

Mecanismos moleculares y regulación endocrina de la ovulación



Alejandra García Balderas

Facultad de Farmacia

Universidad de Sevilla



TRABAJO FIN DE GRADO

Título del trabajo: Mecanismos moleculares y regulación endocrina de la ovulación.

Lugar y fecha de presentación: Aula 0.4, a 5 de julio de 2016.

Realizado por: Alejandra García Balderas.

Tipología del proyecto realizado: Revisión bibliográfica.

Tutora: María José Peral Rubio.

Departamento: Departamento de Fisiología.

Facultad de Farmacia.

Grado en Farmacia.

Universidad de Sevilla.

Imagen de la portada:

Imagen en 3D que representa la salida del óvulo del ovario
(<http://www.avantmedic.com/es/servicios/induccion-a-la-ovulacion/>)

Índice

Índice.....	1
Resumen.....	3
Introducción.....	4
Objetivos.....	4
Metodología.....	4
Resultados y discusión.....	5
Anatomía funcional del aparato reproductor femenino.....	5
Ovarios.....	6
Conductos.....	7
Diferenciación y desarrollo de las gónadas femeninas.....	8
Ovogénesis.....	9
Desarrollo de los folículos ováricos o foliculogénesis.....	11
Folículos primario y secundario.....	12
Folículo terciario.....	12
Folículo de De Graaf.....	13
Cuerpo lúteo.....	14
Ciclo sexual femenino.....	14
Ciclo ovárico.....	15
Ciclo menstrual.....	17
Mecanismos de la ovulación.....	19
Señalización intracelular y comunicación intercelular.....	19
AMPc y GMPc.....	20
Fosfodiesterasa PDE4.....	22
Factores de crecimiento GDF-9 y BMP-15.....	23

Remodelación de la matriz extracelular.....	26
Cambios en la expresión génica.....	28
Patologías que afectan a la ovulación.....	30
Endometriosis.....	31
Síndrome de ovario poliquístico.....	32
Amenorrea.....	32
Conclusiones.....	33
Bibliografía.....	34

Resumen

El aparato reproductor femenino se encuentra formado por diferentes estructuras, pero es en los ovarios donde se produce el proceso de ovulación, es decir, la salida del óvulo. Alrededor de la ovulación giran los ciclos ováricos y menstruales de la mujer, así como el desarrollo de los folículos en todas sus etapas, desde su inicio hasta que se forma el cuerpo lúteo. Se trata de un proceso imprescindible para que se produzca la fecundación y la gestación de un nuevo ser humano, pero es un proceso muy complejo, en el que se encuentra implicada una regulación endocrina y molecular que incluye hormonas como la hormona luteinizante (LH) o la hormona folículo-estimulante (FSH). Gracias a la acción de estas hormonas se produce una cascada de mecanismos moleculares y tisulares que son los que dan lugar finalmente a una liberación efectiva del óvulo, implicando sustancias como AMPc y GMPc (que difunden gracias a uniones tipo gap y que controlan la división meiótica que da lugar al óvulo maduro), factores de crecimiento GDF-9 y BMP-15 (que promueven el crecimiento del folículo, el desarrollo restrictivo del folículo dominante y regulan el metabolismo, la proliferación y diferenciación de las células de la granulosa del cúmulo, que rodean al ovocito) o la proteasa ADAMTS-1 (implicada en la remodelación tisular que ocurre en el ovario justo antes y después de la salida del óvulo), así como cambios transcripcionales que hacen todo esto posible. Sin embargo, estos procesos pueden llegar a verse afectados por diversas patologías, entre las que destacan por ser las más comunes el síndrome de ovario poliquístico, la endometriosis y la amenorrea.

Palabras clave: Ovulación, Foliculogénesis, Ciclo sexual femenino, Mecanismos moleculares, Regulación endocrina.

Introducción

La ovulación supone un proceso complejo en el que los ovocitos reinician la meiosis en los folículos ováricos, se crea un poro en la pared del folículo apical gracias a una ruptura para poder liberar el óvulo maduro, y se inicia una remodelación tisular y una diferenciación celular hasta formar el cuerpo lúteo. Esto ocurre gracias a una cascada de eventos, iniciados a partir de la acción de las gonadotropinas, es decir, la hormona luteinizante (LH) y la hormona folículo-estimulante (FSH). En respuesta, se desencadenan una serie de mecanismos moleculares que darán lugar a la liberación del óvulo. Estos mecanismos implican cambios en la expresión génica y la estructura folicular.

En esta revisión se ha incluido primero una descripción de la anatomía funcional del aparato reproductor femenino y procesos que preceden a la ovulación, para facilitar la comprensión del principal objetivo del trabajo. Principalmente, esta revisión se centra en recoger, a partir de diversos estudios, los conocimientos que se tienen acerca de cómo se produce la ovulación y qué procesos se encuentran involucrados, estando éstos englobados en señalización intracelular, comunicación intercelular, remodelación de la matriz extracelular y cambios en la expresión génica. En los últimos años se ha conseguido un gran avance en esta temática, gracias a las técnicas de Biología Molecular.

Objetivos

Realizar una revisión bibliográfica actualizada de los mecanismos moleculares y la regulación endocrina de la ovulación, presentando los avances científicos que se han producido alrededor de esta temática.

Metodología

Para este trabajo se han consultado diversas fuentes bibliográficas: Libros de texto de Fisiología y Anatomía Humana, Artículos científicos y Páginas Webs.

Respecto a los artículos científicos, se han utilizado algunos originales, donde se describió por primera vez un mecanismo, pero principalmente revisiones publicadas en los últimos 5-10 años. La búsqueda de artículos se ha realizado a través de la Biblioteca Nacional de Medicina de

Estados Unidos llamada NCBI (The National Center for Biotechnology Information) en la base de datos PubMed (permite la búsqueda de libre acceso de resúmenes de artículos de investigación biomédica) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>).

Las palabras clave que se han utilizado, en inglés: “ovary”, “ovulation review”, “molecular mechanism”, “endocrine regulation”, “follicular development”, “GDF-9 and BMP-15 growth factors”, “GMPc and AMPc”, “gap junctions”, “ADAMTS-1”. Una vez leídos los resúmenes de los artículos se han seleccionado aquellos que nos han parecido más relevantes por su relación con el tema de este trabajo.

Resultados y discusión

Anatomía funcional del aparato reproductor femenino

El aparato reproductor femenino está formado por un conjunto de órganos cuya principal misión consiste en hacer posible la fecundación y la gestación de un nuevo ser humano. Para ello, cuenta con una serie de estructuras, donde se producen hormonas y procesos celulares que llevan a la formación del gameto femenino, es decir del óvulo, que junto con el espermatozoide dará lugar a la formación del cigoto, y con ello el proceso de gestación (figura 1).

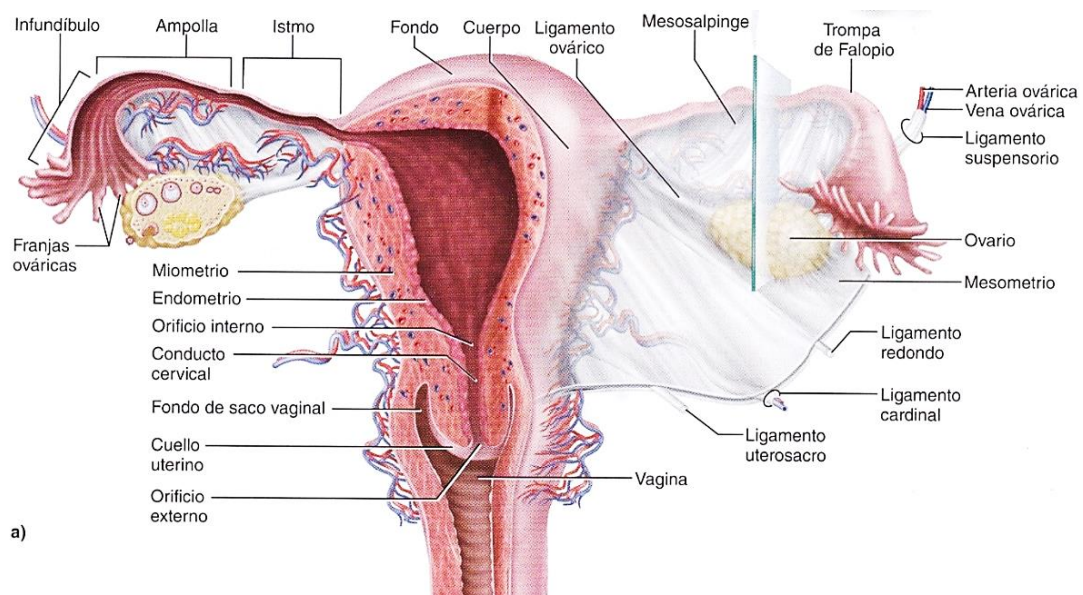


Figura 1. Anatomía detallada del aparato reproductor femenino (Saladin, 2013).

Distinguimos en el aparato reproductor femenino: Los ovarios (o gónadas femeninas) y los conductos:

- Ovarios:

Son las gónadas femeninas, encargadas de producir los óvulos y las hormonas sexuales femeninas. Son dos cuerpos ovalados que miden unos 3-4 cm de longitud, que se encuentran anidados en la fosa ovárica, una depresión en la pared pélvica posterior. El interior del ovario está dividido de manera indiferenciada en la médula central y la corteza exterior. La médula es un núcleo de tejido conjuntivo fibroso ocupado por las arterias principales y las venas del ovario. La corteza es el lugar donde se encuentran los folículos ováricos, cada uno de los cuales consta de un ovocito en desarrollo rodeado por varias células foliculares pequeñas (figura 2) (Saladin, 2013).

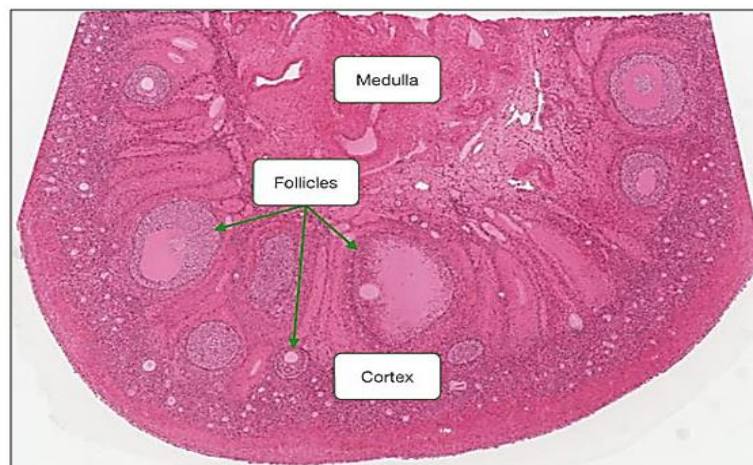


Figura 2. Corte histológico de ovario humano donde se pueden apreciar la médula y la corteza (Takizawa, 2016)

Varios ligamentos de tejido conjuntivo mantienen en su lugar a los ovarios y otros órganos genitales internos. El ligamento ovárico une el ovario al útero y el ligamento suspensorio lo une a la pared pélvica. El margen anterior del ovario está anclado mediante un pliegue peritoneal denominado mesovario, el cual se extiende hasta una vaina de peritoneo denominada ligamento ancho, que flanquea el útero y encierra a las trompas de Falopio en su margen superior (figura 3). El aporte nervioso, vascular y linfático al ovario se produce a través del mesovario (Saladin, 2013).

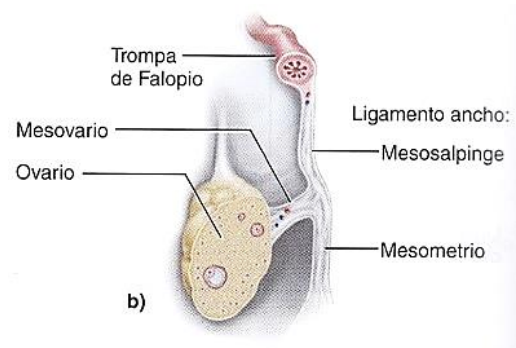


Figura 3. Ligamentos que rodean al ovario (Saladin, 2013).

- Conductos:

Son estructuras que no están implicadas en la formación de los gametos. Su principal misión es favorecer el proceso de fecundación y desarrollo del embrión.

- Trompas de Falopio: Son unos conductos de aproximadamente 10 cm de longitud que conectan el ovario con el útero y que por tanto sirven para el transporte del óvulo desde el ovario hasta el útero tras ser liberado en el proceso de ovulación.

La trompa de Falopio está envuelta en el mesoalpinge, que es el margen superior del ligamento ancho. Su parte media y larga es la ampolla, y cerca del útero forma un istmo estrecho. Posteriormente, en su extremo distal (ovárico), las trompas terminan en un infundíbulo, es decir, un ensanchamiento del conducto, y aquí presenta unas prolongaciones llamadas fimbrias, que en el momento de la ovulación se acercan al ovario (figura 1). Estas fimbrias crean corrientes en la cavidad peritoneal, de tal modo que el óvulo liberado se dirige hacia el ostium u orificio de la trompa para pasar a través de él. En su parte interna, la pared presenta una mucosa con células epiteliales ciliadas y una capa muscular que produce peristaltismo, ayudando con ello al paso del óvulo hasta el útero (Pocock y Richards, 2005; Saladin, 2013).

- Útero: Es una cámara muscular donde se produce la implantación del óvulo fecundado, y que va a albergar al feto, proporcionándole nutrición durante las 38-40 semanas de gestación.

La cavidad mide casi 7 cm de longitud y 4 cm de ancho, con una curvatura superior amplia llamada fondo, una porción media llamada cuerpo y un extremo inferior cilíndrico llamado cuello uterino. La luz del útero comunica con la vagina por medio de un paso estrecho a través del cuello uterino denominado conducto cervical (figura 1). Este canal se encuentra recubierto por un epitelio plano estratificado, y contiene glándulas cervicales que secretan moco, que se considera que evita la dispersión de microorganismos de la vagina hacia el útero (Saladin, 2013).

En el útero se distinguen varias capas: Una membrana externa serosa (perimetrio), una capa media de músculo liso (miometrio) y una mucosa interna (endometrio). Este endometrio es el que se desprende en el momento de la menstruación, y está formado esencialmente por un epitelio cilíndrico simple que se encuentra sobre tejido conectivo denominado lámina propia, así como glándulas tubulares, leucocitos, macrófagos y otras células (Saladin, 2013).

El útero se sostiene gracias a una serie de ligamentos: De estos destaca el ligamento ancho, que tiene dos partes: el mesoalpinge mencionado antes y el mesometrio, a cada

lado del útero. Además, el cuello uterino y la parte superior de la vagina tienen soporte de los ligamentos cardinales que se extienden a la pared pélvica (figura 1) (Saladin, 2013).

- Vagina: Es un conducto de 8 a 10 cm que conecta el útero con el exterior. Consta de una capa adventicia externa, una capa muscular media y una mucosa interna. No tiene glándulas, pero se lubrica por la filtración de líquido seroso a través de sus paredes y por moco de las glándulas cervicales que se encuentran más arriba. Estas secreciones van a depender del momento del ciclo sexual en el que se encuentre la mujer (Tresguerres y cols., 2010; Saladin, 2013).
- Vulva: Es la parte final de todo el sistema, formado por los labios internos y externos. También tiene células secretoras del moco (Pocock y Richards, 2005).

Diferenciación y desarrollo de las gónadas femeninas

La diferenciación de las gónadas durante la gestación está determinada y coordinada por diferentes genes, lo cual depende de la dotación cromosómica del gameto masculino. En el caso femenino, es la dotación de tipo XX la que se establece en el mismo momento de la fecundación. De este modo, el sexo del embrión viene determinado genéticamente desde la concepción, aunque las gónadas no adquieren características morfológicas masculinas o femeninas hasta la séptima semana de desarrollo.

Al principio, las gónadas aparecen como un par de crestas longitudinales llamadas crestas genitales o gonadales. Las células germinales, es decir aquellas que desarrollarán los ovogonios destinados a formar ovocitos, no aparecen en estas crestas hasta la sexta semana de desarrollo, a donde llegan mediante una migración desde el saco vitelino, donde se originan. Durante esa migración se forman los llamados cordones sexuales primarios. En este momento, es imposible aún diferenciar el sexo, y la gónada se conoce como gónada indiferenciada (Sadler, 2012).

En la séptima semana, los cordones sexuales primarios se dividen en grupos de células irregulares, los cuales ocupan la parte medular del ovario, siendo después sustituidos por un estroma vascular que forma la médula ovárica. El epitelio superficial de la gónada femenina (a diferencia de la masculina) sigue proliferando, originando una segunda generación de cordones sexuales que son los cordones sexuales corticales, a los que se incorporan las células germinales primordiales que se han diferenciado en ovogonios gracias a procesos de mitosis. En el tercer mes, los cordones corticales se dividen en grupos aislados de células, que siguen proliferando y

empiezan a rodear cada ovogonio con una capa de células epiteliales llamadas células foliculares (Sadler, 2012). Así permanecerán, hasta ser estimulados por la hormona folículo-estimulante (FSH) en algunos de los ciclos que se inician a partir de la pubertad (Tresguerres y cols., 2010).

Los ovogonios inician la meiosis a las doce o trece semanas de gestación, pero se detienen en fase diploteno. Esta fase consiste en una etapa de reposo que se da en la profase de la primera meiosis (o meiosis I) de las dos que sufre el ovocito en su maduración (Sadler, 2012). Los ovogonios que han detenido su meiosis reciben el nombre de ovocitos primarios.

Al comienzo del cuarto mes de gestación se diferencian en el ovario fetal tres zonas: Una superficial donde existen algunos ovogonios en fase de proliferación, una capa media en la que hay ovocitos en comienzo de la profase meiótica con gran cantidad de tejido de sostén, y una profunda, también con gran cantidad de tejido de sostén pero en este caso más laxo que en la capa media. Al comenzar el quinto mes la capa más superficial ya no tiene ovogonios, sino ovocitos que han empezado el desarrollo folicular (Tresguerres y cols., 2010).

Por otro lado, la médula de la gónada indiferenciada involuciona y se produce la diferenciación de células del mesénquima en células intersticiales o de la teca, las cuales rodearán al folículo.

En términos morfogénéticos la formación del ovario se completa en torno al sexto mes de desarrollo intrauterino. A pesar de esto, su capacidad para producir estrógenos comienza ya entre la octava y décima semana y esta formación es independiente de las gonadotropinas hipofisarias. La diferenciación sexual a nivel del sistema nervioso central no ocurre hasta el cuarto mes de gestación, debido a la ausencia de testosterona y a la exposición del sistema nervioso central a los niveles de estrógenos procedentes del ovario fetal (Tresguerres y cols., 2010).

Ovogénesis

La ovogénesis es el desarrollo y la producción de los óvulos, es decir, el proceso por el que los ovogonios se diferencian en ovocitos maduros (óvulos). Este proceso genera un gameto haploide (n) por medio de meiosis. Se trata de un acontecimiento que ocurre una vez al mes, y que está acompañado por cambios cíclicos en la secreción hormonal y en la estructura histológica del ovario y del útero, lo cual explicaremos con detalle más adelante.

Como hemos comentado antes, la maduración de los ovocitos se inicia antes del nacimiento gracias a procesos de mitosis, junto con la diferenciación gonadal femenina, dando lugar a ovocitos primarios diploides (2n). En el momento del nacimiento, los ovocitos (que para su maduración completa pasan por dos procesos de meiosis) (figura 4) han iniciado la profase de la primera meiosis o meiosis I, pero en lugar de continuar en la metafase, entran en fase de diploteno. Estos no completarán la primera división meiótica hasta después de la pubertad.

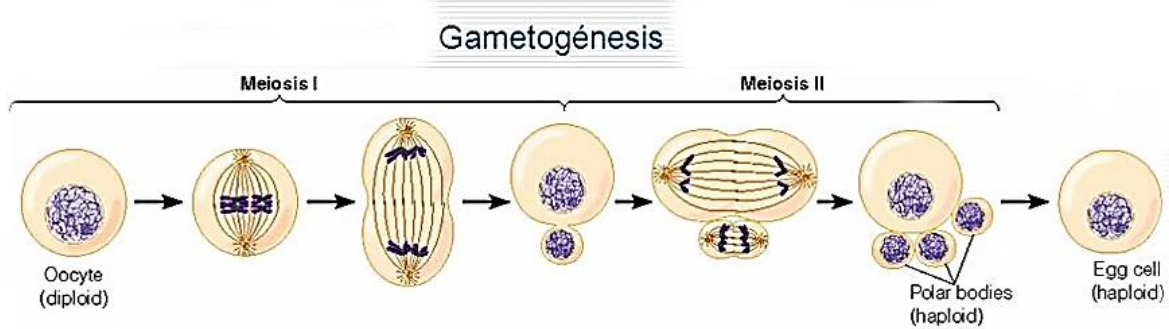
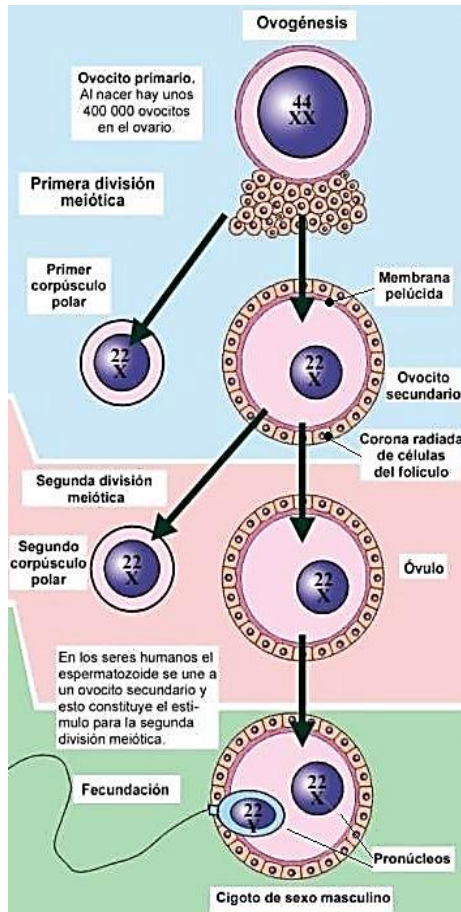


Figura 4. Esquema de las divisiones meióticas en el proceso de ovogénesis. Adaptada de Anselmo, 2015.

Durante la infancia, e incluso desde antes del nacimiento, la mayoría de ovocitos se vuelven atrésicos, es decir, degeneran. De este modo, al inicio de la pubertad solo quedan unos 40.000



ovocitos primarios, de los cuales solo ovularán entre 400 y 500, uno cada mes hasta que la mujer llegue a la menopausia. Por tanto, el desarrollo del óvulo se reanuda en la adolescencia, momento en el cual se comienza a completar la meiosis I que se encontraba en reposo. Esto conlleva la formación de dos células hijas de tamaño desigual, cada una con 23 cromosomas dobles (haploide, n). Una de estas células, el ovocito secundario, recibe la mayor parte del citoplasma; la otra, el primer corpúsculo polar, apenas recibe citoplasma (figura 5). El primer corpúsculo polar se coloca entre la zona pelúcida (una capa formada por glucoproteínas que se forma alrededor del ovocito) y la membrana celular del ovocito secundario. A continuación, el ovocito secundario inicia la segunda meiosis o meiosis II, avanzando hasta la metafase II, pero

Figura 5. Proceso detallado de la ovogénesis. Adaptada de Jimeno, 2013.

se detiene en esta etapa aproximadamente 3 horas antes de la ovulación. La meiosis II solo se completa si el ovocito es fecundado; en caso contrario, la célula degenera aproximadamente 24 horas después de la ovulación (Sadler, 2012; Saladin, 2013).

Desarrollo de los folículos ováricos o foliculogénesis

La unidad funcional del ovario es el folículo. El ovario está formado por múltiples folículos en diversos estadios de desarrollo (figura 6). Durante la formación del óvulo maduro, se producen cambios en las células que lo rodean en un proceso denominado foliculogénesis.

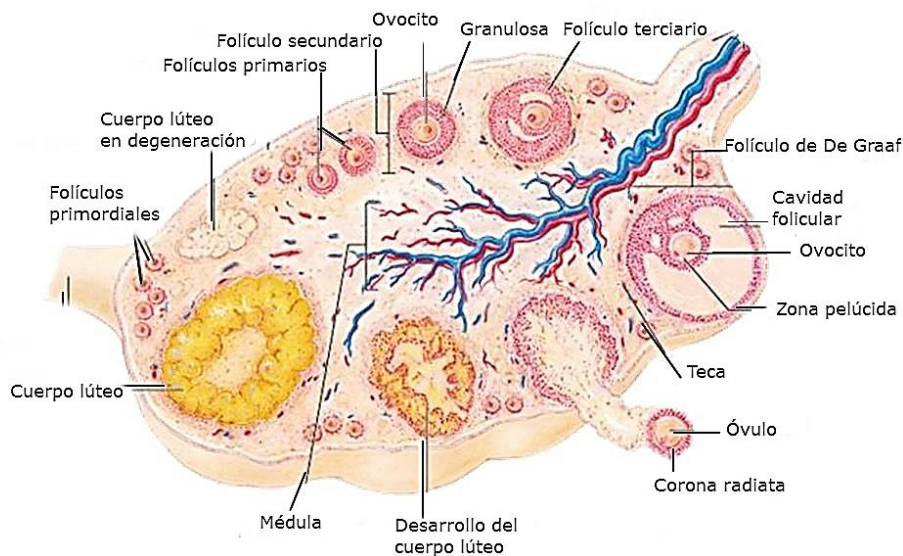


Figura 6. Corte transversal de un ovario donde se pueden observar los folículos en diferente estado de desarrollo. Adaptada de Bomba, 2014.

En el proceso de ovogénesis, una vez que los ovogonios comienzan su primera división meiótica, quedan rodeados por células mesenquimales formando una membrana basal (la lámina basal), de tal modo que se convierten en ovocitos primarios rodeados de una capa de células foliculares que forman los folículos primordiales (figura 7). La reserva de folículos primordiales que se crea durante la vida fetal se pierde gradualmente entre la pubertad y la menopausia, ya que cada mes solo algunos de ellos prosiguen su desarrollo (Pocock y Richards, 2005).

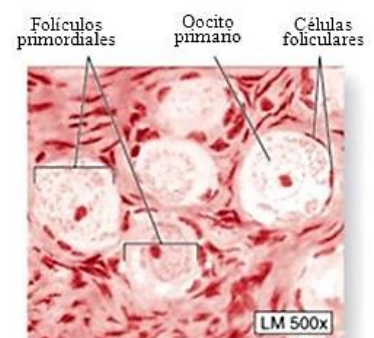


Figura 7. Corte de ovario donde se observan folículos primordiales. Adaptada de Ortega Domínguez, 2015.

En cada ciclo, un folículo progresa a través de una serie de estadios de desarrollo que incluyen: crecimiento y maduración, ovulación, formación del cuerpo

lúteo y, en ausencia de fecundación, degeneración. El desarrollo folicular se estructura en varios estadios:

- Folículos primario y secundario:

Cuando el folículo primordial ya ha sido activado para iniciar el desarrollo, se convierte en un folículo primario, lo cual conlleva un aumento de tamaño considerable, tanto del propio folículo como del ovocito primario que se encuentra en su interior (figura 8) (Pocock y Richards, 2005).

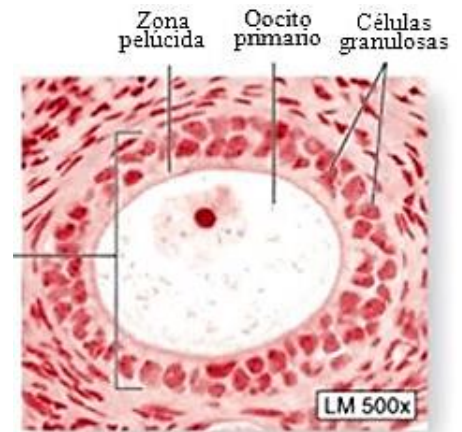


Figura 8. Corte de ovario en el que se observa un folículo primario. Adaptada de Ortega Domínguez, 2015.

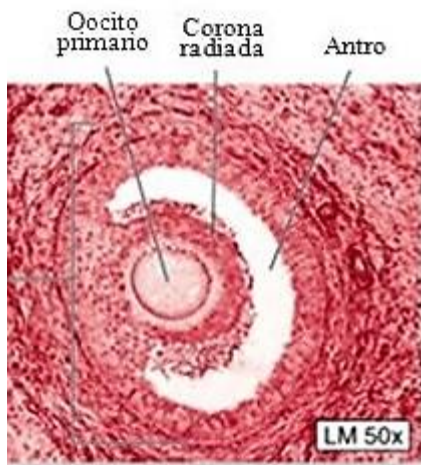


Figura 9. Corte de ovario en el que se observa un folículo secundario. Adaptada de Ortega Domínguez, 2015.

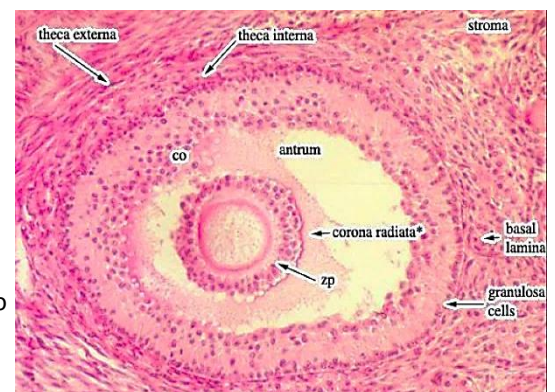
Las células estromales (foliculares) que rodean el ovocito se dividen formando diversas capas de células de la granulosa, las cuales secretan la glucoproteína que forma la zona pelúcida. Además, las células adyacentes a la lámina basal se multiplican y diferencian formando capas concéntricas, denominadas teca, alrededor del folículo. Las capas de células de la teca más externas son planas y de naturaleza fibromuscular (teca externa), mientras que las capas internas son más cuboidales (teca interna). Todo este desarrollo provoca al final la transformación del folículo en un folículo secundario (figura 9).

La duración de esta fase no está clara, pero se cree que es aproximadamente unos 2 días (Pocock y Richards, 2005).

- Folículo terciario:

Siempre que los valores hormonales circulantes sean adecuados, cualquier folículo con los receptores apropiados entrará en el estadio siguiente (figura 10). Por el contrario, los folículos secundarios que no poseen receptores hormonales experimentan un proceso de atresia, es decir, degeneran y mueren. Esta fase suele durar 8-10 días. Durante este tiempo, las capas celulares de la granulosa y

Figura 10. Corte de ovario en el que se observa un folículo terciario (María T., 2015)



tecales continúan aumentando de grosor. Además, las células de la granulosa comienzan a secretar líquido folicular alrededor del ovocito, el cual forma una cavidad llamada antro. De este modo, rodeado de células de la granulosa, el ovocito queda virtualmente suspendido en el líquido folicular, adquiriendo, a medida que avanza el desarrollo, una posición cada vez más alejada del centro del folículo (Pocock y Richards, 2005). Se empieza a observar de este modo el llamado complejo cúmulo-ovocito (CCO), el cual es el conjunto formado por el ovocito y el cúmulo, que son las células de la granulosa que lo rodean.

- Folículo de De Graaf:

Para que el folículo continúe con su desarrollo, se deben dar una serie de acontecimientos hormonales, de tal modo que el folículo que no lo lleve a cabo experimentará atresia. Por este motivo, aunque la mujer desarrolla varios folículos primordiales, solo uno de ellos llega a la ovulación, que sería el llamado folículo dominante. Este folículo dominante, una vez esté completamente desarrollado y listo para liberar el óvulo, da lugar al folículo de De Graaf.

Este estadio dura unas 36 horas, y durante este tiempo el folículo experimenta cambios. Comparado con el folículo terciario, su morfología es muy similar, presentando igualmente capas de células de la granulosa y de la teca y el antro. La diferencia entre uno y otro reside en que el folículo de De Graaf tiene un tamaño mayor que el folículo terciario, observándose un mayor grosor en las capas celulares que lo forman. Dentro de las células que forman la granulosa se distinguen dos subtipos: Las células murales (que rodean al antro) y las células del cúmulo (nombradas anteriormente), que darán lugar a respuestas y señales distintas en el momento de la ovulación. Por otra parte, cabe destacar que el ovocito adquiere en el folículo de De Graaf una posición completamente excéntrica (figura 11). Justo antes de la ovulación, ocurre en el CCO un proceso que se conoce con el nombre de expansión del cúmulo, donde se produce un aumento

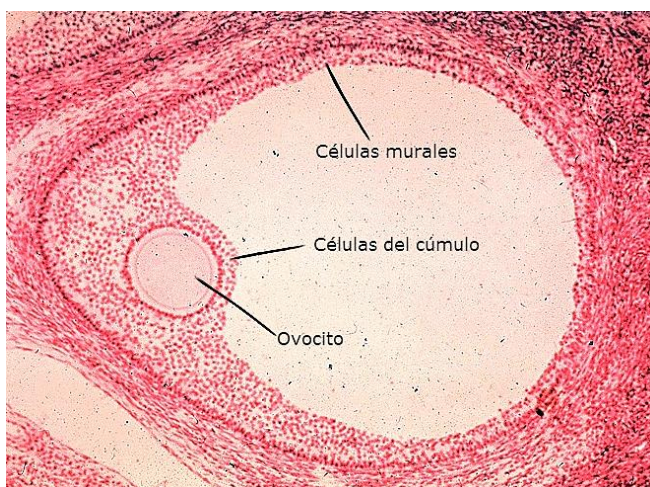


Figura 11. Corte de ovario en el que se observa un folículo de De Graaf. Adaptado de Talens, 2008.

del tamaño del CCO debido a la separación que se da entre las células del cúmulo. Durante la ovulación se produce la rotura del folículo y la liberación del óvulo a las trompas de Falopio, en los que juegan una función muy importante diversas moléculas de señalización, hormonas y procesos que explicaremos con detalle más adelante (Pocock y Richards, 2005).

- Cuerpo lúteo:

Después de la salida del óvulo y del líquido folicular, el resto del folículo se colapsa y dentro de la cavidad se forma un coágulo de sangre. Este folículo colapsado experimenta una transformación y se convierte en el cuerpo lúteo. En caso de fecundación, el cuerpo lúteo será el responsable de mantener el equilibrio hormonal que garantiza la implantación y el mantenimiento del embrión durante las primeras semanas del embarazo. En las horas siguientes a la expulsión del óvulo del ovario, las células foliculares residuales experimentan el proceso de luteinización: aumentan de tamaño y desarrollan inclusiones de lípidos, que dan al cuerpo lúteo su color amarillento.

Si el óvulo liberado no es fecundado, al cabo de 10-14 días el cuerpo lúteo degenera, dando lugar a la llamada luteólisis. Se produce el colapso de las células luteinizadas, isquemia y muerte celular. El cuerpo lúteo degenerado se forma aproximadamente el día 26 del ciclo, y deja una cicatriz blanquecina dentro del estroma ovárico, que persiste durante varios meses y que se conoce con el nombre de cuerpo albicans o blanco (Pocock y Richards, 2005).

Ciclo sexual femenino

Este ciclo tiene una media de 28 días de duración, pero suele variar de 20 a 35 días dependiendo de cada mujer. Incluye la ovogénesis y los cambios que se producen en el endometrio.

La regulación endocrina del ciclo se lleva a cabo a través del eje hipotálamo-hipófisis-ovario: La hormona hipotalámica liberadora de gonotropinas (GnRH) se secreta de forma pulsátil cada hora y una vez al mes, actuando sobre la adenohipófisis. Aquí controla la liberación de las hormonas LH y FSH,

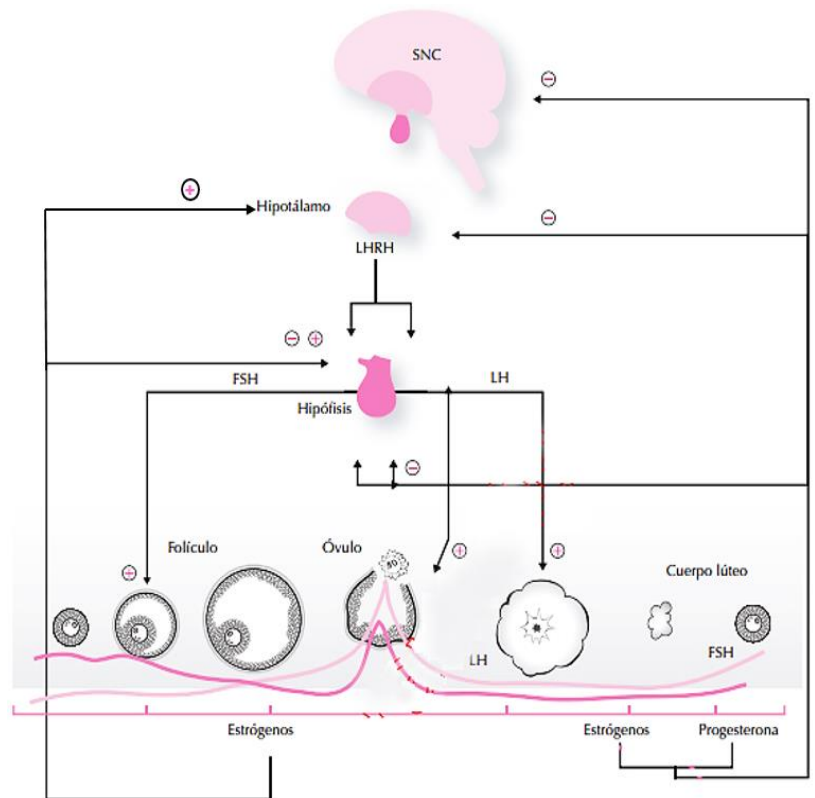


Figura 12. Esquema del eje hipotálamo-hipófisis-ovario. Adaptado de Tresguerres y cols., 2010.

que a su vez regulan en los ovarios el desarrollo adecuado del ciclo ovárico. Éstos, como respuesta, secretan estrógenos y progesterona, que afectan al útero y ejercen controles de retroalimentación positiva y negativa sobre el hipotálamo y la adenohipófisis. La retroalimentación negativa es la responsable de la autorregulación de las diferentes hormonas nombradas, de tal modo que la cantidad secretada de cada una sea la correcta para que el ciclo ocurra adecuadamente. La retroalimentación positiva de los estrógenos es la responsable del pico de LH que produce la ovulación (figura 12) (Saladin, 2013).

Para facilitar el estudio del ciclo sexual femenino se explican los cambios que ocurren en el ovario (ciclo ovárico) y los cambios que se producen en el endometrio uterino (ciclo menstrual) paralelamente a la regulación endocrina:

- Ciclo ovárico:

En el ciclo ovárico se distinguen tres fases:

1. Fase folicular: Se extiende desde el principio de la menstruación hasta la ovulación (días 1-14). La preparación para esta fase comienza casi dos meses antes de que se dé dicha ovulación. De este modo, poco después de la ovulación anterior, una nueva cohorte de folículos primordiales desciende de la corteza hacia la médula y empieza a crecer, de tal modo que al final solo uno de ellos termina de madurar para ovular el mes siguiente. Durante esta fase la FSH estimula el crecimiento continuo de todos los folículos de la cohorte, pero sobre todo el del folículo dominante, y favorece la secreción de estrógenos por parte de las células de la granulosa (figura 13), produciendo con ello un mecanismo de autopotenciación al favorecer esos estrógenos la proliferación de una mayor cantidad de células de la granulosa que darán lugar a mayores niveles de estrógenos. Además, al mismo tiempo, estos inhiben la secreción de GnRH en el hipotálamo, de tal modo que así la adenohipófisis irá secretando cada vez menos FSH, aumentando sin embargo la cantidad de LH secretada (figura 12). Es esta caída de niveles de FSH lo que provoca la atresia de la mayoría de los folículos, mientras que el folículo que persiste (al ser más sensible a bajos niveles de FSH) sigue creciendo produciendo al final de esta fase el folículo de De Graaf (Saladin, 2013).
2. Ovulación: Es la rotura del folículo maduro y la liberación de su óvulo y las células del cúmulo, lo cual ocurre alrededor del día 14. Los cambios que ocurren el día anterior lo hacen posible: Los estrógenos, mediante retroalimentación positiva, dan lugar al pico de LH y a la secreción de FSH en la adenohipófisis (figura 13). La LH induce varios acontecimientos. El ovocito primario completa la meiosis I, produciendo el ovocito

haploide secundario y el primer corpúsculo polar, mientras que el líquido folicular aumenta con rapidez, y el folículo se hincha. La pared folicular y el tejido ovárico adyacente se debilitan por la inflamación y la acción de una enzima proteolítica. Con la presión interna creciente y el debilitamiento de la pared se acaba produciendo la rotura del folículo maduro.

Mientras tanto, la trompa de Falopio se prepara para albergar el óvulo liberado, para lo cual se dilata con el fin de envolver al ovario (Saladin, 2013).

3. **Fase lútea:** Abarca los días 15-28, es decir, desde poco después de la ovulación hasta el inicio de la menstruación. A continuación, se explican los acontecimientos que ocurren en esta fase en el caso de que no haya embarazo:

Como hemos explicado previamente, el folículo al romperse colapsa, dando lugar a la formación del cuerpo lúteo. Esta transformación es regulada por la LH, y ésta estimula al cuerpo lúteo para que crezca y secrete cantidades crecientes de estrógenos y progesterona, aumentando esta última de manera destacable.

La progesterona es crucial en la preparación del útero ante la posibilidad de un embarazo, y junto con los estrógenos produce el efecto de retroalimentación negativa sobre la adenohipófisis que provoca la reducción de los niveles de LH y FSH (figura 12). Si no ocurre el embarazo, se forma el cuerpo albicans, y disminuye la secreción de estrógenos y progesterona, lo cual interrumpe la inhibición que sufría la adenohipófisis y hace que los niveles de FSH aumenten, comenzando de nuevo con el desarrollo de folículos (Saladin, 2013).

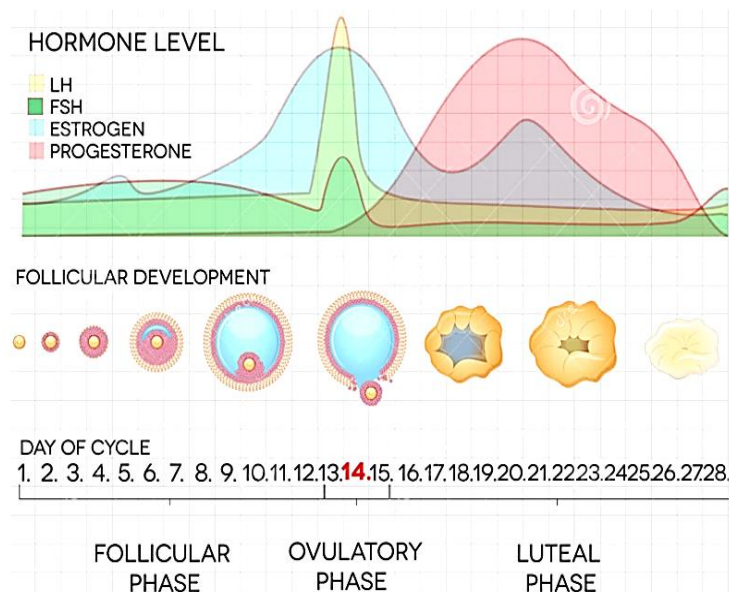


Figura 13. Esquema que muestra las variaciones hormonales a lo largo del ciclo ovárico. (Serna Suarez, 2015).

- Ciclo menstrual:

Ocurre de manera simultánea al ciclo ovárico. Consta de un desarrollo del tejido endometrial a través de casi todo el ciclo sexual, seguida de su desprendimiento y descarga por vía vaginal (menstruación). Esta descarga dura en promedio 5 días, y el primer día de la descarga vaginal notoria se define como el día 1 del ciclo sexual. Podemos dividir el ciclo menstrual en 4 fases:

1. Fase proliferativa: Durante esta etapa se reconstruye la capa de tejido endometrial (estrato funcional) que se pierde en la parte final de la menstruación. Al final de la menstruación, alrededor del día 5, el endometrio mide casi 0,5 mm de grosor y solo contiene el estrato basal, pero a medida que se desarrolla una nueva cohorte de folículos en el ovario, estos segregan más estrógenos. Estas hormonas favorecen la mitosis en el estrato basal y el crecimiento de los vasos sanguíneos, por lo que se regenera el estrato funcional. De este modo, en el día 14, el endometrio mide de 2 a 3 mm de grosor.

Los estrógenos también estimulan a las células endometriales para que produzcan receptores de progesterona, preparándolas para la fase secretora (Saladin, 2013).

2. Fase secretora: En esta fase el endometrio se engrosa aún más, pero como resultado de la secreción y acumulación de líquido en lugar de mitosis. Esta fase se extiende desde el día 15 (después de la ovulación) hasta el día 26.

La progesterona que es liberada por el cuerpo lúteo después de la ovulación estimula las células endometriales para que formen depósitos de lípidos y glucógeno en su citoplasma que servirán de nutrientes para el embrión. Las glándulas se hacen más anchas, largas y enrolladas, y la lámina propia se hincha con líquido tisular. Al final de esta fase, el endometrio tiene 5-6 mm de grosor, constituyendo así la capa perfecta para albergar al embrión en el caso de que haya embarazo (Saladin, 2013).

3. Fase premenstrual: Se corresponde con los dos últimos días del ciclo, y consiste en un periodo de degeneración endometrial. Al no haber embarazo el cuerpo lúteo se colapsa disminuyendo con ello los niveles de progesterona, y esta disminución desencadena contracciones de las arterias del endometrio, provocando con ello isquemia endometrial y necrosis del tejido.

A medida que las glándulas endometriales, el estroma y los vasos sanguíneos degeneran, se acumulan depósitos de sangre en el estrato funcional. El endometrio que ha necrosado se desprende de la pared uterina, se mezcla con sangre y líquido seroso en la luz y forma el líquido menstrual (Saladin, 2013).

4. **Fase menstrual:** Cuando se acumula suficiente líquido menstrual en el útero, empieza a descargarse de la vagina, dando lugar a esta fase. La mujer, de media, expulsa casi 40 mL de sangre y 35 mL de líquido seroso en cinco días. El líquido menstrual contiene fibrinolisisa, de modo que no se coagula, y de hecho, la descarga vaginal de sangre coagulada puede indicar una patología uterina más que menstruación normal (Saladin, 2013).

A continuación, se presenta un cuadro resumen (tabla 1) de las fases del ciclo ovárico, haciendo referencia a aspectos de la foliculogénesis y de la ovogénesis:

Días	Fase	Características principales
1 a 14	Fase folicular	Desarrollo de los folículos ováricos y secreción importante de estrógenos. Coincide con las fases menstrual y proliferativa del ciclo menstrual.
	Folículo primordial	Se forma antes del nacimiento y muchos persisten en la edad adulta. Consta de un ovocito rodeado por una sola capa de células foliculares planas.
	Folículo primario	Consta de un ovocito rodeado por una capa de células foliculares cilíndricas.
	Folículo secundario	Alrededor del ovocito se forman las células de la granulosa a partir de las células foliculares, la zona pelúcida y las células de la teca.
	Folículo terciario	Se forma un antro grande lleno de líquido folicular y se observa el complejo cúmulo-ovocito, corona radiata, zona pelúcida y teca de dos capas.
	Folículo dominante	Folículo terciario cuyo ovocito está destinado a liberarse en la ovulación. Secreta sobre todo estrógenos.
	Folículo de De Graaf	Folículo dominante que se forma al final del desarrollo justo antes de la ovulación. Presenta una presión de líquido interno elevada a medida que se debilita la pared ovárica adyacente.
14	Ovulación	Rotura del folículo maduro y liberación del óvulo.
15 a 28	Fase lútea	Dominada por el cuerpo lúteo, coincide con las fases secretoras y premenstruales del ciclo menstrual.
	Cuerpo lúteo	Se desarrolla a partir del folículo vacío por proliferación de las células de la granulosa y de la teca. El aumento de la progesterona hace posible la fase secretora del ciclo menstrual.
	Cuerpo albicans	Producido por la involución del cuerpo lúteo, sin actividad hormonal. Al disminuir la progesterona, se produce isquemia, necrosis y renovación del tejido endometrial, formándose el líquido menstrual.

Tabla 1. Cuadro resumen de las fases del ciclo ovárico con su relación con las etapas de ovogénesis y foliculogénesis. Transcrito y adaptado de Saladin, 2013.

Mecanismos de la ovulación

El éxito de la ovulación depende en gran medida de la coordinación y sincronización de señales endocrinas, paracrinas, inmunológicas y metabólicas del complejo cúmulo-ovocito: Las células del cúmulo participan en el crecimiento de los folículos, en la maduración del ovocito, en la detención y posterior reanudación de la meiosis, en la liberación del ovocito y en cubrir las necesidades metabólicas de éstos. A su vez los ovocitos regulan la actividad metabólica, el crecimiento y la diferenciación de las células del cúmulo (Russell y Robker, 2007).

La ovulación es un proceso complejo que comienza con la reanudación de la meiosis por parte del ovocito que se encontraba en fase diploteno, hasta que se produce una ruptura de la pared del folículo que permite la liberación del óvulo maduro, seguida de una reestructuración y diferenciación del tejido para dar lugar al cuerpo lúteo.

Este proceso se produce gracias a una cascada de eventos que se inician en el folículo gracias al pico de gonadotropinas, es decir, el pico de la hormona luteinizante (LH) y el pico de la hormona folículo-estimulante (FSH). Como respuesta a este estímulo, se producen cambios en la expresión de genes y en la estructura folicular, con consecuencias diferentes en las células de la teca, de la granulosa, cúmulo y el ovocito (figura 14) (Russell y Robker, 2007).

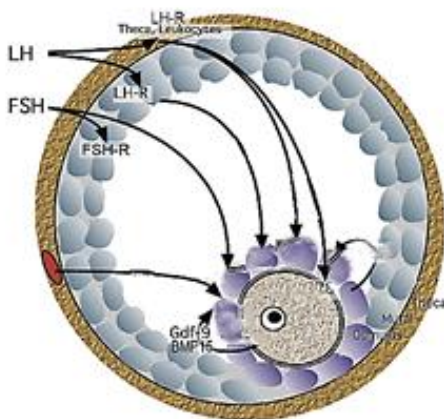


Figura 14. Señalización de FSH y LH, y de los factores de crecimiento GDF-9 y BMP15 sobre las células de la granulosa del folículo dominante. Adaptada de Russell y Robker, 2007.

De todos los mecanismos moleculares y sustancias implicados en la ovulación, describiremos algunas que destacan especialmente debido a su importancia.

- Señalización intracelular y comunicación intercelular:

Las moléculas más importantes implicadas en la señalización intracelular y comunicación intercelular que hacen posible la maduración y liberación del ovocito son:

a) Adenosín monofosfato cíclico (AMPC) y guanosín monofosfato cíclico (GMPc):

Como hemos explicado anteriormente, la meiosis de los ovocitos comienza durante el desarrollo embrionario para llegar a la fase diploteno. En el momento de la ovulación, la LH actúa sobre las células murales de la granulosa para reiniciar la meiosis.

Gracias a estudios realizados hace más de dos décadas, se sabe que se requieren altos niveles de adenosín monofosfato cíclico (AMPC) para mantener detenida la meiosis del ovocito (Cho y cols., 1974; Dekel y Beers, 1978). Sin embargo, no solo el AMPC juega un papel importante en esto, sino que también los cambios en los niveles de guanosín monofosfato cíclico (GMPc) van a controlar la meiosis del ovocito.

Estudios recientes muestran que la inhibición de la meiosis depende del GMPc, el cual difunde desde las células de la granulosa hasta el ovocito a través de las uniones tipo gap que conectan todas las células del folículo (Norris y cols., 2009; Richard y Baltz, 2014) (figura 15). En el ovocito, el GMPc inhibe la degradación del AMPC, mediante inactivación de la enzima fosfodiesterasa PDE3A. De este modo, se producen en el ovocito altos niveles de AMPC, lo cual inhibe la progresión de la meiosis (Holt y cols., 2013; Hunzicker-Dunn y Mayo, 2015; Dupré y cols., 2014) (figura 15) (Shuhaibar y cols., 2015).

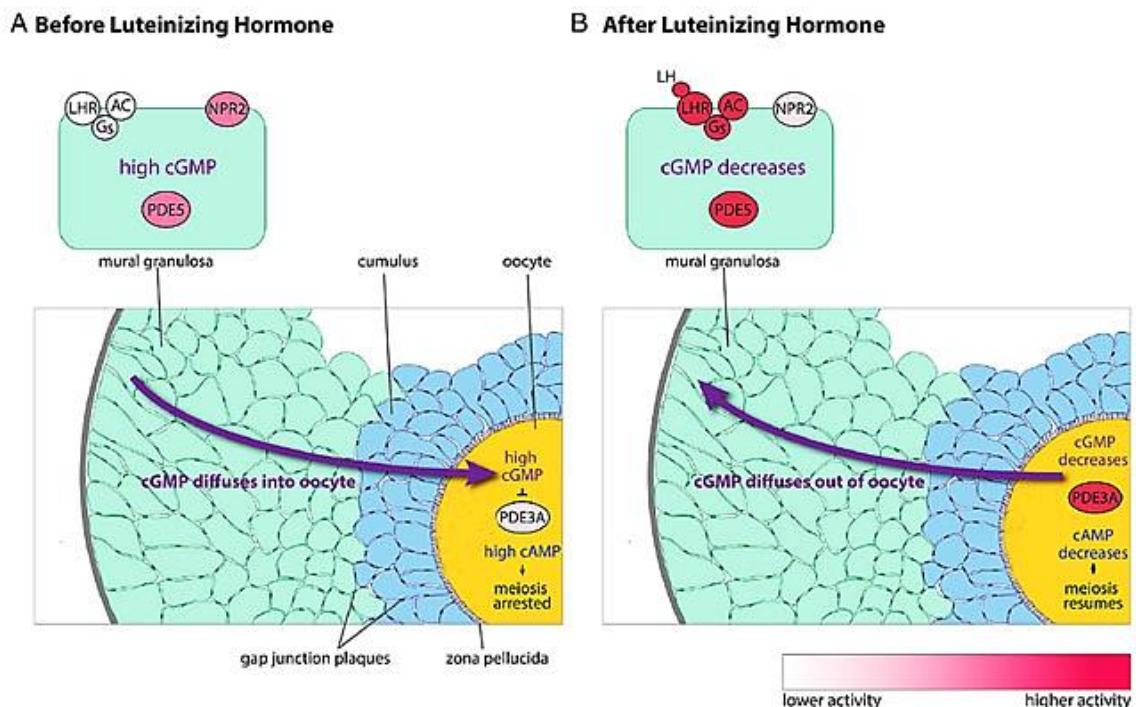


Figura 15. Esquema de la función del GMPc en la reanudación de la meiosis y la señalización implicada en dicha acción. Adaptada de Shuhaibar y cols., 2015.

También estudios recientes han mostrado que el GMPc producido por las células de la granulosa es regulado por el péptido natriurético tipo C (CNP). Esta hormona es secretada por las células murales de la granulosa y lleva a cabo sus efectos a través de la unión a su receptor NPR2, lo que mantiene altos los niveles de GMPc. El aumento de la LH, previo a la ovulación, inactiva el NPR2, disminuyendo la concentración de GMPc y en consecuencia las del ovocito (Kawamura y cols., 2011). Esta disminución hace que disminuya el AMPc en el ovocito y se reanude la meiosis. Además, contribuye que la señal de la LH también incrementa el contenido ovárico de los ligandos del receptor EGF (Epidermal growth factor), de modo que mediante la activación de este receptor se produce una disminución de los niveles de GMPc en el CCO (Wang y cols., 2013).

La señalización de la LH se inicia en las células murales de la granulosa, ya que los receptores de LH (asociados a proteínas G y adenilato ciclase) se encuentran en estas células y están ausentes tanto en el ovocito como en las células del cúmulo (Wang y Greenwald, 1993; Eppig y cols., 2002) (figura 15). Los eventos que esto desencadena por tanto dan lugar a que la meiosis se reanude, debido a una reducción de los niveles de GMPc en el ovocito mediante la activación de la enzima fosfodiesterasa PDE5 (que hidroliza el GMPc) y la inactivación de NPR2 (figura 15) (Shuhaibar y cols., 2015).

Las proteínas de las uniones comunicantes o gap presentes entre el ovocito y las células de la granulosa van a regular la comunicación entre estas células. Cambios en la permeabilidad de estas uniones permiten el paso de sustancias reguladoras, metabolitos y nutrientes de una a otra célula. Una de esas sustancias es el GMPc.

De estas proteínas, caben destacar dos conexinas: La conexina-43 (que predomina en las uniones de las células murales entre sí), y la conexina-37 (que predomina en las uniones entre las células del cúmulo y el ovocito) (Beyer y cols., 1989; Simon y cols., 1997). Estas conexinas también van a sufrir la acción provocada por la LH (Conti y cols., 2012). Sin embargo, el mecanismo concreto mediante el cual esto ocurre es poco conocido. Se ha demostrado que la señal provocada por la LH reduce la permeabilidad de las uniones tipo gap, en concreto en las conexinas-43 (no en las conexinas-37), pero la meiosis puede continuar sin que esto ocurra (Norris y cols., 2008; Conti y cols., 2012), lo cual se opone a que el cierre de estas uniones tipo gap sea un mecanismo imprescindible para la transmisión de la señal. Además, la señal de la LH también reduce los niveles de GMPc en el folículo en sí, sugiriendo por tanto que el descenso de los niveles de GMPc en el ovocito es una consecuencia de la caída de estos niveles alrededor del mismo, ya que todo está conectado

mediante uniones tipo gap y se produce una difusión a través de estas uniones (Törnell y cols., 1991) (figura 15) (Shuhaibar y cols., 2015).

Para examinar si el descenso de GMPc inducido por la LH en las células del cúmulo ocurre por difusión a través de las uniones tipo gap, en un estudio se preincubaron los folículos con carbenoxolona, la cual inhibe la comunicación a través de estas uniones dentro del folículo (Norris y cols., 2008). Aunque inicialmente no se observó efecto sobre los niveles de GMPc en las células murales ni en las del cúmulo, finalmente se produjo un descenso de los niveles de GMPc en el ovocito, debido a la desconexión producida entre las células murales y las del cúmulo, en las cuales, como dijimos anteriormente, se produce el GMPc. Como consecuencia, la carbenoxolona causó la reanudación de la meiosis. En estas condiciones, inicialmente la LH realiza su acción sobre los receptores de la LH presentes en las células murales, de modo que se produce el descenso de GMPc en las mismas, pero no en las células del cúmulo. En este punto, la falta de propagación del descenso de GMPc hacia las células del cúmulo (como ocurriría en condiciones normales) en aquellos folículos tratados con carbenoxolona, indica que la comunicación mediante las uniones gap es necesaria para que se produzca una rápida disminución de los niveles de GMPc en las células del cúmulo y se reanude la meiosis (Shuhaibar y cols., 2015).

En este mismo estudio, se observó que, pasadas dos horas, las uniones tipo gap eran capaces de mantener por sí mismas niveles bajos de GMPc en el cúmulo. Esto parece deberse sobre todo a los ligandos del receptor EGF liberados en las células murales de la granulosa, que actúan sobre el cúmulo (Vaccari y cols., 2009; Norris y cols., 2010) por un mecanismo desconocido, y también debido al descenso del péptido agonista de NPR2 (Norris y cols., 2010; Kawamura y cols., 2011). De este modo, se concluye que están implicadas diferentes señales que dan lugar a una disminución inicial del GMPc en las células del cúmulo, y que se mantiene posteriormente. Una vez que se han reducido los niveles de GMPc tanto en las células murales como en el cúmulo, la cantidad de GMPc existente en el pequeño volumen que ocupa el ovocito se equilibra con el gran volumen que supone el folículo, lo cual se consigue gracias a la conexión a través de las uniones tipo gap (Shuhaibar y cols., 2015).

b) Fosfodiesterasa PDE4D:

La fosfodiesterasa PDE4D es un importante regulador de la acumulación de AMPc en las células de la granulosa mediado por la LH (Tsafiri y cols., 1996), necesario para que se dé una ovulación normal. En unos estudios se observó que los ratones con falta de PDE4D exhibían una velocidad de ovulación y un tamaño de las camadas drásticamente reducidos,

debido a una respuesta alterada de las células de la granulosa al pico de la LH y a una expresión reducida de los genes implicados en la ovulación (Jin y cols., 1999; Park y cols., 2003). Sin embargo, en estos ratones se demostró que los folículos preovulatorios morfológicamente normales, aunque reducidos en número, todavía expresaban genes implicados en la ovulación (Park y cols., 2004). De este modo, la falta de PDE4D hace que se acumule AMPc de tal forma que los folículos exhiben una luteinización prematura y un atrapamiento de los ovocitos en folículos luteinizados inmaduros (Russell y Robker, 2007).

c) Factores de crecimiento GDF-9 y BMP-15:

El ovocito juega un papel importante en la regulación y promoción del crecimiento folicular, y por tanto en su propio desarrollo, mediante la producción de factores de crecimiento que actúan sobre todo sobre las células de la granulosa mediante señales paracrinas. De estos factores de crecimiento secretados por el ovocito, hay dos que son de especial importancia: el factor GDF-9 (growth and differentiation factor-9) y el BMP-15 (bone morphogenetic protein-15). Ambos promueven el crecimiento folicular, el desarrollo restrictivo del folículo dominante y regulan el metabolismo, la proliferación y diferenciación de las células de la granulosa del cúmulo (Otsuka y cols., 2011).

Hay evidencias de que el GDF-9 es esencial para el desarrollo folicular en las etapas previas a la formación del antro, ya que el GDF-9 promueve la supervivencia folicular inhibiendo la apoptosis de las células de la granulosa y la atresia de los folículos (Orisaka y cols., 2006). Esto se debe, en parte, a la estimulación que produce el GDF-9 sobre la expresión de los receptores de la FSH, la cual es esencial para el crecimiento del antro en respuesta a esta hormona (Otsuka y cols., 2011).

También, el GDF-9 tiene una función importante durante las fases finales del crecimiento folicular, previo a la ovulación, ya que, antes del pico de LH, las células del cúmulo requieren de GDF-9 para que se lleven a cabo una serie de vías metabólicas como la glicólisis (Sugiura y cols., 2005). Este control metabólico sobre las células del cúmulo es también esencial para el desarrollo folicular en sus etapas preovulatorias, lo cual vuelve a poner de manifiesto la importancia de este factor en dicho desarrollo (Otsuka y cols., 2011).

El GDF-9 también influye en el control de las funciones de las células de la teca. Estudios *in vivo* mostraron que mediante inyecciones intraperitoneales de GDF-9 en ratas jóvenes, se produce la progresión de los folículos primordiales y primarios a pequeños folículos secundarios, así como un aumento en un marcador específico de las células de la teca (CYP17) (Vitt y cols., 2000). De este modo se vio que las acciones del GDF-9 en las células de

la teca, así como en las de la granulosa, son importantes para la promoción del crecimiento folicular (Otsuka y cols., 2011).

Por otro lado, el BMP-15 presenta una expresión creciente en relación al crecimiento del folículo y su desarrollo. Se ha visto en ratas que el BMP-15 estimula la proliferación de células de la granulosa indiferenciadas con independencia de la acción de la FSH (Otsuka y cols., 2000). Sin embargo, existe una autorregulación por parte del mismo BMP-15, ya que puede también inhibir la acción de la FSH suprimiendo la expresión de su receptor en las células de la granulosa (Otsuka y cols., 2001). Esto, en combinación con el efecto de otras moléculas, permite una inducción efectiva de la proliferación de las células de la granulosa.

El BMP-15 también está involucrado en la regulación de la apoptosis de las células del cúmulo, ya que contribuye a disminuir la apoptosis de estas células hasta el momento de la ovulación. Esto no se ha visto con el GDF-9 (Hussein y cols., 2005). Del mismo modo, el BMP-15 está relacionado con la estimulación de la expansión del cúmulo (Yoshino y cols., 2006) mediante el aumento de la expresión del receptor EGF, el cual ya hemos mencionado anteriormente que responde a la señal producida por la LH y por tanto es imprescindible para la respuesta de las células del cúmulo a dicha señal. Esta intensificación de la expresión del receptor EGF también se ha observado con GDF-9, de modo que este factor de crecimiento también juega un papel crucial en la expansión del cúmulo (Su y cols., 2010).

En estudios con ratones que carecen de GDF-9 se muestra un bloqueo en la foliculogénesis en las etapas tempranas (Dong y cols., 1996; Elvin y cols., 1999), de modo que no se llega a dar la formación de folículos preovulatorios. Sin embargo, mutaciones del BMP-15 en ratones solo producen sutiles alteraciones del crecimiento folicular y de la ovulación, sugiriendo que el BMP-15 parece jugar un papel más importante en combinación con el GDF-9 (Yan y cols., 2001).

Sin embargo, hay diferencias entre las distintas especies, por lo que es posible que lo demostrado en ratones sea diferente a lo que ocurre en el ser humano. Por ello, vamos a analizar algunos estudios realizados en mujeres que presentan mutaciones en estos factores de crecimiento:

La identificación de variantes del GDF-9 en pacientes con fallo ovárico prematuro (Dixit y cols., 2006; Zhao y cols., 2007) sugiere una función alterada del GDF-9 en la disfunción ovárica. Además, mutaciones en el GDF-9 han sido detectadas también en madres de mellizos, sugiriendo que algunas variantes de estas mutaciones pueden estar ligadas a un fenotipo poliovulatorio. Tres mutaciones conocidas del GDF-9 (GDF-9^{P103S}, GDF-9^{P374L} Y GDF-

9^{R454C}) están significativamente relacionadas con una velocidad de ovulación mayor en mujeres (Palmer y cols., 2006). De todo esto se concluye que el GDF-9 parece alterar la velocidad de ovulación en mujeres (Otsuka y cols., 2011).

Es interesante destacar que muchas de estas mutaciones parecen influir en la dimerización de la proteína madura, alterando la formación de la proteína funcional (Otsuka y cols., 2011).

Asimismo, se ha encontrado una relación entre el síndrome de ovario poliquístico (SOP) y la alteración del GDF-9. El SOP es una de las causas más comunes de la falta de ovulación, infertilidad e irregularidades en la menstruación (Otsuka y cols., 2011). El análisis de tejido ovárico en mujeres con SOP ha revelado que la expresión del ARNm de GDF-9 se encuentra reducida durante las fases de crecimiento y diferenciación del óvulo, mientras que el BMP-15 no se ve alterado (Teixeira Filho y cols., 2002). El hecho de que solo el GDF-9 se vea afectado puede ser debido al papel específico de este factor de crecimiento en mantener la estructura folicular. Sin embargo, hay resultados controvertidos que demuestran que esta relación entre el SOP y el GDF-9 no es tan significativa (Zhao y cols., 2010).

Por otro lado, se han demostrado también funciones críticas en la fertilidad de las mujeres por parte del BMP-15. La primera mutación en mujeres del BMP-15 que fue asociada a un fallo hipergonadotrópico ovárico fue la BMP-15^{Y235C}, pero también se han descubierto otras numerosas mutaciones que provocan fallos en la ovulación (Otsuka y cols., 2011). Además, también se han descubierto mutaciones en este factor de crecimiento en madres de mellizos (Montgomery y cols., 2004; Palmer y cols., 2006), al igual que ocurría con el GDF-9, por lo que también se han encontrado similitudes entre las mutaciones de BMP-15 y las de GDF-9.

Todas las mutaciones del BMP-15 afectan a la estructura final de la proteína, de tal modo que la mutación debería ser indetectable si la maduración ocurre de manera normal. Sin embargo, se reduce la producción de la proteína madura de BMP-15, y lo mismo ocurre con GDF-9 (Inagaki y Shimasaki, 2010). Es necesaria una mayor investigación para poder dilucidar el verdadero efecto que esto tiene en la ovulación y en el nacimiento de mellizos (Otsuka y cols., 2011).

Ya que tanto el GDF-9 como el BMP-15 se encuentran presentes en los folículos durante la mayoría de las etapas de su crecimiento, es posible que estos factores de crecimiento actúen de manera sinérgica o redundante en procesos en los que se ha observado una actividad similar por sí solos. De hecho, en algunos estudios en células de la granulosa se ha

demostrado que un tratamiento combinado de ambos factores produce diferentes efectos a los que mostraban con cada proteína por separado (Otsuka y cols., 2011).

- Remodelación de la matriz extracelular:

Para que la liberación del óvulo ocurra, es imprescindible que se produzca la ruptura del apéndice folicular, y que este proceso ocurra de manera correcta. En el apéndice folicular, las capas que componen la matriz extracelular se hacen primero más finas para después romperse gracias a una combinación de acción proteolítica, muerte celular y migración de los fibroblastos tecales desde la zona apical (Espey, 1994). Las células epiteliales superficiales mueren a través de una apoptosis y se mudan de la región apical (Murdoch y cols., 1999).

Presumiblemente, se requiere una actividad fibrilar colagenasa para degradar las fibras gruesas de colágeno que se encuentran en la teca. En el conejo, se descubrió que la pro-MMP1 (colagenasa intersticial tipo-I) presenta una concentración creciente en el apéndice folicular en el momento de la ovulación (Tadakuma y cols., 1993). Sin embargo, no se han identificado claramente enzimas que estén directamente involucradas y no hay evidencias fuertes para implicar a la MMP-1 u otras proteasas específicas en la ruptura del folículo. Aun así, se puede concluir que la ovulación se asegura a través de una serie de actividades de proteasas que se solapan para dar lugar a la ruptura del apéndice folicular (Russell y Robker, 2007).

Algunos estudios han mostrado tratamientos que han dado lugar a la ruptura del folículo en otras regiones distintas al apéndice. La inhibición de COX-2 (ciclooxigenasa-2) usando indometacina interrumpe la vía normal de la ruptura folicular, causando una ruptura al azar en los espacios vasculares e intersticiales en el lado basal de algunos folículos (Osman y Dullaart, 1976; Gaytan y cols., 2003). Sorprendentemente, este tratamiento no parece bloquear la expansión del cúmulo, lo cual sería una consecuencia esperada en el bloqueo de la acción de la COX-2 (Ochsner y cols., 2003). La ruptura basal de los folículos también ocurre tras una inhibición del sistema activador de plasminógeno a través del uso de anticuerpos o antiplasmina (Tsafriri y cols., 1989).

Hasta la fecha, la única proteasa que se ha demostrado que es esencial para la ruptura folicular es ADAMTS-1:

La proteasa extracelular ADAMTS-1 (disintegrin and metalloprotease with thrombospondin motifs-1) es un miembro de la familia de las metaloproteasas ADAMTS, que es secretada por las células de la granulosa de los folículos gracias al pico de la LH, a través de un mecanismo dependiente de progesterona y de la interacción de la misma con su receptor. ADAMTS-1 se

sintetiza en las células murales de la granulosa, pero la secreción de la forma final se localiza selectivamente en la matriz extracelular y en las células que surgen de la expansión del cúmulo, sugiriendo con ello que es en el CCO donde realiza su principal efecto (Russell y cols., 2003).

Estudios realizados en ratones han demostrado que aquellos que carecen de ADAMTS-1 tienen una velocidad de ovulación reducida en un 70-90% respecto a lo normal, con ovocitos atrapados dentro de folículos luteinizados, y una reducción del 75% en el tamaño de las camadas (Shindo y cols., 2000; Mittaz y cols., 2004). Esto permite concluir que ADAMTS-1 es un importante mediador de los efectos de la LH y de la progesterona en la ovulación, y que por tanto tiene una acción clave en la misma (Russell y Robker, 2007).

Entre los sustratos de ADAMTS-1 se encuentra el versicano, un gran proteoglicano que es estimulado por el pico de LH. Al igual que ADAMTS-1, el versicano es producido en las células murales de la granulosa, pero la mayoría de la proteína es incorporada a la matriz de las células del cúmulo en el periodo cercano a la ovulación, de modo que también realiza su acción en el CCO (Russell y Robker, 2007). Esta incorporación se produce gracias a que el versicano se une a las moléculas de hialuronano, que enriquecen la matriz que rodea al CCO expandido, a través de su residuo N-terminal (Russell y cols., 2003).

La LH activa muchos procesos dentro de la matriz extracelular. Entre estos procesos, se ha demostrado que la expansión de la matriz que rodea al cúmulo y al ovocito es esencial para la ovulación (Russell y cols., 2003).

El principal componente de la matriz expandida del CCO son las grandes moléculas de hialuronano, producidas a través de la expresión en el cúmulo de la hialuronano-sintasa 2 (HAS-2) y activadas en respuesta a la LH, así como factores de crecimiento intrafoliculares (Salustri y cols., 1999). Como se ha comentado anteriormente, la proteína del versicano, ligado al hialuronano, se localiza en la matriz expandida del CCO (Russell y cols., 2003). Asimismo, se ha demostrado que la proteasa ADAMTS-1 escinde el versicano a través de su residuo N-terminal, lo cual puede dar como resultado una alteración de las interacciones del mismo, de la estructura de la matriz y de sus propiedades de unión (figura 16) (Wu y cols., 2002).

Debido a que la producción de ADAMTS-1 está relacionada con la ovulación, se realizó un estudio para investigar la localización concreta y la función de ADAMTS-1 en los ovarios durante la ovulación, mediante la utilización de anticuerpos contra dos regiones peptídicas de la ADAMTS-1 en ratones. Asimismo, el producto de la escisión del versicano producido por acción de ADAMTS-1 se identificó usando anticuerpos, encontrándose una correlación positiva entre la

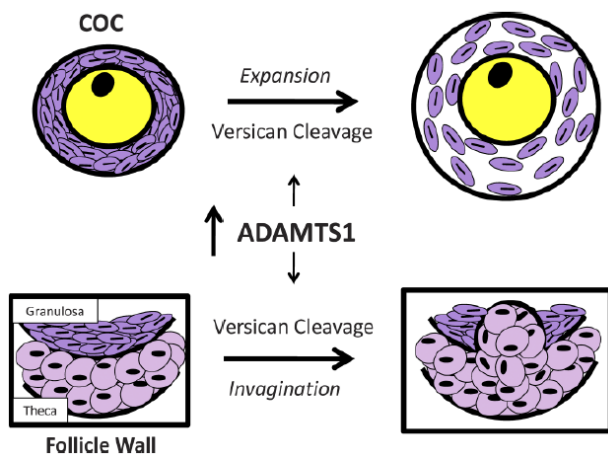


Figura 16. Esquema de la expansión del cúmulo y escisión del versicano producido por ADAMTS-1 (Curry, 2010).

abundancia del producto y la expresión de ADAMTS-1 y su localización en la matriz del CCO en expansión durante la ovulación. Los resultados confirmaron que ADAMTS-1 se acumula específicamente en la matriz del CCO y que el versicano es un sustrato de ADAMTS-1 durante la expansión de la CCO y justo antes de la ovulación. En conclusión, ADAMTS-1 parece tener una importante función para facilitar la liberación de la masa cúmulo-ovocito, ya que su acción consistiría en promover la salida del CCO mediante la ruptura de las uniones que

hay entre el CCO y el resto del folículo, provocando con ello la disolución de la matriz folicular (figura 16) (Russell y cols., 2003).

Por otro lado, hay miembros de esta familia de proteasas que parecen tener alguna función en otras especies como vacas (Madan y cols., 2003) o ratones, como es ADAMTS-4, que es inducida por la LH en las células murales y del cúmulo, y ADAMTS-5, que es expresada en las células de la granulosa de todos los folículos sanos (Richards y cols., 2005). Aunque estas otras ADAMTS relacionadas parecen rescatar funciones que se pierden por la falta de ADAMTS-1, se sigue aun observando una fertilidad menor. Ratones con deficiencia en ADAMTS-4 y ADAMTS-5 no presentan defectos en la fertilidad (Stanton y cols., 2005), indicando que únicamente ADAMTS-1 juega un papel crítico y no redundante en la ovulación. Sin embargo, diferentes estudios han sugerido que otras proteínas aún por identificar pueden actuar en cooperación con ADAMTS-1 en la destrucción tisular y la ruptura folicular (Russell y Robker, 2007).

- Cambios en la expresión génica:

a) Regulación de la transcripción de genes:

Las vías de señalización inducidas por la LH modifican rápidamente la maquinaria transcripcional de las células murales de la granulosa, reprogramando la función celular

hacia la ovulación y la formación del cuerpo lúteo. La extensa reprogramación de expresión de genes después del pico de LH se consigue a través de la modulación de reguladores transcripcionales, los cuales median la transcripción de los genes efectores (Russell y Robker, 2007).

Varios genes periovulatorios muestran un patrón común de inducción transcripcional, involucrando la unión de los factores de transcripción Sp1 y Sp3 a sus promotores. Estos factores están presentes en las células de la granulosa de manera constitutiva, pero se unen a una secuencia específica y esta unión a promotores de genes está regulada por la LH (Russell y Robker, 2007).

La actividad de Sp1 y Sp3 induce la expresión de factores de transcripción adicionales que van a contribuir a una cascada de expresión de genes ovulatorios. Se ha descubierto que la inducción de receptores de progesterona (PR) en las células murales de la granulosa de ratones y ratas ocurre en respuesta al pico de LH a través de un mecanismo dependiente de AMPc (Sriraman y cols., 2003; Sriraman y Richards, 2004), que requiere la unión de Sp1 y Sp3 a múltiples sitios del promotor de PR (Sriraman y cols., 2003) y el consiguiente reclutamiento de factores de transcripción adicionales. Existen dos isoformas de PR que son producidas por distintos promotores dentro del mismo gen: PR-A y PR-B. Los ovarios humanos expresan ambas, pero PR-A es dominante (Stouffer, 2003). Sin embargo, la regulación de cada isoforma en los folículos ovulatorios aún no se ha determinado (Russell y Robker, 2007).

Estos factores de transcripción inducidos por la LH activan la transcripción de genes efectores de la ovulación. Por ejemplo, a través de Sp1/Sp3 y dependientes de PR, se inducen proteasas de la matriz extracelular muy importantes, como es ADAMTS-1.

De este modo, la cascada de expresión de diversos genes periovulatorios en las células murales de la granulosa implica la inducción y el reclutamiento de una serie de factores de transcripción que, a su vez, inducen la transcripción de genes efectores de la ovulación. Estos genes ovulatorios exhiben un patrón característico de ARNm y expresión proteica que es paralelo a los niveles de LH: Esto es un aumento después del pico de LH seguido de una disminución (Russell y Robker, 2007).

Cabe destacar tres reguladores transcripcionales de genes efectores esenciales para la ovulación: PR, RIP140 y Egr-1 (Early growth response-1).

PR regula la ruptura folicular que se da en la ovulación. Antagonistas del PR o inhibidores de la síntesis de progesterona reducen o bloquean completamente la ovulación en muchas especies, incluyendo humanos (Baird y cols., 2003). Antes de la ovulación, las células de la granulosa empiezan a expresar progesterona en los días previos al pico de LH (Gore-Langton y Armstrong, 1994; Richards, 1994), mientras que los PR son inducidos después de dicho pico, y son activados inmediatamente por la alta concentración de ligandos que hay en su entorno. Como hemos comentado anteriormente entre los genes dependientes de PR está la proteasa ADAMTS-1 (Robker y cols 2000).

RIP140 es un co-regulador de la transcripción que se expresa sobre todo en las células de la granulosa, previamente a la ovulación, y posteriormente su expresión es inhibida después del pico de LH (White y cols., 2000). Este co-factor regula una amplia variedad de genes que están involucrados en la ruptura del folículo, sugiriendo que forma parte de un complejo transcripcional que se genera en la granulosa de los folículos ovulatorios (Russell y Robker, 2007). En ratones hembra que carecen de RIP140 se ha observado un crecimiento folicular y una luteinización aparentemente normal, pero también han mostrado un bloqueo en la ovulación debido a un fallo en la inducción de numerosos genes importantes de las células murales y del cúmulo, tales como ADAMTS-1 y COX-2 (Tullet y cols., 2005).

El pico de LH también inicia una rápida inducción del factor de transcripción Egr-1. Se ha visto que los ratones hembra con falta de Egr-1 son infértiles, primeramente debido a la pérdida de secreción de LH, por su función en la expresión del gen de la LH en la adenohipófisis (Lee y cols., 1996; Topilko y cols., 1998). También se ha mostrado que Egr-1 activa la expresión de los receptores de la LH (Topilko y cols., 1998; Yoshino y cols., 2002). De este modo, la fertilidad parece estar controlada en múltiples niveles por Egr-1, incluyendo tanto la adenohipófisis como el ovario durante los procesos ovulatorios (Russell y Robker, 2007).

Patologías que afectan a la ovulación

La ovulación puede verse afectada por una serie de factores que repercuten en su desarrollo normal y, por tanto, en la consecución de una liberación del óvulo correcta. Algunos de estos factores son naturales o bien se deben al estilo de vida de la mujer, como serían la edad, el estrés, el tabaco... Pero, sin embargo, existen patologías que afectan en gran medida a la ovulación y que producen infertilidad anovulatoria.

- Endometriosis:

Es una patología crónica benigna que cursa con la aparición de tejido endometrial en cualquier lugar anatómico diferente a su ubicación original. Este tejido endometrial puede implantarse en cualquier lugar del cuerpo humano, aunque su aparición es más frecuente en las trompas, ovarios, vagina, recto y pared pélvica o peritoneo. Las lesiones iniciales presentan un aspecto rojo y con el tiempo se van convirtiendo en implantes de color negro, que pueden formar incluso quistes con aspecto de chocolate en su interior (Ospina, 2011).

Se trata de una enfermedad que se ha relacionado con problemas de fertilidad. La respuesta precisa al por qué la endometriosis causa infertilidad no es sencilla de resolver, ya que tiene que ver con varios factores potenciales como posibles responsables. El problema con definir bien la relación causal es que la endometriosis, siendo una enfermedad sistémica, puede generar otras condiciones o alteraciones que al mismo tiempo compliquen la fertilidad (Paez Lobeira, 2009).

Existen diferentes factores que se han descrito como posibles responsables de disminuir la fertilidad en mujeres con endometriosis, encontrándose entre ellos problemas de ovulación u hormonales. Aunque la relación precisa en esto no es del todo aceptada, se cree según varios estudios que la endometriosis puede generar las siguientes alteraciones (Paez Lobeira, 2009):

- a) El folículo que contiene el óvulo no se rompa y no libere el óvulo para que pueda ser captado por la trompa.
- b) El cuerpo lúteo no produzca adecuadamente progesterona. Esto se conoce con el nombre de disfunción de la fase lútea.
- c) Crecimiento anormal del folículo.
- d) Liberación prematura o a destiempo de la LH.

También se ha considerado que la endometriosis pueda afectar de otros modos: Puede alterar la anatomía pélvica por bloqueo o alteración de la relación que existe entre los órganos reproductores, por problemas en la implantación del embrión en el útero (las mujeres con endometriosis suelen tener deficiencia de integrinas, necesarias para la implantación), por existencia de un ambiente hostil en el peritoneo (un exceso de producción de líquido peritoneal debido a la inflamación causada por la endometriosis) o por alteraciones inmunológicas (la endometriosis puede provocar aumento de anticuerpos y células de defensa que impidan que se produzca la implantación) (Paez Lobeira, 2009).

- Síndrome de ovario poliquístico:

Se trata de un trastorno endocrino en el que los folículos se desarrollan de manera normal, llegando a la superficie del ovario en un tamaño similar a la del folículo ovulatorio, pero que no se rompen para liberar el óvulo, de modo que se acumulan en la superficie del ovario. Al no romperse el folículo no se produce la ovulación, dando lugar a problemas de fertilidad. Tampoco se produce la formación del cuerpo lúteo, y por tanto, la menstruación puede producirse con retraso (oligomenorrea) o no producirse (amenorrea). Cuando pasa cierto tiempo, ocurre un sangrado similar a una menstruación y comienza a crecer un nuevo folículo, que no se rompe y de nuevo se acumula. De este modo, poco a poco se van acumulando folículos que no se han roto en la superficie del ovario, que forman unos quistes que dan nombre a esta patología (Avalos Mendocilla, 2010).

El síndrome de ovarios poliquístico (SOP) está ligado a cambios en los niveles hormonales que les dificultan a los ovarios la liberación de los óvulos maduros. Las hormonas que se ven afectadas son los estrógenos, la progesterona y los andrógenos. Esto provoca no solo la retención del óvulo, sino también una serie de síntomas debido al desequilibrio hormonal que se genera. Se produce hiperandrogenismo y un 50-70 % de las pacientes presentan resistencia a la insulina con riesgo de padecer obesidad, diabetes mellitus tipo 2, complicaciones cardiovasculares y cáncer endometrial (Storck, 2014).

- Amenorrea:

Hay dos tipos de amenorrea: Primaria y secundaria.

La primaria es la incapacidad de menstruar en la pubertad, si la ausencia de menstruación se asocia con una falta de desarrollo de los caracteres sexuales secundarios. Suele deberse a disgenesia gonadal (afección genética en la cual la mujer no presenta el par normal de dos cromosomas X), agenesia mülleriana congénita (malformación hereditaria en el tracto urinario del sistema reproductivo femenino, que se caracteriza por la ausencia de útero y la deformidad de la vagina) o alteraciones en el eje hipotálamo-hipófisis-ovárico (Porth, 2006).

La secundaria es el cese de las menstruaciones durante por lo menos 6 meses en una mujer que tenía ciclos menstruales normales. Las causas de amenorrea secundaria implican disfunción ovárica, hipofisaria o hipotalámica, infecciones, tumores hipofisarios, anorexia nerviosa, o ejercicio físico muy intenso, que puede alterar la relación esencial entre la grasa y el músculo necesaria para que se produzca la menstruación (Porth, 2006).

Conclusiones

1. La ovulación supone una cascada compleja de eventos interconectados que ocurren en las células de la teca, de la granulosa murales y del cúmulo y en el ovocito, en las cuales se produce una reprogramación de las funciones celulares hacia la ovulación. La consecución de una ovulación correcta depende de que esta cascada ocurra adecuadamente. Cualquier fallo que pueda ocurrir tanto a nivel endocrino como a nivel molecular causa infertilidad.
2. La LH es la principal responsable de regular la maduración y la liberación del ovocito. La retroalimentación positiva por parte de los estrógenos produce el pico de LH que da lugar a la ovulación.
3. El GMPc difunde a través de las uniones gap al interior del ovocito e induce altos niveles de AMPc que mantienen en reposo la meiosis del ovocito. La señalización de la LH desencadena una disminución de GMPc que hace que disminuya el AMPc y así se reanuda la meiosis.
4. Los factores de crecimiento GDF-9 y BMP-15 promueven el crecimiento folicular, el desarrollo restrictivo del folículo dominante y regulan la proliferación y diferenciación de las células de la granulosa del cúmulo. Es posible que estos factores actúen de manera sinérgica o redundante en procesos en los que se ha observado una actividad similar por sí solos.
5. La ovulación está ligada a la expansión del cúmulo en la que están implicadas sustancias como la proteasa ADAMTS-1 y el versicano, que median la remodelación de la matriz extracelular que rodea las células de la granulosa y permiten el desprendimiento y la expulsión del complejo cúmulo-ovocito desde el folículo.
6. La regulación transcripcional, bajo la influencia de la LH, modifica la expresión de genes involucrando a factores de transcripción como Sp1 y Sp3 que serán responsables de la reprogramación de las funciones de las células de los folículos hacia la ovulación.
7. La coordinación y sincronización endocrina, paracrina y molecular es esencial para que se produzca una buena maduración del ovocito, que tendrá como consecuencia una ovulación satisfactoria.

Bibliografía

Anselmo I. Gametogénesis, 2015. [en línea] [Consultado en marzo 2016]. Disponible en: <http://slideplayer.es/slide/3277214/>

Avalos Mendocilla ED. Alteraciones de la ovulación, 2010. [en línea] [Consultado en mayo 2016]. Disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos61/alteracion-ovulacion/alteracion-ovulacion2.shtml>

Baird DT, Brown A, Cheng L, Critchley HO, Lin S, Narvekar N, Williams AR. Mifepristone: a novel estrogen-free daily contraceptive pill. *Steroids*. 2003; 68: 1099–1105.

Beyer EC, Kistler J, Paul DL, Goodenough DA. Antisera directed against connexin43 peptides react with a 43-kD protein localized to gap junctions in myocardium and other tissues. *J Cell Biol*. 1989; 108(2): 595-605.

Bomba I. Reprodução humana, 2014. [en línea] [Consultado en marzo 2016]. Disponible en: <http://slideplayer.com.br/slide/326712/>

Cho WK, Stern S, Biggers JD. Inhibitory effect of dibutyryl cAMP on mouse oocyte maturation in vitro. *J Exp Zool*. 1974; 187(3): 383-386.

Conti M, Hsieh M, Zamah AM, Su Oh J. Novel signaling mechanisms in the ovary during oocyte maturation and ovulation. *Mol Cell Endocrinol*. 2012; 356(0): 65-73.

Curry Jr, TE. ADAMTS1 and versican: Partners in ovulation and fertilization. *Biol Reprod*. 2010; 83: 505-506.

Dekel N, Beers WH. Rat oocyte maturation in vitro: Relief of cyclic AMP inhibition by gonadotropins. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1978; 75(9): 4369-4373.

Dixit H, Rao LK, Padmalatha VV, Kanakavalli M, Deenadayal M, Gupta N, Chakrabarty B, Singh L. Missense mutations in the BMP15 gene are associated with ovarian failure. *HumGenet*. 2006; 119: 408–415.

Dong J, Albertini DF, Nishimori K, Kumar TR, Lu N, Matzuk MM. Growth differentiation factor-9 is required during early ovarian folliculogenesis. *Nature*. 1996; 383: 531–535.

Dupré A, Daldello EM, Nairn AC, Jessus C, Haccard O. Phosphorylation of ARPP19 by protein kinase A prevents meiosis resumption in *Xenopus* oocytes. *Nat Commun*. 2014; 5: 3318.

Elvin JA, Clark AT, Wang P, Wolfman NM, Matzuk MM. Paracrine actions of growth differentiation factor-9 in the mammalian ovary. *Mol Endocrinol* 1999;13: 1035–1048.

Eppig JJ, Wigglesworth K, Pendola FL. The mammalian oocyte orchestrates the rate of ovarian follicular development. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002; 99(5): 2890–2894.

Espey LL. Current status of the hypothesis that mammalian ovulation is comparable to an inflammatory reaction. *Biol Reprod*. 1994; 50: 233–238.

Fernández-Tresguerres JA, Ariznavarreta C, Cachifeiro V, Cardinali D, Escrich E, Gil-Loyzaaga P, Lahera V, Mora F, Romano M, Tamargo J. *Fisiología humana*. 4ª ed. México D.F.: McGraw Hill; 2010.

Gaytan F, Bellido C, Gaytan M, Morales C, Sánchez-Criado JE. Differential effects of RU486 and indomethacin on follicle rupture during the ovulatory process in the rat. *Biol Reprod*. 2003; 69: 99–105.

Gore-Langton RE, Armstrong DT. Follicular steroidogenesis and its control. In: Knobil and Neill (eds). *The Physiology of Reproduction*, Second edition. New York: Raven Press Ltd. New York, Vol. 1,571–627. 1994.

Holt JE, Lane SIR, Jones KT. The control of meiotic maturation in mammalian oocytes. *Curr Top Dev Biol.* 2013; 102: 207–226.

Hunzicker-Dunn M, Mayo K. Gonadotropin signaling in the ovary. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction.* 4^a ed. San Diego: Plant TM, Zeleznik AJ; 2015.

Hussein TS, Froiland DA, Amato F, Thompson JG, Gilchrist RB. Oocytes prevent cumulus cell apoptosis by maintaining a morphogenic paracrine gradient of bone morphogenetic proteins. *J Cell Sci.* 2005; 118: 5257–5268.

Inagaki K, Shimasaki S. Impaired production of BMP-15 and GDF-9 mature proteins derived from proproteins WITH mutations in the proregion. *Mol Cell Endocrinol.* 2010; 328: 1–7.

Jimeno A. Reproducción II: El proceso reproductivo humano, 2013. [en línea] [Consultado en marzo 2016]. Disponible en: <http://www.aula2005.com/html/cn3eso/17elprocesreproductiu/17elprocesreproductiues.htm>

Kawamura K. Pre-ovulatory LH/hCG surge decreases C-type natriuretic peptide secretion by ovarian granulosa cells to promote meiotic resumption of preovulatory oocytes. *Hum Reprod.* 2011; 26(11): 3094–3101.

Lee SL, Sadovsky Y, Swirnoff AH, Polish JA, Goda P, Gavrilina G, Milbrandt J. Luteinizing hormone deficiency and female infertility in mice lacking the transcription factor NGFI-A (Egr-1). *Science.* 1996; 273: 1219–1221.

Madan P, Bridges PJ, Komar CM, Beristain AG, Rajamahendran R, Fortune JE, MacCalman CD. Expression of Messenger RNA for ADAMTS subtypes changes in the periovulatory follicle after the gonadotropin surge and during luteal development and regression in cattle. *Biol Reprod.* 2003; 69: 1506–1514.

María T. Histología, 2015. [en línea] [Consultado en abril 2016]. Disponible en: <https://www.studyblue.com/notes/note/n/histo-2/deck/14424583>

Mittaz L, Russell DL, Wilson T, Brasted M, Tkalcevic J, Salamonsen LA, Hertzog PJ, Pritchard MA. Adamts-1 is essential for the development and function of the urogenital system. *Biol Reprod.* 2004; 70: 1096–1105.

Montgomery GW, Zhao ZZ, Marsh AJ, Mayne R, Treloar SA, James M, Martin NG, Boomsma DI, Duffy DL. A deletion mutation in GDF9 in sisters with spontaneous DZ twins. *Twin Res.* 2004; 7: 548–555.

Murdoch WJ, Wilken C and Young DA. Sequence of apoptosis and inflammatory necrosis within the formative ovulatory site of sheep follicles. *J Reprod Fertil.* 1999; 117: 325–329.

Norris RP, Freudzon M, Mehlmann LM, Cowan AE, Simon AM, Paul DL, Lampe PD, Jaffe LA. Luteinizing hormone causes MAP kinase-dependent phosphorylation and closure of connexin 43 gap junctions in mouse ovariaqn follicles: One of two paths to meiotic resumption. *Development.* 2008; 135(19): 3229–3238.

Norris RP, Freudzon M, Nikolaev VO, Jaffe LA. Epidermal growth factor receptor kinase activity is required for gap junction closure and for part of the decrease in ovarian follicle cGMP in response to LH. *Reproduction.* 2010; 140(5): 655–662.

Norris RP, Ratzan WJ, Freudzon M, Mehlmann LM, Krall J, Movsesian MA, Wang H, Ke H, Nikolaev VO, Jaffe LA. Cyclic GMP from the surrounding somatic cells regulates cyclic AMP and meiosis in the mouse oocyte. *Development.* 2009; 136(11): 1869–1878.

Orisaka M, Orisaka S, Jiang JY, Craig J, Wang Y, Kotsuji F, Tsang BK. Growth differentiation factor 9 is antiapoptotic during follicular development from preantral to early antral stage. *Mol Endocrinol.* 2006; 20: 2456–2468.

- Ortega Domínguez JM. El aparato reproductor, 2015. [en línea] [Consultado en marzo 2016]. Disponible en: <http://slideplayer.es/slide/5691617/>
- Osman P, Dullaart J. Intraovarian release of eggs in the rat after indomethacin treatment at pro-oestrus. *J Reprod Fertil.* 1979; 47: 101–103.
- Ospina GD. ¿Qué es la endometriosis y cómo afecta a la fertilidad?, 2011. [en línea] [Consultado en mayo 2016]. Disponible en: <http://www.elcolombiano.com/blogs/hablemosdefertilidad/que-es-la-endometriosis-y-como-afecta-la-fertilidad/376>
- Otsuka F, McTavish KJ, Shimasaki S. Integral role of GDF-9 and BMP-15 in ovarian function. *Mol. Reprod. Dev.* 2011; 78: 9-21.
- Otsuka F, Yamamoto S, Erickson GF, Shimasaki S. Bone morphogenetic protein-15 inhibits follicle-stimulating hormone (FSH) action by suppressing FSH receptor expression. *J Biol Chem.* 2001; 276: 11387–11392.
- Otsuka F, Yao Z, Lee TH, Yamamoto S, Erickson GF, Shimasaki S. Bone morphogenetic protein-15: Identification of target cells and biological functions. *J Biol Chem.* 2000; 275: 39523–39528.
- Paez Lobeira LC. ¿Por qué la endometriosis causa infertilidad y cómo afecta?, 2009. [en línea] [Consultado en mayo 2016]. Disponible en: http://www.viveplena.com/index.php?option=com_content&view=article&id=44:ipor-que-la-endometriosis-causa-infertilidad-y-como-afecta&catid=1:artsendo&Itemid=3
- Palmer JS, Zhao ZZ, Hoekstra C, Hayward NK, Webb PM, Whiteman DC, Martin NG, Boomsma DI, Duffy DL, Montgomery GW. Novel variants in growth differentiation factor 9 in mothers of dizygotic twins. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91: 4713–4716.
- Park JY, Richard F, Chun SY, Park JH, Law E, Homer K, Jin SL, Conti M. Phosphodiesterase regulation is critical for the differentiation and pattern of gene expression in granulosa cells of the ovarian follicle. *Mol Endocrinol.* 2003; 17: 1117–30.
- Park JY, Su YQ, Ariga M, Law E, Jin SL, Conti M. EGF-like growth factors as mediators of LH action in the ovulatory follicle. *Science.* 2004; 303: 682–684.
- Pocock G, Richards CD. *Fisiología humana: La base de la medicina.* 2ª ed. Barcelona: Masson; 2005.
- Porth CM. *Fisiopatología. Salud-enfermedad: Un enfoque conceptual.* 7ª ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2006.
- Richard S, Baltz JM. Prophase I arrest of mouse oocytes mediated by natriuretic peptide precursor C requires GJA1 (connexin-43) and GJA4 (connexin-37) gap junctions in the antral follicle and cumulus-oocyte complex. *Biol Reprod.* 2014; 90(6): 137, 1–10.
- Richards JS. Hormonal control of gene expression in the ovary. *Endocr Rev.* 1994; 15: 725–751.
- Richards JS, Hernandez-Gonzalez I, Gonzalez-Robayna I, Teuling E, Lo Y, Boerboom D, Falender AE, Doyle KH, LeBaron RG, Thompson V, Sandy JD. Regulated expression of adamts family members in follicles and cumulus oocyte complexes: evidence for specific and redundant patterns during ovulation. *Biol Reprod.* 2005; 72: 1241–1255.
- Robker RL, Russell DL, Espey LL, Lydon JP, O'Malley BW, Richards JS. Progesterone-regulated genes in the ovulation process: ADAMTS-1 and cathepsin L proteases. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000; 97: 4689–4694.
- Russell DL, Doyle KMH, Ochsner SA, Sandy JD, Richards JS. Processing and localization of ADAMTS-1 and proteolytic cleavage of versican during cumulus matrix expansion and ovulation. *JBC.* 2003; 278(43): 42330–42339.

- Russell DL, Robker RL. Molecular mechanisms of ovulation: co-ordination through the cumulus complex. *Humupd (Oxford)*. 2007; 13(3): 289-312.
- Sadler TW. *Embriología médica*. 12ª ed. Barcelona: Wolters Kluwer Health S.A., Lippincott Williams & Wilkins; 2012.
- Saladin KS. *Anatomía y fisiología: La unidad entre forma y función*. 6ª ed. México D.F.: McGraw Hill; 2013.
- Salustri A, Camaioni A, Di Giacomo M, Fulop C, Hascall VC. *Hum. Reprod. Update*. 1999; 5: 293–301.
- Serna Suarez JF. El ciclo menstrual, 2015. [en línea] [Consultado en abril 2016]. Disponible en: <http://ciclomenstrualjuanfeserna.blogspot.com.es/>
- Shindo T, Kurihara H, Kuno K, Yokoyama H, Wada T, Kurihara Y, Imai T, Wang Y, Ogata M, Nishimatsu H, Moriyama N, Oh-hashii Y, Morita H, Ishikawa T, Nagai R, Yazaki Y, Matsushima K. ADAMTS-1: a metalloproteinase-disintegrin essential for normal growth, fertility, and organ morphology and function. *J Clin Invest*. 2000; 105: 1345–1352.
- Shuhaibar LC, Egbert JR, Norris RP, Lampe PD, Nikolaev VO, Thunemann M, Wen L, Feil R, Jaffe LA. Intercellular signaling via cyclic GMP diffusion through gap junctions restarts meiosis in mouse ovarian follicles. *PNAS*. 2015; 112(17): 5527-5532.
- Simon AM, Goodenough DA, Li E, Paul DL. Female infertility in mice lacking connexin 37. *Nature*. 1997; 385(6616): 525-529.
- Sriraman V, Richards JS. Cathepsin L gene expression and promoter activation in rodent granulosa cells. *Endocrinology*. 2004; 145: 582–591.
- Sriraman V, Sharma SC, Richards JS. Transactivation of the progesterone receptor gene in granulosa cells: evidence that Sp1/Sp3 binding sites in the proximal promoter play a key role in luteinizing hormone inducibility. *Mol Endocrinol*. 2003; 17: 436–449.
- Stanton H, Rogerson FM, East CJ, Golub SB, Lawlor KE, Meeker CT, Little CB, Last K, Farmer PJ. ADAMTS5 is the major aggrecanase in mouse cartilage in vivo and in vitro. 2005; 434: 648–652.
- Storck S. Síndrome del ovario poliquístico, 2014. [en línea] [Consultado en mayo 2016]. Disponible en: <https://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/000369.htm>
- Stouffer RL. Progesterone as a mediator of gonadotrophin action in the corpus luteum: beyond steroidogenesis. *Hum Reprod Update*. 2003; 9: 99–117.
- Su YQ, Sugiura K, Li Q, Wigglesworth K, Matzuk MM, Eppig JJ. Mouse oocytes enable LH-induced maturation of the cumulus-oocyte complex via promoting EGF receptor-dependent signaling. *Mol Endocrinol*. 2010; 24: 1230–1239.
- Sugiura K, Pendola FL, Eppig JJ. Oocyte control of metabolic cooperativity between oocytes and companion granulosa cells: Energy metabolism. *Dev Biol*. 2005; 279: 20–30.
- Tadakuma H, Okamura H, Kitaoka M, Iyama K, Usuku G. Association of immunolocalization of matrix metalloproteinase 1 with ovulation in hCG-treated rabbit ovary. *J Reprod Fertil*. 1993; 98: 503–508.
- Takizawa P. Histology: Ovary and follicle development. [en línea] [Consultado en junio 2016]. Disponible en: http://medcell.med.yale.edu/histology/ovary_follicle.php
- Talens Perales D. Reproducción animal, 2008. [en línea] [Consultado en abril 2016]. Disponible en: <http://biogenmol.blogspot.com.es/2008/06/el-hombre-lleg-la-luna-antes-de-que.html>
- Teixeira Filho FL, Baracat EC, Lee TH, Suh CS, Matsui M, Chang RJ, Shimasaki S, Erickson GF. Aberrant expression of growth differentiation factor-9 in oocytes of women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002; 87: 1337–1344.

- Topilko P, Schneider-Maunoury S, Levi G, Trembleau A, Gourdj D, Driancourt MA, Rao CV, Charnay P. Multiple pituitary and ovarian defects in Krox-24 (NGFI-A, Egr-1)- targeted mice. *Mol Endocrinol.* 1998; 12: 107–122.
- Törnell J, Billig H, Hillensjö T. Regulation of oocyte maturation by changes in ovarian levels of cyclic nucleotides. *Hum Reprod.* 1991; 6(3): 411–422.
- Tsafiriri A, Bicsak TA, Cajander SB, Ny T, Hsueh AJ. Suppression of ovulation rate by antibodies to tissue-type plasminogen activator and alpha 2-antiplasmin. *Endocrinology.* 1989; 124: 415–421.
- Tsafiriri A, Chun SY, Zhang R, Hsueh AJ, Conti M. Oocyte maturation involves compartmentalization and opposing changes of cAMP levels in follicular somatic and germ cells: studies using selective phosphodiesterase inhibitors. *Dev Biol.* 1996; 178: 393–402.
- Tullet JMA, Pocock V, Steel JH, White R, Milligan S, Parker MG. Multiple signaling defects in the absence of RIP140 impair both cumulus expansion and follicle rupture. *Endocrinology.* 2005; 146: 4127–4137.
- Vaccari S, Weeks JL, II, Hsieh M, Menniti FS, Conti M. Cyclic GMP signaling is involved in the luteinizing hormone-dependent meiotic maturation of mouse oocytes. *Biol Reprod.* 2009; 81(3): 595–604.
- Vitt UA, McGee EA, Hayashi M, Hsueh AJ. In vivo treatment with GDF-9 stimulates primordial and primary follicle progression and theca cell marker CYP17 in ovaries of immature rats. *Endocrinology.* 2000; 141: 3814–3820.
- Wang X-N, Greenwald GS. Hypophysectomy of the cyclic mouse. II. Effects of follicle-stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone on folliculogenesis, FSH and human chorionic gonadotropin receptors, and steroidogenesis. *Biol Reprod.* 1993; 48(3): 595–605.
- Wang Y, Kong N, Li N, Hao X, Wei K, Xiang X, Xia G, Zhang M. Epidermal growth factor receptor signaling-dependent calcium elevation in cumulus cells is required for NPR2 inhibition and meiotic resumption in mouse oocytes. *Endocrinology.* 2013; 154(9): 3401–3409.
- White R, Leonardsson G, Rosewell I, Ann Jacobs M, Milligan S, Parker M. The nuclear receptor co-repressor Nrip1 (RIP140) is essential for female fertility. *Nat Med.* 2000; 6: 1368–1374.
- Wu Y, Chen L, Zheng PS, Yang BB. *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 12294–12301.
- Yoshino O, McMahon HE, Sharma S, Shimasaki S. A unique preovulatory expression pattern plays a key role in the physiological functions of BMP-15 in the mouse. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006; 103: 10678–10683.
- Yoshino M, Mizutani T, Yamada K, Tsuchiya M, Minegishi T, Yazawa T, Kawata H, Sekiguchi T, Kajitani T, Miyamoto K. Early growth response gene-1 regulates the expression of the rat luteinizing hormone receptor gene. *Biol Reprod.* 2002; 66: 1813–1819.
- Zhao SY, Qiao J, Chen YJ, Liu P, Li J, Yan J. Expression of growth differentiation factor-9 and bone morphogenetic protein-15 in oocytes and cumulus granulosa cells of patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2010; 94: 261–267.
- Zhao H, Qin Y, Kovanci E, Simpson JL, Chen ZJ, Rajkovic A. Analyses of GDF9 mutation in 100 Chinese women with premature ovarian failure. *Fertil Steril.* 2007; 88: 1474–1476.