18-20 repeticiones de 24 aminoácidos ricos en leucina.<sup>(12)</sup> La **FIGURA 13** muestra un esquema de la estructura posible de las IGF1 y 2 unidas a las IGFBP, excepto la IGFBP3 que también está unida a la ALS. En la misma figura se esquematizan los posibles mecanismos de acción de las IGFBP 3.

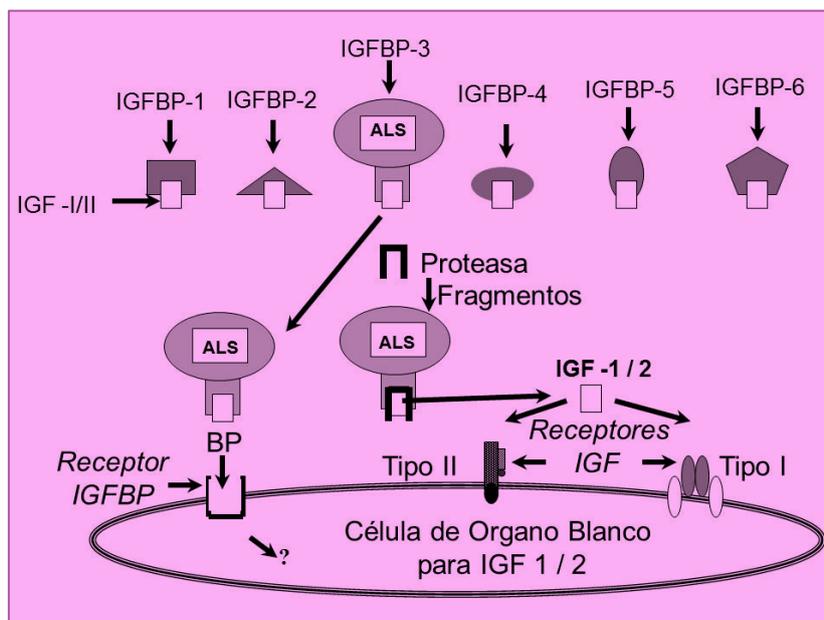


FIGURA 13. ESQUEMA DE LAS POSIBLES ESTRUCTURAS DE LAS IGFS UNIDAS A SUS IGFBP, EXCEPTO LA 3 QUE FORMA UN TRÍMERO CON LA ALS (PARTE SUPERIOR DE LA FIGURA). POSIBLE MECANISMO DE ACCIÓN DE LA IGFBP-3. LA PROTEASA LIBERA LA IGF QUE SE UNE AL RECEPTOR TIPO I DE ESTRUCTURA SIMILAR AL DE INSULINA O AL TIPO II Y REALIZA LAS ACCIONES BIOLÓGICAS INHERENTES (PARTE INFERIOR DE LA FIGURA). SE HA ESPECULADO QUE LA CÉLULAS DE ÓRGANOS BLANCO PARA IGF PUDIERAN TENER RECEPTORES PARA IGFBP, AL UNIRSE POR UN POSIBLE MECANISMO ENZIMÁTICO LIBERARÍA LA IGF QUE ACTUARÍA BIOLÓGICAMENTE

NOTA: IGFBP: PROTEÍNA DE UNIÓN A LAS IGFS, ALS: SUBUNIDAD ÁCIDA LÁBIL

La FIGURA 14 muestra un esquema de eventos que ocurren en el sistema IGF después de la selección del folículo dominante y durante el arresto y atresia de los demás folículos. En el período de reclutamiento la LH, IGFs e Insulina (INS) inducen dos tipos de folículos, uno estrogénico (E2), que se convertirá en dominante y otros androgénicos (A4-DHT), que irán a la atresia. El crecimiento y la diferenciación dependerán de la IGF2, para que esté biológicamente activa deben aumentar las proteasas de IGFBPs disminuyendo la IGFBP y aumentando la IGF2 libre. La atresia de los folículos no dominantes se produce por un fenómeno inverso, disminuyen las proteasas de la IGFBPs y en consecuencia aumenta la concentración de la IGFBP disminuyendo la actividad biológica de la IGF2.

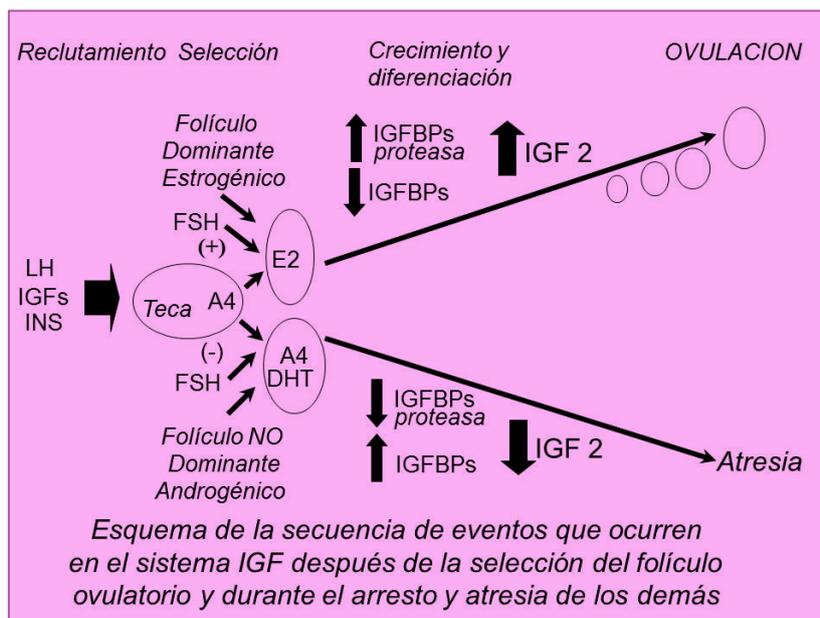


FIGURA 14. ESQUEMA DE EVENTOS QUE OCURREN EN EL SISTEMA IGF DESPUÉS DE LA SELECCIÓN DEL FOLÍCULO DOMINANTE HASTA LA OVULACIÓN Y DURANTE EL ARRESTO Y ATRESIA DE LOS DEMÁS FOLÍCULOS NO DOMINANTES

## Mecanismo de la ovulación

El pico preovulatorio de LH y el entorno hormonal hacen que el óvulo madure y debilite la pared folicular del ovario, causando que el folículo totalmente desarrollado libere su ovocito secundario.<sup>(13)</sup> El ovocito secundario madura inmediatamente hacia un ootido, u óvulo inmaduro, y más tarde hacia un óvulo maduro, con un diámetro de 0,2 mm.<sup>(14)</sup>

Parece ser aleatorio cuál de los dos ovarios ovulará cada vez, y no se sabe si existe una coordinación entre los ovarios de ambos lados.<sup>(15)</sup> En ocasiones, ambos ovarios liberan un óvulo. Si ambos son fecundados, se da como resultado **hermanos gemelos** (gemelos dicigóticos, también llamados mellizos).<sup>(16)</sup>

Tras ser liberado del ovario al espacio peritoneal, el óvulo es deslizado hacia las trompas de Falopio por la fimbria o franja ovárica, que es un tejido ubicado al final de cada trompa de Falopio. Al cabo de

aproximadamente un día, un óvulo sin fecundar se desintegrará o se disolverá en las trompas de Falopio.<sup>(13)</sup>

La fecundación por un espermatozoide, cuando se da, suele ocurrir en la ampolla del útero, la sección más ancha de las trompas de Falopio. Un óvulo fecundado comienza inmediatamente el proceso de embriogénesis o desarrollo. Este embrión en desarrollo tarda unos tres días en llegar al útero y otros tres para arraigar en el endometrio.<sup>(13)</sup> Para entonces suele haber llegado al estadio de blastocito.

El mecanismo de la ovulación es complejo. El paso inicial es de singular importancia y consiste en la disolución de la membrana. Esto es producido por la plasmina que proviene tanto de la teca como de la granulosa. La plasmina es una enzima proteolítica que disuelve la membrana que separa los dos tipos de células. En la teca la LH mediada por sus receptores induce la expresión del activador del plasminógeno tipo uroquinasa y en la granulosa la LH mediado por su R-LH, que en esta etapa del ciclo menstrual ya se encuentra en estas células, expresa el activador del plasminógeno tipo tisular. En ambas células el activador del plasminógeno transforma el plasminógeno en plasmina. La **FIGURA 15** muestra un esquema de este fenómeno.

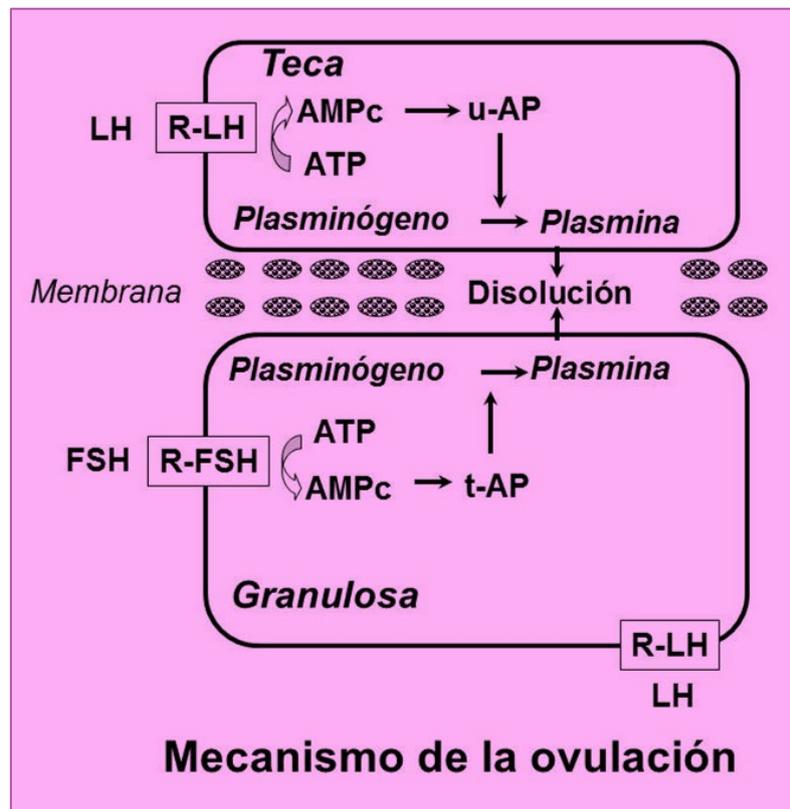


FIGURA 15. ESQUEMA DEL MECANISMO DE LA DISOLUCIÓN DE LA MEMBRANA PARA PERMITIR LA EXPULSIÓN DEL OVOCITO. EN LA CÉLULA DE LA TECA LA LH INDUCE LA EXPRESIÓN DEL ACTIVADOR DEL PLASMINÓGENO TIPO UROQUINASA (U-AP) Y LA GRANULOSA POR EL MISMO MECANISMO PRODUCE EL TIPO TISULAR (T-AP). AMBOS TRANSFORMAN EL PLASMINÓGENO EN PLASMINA QUE POR SU ACTIVIDAD PROTEOLÍTICA DISUELVE LA MEMBRANA

El activador tisular del plasminógeno (en inglés: *Tissue Plasminogen Activator* o t-PA) es una **proteína proteolítica** codificada por el **gen PLAT**, que se encuentra localizado en el **cromosoma 8**, está implicado en la disolución de coágulos de sangre. Específicamente, es una **serina proteasa** que se encuentra en las **células endoteliales**, las células que recubren el interior de los **vasos sanguíneos**.

La uroquinasa, también llamada activador del plasminógeno tipo uroquinasa (u-AP) también es una serina proteasa sintetizada por los riñones. Originalmente se aisló de la orina humana, pero se sabe que está presente en diversas ubicaciones fisiológicas, como el plasma sanguíneo y la matriz extracelular.

La actividad enzimática de ambas enzimas, **cataliza** la conversión de **plasminógeno** a **plasmina**, que es la enzima proteolítica para la disolución de coágulos de sangre y en nuestro caso para disolución de la membrana del folículo ovulatorio.

En la teca se activa el sistema renina-angiotensina II (AGT2) y en la granulosa también el receptor de la AGT2, proteínas inducidas por la LH y FSH, respectivamente. La AGT2 mediada por su receptor induce una actividad angiogénica con una importante neovascularización que permite que el LDL transite y se una la R-LDL de la granulosa, proceso que por disolución de la membrana no encuentra ningún impedimento para actuar. La FSH además de producir AGT2 y su receptor induce E2, IGF1 y glucosamina glicanos (GAG) que permite la expansión del *cúmulus oophor*. La LH sinérgicamente con la IGF1 transforma el colesterol proveniente de los LDL y forma progesterona (P4) iniciando la luteinización de las células de la granulosa formando el cuerpo lúteo (CL). La **FIGURA 16** muestra un esquema de este proceso.

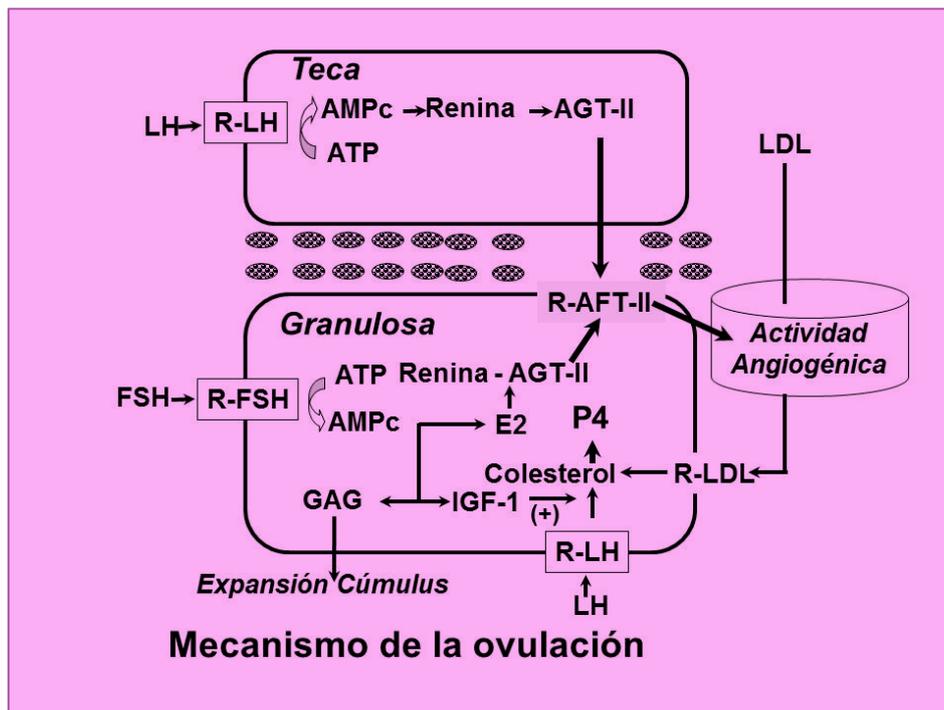


FIGURA 16. PROCESO DE REVASCULARIZACIÓN Y LUTEINIZACIÓN DE LAS CÉLULAS DE LA GRANULOSA. LA TECA PRODUCEN ANGIOTENSINA 2 (AGT2), LA GRANULOSA TAMBIÉN LA PRODUCE Y ADEMÁS INDUCE EL RECEPTOR (R-AGT2). EL EFECTO DE LA AGT2 MEDIADA POR SU RECEPTOR RESULTA EN UNA ACTIVIDAD ANGIOGÉNICA GENERANDO UNA NEOVASCULARIZACIÓN. LOS LDL CIRCULAN POR ESTA FORMACIÓN Y SE UNEN A SUS RECEPTORES EN LA GRANULOSA. LA FSH PRODUCE E2, IGF1 Y GAG, ESTE ÚLTIMO PERMITE LA EXPANSIÓN DEL CUMULUS. LA LH MEDIADA POR SU R-LH Y ACTUANDO SINÉRGICAMENTE CON LA IGF1 PRODUCE COLESTEROL DE LOS LDL Y A PARTIR DEL MISMO PRODUCE PROGESTERONA (P4) INICIANDO LA LUTEINIZACIÓN DE LAS GRANULOSAS Y LA FORMACIÓN DEL CUERPO LÚTEO

La expansión del cúmulus ocurre inmediatamente antes de la ovulación *in vivo*, así como durante la maduración de los complejos de cúmulo y ovocitos *in vitro*. La expansión del cúmulo consiste en la síntesis de la masa extracelular compuesta de proteoglicanos. Los proteoglicanos son sintetizados por las proteínas de la membrana celular de los cúmulo y los GAG. En los tejidos animales, son comunes el ácido hialurónico (HA), el condroitin sulfato, el sulfato de queratán y el sulfato de heparán. El HA es el compuesto más abundante en la matriz extracelular del cúmulo expandido.

Las células del cúmulo con la matriz extracelular adyacente constituyen el cúmulo, un componente esencial de los complejos de cúmulos y ovocitos. El cúmulo rodea al ovocito durante el crecimiento y la maduración meiótica consecutiva del ovocito, la ovulación, la fertilización y el desarrollo embrionario temprano. Durante la maduración meiótica del ovocito, las células del cúmulo cambian su morfología y actividad metabólica. Por lo tanto, las células del cúmulo influyen significativamente en la maduración de los ovocitos y en la adquisición de la competencia del desarrollo. Además del intercambio cruzado entre las células del cúmulo y los ovocitos, las células del cúmulo son importantes en la síntesis de una gran cantidad de la matriz extracelular que se produce en el agrandamiento de los complejos de cúmulos y ovocitos. Este fenómeno se conoce como expansión de cúmulos.<sup>(17)</sup>

## Fase lútea – Cuerpo lúteo (CL)

La fase lútea o fase secretora, suele durar entre 14 y 16 días después de la ovulación. La duración del ciclo ovulatorio corresponderá al tiempo de la fase folicular pudiendo ser, incluyendo los 14 días de la fase lútea, de 25 a 40 días totales. Si no se produce la fecundación del óvulo, este se desintegra y se expulsa por el sangrado vaginal de la siguiente menstruación, comenzando así un nuevo ciclo.

Como se describió en el párrafo anterior, y según **ROSENFELD** y cols.,<sup>(18)</sup> la formación del CL depende directamente de la presencia del pico de LH, así como de la cantidad de receptores para esta gonadotropina, presentes previamente en las células de la granulosa y de la teca. Las células granulosas se dividen en células del cúmulo y células murales. Las células del cúmulo son un cluster de células que rodean al ovocito tanto

en el folículo ovárico como después de la ovulación. Las células murales son células contráctiles que se envuelven alrededor de las células endoteliales de los capilares y vénulas en todo el cuerpo. Además de la acción de la LH se ha postulado que la presencia de los estrógenos también es necesaria para la formación y el mantenimiento del CL.

En el ovario, el CL forma una estructura temporal. Las células de la granulosa murales luteinizadas que provienen del folículo roto, son las células principales del CL. Se pueden aislar del líquido folicular de una mujer que se somete a fertilización *in vitro*. En cultivo, las células de la granulosa humana son viables durante varios días y producen progesterona, pero finalmente la producción de esteroides se detiene y con un tiempo cada vez mayor en cultivo experimentan cambios que recuerdan a los observados durante la desaparición del CL *in vivo*.

**BANNJUK** y cols.<sup>(19)</sup> resumen el uso general de las granulosa humanas como modelo para el CL de primates y algunos de los datos presentados en este trabajo indican que la viabilidad, la funcionalidad, la supervivencia y la muerte de las granulosa pueden regularse mediante moléculas de señales locales, por ejemplo la oxitocina y de la matriz extracelular a través de la decorina proteoglicana, que es un **proteoglicano** de un tamaño de entre 90 y 140 kDa. Pertenece a la familia de los proteoglicanos pequeños, ricos en **leucina** que se caracterizan por poseer una región rica en leucinas con una cadena de glucosaminas que bien puede ser del tipo **condroitín sulfato** o bien del tipo **dermatán sulfato**.

Estudios más recientes identificaron una forma de muerte celular regulada, a saber, la necroptosis. Esta forma de muerte celular puede, además de la apoptosis, contribuir a la desaparición del CL humano. Creemos que las células granulosa humanas son una ventana única al CL.

Los estudios que emplean estas células pueden conducir a la identificación de eventos moleculares y objetivos nuevos, lo que puede permitir interferir con las funciones del CL.

Al fecundar un óvulo, no se pierde el **cuerpo lúteo**; el **embrión** resultante produce **gonadotrofina coriónica humana** (hCG), muy similar a la hormona luteinizante y actúa en el mismo receptor. La mayoría de las pruebas de embarazo buscan la presencia de esta hormona.

La **FIGURA 17** muestra los niveles hormonales durante la fase lútea completando el ciclo menstrual ovulatorio. Los resultados son los obtenidos de las diferentes citas bibliográficas consultadas, identificadas en la descripción de cada etapa el ciclo. Ambas gonadotrofinas disminuyen apareciendo al final del ciclo un leve incremento de la FSH sobre la LH. Aparece la progesterona (P4) con valores máximos entre los días -5 a -2 de la siguiente menstruación. En general el E2 presenta un perfil semejante a la P4. Se induce también en ese período la secreción de Inhibina A. Los niveles de P4 obtenidos en los días mencionados, con valores entre 4 y 18 ng/ml, constituyen una significativa ayuda diagnóstica para el diagnóstico de ovulación. En los últimos días disminuyen ambos esteroides provocando la menstruación.

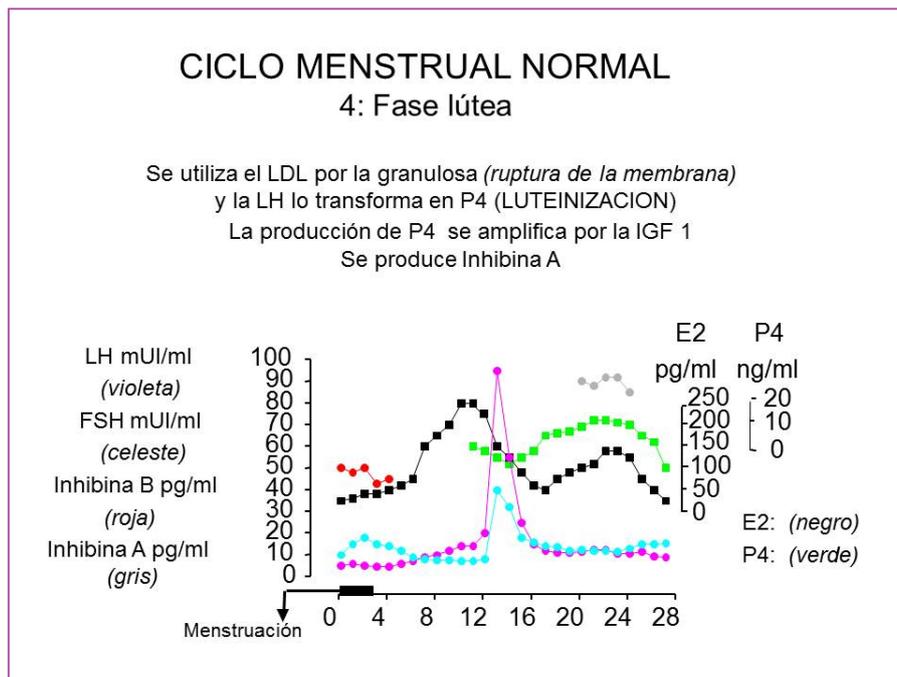


FIGURA 17. MUESTRA LOS NIVELES HORMONALES DE LH, FSH, ESTRADIOL (E2), PROGESTERONA (P4) E INHIBINA B Y A DURANTE EL CICLO MENSTRUAL OVULATORIO

Similares resultados obtuvimos en el estudio del ciclo evaluando las hormonas hipofisarias y ováricas por RIE.<sup>(20)</sup> Los resultados obtenidos fueron confirmados en un estudio posterior determinando los valores diarios de LH, FSH, E2 y P4 antes y después de la administración de un progestágeno en once mujeres que fueron divididas en tres grupos de cuatro mujeres con tres dosis diferentes del fármaco, un grupo solo tuvo tres mujeres dado que una de ellas suspendió el estudio.<sup>(21)</sup>

## Menstruación

La *menstruación* es el sangrado vaginal normal que ocurre como parte del ciclo menstrual de la mujer. Todos los meses el cuerpo se prepara para un posible embarazo. Si esto no ocurre, el útero se desprende de su recubrimiento. Esta es la sangre menstrual, que sale del cuerpo a través de

la vagina. Esta sangre también incluye parte del tejido del interior del útero.

La iniciación del nuevo desarrollo folicular depende de la regresión del CL anterior. La transición a la fase folicular de un nuevo ciclo involucra una secuencia dinámica de cambios de reactivación del sistema GnRH-LH-FSH, resultado de la falta del efecto inhibitorio sobre el eje neuroendocrino de los esteroides del CL y de la inhibina.<sup>(22)</sup>

La menstruación está iniciada por la caída de las concentraciones de P4, aunque probablemente no sea el único mecanismo. Es posible que pueda ocurrir una isquemia y una vasoconstricción de las arteriolas y arterias *coiled*, como resultado de una perfusión inadecuada de la mitad o dos tercios superiores del endometrio. La estructura anatómica más significativa del cordón umbilical es su nivel de enrollamiento (*coiled*). La geometría enrollada del cordón umbilical afecta en gran medida el flujo sanguíneo umbilical que es vital para el bienestar y el desarrollo normal del feto. Este proceso puede ser 4 a 24 horas previo al sangrado.<sup>(23)</sup>

La **FIGURA 18** muestra un esquema del mecanismo hormonal en el útero. El E2 biodisponible entra a la célula y se une a su receptor (R-E2) en el citoplasma. Se transporta al núcleo y en el ADN induce la expresión de genes que en los ribosomas producen el R-E2 y el Receptor de P4 (R-P4).<sup>(24)</sup> Estos receptores en el citoplasma unen nuevas moléculas de E2 y P4. La P4 mediada por su receptor inhibe la acción del E2 en el ADN. El E2 aumenta la sulfo-transferasa y la 17 $\beta$ -hidroxi-esteroide-deshidrogenasa (17 $\beta$ -HSD). Estas enzimas transforman el E2 en sulfato de E2 y estrona respectivamente, inactivando la acción biológica del E2, fenómeno sinergizado por la P4.<sup>(23)</sup> Estos niveles esteroideos preparan el endometrio para un posible embarazo. De no producirse el embarazo disminuyen

abruptamente los niveles de E2 y P4 y la falta de sostén hormonal disrumpe las células endometriales produciendo el sangrado menstrual.

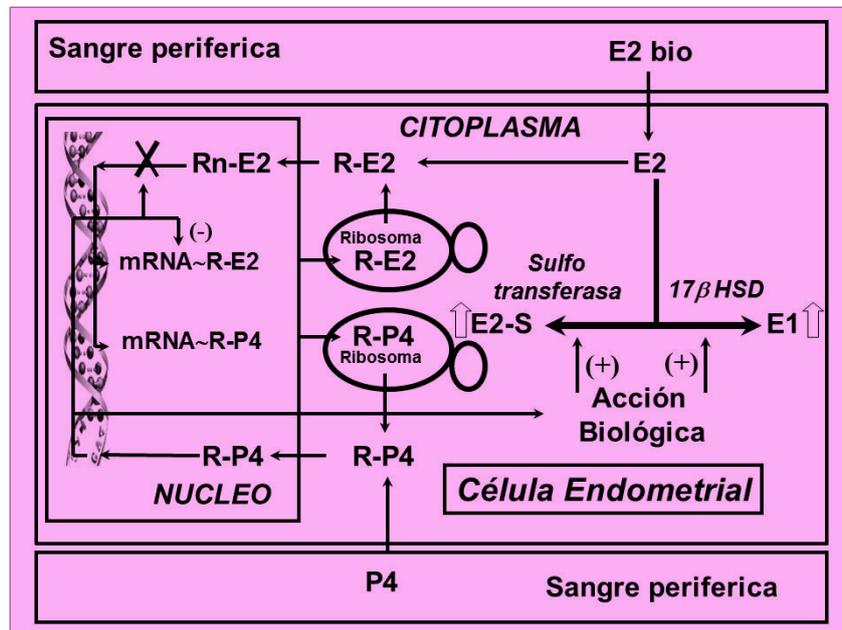


FIGURA 18. EFECTOS HORMONALES SOBRE EL ENDOMETRIO. EL E2 BIODISPONIBLE (E2 BIO) SE UNE A SU RECEPTOR (R-E2) Y SE TRASLOCA AL NÚCLEO E INDUCE LA BIOSÍNTESIS DE SU PROPIO RECEPTOR Y EL DE LA P4 (R-P4). LA P4 INHIBE EL EFECTO DEL E2 NIVEL DEL ADN. EL E2 SINERGIZADO POR LA P4 AUMENTA LA SULFO-TRANSFERASA AUMENTANDO EL SULFATO DE E2 (E2-S) Y DE LA 17B-HIDROXI-ESTEROIDE DESHIDROGENASA (17B-HSD) TRANSFORMANDO EL E2 EN ESTRONA (E1). AMBOS SIN ACTIVIDAD BIOLÓGICA ESTROGÉNICA

Las acciones de la P4 en los tejidos uterinos (endometrio, miometrio y cuello uterino) están mediadas por los efectos combinados de dos isoformas del R-P4, designadas R-P4(A) y R-P4(B). Ambos receptores funcionan principalmente como factores de transcripción activados por ligando. La acción de la progesterona en los tejidos uterinos está determinada cualitativa y cuantitativamente por los niveles relativos y las actividades transcripcionales de ambos receptores. La actividad transcripcional de las isoformas de R-P4 están afectadas por coreguladores transcripcionales específicos y por modificaciones post-

traduccionales de los receptores. En síntesis, la expresión y la función de ambos son críticas para la función uterina normal.<sup>(25)</sup>

## Perimenopausia

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define la *perimenopausia* como el período inmediatamente anterior a la menopausia y el primer año después de esta y el término *transición a la menopausia* solamente a la porción de la perimenopausia antes del período final menstrual.<sup>(26)</sup>

**Características hormonales y su relación con la ovulación en mujeres entre 40 y 49 años con ciclos menstruales regulares:** estudiamos 382 mujeres entre 40 y 48 años de edad que presentaban ciclos regulares sin características clínicas de ninguna patología. En ningún caso recibían medicación en los últimos tres meses previos al estudio. En las mujeres que tomaban anticonceptivos, estos fueron suspendidos los últimos seis meses antes de la evaluación. El análisis individual de los resultados de LH y FSH se muestra en la **FIGURA 19**. Básicamente se obtuvieron tres tipos de resultados; normales en ambas gonadotrofinas en 232 mujeres (60,9 %), niveles de FSH aumentados en 150 casos (39,1 %). De estos, 88 casos tenían niveles de LH normales (58,7 % de este grupo) y en 62 casos restantes también presentaban la LH aumentada (41,3 %).<sup>(27)</sup> Estos resultados demuestran que en este período de transición a la menopausia el incremento de las gonadotrofinas es disímil, pudiendo aumentar FSH sin que simultáneamente aumente LH, indicando que los procesos de regulación hipotálamo-hipofisario en la secreción de gonadotrofinas son independientes. Además FSH se incrementa previamente a la de LH.

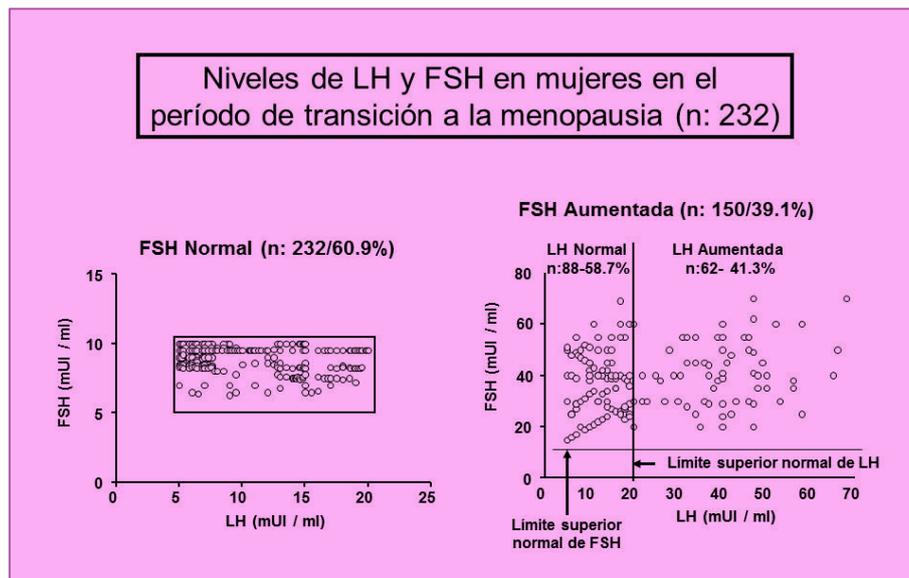


FIGURA 19. RESULTADOS COMPARATIVOS DE LOS NIVELES CIRCULANTES DE LH Y FSH EN 382 MUJERES ENTRE 40 Y 50 AÑOS CON CICLOS MENSTRUALES REGULARES

En la **FIGURA 20** mostramos la correlación de los resultados de LH y FSH en estas mujeres clasificadas en función de los valores de P4 obtenidos en dos tomas de sangre en la fase lútea. Los valores de referencia en nuestro laboratorio fueron: ciclos ovulatorios superiores a 7 ng/ml, ovulatorios con fase lútea insuficiente entre 2 a 7 ng/ml y anovulatorios valores inferiores a 2 ng/ml. En el grupo de mujeres con ambas gonadotropinas normales el 92 % de ellas presentaron ciclos ovulatorios (Grupo A, n: 232). Los grupos B y D corresponden aquellas mujeres con niveles aumentados de FSH y normales de LH (n: 88). Las pacientes del grupo B (n: 60) fueron ovulatorias mientras que las restantes 28, grupo D, tuvieron ciclos anovulatorios. Los grupos C y E (n: 62) tuvieron ambas gonadotropinas aumentadas, de estas 14 fueron ovulatorias (grupo C) y las restantes 48 pacientes correspondientes al grupo E, fueron anovulatorias. Como puede observarse mujeres con valores de FSH hasta 35 mUI/ml y de LH hasta 26 mUI/ml presentaron ciclos ovulatorios, lo que demuestra que son posibles resultados de gonadotropinas elevadas hasta ciertos niveles, con ciclos

ovulatorios. Estos resultados parecerían indicar los valores de corte dentro de los cuales a pesar del incremento gonadotrófico se obtienen ciclos regulares ovulatorios. Debe aclararse que ciclos regulares ovulatorios no necesariamente pueden ser considerados ciclos fértiles.

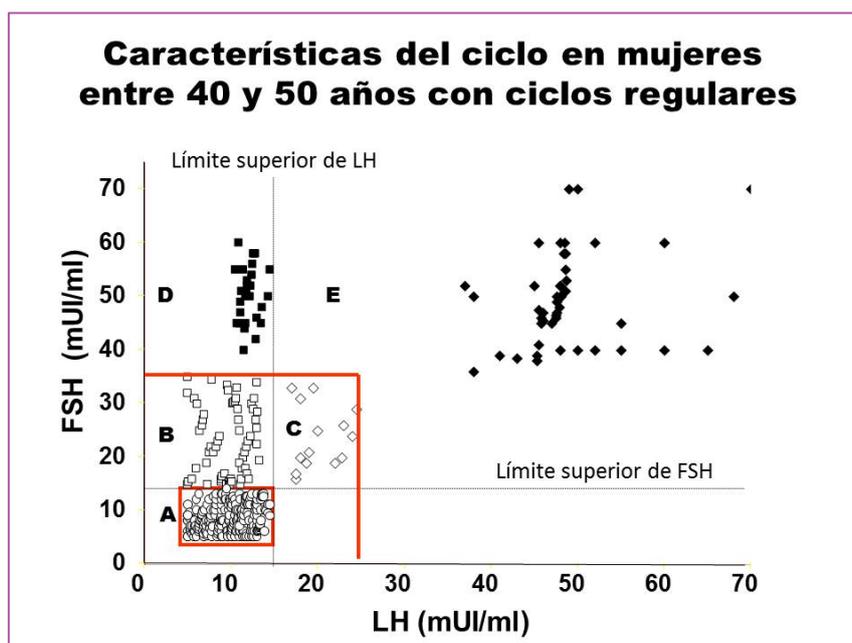


FIGURA 20. RESULTADOS INDIVIDUALES EN 382 MUJERES ENTRE 40 Y 50 AÑOS CON CICLOS MENSTRUALES REGULARES. EL GRUPO IDENTIFICADO COMO A, CÍRCULOS BLANCOS, CORRESPONDE A MUJERES CON LH Y FSH NORMALES, N: 232. LAS PACIENTES DE LOS GRUPOS B Y D TENÍAN AUMENTO DE LA FSH CON NIVELES NORMALES DE LH (N: 88). LAS PACIENTES DEL GRUPO B, CUADRADOS BLANCOS FUERON OVULATORIAS (N: 60), MIENTRAS QUE LAS DEL GRUPO D, CUADRADOS NEGROS, TUVIERON CICLOS ANOVULATORIOS (N: 28). LAS PACIENTES DE LOS GRUPOS C Y E PRESENTARON AMBAS GONADOTROFINAS AUMENTADAS. LAS DEL GRUPO C, ROMBOS BLANCOS, FUERON OVULATORIAS (N: 14) Y LAS RESTANTES 48, ROMBOS NEGROS, FUERON ANOVULATORIAS COMO PUEDE OBSERVARSE VALORES DE FSH HASTA 35 MUI/ML Y DE LH HASTA 26 MUI/ML TIENEN CICLOS OVULATORIOS

La FIGURA 21 muestra una síntesis de lo desarrollado en párrafos anteriores. En mujeres perimenopáusicas ovulatorias con gonadotrofinas aumentadas, los valores de FSH deben ser <35 mUI/ml y los de LH < de 26

mUI/ml. Nótese de la **FIGURAS 20 y 21** una relación inversa entre los valores de FSH y el número de pacientes con ciclos ovulatorios.

<b>LH y FSH en mujeres entre 40 y 59 años con ciclos menstruales regulares</b>					
LH	FSH	Número de casos	% de ciclos Ovulatorios	Número de pacientes	
				Ovulatorios	no-Ovulatorios
Normal	Normal	232	92.0	213	19
Normal	Aumentada	88	69.3	61	27
Aumentada	Aumentada	62	24.1	9	53

**FIGURA 21. RESULTADOS DE LH Y FSH EN MUJERES ENTRE 40 Y 50 AÑOS EN LOS TRES GRUPOS FORMADOS POR LA RELACIÓN ENTRE LH Y FSH: 1) LH Y FSH NORMALES; 2) FSH AUMENTADA Y LH NORMAL Y 3) AMBAS GONADOTROFINAS AUMENTADAS. LOS RESULTADOS SE RELACIONARON EN CADA GRUPO CON LOS VALORES DE PROGESTERONA EN FASE LÚTEA MOSTRANDO EL NÚMERO DE PACIENTES, EL % DE OVULATORIOS, Y EL NÚMERO DE PACIENTES OVULATORIOS Y NO OVULATORIOS**

De las múltiples causas posibles y las características hormonales en la fase de transición a la menopausia, **PRIOR<sup>(28)</sup>** realizó una revisión sobre el tema. Señalaremos las que a nuestro entender son las más significativas:

Niveles aumentados de FSH en ambas fases del ciclo y simultáneamente aumento de E2. Posiblemente los altos niveles de FSH induzcan respuesta ovárica produciendo E2, pero fracasan los mecanismos de ovulación, ¿disminución de IGF1?

Mujeres en esta etapa, en técnicas de superovulación controlada para fertilización *in vitro*, tienen riesgo de hiperestimulación ovárica.

Las mujeres añosas, a pesar de tener niveles semejantes de E2 y P4, pueden presentar incremento del grosor endometrial.

A pesar de los niveles gonatróficos normales o ligeramente aumentados, presentan una depresión en el *pool* de folículos potenciales, por esta razón tienen una baja tasa de fertilidad.

Existen evidencias que sugieren que las inhibinas pudieran tener un papel significativo en estos cambios en los ciclos menstruales en mujeres entre 40 y 50 años.

Las inhibinas están compuestas por subunidades  $\alpha$ ,  $\beta A$  y  $\beta B$  codificadas por genes diferentes. Los heterodímeros  $\alpha$ - $\beta A$  y  $\alpha$ - $\beta B$  constituyen las inhibinas A y B, proteínas que inhiben la secreción de FSH. Los homodímeros  $\beta A$ - $\beta A$  y  $\beta B$ - $\beta B$  y el heterodímero  $\beta A$ - $\beta B$ , denominados activinas, estimulan a nivel hipofisario la secreción de FSH y en el ovario tienen una acción paracrina. Las activinas inhiben la producción de andrógenos y las inhibinas tienen un efecto adverso. La FIGURA 22 muestra un esquema de la unión de las subunidades para formar las activinas y las inhibinas.

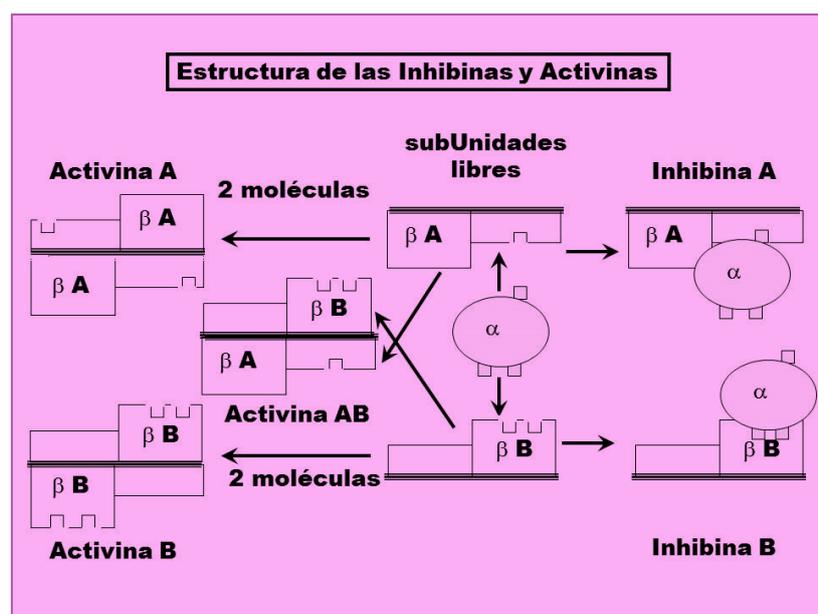


FIGURA 22. ESQUEMA DE LA SUBUNIDAD  $\alpha$  Y DE LAS SUBUNIDADES  $\beta A$  Y  $\beta B$  Y DE LAS DISTINTAS COMBINACIONES ENTRE ELLAS PARA FORMAN ACTIVINAS E INHIBINAS

KLEIN y cols.<sup>(29)</sup> documentan que la inhibina B se encuentra disminuida cuando ambas gonadotrofinas están aumentadas; estos resultados no necesariamente son los que se reportan en mujeres añosas. Los autores establecen que la inhibina B es producida por los folículos antrales primarios mientras que la inhibina A por el folículo dominante, como ha sido previamente descrito.

PRIOR,<sup>(30)</sup> en base a las características clínicas, los síntomas y los aspectos hormonales propone dividir el período de la perimenopausia en cinco fases y postula la duración estimativa de cada una de esas fases. La FIGURA 23 muestra detalladamente cada una de las etapas, las características clínicas, hormonales y los tiempos de duración.

Perimenopausia: Fases propuestas por Prior					
Duración	Fase A 2-6 meses	Fase B 2-6 meses	Fase C 1-2 años	Fase D 1-2 años	Fase E 1 año
Ciclo menstrual	Regular cortos Ov. FF corta	Regular Frecuente: Ov	Irregular cortos y largos 50 % Ov	OLM	Amenorrea
Flujo menstrual	Normal	Aumentado	Alternativos	Spotting	Ninguno
Síntomas VM	A veces en horas tempranas	Durante el final del sueño	Durante el final del sueño	Erráticos	Erráticos
Inhibinas	Bajas	Bajas	Bajas	Bajas	Bajas
FSH	Normal	Aumentada	Aumentada	Aumentada	Aumentada
LH	Normal	Normal	Aumentada	Aumentada	Aumentada
E2	Aumentado Intermitente en FF	Aumentado en FF en anovulatorios	Normal alternando con altos	Normal	Normal o Baja

OLM: Oligomenorrea; Ov: Ovulatorios; FF: Fase Folicular; VM: Vaso Motores

FIGURA 23. DESCRIPCIÓN DE LAS FASES PROPUESTA POR PRIOR PARA EL TRANCURSO DE LA PERIMENOPAUSIA

Con los siguientes objetivos:

- Discutir la definición de períodos para el envejecimiento reproductivo en la mujer, debido a que no están debidamente documentados.
- Discutir la nomenclatura para la premenopausia.

La reunión en que se definieron los objetivos mencionados se realizó en Park City con veintisiete invitados participantes en un *workshop* denominado *Stages of Reproductive Aging Workshop* (STRAW).<sup>(31)</sup> Esta reunión fue patrocinada por la American Society for Reproductive Medicine, el National Institute on Aging y el National Institute of Child Health and Human Development, junto con la North American Menopause Society.

El *workshop* consistió en focalizar las presentaciones sobre:

- Ciclo menstrual
- Endocrinología
- Anatomía pélvica
- Síntomas en otros órganos
- Nomenclatura
- Investigaciones clínicas y básicas en relación a edad reproductiva

La conclusión de cada punto se aceptó con al menos el 70 % de la mayoría (hubo unanimidad en numerosos puntos discutidos).

Los signos y síntomas reproductivos con la edad parecen diferir con la raza, etnicidad, cultura, región geográfica de su hábitat, y el estado socio-económico de las mismas. Dadas estas consideraciones, el *workshop* se concentró en desarrollar un sistema de estatificación para todas las mujeres sanas que envejecen espontáneamente a una menopausia natural. Otra de las recomendaciones fue no aplicar este sistema de

estatificación en fumadoras, con masa corporal en los límites,  $< 18 \text{ kg/m}^2$  o  $> 30 \text{ kg/m}^2$ , con ciclos irregulares, histerectomizadas o con anormalidades ováricas o uterinas.

El sistema de estatificación desarrollado definió siete estadíos; estadío -5 a -3 abarcando el intervalo reproductivo; estadío -2 y -1 la transición a la menopausia y el 1 y 2 la postmenopausia. La FIGURA 24 muestra un esquema de la estatificación propuesta por el STRAW.

Períodos reproductivos de la mujer por STRAW								
Final del Período Menstrual								
Estadio:	-5	-4	-3	-2	-1	0	+1	+2
Terminología:	Reproductiva			Transición a la menopausia		Postmenopausia		
	Temprana	Pico	Tardía	Temprana	Tardía		Temprana	Tardía
Duración del período:	Variable			Variable		1 año	4 años	hasta la muerte
Ciclo Menstrual:	Variable a regular	Regular		Variable > 7 días diferente al normal	+ ó - 2 faltas con Intervalos $\geq 60$ días de falta	Ninguna		
Endocrino:	FSH normal		↑FSH	↑↑FSH		↑↑↑FSH		

FIGURA 24. ESQUENA DE ESTADIFICACIÓN PROPUESTO POR EL WORKSHOP STRAW

ADAPTADO DE SOULES Y COLS.

En conclusión, después de la menarca (estadío reproductivo temprano, -5) usualmente se necesitan varios años para que se establezcan los ciclos menstruales regulares. Los períodos ocurren entre 21 y 35 días. El pasaje a estadío -4 es gradual y muchas veces imperceptible pudiendo ocurrir intermitentemente ciclos anovulatorios o con fase lútea insuficiente.

**Hipótesis propuesta sobre los cambios hormonales en la transición a la menopausia:** en base a nuestros propios resultados y a los de la literatura se realizó la **FIGURA 25** la cual muestra los resultados de las diferentes hormonas evaluadas en los distintos estadios de la perimenopausia acorde a lo propuesto por **PRIOR.<sup>(28)</sup>** Es posible definir que en el estadio A se produce la disminución de las inhibinas; en el B el incremento de FSH con ciclos ovulatorios; en el C también aumenta la LH y la P4 con valores compatibles con ciclos ovulatorios o con insuficiencia lútea y finalmente en la fase D se produce un aumento significativo de ambas gonadotropinas y ciclos anovulatorios. La IGF1 potencia la respuesta de P4 al estímulo con LH en las células de la granulosa y se inhibe desde el inicio de la transición a la menopausia coincidiendo con la disminución de la P4.

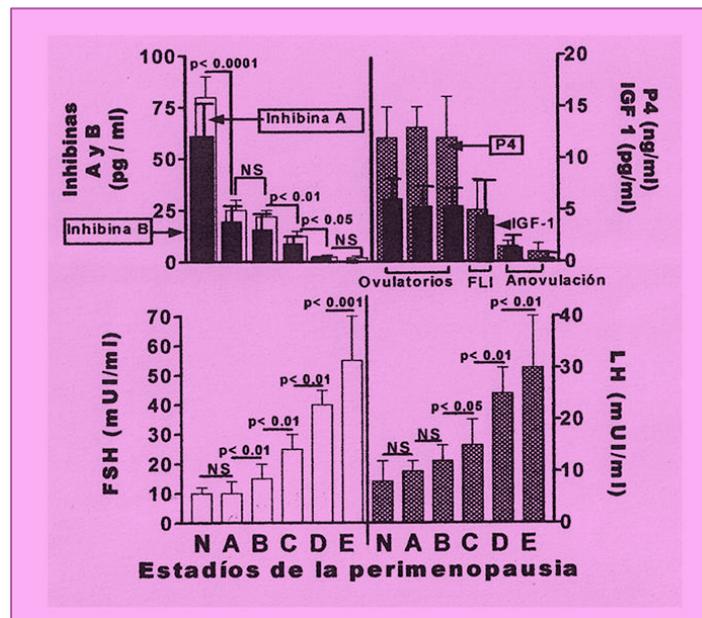


FIGURA 25. MODIFICACIONES DE PROGESTERONA (P4) DE DIVERSAS PROTEÍNAS EN MUJERES EN SU EVOLUCIÓN A LA MENOPAUSIA (ESTADÍO E), DESDE LA PRE-MENOPAUSIA (ESTADÍO N) Y A TRAVÉS DE LOS DISTINTOS ESTADÍOS EN LA TRANSICIÓN A LA MENOPAUSIA (ESTADÍOS A, B, C, Y D). ESTA GRÁFICA FUE ELABORADA EN BASE A NUESTROS RESULTADOS<sup>(27)</sup> Y OTROS OBTENIDOS DE LA LITERATURA<sup>(28 y 31)</sup>

La **FIGURA 26** muestra un esquema interpretativo de la evolución de los cambios metabólicos ocurridos en el ovario y en el eje hipotálamo-hipofisario. Ha sido ampliamente documentado que las células luteinizadas de la granulosa presentan receptores para LH. Como se analizó en párrafos anteriores, la teca y la granulosa interactúan con la LH mediadas por sus receptores activando la proteína G, induciendo la formación de AMPc, produciendo andrógenos en la teca que se aromatizan en la granulosa. La FSH mediada por sus receptores en la granulosa produce inhibinas, IGF1 y aromatasa, enzima que transforma los andrógenos en estrógenos.

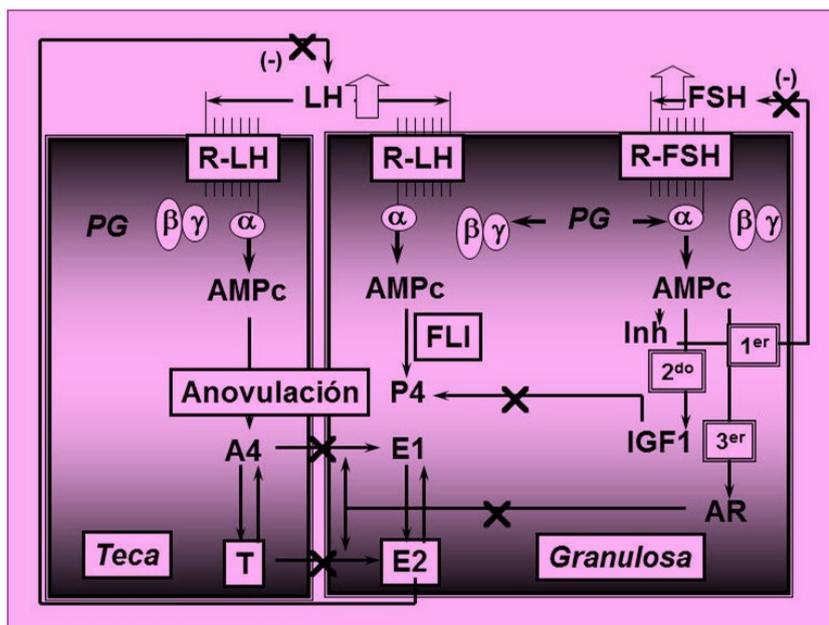


FIGURA 26. ESQUEMA SIMPLIFICADO DEL METABOLISMO HORMONAL EN LA FASE LÚTEA EN LAS CÉLULAS DE LA TECA Y DE LA GRANULOSA Y LA INTERRELACIÓN ENTRE AMBAS PARA PRODUCIR PROGESTERONA (P4), ESTRÓGENOS, ESTRADIOL (E2) Y ESTRONA (E1), PROVENIENTES DE LA AROMATIZACIÓN DE TESTOSTERONA (T) Y ANDROSTENODIONA (A4), RESPECTIVAMENTE Y EN MUJERES EN EDAD REPRODUCTIVA. LA FIGURA MUESTRA ADEMÁS LOS POSIBLES EVENTOS CRONOLÓGICOS EVOLUTIVOS QUE INDUCEN LA FALLA OVÁRICA PROGRESIVA. PRIMERO (1<sup>ER</sup>) LA DISMINUCIÓN DE INHIBINAS (INH), SEGUNDO (2<sup>DO</sup>) DE IGF1 Y TERCERO (3<sup>ER</sup>) LA AROMATASA (AR), PG: SIGNIFICA PROTEÍNA G Y SUS UNIDADES A, B Y Γ DISOCIADAS POR EL EFECTO INDUCIDO POR LA LH Y FSH AL UNIRSE A SUS RECEPTORES Y ACTIVAR LA PG

En síntesis, la cronología propuesta en estos estudios podría ser:

- a. El primer evento es una disminución de inhibina en los estadios iniciales de la perimenopausia, estadio -3, progresivo hasta el inicio de la menopausia. Paralelamente un incremento de FSH que hasta determinados niveles no altera los ciclos ovulatorios. La disminución de LH es posterior a la de FSH e inicia su incremento a partir del estadio -2.
- b. La disminución de IGF1 es paralela a la de la inhibina. Los ciclos ovulatorios son diagnosticados por los niveles de P4. En la etapa de la perimenopausia son del 92 %, van disminuyendo en paralelo con la inhibina B y la IGF1 hasta en el estadio -2 son solamente del 25 % y 50 % presentan fase lútea insuficiente. Evolucionan hasta anovulatorios en estadio -1. La disminución de la expresión de la aromatasa que resulta en la disminución de E2, induce el aumento de LH concomitantemente con la FSH.

Otros factores pudieran estar involucrados en estos procesos, particularmente la hormona anti mulleriana, que induce el control negativo sobre el desarrollo folicular. Otros factores que han sido postulados para el desarrollo folicular son el KIT-ligand y el bFGF. <sup>(32)</sup>

El KIT-ligand factor *stem cell* (también conocido como factor *stem cell* (SCF), KL, o *steel factor*, es una citoquina que se une al receptor c-Kit (CD117). Puede encontrarse como una proteína transmembrana o soluble. El gen que codifica al KIT-ligand en humanos está en el cromosoma 12q22-12q24. Las formas solubles y transmembrana se forman por *splicing* del mismo transcripto del RNA. La proteína desempeña un importante papel en la hematopoyesis durante el desarrollo embrionario y además se expresa en células germinales primordiales, espermatogonias y oocitos primordiales. <sup>(33)</sup>

FGF-*basic* (bFGF) es un componente crítico para el mantenimiento de las *stem cells* en cultivo, en los estados no diferenciados. Es un importante miembro de la familia heparina-proteína de unión. Controla la proliferación, diferenciación y migración de una variedad de tipos celulares de origen mesodérmico y neuroectodérmico.<sup>(34)</sup>

En la transición a la menopausia se demostró disminución de los niveles de inhibinas A y B y aumento de las activinas (aunque no en todos los trabajos). Estos resultados sugieren alteraciones o falta de expresión de la subunidad  $\alpha$ . Apoyan la teoría que el incremento de FSH podría deberse a la disminución en función de la edad de diversos factores, entre otros factores reguladores como la inhibina.

La propuesta es que el evento inicial en la transición a la menopausia sería la pérdida del *feedback* negativo de la inhibina y secundariamente una disminución de la reserva folicular.

## Menopausia

Es el estado que se produce fisiológicamente por la disminución natural de las hormonas reproductivas en la mujer, a la edad entre 40 y 50 años. La definición clínica recomendada es que hayan pasado doce meses desde la última menstruación: eso constituye el indicio más demostrativo de la menopausia.

Los síntomas más comunes son los sofocos y la sequedad vaginal. También pueden manifestarse trastornos del sueño. La combinación de estos síntomas puede causar ansiedad o depresión. La menopausia es un proceso natural y los tratamientos se enfocan en el alivio de los síntomas.

La menopausia no es el final de la vida, sino el comienzo de una etapa que ocupa casi la tercera parte de la vida femenina. Por otra parte, se

plantea que el climaterio no es el cese de la existencia, sino la etapa que deja abierta las puertas al disfrute de una nueva forma que debe cursar con menos tensión y menos carga.<sup>(35)</sup>

Como hemos descrito en párrafos anteriores, los síntomas de la menopausia están relacionados con disminución de estrógenos incluyendo disminución de la masa ósea e incremento del riesgo cardiovascular. (CONSENSO DE GINECOLOGÍA SOGIBA 2018).

Los principales cambios hormonales han sido descritos, pero como puede observarse en las publicaciones de nuestros estudios y de la mayoría de la literatura, son transversales retrospectivos.

A los efectos de poder demostrar que los distintos criterios empleados para la transición a la menopausia pudieran ser cuantificados en forma longitudinal los estudiamos en diecisiete pacientes, entre 40 y 47 años, evaluando los niveles hormonales en cuatro estudios de cada una de ellas, en períodos entre 6 y 12 meses, acorde a la consulta médica espontánea. La FIGURA 27 muestra los resultados obtenidos en los cuatro estudios, agrupados según la evolución durante el período de del estudio e identificado cada grupo de mujeres con diferentes símbolos.

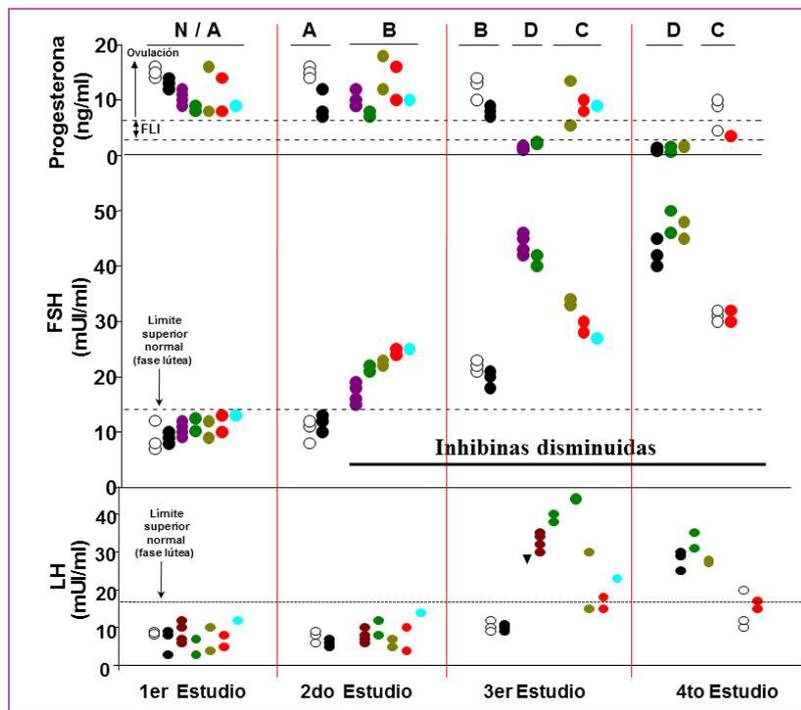


FIGURA 27. EVOLUCIÓN HORMONAL (FSH, LH Y P4) DURANTE LA TRANSICIÓN A LA MENOPAUSIA EN LA MISMA PACIENTE REALIZADO EN CUATRO ESTUDIOS CON INTERVALOS DE 6 A 12 MESES. LAS MUJERES QUE INGRESARON AL ESTUDIO TENÍAN CICLOS REGULARES OVULATORIOS Y NIVELES GONADOTRÓFICOS NORMALES. LOS RESULTADOS FUERON AGRUPADOS SEGÚN LA EVOLUCIÓN DURANTE EL PERÍODO DEL ESTUDIO E IDENTIFICADO CON DIFERENTES SÍMBOLOS. DADO QUE NO TENÍAMOS VALORES PREVIOS DE INHIBINA, EL GRUPO EN EL PRIMER ESTUDIO CORRESPONDÍA A N O A, SEGÚN LA ESTADIFICACIÓN DE PRIOR(28) (IZQUIERDA DE LA FIGURA). EN EL SEGUNDO ESTUDIO (IZQUIERDA DE LOS DOS CANALES CENTRALES), TODAS LA MUJERES PRESENTABAN NIVELES NORMALES DE P4 Y DE LH (A), PERO ONCE TUVIERON FSH AUMENTADA (B). SEIS DE ELLAS OVULATORIAS, CORRESPONDÍAN AL GRUPO A Y LAS RESTANTE AL B. EN EL TERCER ESTUDIO (DERECHA DE LOS DOS CANALES CENTRALES) TODAS TENÍAN AUMENTADA LA FSH. EN SEIS, LA LH FUE NORMAL Y EN LAS ONCE RESTANTES AUMENTADAS. RESPECTO A LA P4, SEIS DE LAS PACIENTES CON FSH AUMENTADA LOS NIVELES FUERON ANOVULATORIOS (D), LAS OTRAS CINCO VALORES COMPATIBLES CON OVULACIÓN (C). LAS RESTANTES CINCO PACIENTES CON LH NORMAL Y FSH AUMENTADA FUERON OVULATORIAS. EN EL CUARTO ESTUDIO (DERECHA DE LA FIGURA) TODAS TENÍAN LH Y FSH AUMENTADAS; SIETE DE ELLAS ANOVULATORIAS (D), LAS RESTANTES OVULATORIAS (C). NÓTESE QUE LAS MUJERES ANOVULATORIAS CORRESPONDIERON A AQUELLAS CON VALORES MÁS ALTOS DE LAS GONADOTROFINAS. CUATRO MUJERES (CUADRADOS BLANCOS) Y UNA (TRIÁNGULO BLANCO) FUERON INCLUIDAS AL CUARTO ESTUDIO POR HABER ASISTIDO A LA CONSULTA CON UN AÑO DE AMENORREA

En el primer estudio y por el criterio de inclusión, las diecisiete mujeres fueron ovulatorias normo-gonadotróficas. En el segundo estudio, todas fueron ovulatorias con niveles normales de LH. Dentro de estas pacientes en un subgrupo se incrementaron los valores de FSH, acorde al concepto de que la evolución se inicia con aumento de FSH, por disminución de inhibinas, no evaluadas en este estudio. Estos resultados confirman que los mecanismos de regulación de la LH y FSH son diferentes.

En el tercer estudio todas las pacientes presentaron aumento de FSH. Respecto a la LH, cinco mantuvieron valores normales. Las mujeres fueron ovulatorias excepto aquellas con valores de FSH superiores a 30 mUI/ml y LH superior a 25 mUI/ml. Esto confirma resultados previos donde postulamos esos valores de corte máximo como índice de posible ovulación.

En el cuarto estudio, todas las pacientes fueron hiper-gonadotróficas,. Respecto a ciclos anovulatorios los resultados confirman que se produjeron en aquellas mujeres con valores superiores de LH y FSH.

Este estudio corrobora la estatificación en el transcurso a la menopausia postulado por **PRIOR,<sup>(28)</sup>** entendiendo que podría ser de utilidad clínica en el seguimiento del ciclo reproductivo en mujeres de más de 40 años.

El envejecimiento afecta el estado reproductivo en diferentes grados. Como hemos desarrollado en este capítulo, en las mujeres postmenopáusicas aumentan significativamente las gonadotrofinas con una disminución de la función estrogénica del ovario.

Si bien esto está debida y ampliamente documentado, no había una información sistemática de las características del aumento de las gonadotrofinas. A los efectos de aclarar este fenómeno evaluamos en

mujeres post-menopáusicas las concentraciones y las fluctuaciones episódicas de LH y FSH en cuatro grupos de mujeres:

1. Entre 60 y 70 años (n=11)
2. Entre 70 y 80 años (n= 22)
3. Entre 80 y 90 años (n= 31)
4. Entre 90 y 100 años (n= 8)

Las concentraciones de las gonadotrofinas fueron comparadas con los valores normales previamente comunicados en colaboración con el grupo de Endocrinología del Instituto Nacional de la Nutrición en México.<sup>(20)</sup>

También valoramos las fluctuaciones episódicas de LH y FSH en una paciente de cada grupo, en muestras de sangre extraídas a través de una venoclisis, cada 15 minutos por 150 min, al cabo del cual se administraron por vía endovenosa 100 µg de Gn-RH.<sup>(36)</sup>

La media ± ES de los niveles en suero de las 72 mujeres fueron para LH y FSH: 93.9±5.4 y 132±5.6 mUI/ml, respectivamente. No se obtuvieron diferencias entre los cuatro grupos evaluados (FIGURA 28, izquierda).

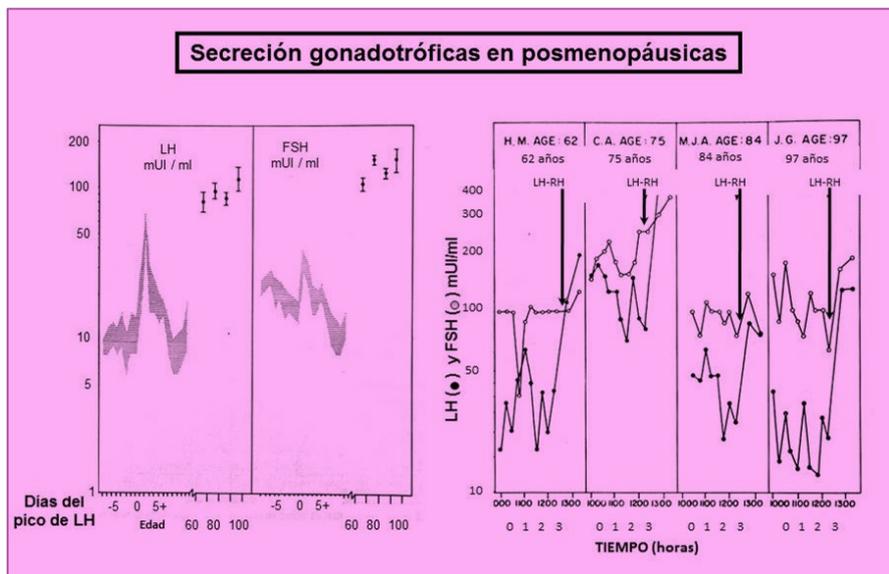


FIGURA 28. IZQUIERDA: NIVELES CIRCULANTES DE LH Y FSH (MEDIA  $\pm$  ES) EN CUATRO GRUPOS DE MUJERES MENOPÁUSICAS CLASIFICADAS ACORDE A LA DÉCADA DE LA VIDA A PARTIR DE LOS 60 AÑOS. COMPARATIVAMENTE SE MUESTRAN LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN EL CICLO MENSTRUAL NORMAL. DERECHA: FLUCTUACIONES EPISÓDICAS DE LAS GONADOTROFINAS CIRCULANTES Y RESPUESTA HIPOFISARIA A LA ADMINISTRACIÓN EXÓGENA DE GnRH EN UNA MUJER MENOPÁUSICA EN CADA DÉCADA DE LA VIDA ENTRE 60 Y 100 AÑOS

En el estudio de los pulsos los resultados mostraron que en tres de las cuatro mujeres se obtuvieron pulsos simultáneos entre ambas gonadotropinas. La administración de GnRH indujo un significativo incremento de LH, 4,1 veces y de menor magnitud también para FSH, 1,6 veces. No hubo diferencias significativas entre las cuatro pacientes evaluadas (FIGURA 28, derecha).

Los resultados obtenidos demuestran que la reserva hipofisaria de gonadotropinas no es una función dependiente de la edad en las mujeres añosas.

Desde que NANKIN y TROEN demostraron la existencia de fluctuaciones ultradianas de las gonadotropinas,<sup>(37)</sup> numerosos laboratorios han comunicado el patrón oscilatorio de las gonadotropinas en diversas

situaciones fisiopatológicas. Debido a la rapidez del inicio de los incrementos se cambió el nombre fluctuaciones episódicas por pulsátiles.

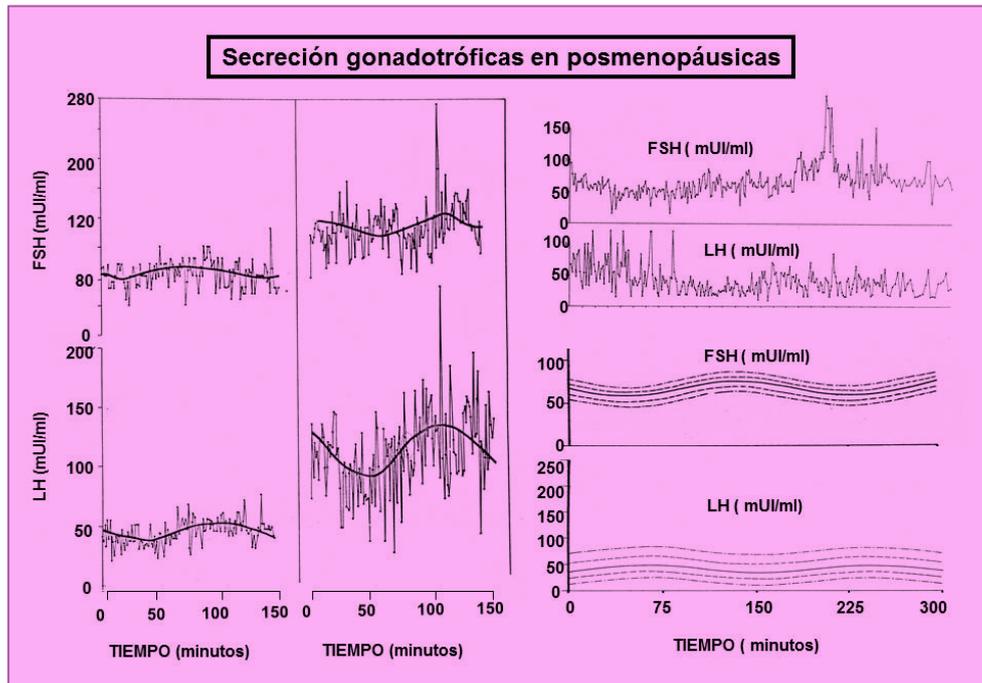
Estudiamos la existencia en breve períodos de tiempo de pulsos dentro del patrón pulsátil ultradiano. El ritmo ultradiano es un ciclo que está presente mientras estamos despiertos y dormidos. Este ciclo fue descubierto por **NATHANIEL KLEITMAN**, un investigador del sueño. Fue el autor del célebre libro en el año 1939 *Sleep and Wakefulness* (Sueño y vigilia) y es considerado el padre de la investigación estadounidense sobre el sueño. Al lado de su estudiante de posgrado **EUGENE ASERINSKY**, descubrió el sueño de movimientos oculares rápidos (MOR) (también sueño REM, del inglés *rapid eye movements*) y demostró que está correlacionado con la actividad eléctrica del cerebro durante las ensoñaciones. Este descubrimiento dio la base para numerosos fenómenos biológicos del cerebro, entre otros la pulsatilidad hormonal en condiciones de vigilia y de sueño.

Para el desarrollo del estudio se evaluaron en tres mujeres postmenopáusicas las concentraciones de LH y FSH en muestras de sangre tomadas a través de un catéter endovenoso, cada minuto por 150 minutos en dos de ellas y por 300 minutos en la restante. Las primeras cincuenta muestras de una de las mujeres se realizaron en dos oportunidades con un mes de diferencia. Todas las muestras fueron analizadas por RIE por duplicado y a dos diluciones para corroborar el paralelismo con la curva estándar.<sup>(38)</sup>

La evaluación estadística del ritmo se realizó usando una regresión sinoidal por medio de una regresión lineal de dos variables en programa Olivetti P 101.<sup>(38)</sup>

Los resultados obtenidos mostraron niveles aumentados de ambas gonatropinas en las tres mujeres estudiadas. Se obtuvieron significativas

fluctuaciones minuto a minuto como se muestra en la **FIGURA 29**. Los resultados obtenidos en las muestras tomadas cada 2 minutos en la tercera mujer no tuvieron diferencias con los obtenidos a cada 1 minuto. Tampoco se obtuvieron diferencias significativas en los resultados obtenidos en dos ensayos diferentes (**FIGURA 30**).



**FIGURA 29.** FLUCTUACIONES MINUTO A MINUTO EN LOS NIVELES CIRCULANTE DE LH Y FSH EN TRES MUJERES MENOPÁUSICAS (IZQUIERDA). EN DOS DE ELLAS LAS MUESTRAS DE SANGRE SE EXTRAJERON POR 150 MINUTOS Y EN LA RESTANTE (DERECHA, ARRIBA) POR 300 MINUTOS. A LA IZQUIERDA DE LA FIGURA SOBREPUESTA A LAS CONCENTRACIONES DE AMBAS DONADOTROFINAS SE MUESTRAN LAS CURVAS QUE RESULTAN DE LA REGRESIÓN SINOIDAL DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LAS DOS MUJERES ESTUDIADAS POR 150 MINUTOS. A LA DERECHA EN EL PANEL CENTRAL E INFERIOR SE MUESTRA LA MEDIA LINEAL Y 2 DS, LÍNEAS SUPERIORES E INFERIORES DE LA REGRESIÓN SINOIDAL DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LA TERCERA MUJER ESTUDIADA

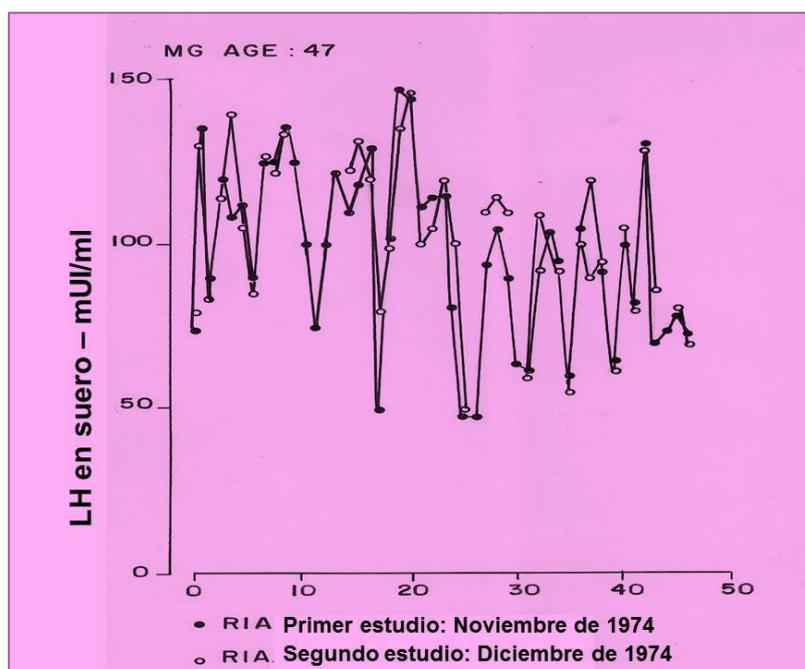


FIGURA 30. RESULTADOS DE LH EN LAS PRIMERAS 50 MUESTRAS DE UNA DE LAS MUJERES ESTUDIADAS EN DOS ENSAYOS DIFERENTES CON INTERVALO DE 30 DÍAS

El análisis de regresión cuando los datos incluyen los límites de confianza acorde al error intrínseco del RIE y por diluciones, en los ensayos se obtiene un gráfico que se asemeja a una onda sinusoidal.

Debido a las grandes oscilaciones frecuentes no se pudo calcular la vida media aunque se reveló un ritmo ultradiano o circoral.

Desde el punto de vista clínico deben tenerse en cuenta estas importantes fluctuaciones a los efectos de no tomar decisiones diagnósticas con una sola determinación.

La secreción pulsátil de la hormona liberadora de gonadotropina hipotalámica (GnRH) estimula la síntesis y liberación de FSH y LH en los gonadotropos hipofisarios. La GnRH actúa uniéndose a su receptor, se activan diferentes cascadas de señalización y mecanismos de transcripción, dependiendo de la variación en la frecuencia de pulso de GnRH para estimular la síntesis y liberación de FSH y LH. Si bien los

cambios en la frecuencia del pulso de GnRH pueden explicar parte de la regulación diferencial de FSH y LH, otros factores, como la activina, la inhibina y los esteroides sexuales, también contribuyen a la producción de gonadotropina.<sup>(39)</sup>

Desde el punto de vista clínico, en el futuro se deberá ofrecer la posibilidad de evaluar estos factores además de las gonadotropinas para una mejor comprensión de la menopausia, para facilitar el tratamiento que mejore la calidad de vida de las mujeres.

## Bibliografía

- (1) GUAL C, SCAGLIA HE, MIDGLEY JR RA, ALCOCER J, ECHEVERRIA-RIVAS Y, LICHTENBERG, RJ. Regulatory effects of steroids on the Pituitary Response to LH-RH. *Steroid Biochem.* 1975;6(6):1067-1074. <[https://doi.org/10.1016/0022-4731\(75\)90351-9](https://doi.org/10.1016/0022-4731(75)90351-9)>
- (2) VANTMAN D, VEGA M. Fisiología reproductiva y cambios evolutivos con la edad de la mujer. *Revista Médica Clínica Las Condes.* 2010;21(3):348-362. <[https://doi.org/10.1016/S0716-8640\(10\)70545-9](https://doi.org/10.1016/S0716-8640(10)70545-9)>
- (3) ROSS MH, PAWLINA W. *Histología, Texto y Atlas.* Capítulo 23: Aparato genital femenino. Editorial Médica Panamericana; 2007; pp. 831-834.
- (4) MCGEE EA, HSUEH AJ. Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endocr Rev.* 2000;21(2):200-214. <<https://doi.org/10.1210/edrv.21.2.0394>>
- (5) VOET D, VOET JG. *Características de las lipoproteínas plasmáticas.* Bioquímica, 3ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2006.
- (6) YEN SSC, JAFFE RB, BARBIERI RL. Reproductive Endocrinology. Physiology, Pathophysiology, and Clinical Management. Fourth Edition. W. B. Saunders Company; 1999.
- (7) HSUEH AJW, BILLIG H, TSAFRIRI A. Ovarian follicle atresia: a hormonally controlled apoptotic process. *Endocr Rev.* 1994;15(6):707-724. <<https://doi.org/10.1210/edrv-15-6-707>>
- (8) KOMATSU K, MASUBUCHI S. Observation of the dynamics of follicular development in the ovary. *Reprod Med Biol.* 2017;16(1):21-27. <<https://doi.org/10.1002%2Frm2.12010>>

- (9) HU L, GUSTOFSON RL, FENG H, LEUNG PK, MORES N, KRSMANOVIC LZ, CATT KJ. Converse Regulatory Functions of Estrogen Receptor- $\alpha$  and - $\beta$  Subtypes Expressed in Hypothalamic Gonadotropin-Releasing Hormone Neurons. *Mol Endocrinol*. 2008;22(10):2250-2259. <<https://doi.org/10.1210/me.2008-0192>>
- (10) COHEN P, PEEHL DM, LAMSON G, ROSENFELD RG. Insulin-like growth factors (IGFs), IGF receptors, and IGF-binding proteins in primary cultures of prostate epithelial cells. *J Clin Endocrinol Metab*. 1991;73(2):401-407. <<https://doi.org/10.1210/jcem-73-2-401>>
- (11) TWIGG SM, BAXTER RC. Insulin-like Growth Factor (IGF)-binding Protein 5 Forms an Alternative Ternary Complex with IGFs and the Acid-labile Subunit. *J Biol Chem*. 1998;273(11):6074-6079. <<https://doi.org/10.1074/jbc.273.11.6074>>
- (12) LEONG SR, BAXTER RC, CAMERATO T, DAI J, WOOD WI. Structure and Functional Expression of the Acid-Labile Subunit of the Insulin-Like Growth Factor-Binding Protein Complex. *Mol Endocrinol*. 1992;6(1):870-876. <<https://doi.org/10.1210/mend.6.6.1379671>>
- (13) LOSOS JB, RAVEN PH, JOHNSON GB, SINGER SR. *Biology*. New York: McGraw-Hill; 2002. pp. 1207–1209.
- (14) GRAY HD. *The Ovum. Anatomy of the human body*. Philadelphia: Bartleby.com, 2000.
- (15) ECOCHARD R, GOUGEON A. Side of ovulation and cycle characteristics in normally fertile women. *Human Reproduction*. 2000;15(4):752-755. <<https://doi.org/10.1093/humrep/15.4.752>>
- (16) Multiple Pregnancy: Twins or More. Topic Overview. WebMD Medical Reference from Healthwise; 2007. <<https://www.webmd.com/baby/risks-linked-with-twin-births>>
- (17) NEVORAL J, ORSÁK M, KLEIN P, PETR J, DVOŘÁKOVÁ M, WEINGARTOVÁ I, VYSKOČILOVÁ A, ZÁMOSTNÁ K, T. KREJČOVÁ T, JÍLEK F. Cumulus cell expansion, its role in oocyte biology and perspectives of measurement: a review. *Scientia Agriculturae Bohemica*. 2014;45(4):212-225. <<https://doi.org/10.1515/sab-2015-0002>>
- (18) ROSENFELD CS, WAGNER JS, ROBERTS MR, LUBAHN DB. Intraovarian actions of oestrogen. *Reproduction*. 2001;122:215-226. <<https://doi.org/10.1530/rep.0.1220215>>
- (19) BAGNJUK K, MAYERHOFER A. Human Luteinized Granulosa Cells—A Cellular Model for the Human Corpus Luteum. *Front Endocrinol*. 2019;10:452-474. <<https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00452>>

- (20) PEREZ PALACIOS G, IRAMAIN CA, CASTAÑEDA E, ROJO B, LONG D, SCAGLIA HE, GUAL C. Plasma profile of pituitary gonadotropins and ovarian steroids in the normal menstrual cycle. *Rev Invest Clín.* 1973;25:305-313.
- (21) PEREZ PALACIOS G, IRAMAIN C, CASTAÑEDA E, ROJO B, LONG DW, SCAGLIA HE, GUAL C. Plasma profile of pituitary gonadotropins and ovarian steroids in women during 17-acetoxy-methyl-19-norprogesterone administration. *Contraception.* 1975;12(1):37-43. <[https://doi.org/10.1016/s0010-7824\(75\)80034-5](https://doi.org/10.1016/s0010-7824(75)80034-5)>
- (22) YEN SSC. The human menstrual cycle: neuroendocrine regulation en Reproductive Endocrinology. Yen y Jaffe, Saunder Company; 1978, 3ra edición. Capítulo 8, pp. 273-308.
- (23) STRAUSS III JF, GURPIDE E. The endometrium: Regulation and dysfunction en Reproductive Endocrinology. Yen y Jaffe, Saunder Company; 1978, 3ra edición. Capítulo 9, pp. 309-356.
- (24) SCAGLIA HE, LORUSSO A, SCAGLIA J. Cáncer de mama invasivo. aspectos clinicos, moleculares y geneticos. *Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo.* 2005;42(1):28-54. <<http://www.raem.org.ar/numeros/2005-vol42/numero-01/4scaglia.pdf>>
- (25) PATEL B, ELGUERO S, THAKORE S, DAHOUD W, BEDAIWY M, MESIANO S. Role of nuclear progesterone receptor isoforms in uterine pathophysiology. *Hum Reprod Update.* 2015;21(2):155-173. <<https://doi.org/10.1093%2Fhumupd%2Fdmu056>>
- (26) WHO Scientific Group on Research on the Menopause in the 1990s (1994: Geneva, Switzerland) & World Health Organization. (1996). Investigaciones sobre la menopausia en los años noventa: informe de un Grupo Científico de la OMS. Organización Mundial de la Salud. <<https://apps.who.int/iris/handle/10665/41984>>
- (27) VALMAN BR, ALOSILLA A, COLOMBANI ME, AQUILANO DR, ZYLBERSZTEIN CC, SCAGLIA HE. Características hormonales y reproductivas en mujeres durante el periodo de transición a la menopausia. (Comunicación libre 00017). II Congreso Argentino de Climaterio. Enfoques para la Salud de la mujer del siglo XXI. Hormonoterapia. Buenos Aires, octubre de 1996.
- (28) PRIOR FC. Perimenopause: The complex endocrinology of the menopausal transicion. *Endocrine Reviews.* 1998;19:397-428. <<https://doi.org/10.1210/edrv.19.4.0341>>
- (29) KLEIN NA, ILLINGWORTH PJ, GROOME NP, MC NEILLY AS, BATTAGLIA AS, SOULES MR. Decrease inhibin B secretion is associated with the monotropic FSH rise in

- older ovulatory women: a study of serum and follicular fluid levels of dimeric inhibin A and B in spontaneous menstrual cycles. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(7):2472-2445. <<https://doi.org/10.1210/jcem.81.7.8675606>>
- (30) PRIOR JC. Ovarian aging and the perimenopausal transition: the paradox of endogenous ovarian hyperstimulation. *Endocrine.* 2005;26(3):297-300. <<https://doi.org/10.1385/endo:26:3:297>>
- (31) SOULES MR, SHERMAN S, PARROTT E, REBAR R, SANTORO N, UTIAN W, WOODS N. Executive summary: Stages of reproductive aging workshop (STRAW). *Fertil Steril.* 2001;76(5):874-878. <[https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(01\)02909-0](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(01)02909-0)>
- (32) JONARD S, DEWAILLY D. The follicular excess in polycystic ovaries, due to intra ovarian hyperandrogenism, may be the main culprit for the follicular arrest. *Human Reproduction Update.* 2004;10:107-117. <<https://doi.org/10.1093/humupd/dmh010>>
- (33) GEISLER EN, LIAO M, BROOK JD, MARTIN FH, ZSEBO KM, HOUSMAN DE, GALLI SJ. Stem cell factor (SCF), a novel hematopoietic growth factor and ligand for c-kit tyrosine kinase receptor, maps on human chromosome 12 between 12q14.3 and 12qter. *Somat Cell Mol Genet.* 1991;17(2):207-214. <<https://doi.org/10.1007/bf01232978>>
- (34) FITZGERALD K, O'NEILL L, GEARING A, CALLARD R. *The Cytokine Factsbook and Webfacts* 2nd Edition. Academic Press; 2001.
- (35) CAPOTE BUENO MI, SEGREGO PÉREZ AM, GÓMEZ ZAYAS O. Climaterio y menopausia. *Rev Cubana Med Gen Integr.* 2011;27(4). <[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-21252011000400013](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252011000400013)>
- (36) SCAGLIA HE, MEDINA M, PINTO-FERREIRA AL, VAZQUEZ G, GUAL C, PÉREZ PALACIOS G. Pituitary LH and FSH secretion and responsiveness in women of old age. *Acta Endocrinol.* 1976;81(4):673-679. <<https://doi.org/10.1530/acta.0.0810673>>
- (37) NANKIN HR, TROEN P. Repetitive luteinizing hormone elevation in serum of normal men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1971;33(3):558-565. <<https://doi.org/10.1210/jcem-33-3-558>>
- (38) MEDINA M, SCAGLIA HE, VAZQUEZ G, ALATORRE S, PÉREZ PALACIOS G. Rapid oscillation of circulating gonadotropins in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1976;43(5):1015-1019. <<https://doi.org/10.1210/jcem-43-5-1015>>
- (39) STAMATIADIS GA, KAISER UB. Gonadotropin regulation by pulsatile GnRH: signaling and gene expression. *Mol Cell Endocrinol.* 2018;463:131-141. <<https://doi.org/10.1016/j.mce.2017.10.015>>

- (40) MARGULIES M, VOTO LS, ENCABO J, SIMON JM, AQUILANO D, ZYLBERSZTEIN C, SCAGLIA HE. Inducción de retroalimentación negativa y positiva de LH por diversas dosis de estradiol. *Obstetricia y Ginecología Latinoamericanas*. 1980;38:38-45.

