



# 5

José Carlos Rosales  
Aramilena Prado  
Norma Cerviño

## ENDOCRINOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

	Pág.
NEUROENDOCRINOLOGÍA .....	111
Aspectos generales .....	111
Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) .....	111
Modulación de las neuronas de GnRH .....	113
GONADOTROPINAS .....	114
Estructura .....	115
Receptores .....	115
Regulación de la secreción .....	116
ESTEROIDES GONADALES .....	119
Bioquímica .....	119
Síntesis .....	119
Sistema de las dos células / dos gonadotropinas .....	121
Interconversión periférica .....	122
Andrógenos en la mujer .....	122
Proteínas transportadoras .....	123
Metabolismo .....	123
Receptores .....	124
NEUROESTEROIDES .....	124
PROLACTINA .....	124
Regulación de la secreción .....	125
INSULINA Y LEPTINAS .....	126
Receptores en el ovario .....	126
Efectos en la esteroidogénesis .....	126
Interacción con las gonadotropinas .....	126
Efectos en el crecimiento ovárico y formación de quistes .....	127
Efectos en la producción de la globulina fijadora de hormona sexual (SHBG) .....	127
FACTORES DE CRECIMIENTO SIMILARES A LA INSULINA .....	127
Efectos en el ovario .....	127
LAS LEPTINAS Y EL OVARIO .....	127



	Pág.
CICLO MENSTRUAL .....	128
Fase folicular .....	129
Fase ovulatoria .....	131
Fase lútea .....	132
RESUMEN .....	133
REFERENCIAS .....	134



## NEUROENDOCRINOLOGÍA

### Aspectos generales

El sistema hormonal del cuerpo humano es un complejo mecanismo donde actúan varias glándulas controladas por centros localizados en el cerebro, que a su vez estimulan la secreción de hormonas diseminadas por varias partes del organismo (fig. 5-1). La interacción de estas glándulas endocrinas es muy importante porque para que funcionen bien deben trabajar de una manera armoniosa. Es muy común que la alteración de alguna de ellas afecte a otra y se cree un efecto dominó (Yen, 2001a).

La secreción de las hormonas adenohipofisarias está controlada por factores liberadores e inhibidores hipotalámicos. A su vez, las hormonas hipofisarias liberadas en la circulación periférica regulan el crecimiento, diferenciación y función de las células de sus órganos blanco. El hipotálamo establece la relación necesaria entre el encéfalo y la adenohipófisis, de forma que el funcionamiento de esta última responde a los requerimientos de adaptación al medio externo.

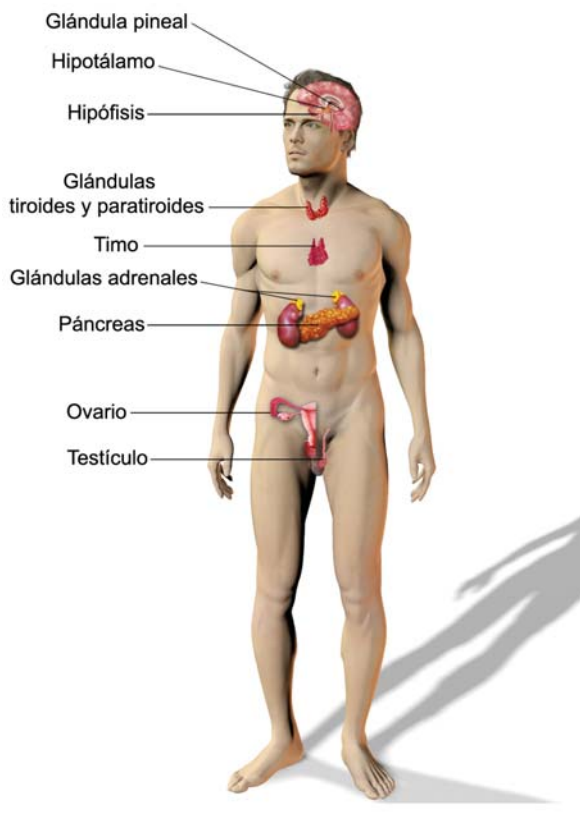


Figura 5-1.  
Glándulas endocrinas.

Estos requerimientos provienen del procesamiento en el encéfalo de transductores, como órganos de los sentidos y metabolismo, que informan de temperatura, ambiente, luz, disponibilidad de alimentos, etc.

El principal mensajero hipotalámico responsable de la regulación de las gonadotropinas hipofisarias y, por tanto de la función gonadal, es la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), la cual controla, de forma directa o indirecta, todos los aspectos de la reproducción (fig. 5-2).

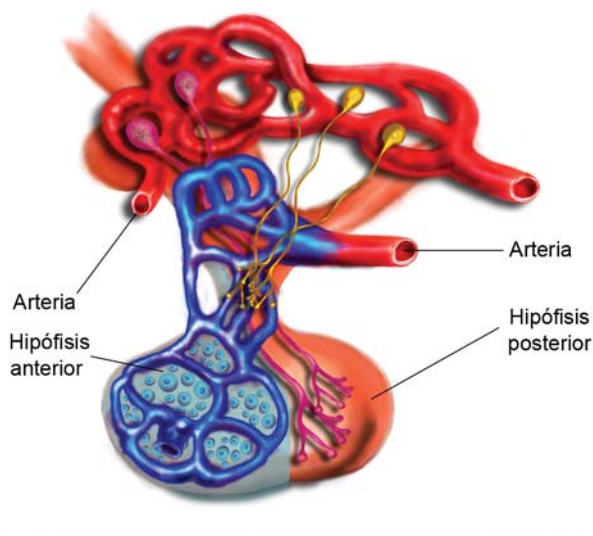


Figura 5-2.  
Hipotálamo e hipófisis.

En su ausencia se detiene el desarrollo gonadal y las alteraciones en su secreción pueden producir pubertad precoz o retraso puberal, hipogonadismo, infertilidad y otras anomalías de la reproducción (Mason et al., 1986; Crowley et al., 1985).

### Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH)

Es un decapeptido secretado por el hipotálamo en forma pulsátil, que proviene de una gran molécula precursora de 92 aminoácidos llamada preproGnRH, la cual es codificada por un gen en el brazo corto del cromosoma 8 (Hayflick et al, 1989; Seeburg and Adelman, 1984). De la escisión de la preproGnRH, se genera un péptido de 56 aminoácidos denominado péptido asociado con la GnRH (GAP), que es secretado junto con la GnRH en la circulación portal hipofisaria y cuya función no es clara, pero parece inhibir la secreción de prolactina (Ackland et al., 1988; Seeburg et al., 1987).



Las neuronas que sintetizan GnRH se localizan principalmente en el núcleo arqueado del hipotálamo mediobasal y en el área preóptica del hipotálamo anterior. Tienen un aspecto fusiforme, pueden ser unipolares o bipolares y sus axones se dirigen hacia la eminencia media, donde entran en contacto con la circulación del sistema portal que irriga la hipófisis anterior (Barry and Barette, 1975; Silverman et al., 1987; Anthony et al., 1984; Whitlock, 2005). Estas neuronas se originan fuera del sistema nervioso central porque durante el desarrollo embrionario se ubican en la placa olfatoria, que es el epitelio de la fosita olfatoria, para luego migrar a través del esbozo del tabique nasal hacia su ubicación final en el hipotálamo (Wray, 2001). Éste es el único sistema neuronal hipotalámico de origen extraencefálico y explica la asociación patológica de la anosmia y la deficiencia aislada de gonadotropinas en el síndrome de Kallman (Ronnekleiv and Resko, 1990; Schwanzel-Fukuda et al., 1989; Bouloux et al., 2002).

Además de la hipófisis, se han encontrado receptores para GnRH, cuyo significado fisiológico es desconocido, en sitios extrahipofisarios como ovarios, testículos, próstata, mamas, placenta y en el hipocampo e hipotálamo cerebral (Minaretzis et al., 1995). La secreción pulsátil de la GnRH es indispensable para el buen funcionamiento de la hipófisis, esto se logra gracias a que las neuronas de GnRH están dotadas de actividad. De hecho, la administración continua de GnRH produce, paradójicamente, hipogonadismo (López et al., 1998).

Para determinar el patrón de pulsatilidad de la GnRH, no se pueden medir sus niveles séricos seriados porque la hormona tiene un tiempo de vida media muy corto (4 minutos) y una concentración en sangre periférica muy baja. Sin embargo, existe una gran sincronía entre la secreción pulsátil de GnRH en la sangre portal y los pulsos de hormona luteinizante (LH) en sangre periférica, por lo que se usa la medición de esta hormona, cuyo tiempo de vida media es mayor (30 minutos) y su concentración es fácilmente detectable. La secreción de la hormona foliculoestimulante (FSH) también se relaciona con la secreción pulsátil de GnRH, pero la vida media de la FSH es larga (4 horas) y la pulsatilidad no se detecta con facilidad en sangre periférica (Clarke and Cummins, 1982; Knobil, 1980).

La periodicidad de los pulsos de GnRH en el hipotálamo mediobasal humano adulto es de 60 a 100 minutos y su frecuencia regula el número de receptores para esta hormona presentes en el gonadotropo, que es la célula que sintetiza las gonadotropinas esta

modulación se denomina regulación global (Rasmussen et al., 1989; Marian et al., 1981; Catt et al., 1980). La cantidad relativa de receptores de GnRH observada entre los pulsos de alta frecuencia, que ocurren cada 30 minutos, es de dos a tres veces mayor que durante los pulsos que ocurren cada 2 horas. La importancia de este efecto es que las variaciones en la frecuencia y amplitud de los pulsos de GnRH regulan la secreción de gonadotropinas durante el ciclo menstrual (Loumaye and Catt, 1982).

La regulación en menos, «down regulation», del número de receptores se basa en un proceso de internalización o endocitosis del complejo hormona-receptor, para que ante la presencia de altas concentraciones de la hormona se limite su actividad. El receptor con su ligando se desplaza en la membrana celular hacia depresiones llamadas fositas revestidas, que agrupan un gran número de receptores y después se invaginan al interior del citoplasma para formar una vesícula (fig. 5-3). Las fositas tienen como constituyente estructural principal a unas proteínas denominadas clatrin, que se ensamblan en forma de rejillas poligonales y le dan forma a la fosita (Pearse, 1976; McArdle et al., 2002).



Figura 5-3.  
Proceso de endocitosis.

Las vesículas en el citoplasma se pueden fusionar con lisosomas, que contienen hidrolasas ácidas, para degradar al receptor y su ligando. El receptor también puede ser reciclado, esto es, se reintroduce en la membrana celular para ser utilizado de nuevo. Las fositas revestidas también tienen que ver con la internalización de sustratos importantes para la célula, por endocitosis mediada por receptores, como en el caso de las lipoproteínas séricas que llevan colesterol a células que sintetizan esteroides (Anderson et al., 1977). Además de GnRH, algunas neuronas de GnRH secretan el péptido



galanina (GAL) hacia la circulación portal hipofisaria, el cual parece estar involucrado en el pico periovulatorio de gonadotropinas y su síntesis es estimulada por la presencia de estrógenos (Merchenthaler et al., 1990; Marks et al., 1993; Merchenthaler et al., 1993).

### Modulación de las neuronas de GnRH

Además del efecto de asa de retroalimentación hormonal, la actividad de las neuronas GnRH es regulada también mediante transmisión sináptica y otros factores locales, como neuropéptidos, neurotransmisores, aminoácidos inhibidores y estimuladores, factores locales de crecimiento, etc. (fig. 5-4).

*Sistemas catecolaminérgicos centrales.* Ejercen un efecto estimulador en la secreción de GnRH, a través de las vías ascendentes de los dos sistemas noradrenérgicos principales: el sistema noradrenérgico del *locus ceruleus* y el sistema noradrenérgico bulbar, que se proyectan hacia áreas hipotalámicas (Gearing and Terasawa, 1991). Aunque no se han demostrado aún conexiones sinápticas directas de estas proyecciones noradrenérgicas con las neuronas GnRH, se sabe que estas fibras noradrenérgicas establecen sinapsis con neuronas GABAérgicas, que a su vez mantienen contacto con las neuronas de GnRH. Las neuronas GABAérgicas liberan ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) en la sinapsis y ejercen efectos inhibidores en la secreción de GnRH. Por tanto, la estimulación noradrenérgica sobre las neuronas de GnRH es indirecta y está mediada por la inhibición de estas interneuronas GABAérgicas a través de receptores  $\alpha$ -adrenérgicos (Leranth et al., 1988). Finalmente, a pesar de no haber evidencias histológicas de la innervación directa del sistema noradrenérgico sobre las neuronas GnRH, éstas poseen receptores  $\beta_1$ -adrenérgicos acoplados positivamente a la adenilatociclasa, lo que sugiere que el efecto de la noradrenalina también depende de sinapsis directas sobre las neuronas GnRH (Findell et al., 1993).

*Sistema opioidérgico hipotalámico.* Es una red bien definida en el interior del núcleo arcuato, que se encuentra en íntimo contacto con las neuronas de GnRH. La morfina y los opioides endógenos tienen un efecto inhibitorio, como se demuestra por el aumento en la frecuencia y amplitud de la secreción pulsátil de GnRH, que se observa con la administración de antagonistas de opioides, como la naloxona (Ferin et al., 1984; Williams et al., 1990). Este efecto inhibitorio de los opioides requiere la presencia de esteroides ováricos, porque la administración de naloxona en mujeres postmenopáusicas no logra modificar la secreción de gonadotropinas (Reid et al., 1983).

Los péptidos opioides endógenos pueden desempeñar un papel fisiológico en la regulación del retardo de los pulsos de GnRH estimulados por el sueño, en la fase folicular temprana (Rossmanith and Yen, 1987) y en el inicio de la oleada de gonadotropinas de la mitad del ciclo (Jacobson and Kalra, 1989). También están involucrados en la fisiopatología de la amenorrea durante el ejercicio y el estrés, situaciones en las que también se liberan altos niveles de opioides endógenos (Carr et al., 1981; Kalantaridou et al., 2004).

*Esteroides sexuales.* Por mucho tiempo se pensó que las neuronas de GnRH no poseían receptores para estrógenos ni para otros esteroides gonadales. Sin embargo, en la actualidad se cree que afectan la secreción de GnRH por la acción directa de un pequeño número de neuronas que poseen el receptor de estradiol ER $\alpha$  y por una acción indirecta de los sistemas de neuronas aminérgicas y opioides, que son sensibles a los esteroides sexuales y pueden ser los mediadores de la influencia de los estrógenos en la secreción de GnRH (Shivers et al., 1983; Watson et al., 1992).

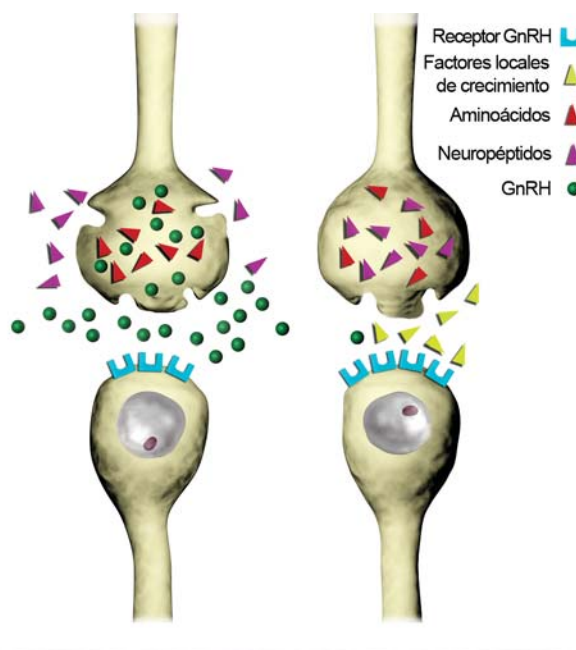


Figura 5-4. Sinapsis neuronal de GnRH.

*Óxido nítrico.* Como ya se explicó, las neuronas de GnRH no están agrupadas en una región estrecha del hipotálamo, más bien están dispersas en un área extensa del área medial preóptica y septal. Si bien estas neuronas presentan conexiones entre sí, son escasas para explicar la ritmicidad e integración de sus pulsos (Leranth et al., 1985; López et al., 1998). En la actuali-



dad, se ha postulado la existencia de un neurotransmisor difusible que no requiere contacto anatómico directo y que puede explicar este fenómeno de sincronización. Este neurotransmisor es el óxido nítrico, un gas radical libre lábil sintetizado por la enzima óxido nítrico sintetasa a partir de la L-arginina, que se difunde desde las terminaciones nerviosas (Mahachoklertwattana et al., 1994). Se cree que una población selecta de neuronas de GnRH sintetizan este gas y permiten la sincronización de los pulsos de toda la red neuronal de GnRH (Gally et al., 1990).

*Autorregulación.* Estudios in vivo e in vitro sugieren la existencia de axones colaterales en la neurona de GnRH, que contactan con la misma neurona de la que se desprenden, lo cual representa un asa de retroalimentación ultracorta que parece ser inhibitoria (Valença et al., 1987; Merchenthaler et al., 1984).

*Tanicitos.* Estudios en animales señalan que, a diferencia de otros sistemas neuroendocrinos hipofisiotrópicos, en la red neuronal de GnRH no todas las terminaciones nerviosas establecen uniones neuro-hemales directas con la pared vascular de los capilares portales, sino que muchas están a menudo separadas del espacio perivascular por proyecciones gliales que provienen de astrocitos o de células ependimogliales especializadas conocidas como tanicitos (Kozłowski and Coates, 1985).

Debido a que las terminaciones nerviosas de GnRH que contactan directamente con la pared vascular están sumergidas en las proyecciones de los tanicitos y que el número de estos últimos se modifica durante el ciclo menstrual y después de una gonadectomía, se cree que tanto las neuronas de GnRH como los tanicitos intervienen en un proceso dinámico que genera la plasticidad morfológica de la eminencia media durante el estro de los animales. No se conoce aún la implicación de las interacciones entre la glia y la neurona de GnRH en humanos (Prevot et al., 1998; King and Letourneau, 1994; Prevot, 2002).

*Regulación prepuberal de las neuronas GnRH.* En los primates, el sistema neurosecretor de GnRH se encuentra activo desde el período neonatal, pero se inactiva o ingresa en un estado de adormecimiento durante el período prepuberal. Se han propuesto dos teorías que explican el mecanismo de inicio de la pubertad:

- **Hipótesis del gonadostato.** Sostiene que en el período prepuberal, los niveles basales de esteroides sexuales son capaces de suprimir la secreción de gonadotropinas y la pubertad se inicia cuando el

sistema que regula esta secreción se hace menos sensible a la retroalimentación negativa de los esteroides sexuales (Steele and Weisz, 1974; Foster and Ryan, 1979). Esta hipótesis no es aplicable a primates porque la disminución de la sensibilidad a la retroalimentación negativa de esteroides no se produce al comienzo de la pubertad, sino más bien en los estadios finales, por lo que no es el evento desencadenante.

- **Hipótesis de la inhibición central.** Sostiene que existe una inhibición central sobre las neuronas que secretan GnRH, la cual es independiente de la retroalimentación negativa que ejercen los esteroides sexuales. Esta hipótesis se basa en el hecho de que en primates gonadectomizados y en humanos con disgenesia gonadal, la secreción de gonadotropinas se eleva durante el período neonatal, pero poco después es suprimida y se encuentran niveles de gonadotropinas equivalentes a los de sujetos sanos prepúberes. Esto ha sido además verificado mediante mediciones de GnRH directamente en el tallo hipofisario de primates (Chongthammakun et al., 1993). No se conoce el mecanismo responsable de esta inhibición de la secreción de GnRH antes de la pubertad; sin embargo, varios autores proponen que el GABA es el principal neurotransmisor inhibitorio, responsable de la restricción de la liberación de GnRH durante este período. El cese de la inhibición central prepuberal y el establecimiento del patrón de secreción pulsátil de GnRH marcan el inicio de la pubertad (Terasawa and Fernandez, 2001).

## GONADOTROPINAS

Las gonadotropinas son hormonas secretadas por la hipófisis anterior, esenciales para la regulación de la función gonadal y reproductora de los seres humanos y otros mamíferos. Las células que sintetizan las gonadotropinas se denominan gonadotropos y se encuentran en la hipófisis anterior, dispersas entre otros tipos celulares. Mediante estudios inmunohistoquímicos, se ha encontrado que existen gonadotropos bihormonales, que contienen tanto LH como FSH, y monohormonales, que sólo contienen una de estas hormonas (Halvorson and Chin, 2001). La secreción acoplada de LH y FSH, en la mitad del ciclo, se puede explicar si es un mismo tipo celular el que sintetiza ambas hormonas. Por otro lado, los gonadotropos monohormonales pueden ser responsables de la liberación no paralela de FSH o LH, cuyo significado fisiológico aún no se comprende bien (Wang et al., 1976).



## Estructura

Las gonadotropinas son glicoproteínas compuestas por dos subunidades diferentes, unidas de forma no covalente, denominadas  $\alpha$  y  $\beta$ . En algunas especies, la subunidad  $\alpha$  es idéntica en las hormonas LH, FSH, TSH y HCG; por el contrario, la subunidad  $\beta$  es diferente en cada una de estas hormonas y, por tanto, es la que le confiere la actividad específica. Aunque sólo el dímero  $\alpha\beta$  posee actividad biológica conocida, en la circulación periférica es posible encontrar a las subunidades libres, que quizá ejerzan actividades aún desconocidas (Thotakura and Blithe, 1995).

La subunidad  $\alpha$  posee 92 aminoácidos y su secuencia se ha conservado en la evolución, como lo demuestra el 74-95% de similitud que se ha encontrado entre distintas especies; que puede hacer incluso que la subunidad  $\alpha$  de una especie se pueda combinar con la subunidad  $\beta$  de otra (Fiddes and Talmadge, 1984). Las subunidades  $\beta$  de las hormonas LH y HCG son similares en un 80% de su secuencia; sin embargo, la subunidad  $\beta$  de la HCG contiene 24 aminoácidos adicionales en su extremo C-terminal, para completar 145 aminoácidos, y mayor cantidad de oligosacáridos, sobre todo ácido siálico (Talmadge et al., 1984). Esta similitud en su secuencia explica por qué ambas hormonas tienen propiedades biológicas casi idénticas. Por su parte, la subunidad  $\beta$  de la FSH posee 110 aminoácidos y es similar en un 30-40% de su secuencia a las anteriores.

La presencia de fracciones de carbohidratos en las gonadotropinas es un aspecto importante en su estructura química. La subunidad  $\alpha$  siempre posee dos grupos de oligosacáridos, mientras que el contenido de la subunidad  $\beta$  varía de acuerdo a cada hormona; así, la FSH humana posee dos grupos, mientras que la LH posee uno solo. Cada oligosacárido está dividido en ramas, bicatenarias o tricatenarias, y es marcadamente heterogéneo en sus ramas periféricas aunque habitualmente se encuentran ácido siálico y fructosa (Parsons and Pierce, 1980).

## Receptores

Se ubican en la membrana plasmática y la interacción con la hormona produce un cambio en su conformación que activa un sistema de señal intracelular. Al igual que los receptores dopaminérgicos y adrenérgicos, los receptores de las gonadotropinas están acoplados a las proteínas G (Probst et al., 1992), heterotrímeros compuestos por una subunidad  $\alpha$  estimuladora, que está unida a un complejo formado por dos subunidades llamadas  $\beta$  e  $\gamma$ , cuyo nombre se debe al hecho de que se unen a nucleótidos de guanina como

el guanosín trifosfato (GTP) o el guanosín difosfato (GDP) (Davis, 1994).

En su estado inactivo, la proteína G está unida a una molécula de GDP, pero cuando la gonadotropina se une a su receptor, ocasiona un cambio conformacional que hace que la subunidad libere su GDP enlazado y se una a una molécula de GTP. El intercambio de nucleótidos de guanina modifica la conformación de la subunidad  $\alpha$ , que entonces se disocia del complejo  $\beta\gamma$ . Esta subunidad  $\alpha$  libre se une a la enzima adenilatociclasa, que convierte el adenosín trifosfato (ATP) en adenosín monofosfato cíclico (AMPc), segundo mensajero de esta señalización intracelular. La subunidad  $\alpha$  disociada tiene actividad catalítica al hidrolizar el GTP, al que está unida, y transformarlo en GDP, lo que ocasiona el fin de la activación de la proteína G (fig. 5-5) (Cassel and Selinger, 1978).

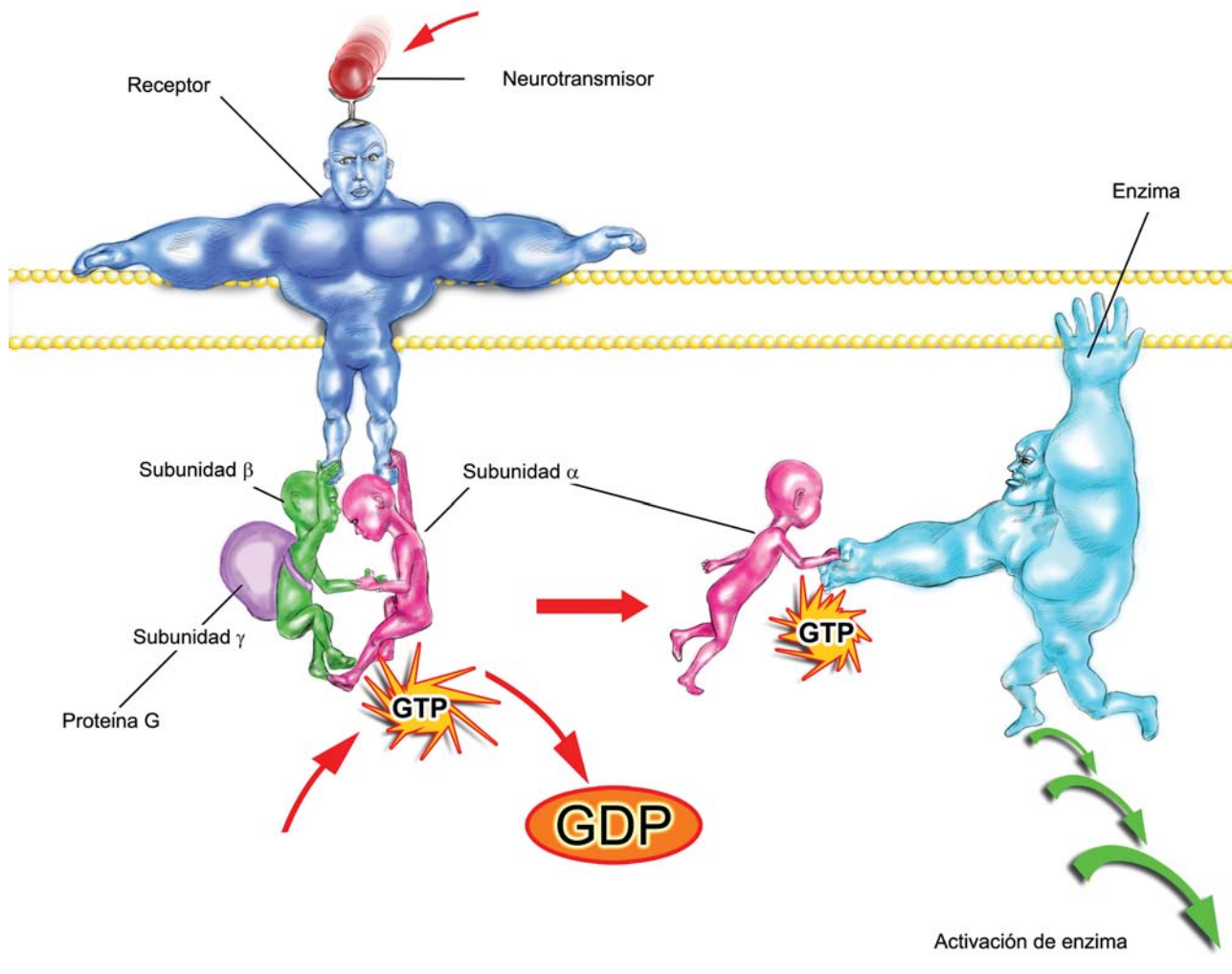
El incremento en los niveles de AMPc citoplasmático activa la enzima proteinquinasa A, que modula la función de muchas proteínas intracelulares, a través de la fosforilación de residuos de serina y treonina. La conexión funcional entre un receptor transmembrana y una proteína G heterotrímica parece ser un mecanismo universal mediante el cual un estímulo extracelular inicia la movilización de un segundo mensajero en células eucariotas. Se han identificado más de 100 receptores diferentes acoplados a la proteína G en organismos que van desde levaduras hasta plantas y animales (Neer, 1995; Kukkonen, 2004).

Aunque el AMPc es el principal mediador de la acción de las gonadotropinas, existen evidencias de otro mecanismo de acción en el cual la proteína G activa a la fosfolipasa C. La fosfolipasa C a su vez activa los fosfolípidos de la membrana celular para producir inositol 1,4,5-trifosfato (IP3) y diacilglicerol (DAG). El IP3 induce la liberación de calcio a partir de reservorios intracelulares, y el DAG activa a la proteinquinasa C, que como la proteinquinasa A regula a otras proteínas mediante su fosforilación (Davis, 1994).

Los receptores de las gonadotropinas se encuentran en las células de las gónadas; específicamente en las células granulosa y teca del ovario, y en las células de Sertoli testiculares. Sin embargo, se han identificado receptores de LH/HCG en el endometrio, miometrio y trompas de Falopio; en donde se cree que estimulan la producción de prostaglandinas, además de ciertas áreas del cerebro, cuyo significado fisiológico no está claro aún (Ziecik et al., 2005). La LH y la HCG se unen a un mismo receptor denominado receptor LH/HCG, que está constituido por una única cadena

de 674 aminoácidos, 4 menos que la FSH, y el gen que lo codifica se ubica en el brazo corto del cromosoma 2

(Minegishi et al., 1990; Rousseau-Merck et al., 1990; Minegishi et al., 1991).



**GDP:** guanosín difosfato      **GTP:** guanosín trifosfato

Figura 5-5.  
Activación de la proteína G.

### Regulación de la secreción

**GnRH.** Cuando esta hormona se administra en forma continua, tanto a hombres como mujeres, se observa una respuesta bifásica en la secreción de LH por parte de la hipófisis. Este hallazgo es característico de la liberación de las hormonas almacenadas en gránulos. La primera oleada de LH alcanza un pico a los 30 minutos y constituye un pool temprano, conformado por el reclutamiento de gránulos en la proximidad de la membrana celular del gonadotropo, que no requiere síntesis proteica y que se ha denominado pool de LH preformada. La segunda oleada comienza después de 90 minutos y continúa aumentando durante 4 horas. Este segundo pool representa una liberación más co-

ordinada de gránulos, junto con la estimulación de la biosíntesis de la hormona.

Ambos componentes de esta respuesta bifásica son modulados por esteroides gonadales; los estrógenos potencian la magnitud de la segunda respuesta y la progesterona, junto con estrógenos, incrementa tanto la respuesta temprana como la tardía. Este comportamiento bifásico de la LH puede tener un significado fisiológico, en el que el pool temprano es el responsable de los picos episódicos de LH plasmática, en respuesta a los pulsos endógenos de GnRH procedentes del hipotálamo; mientras que la segunda oleada se co-





respondería con el incremento del contenido hipofisario de LH observado en el período preovulatorio (Halvorson y Chin, 2001).

A diferencia del comportamiento bifásico de la LH, la infusión continua de GnRH produce un único ascenso progresivo de FSH. La ausencia de una respuesta temprana de la FSH plasmática se puede explicar de dos maneras:

- Debido a la falta de un pool de FSH que pueda ser liberado en forma aguda, como ocurre con la LH.
- Debido a la necesidad de un factor adicional más específico para la liberación de un pool temprano. Esta segunda teoría es avalada por la presencia, en pacientes con hipogonadismo, de secreción de FSH en forma de espigas sincrónicas con las de LH.

Como se señala más adelante, se requiere una frecuencia óptima de estimulación pulsátil de GnRH a la hipófisis para mantener los niveles plasmáticos adecuados de FSH y LH, porque éstos disminuyen cuando los pulsos de GnRH son muy lentos y también cuando son demasiado frecuentes o continuos.

La frecuencia de los pulsos varía a través del ciclo menstrual. En seres humanos, se estima que los pulsos de GnRH se producen cada 94 minutos en la fase folicular temprana y aumentan hasta llegar a uno cada 71 minutos, al final de la fase folicular. En la fase luteínica tardía aparece la frecuencia más baja, con un pulso cada 216 minutos. Las frecuencias pulsátiles más rápidas favorecen la secreción de LH, mientras que las frecuencias más lentas inducen la secreción de FSH (Filicori et al., 1986; Wildt et al., 1981a).

*Esteroides sexuales.* Ejercen su efecto regulador tanto en el hipotálamo como en la hipófisis anterior, debido a que el gonadotropo posee receptores para estrógenos, progesterona y andrógenos (Sprangers et al., 1989). Los esteroides sexuales pueden modular la secreción de GnRH y de esta forma, conformar un asa de retroalimentación con las gónadas (fig. 5-6); sin embargo, este efecto parece ser indirecto, porque no se han detectado receptores en las neuronas que sintetizan GnRH, sino en neuronas que sintetizan dopamina y  $\beta$ -endorfinas (Sar, 1984). En el hipotálamo, el estradiol produce un aumento en la frecuencia de los pulsos, lo que incrementa la secreción de LH; la progesterona en cambio, al disminuir los pulsos de GnRH, es responsable de la disminución en la secreción de LH y el aumento de FSH característico de la fase lútea tardía (Wildt et al., 1981b).

Los efectos de los estrógenos y la progesterona son los siguientes:

- Los estrógenos presentan tanto efectos inhibidores como estimuladores de la síntesis y secreción de las gonadotropinas en la hipófisis. El efecto inhibitorio se ejerce principalmente por acción directa, mientras que el estimulador requiere una concentración de estradiol sérico de más de 200 pg/ml, sostenida durante aproximadamente 50 horas y es la responsable del pico de secreción de LH en la mitad del ciclo (Frawley and Neill, 1984; Knobil, 1980; Clarke and Cummins, 1985; Young and Jaffe, 1976).
- La progesterona tiene efectos inhibitorios sobre la hipófisis que dependen de la presencia de estrógenos. La progesterona puede reducir la frecuencia de los pulsos de GnRH mediada por aumento de  $\beta$ -endorfinas en el hipotálamo (Van Vugt et al., 1984).
- Los andrógenos ejercen efectos hipotalámicos e hipofisarios. En el hipotálamo ejercen un efecto inhibitorio en la secreción de gonadotropinas; mientras que en la hipófisis se ha encontrado un leve efecto estimulador en la secreción de FSH con efectos nulos en la síntesis o secreción de LH (Urban et al., 1988; Gharib et al., 1990).

*Inhibina, activina y follistatina.* La inhibina es una hormona proteica sintetizada por las células granulosas del ovario y las células de Sertoli del testículo. Está constituida por dos cadenas polipeptídicas unidas por puentes disulfuro, denominadas cadena  $\alpha$  y cadena  $\beta$ . Esta hormona presenta dos isoformas llamadas inhibina A e inhibina B que tienen idéntica subunidad  $\alpha$  pero distinta cadena  $\beta$  (cadena  $\beta_\alpha$  y cadena  $\beta_\beta$ ) (Ling et al., 1985).

La inhibina sintetizada en las células granulosas del ovario es liberada en la circulación y ejerce su efecto directamente en el gonadotropo, inhibiendo la secreción de FSH, sin modificar la de LH. Aunque recientemente, se ha logrado, en condiciones especiales, evidencia de que la inhibina también ocasiona disminución de la amplitud del pulso de LH (Tilbrook et al., 1993; Tilbrook et al., 2001). Ambas formas de la inhibina, en combinación con el estradiol, son responsables de la retroalimentación negativa de la secreción de FSH.

El asa se establece debido a que la FSH estimula a su vez la secreción de inhibina en las células granulosas, lo que favorece el crecimiento del folículo dominante,

que posee el mayor número de receptores de FSH y tolera el descenso de los niveles de la hormona (Kretser et al., 2002; Welt et al., 1997). La inhibina tiene un modesto incremento en la fase folicular tardía y alcanza un pico durante el pico de secreción de LH periovu-

latorio; sin embargo, los niveles más altos se encuentran durante la fase lútea y se correlacionan con los niveles de progesterona porque ambas son sintetizadas por el cuerpo lúteo (Luisi et al., 2005; McLachlan et al., 1987; Illingworth et al., 1991).

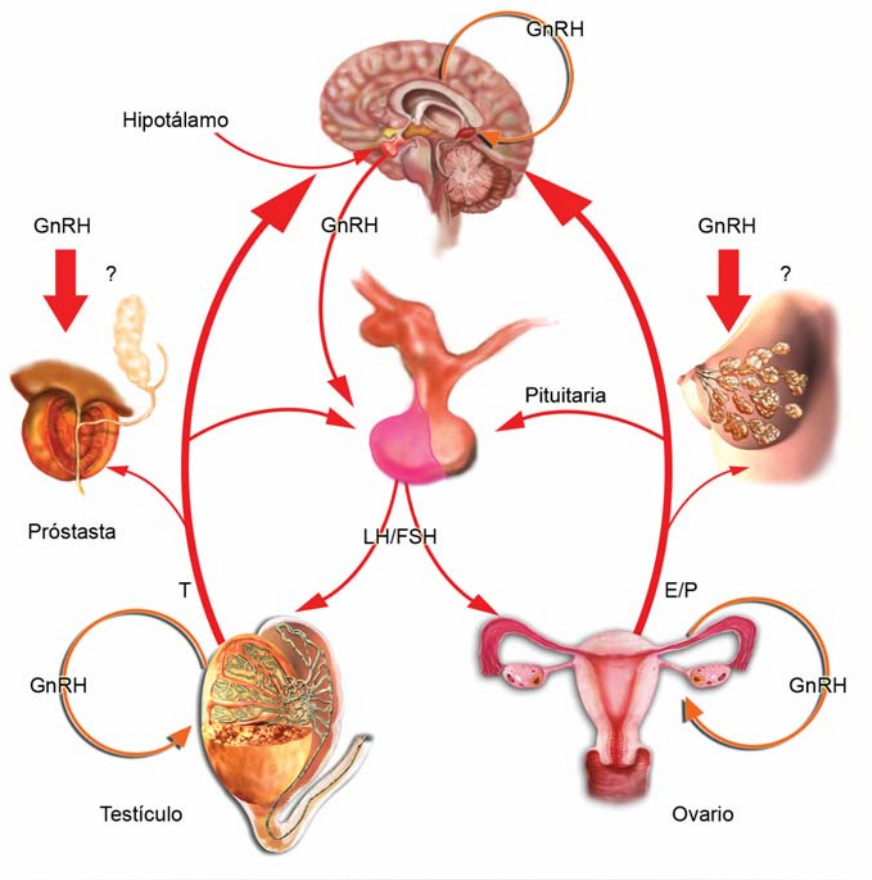


Figura 5-6.  
Acción de los esteroides gonadales.

Otro grupo de proteínas presentes en el líquido folicular, que pueden estimular la secreción de FSH, son las activinas (Vale, 1986). Éstas se producen en varios tejidos y, a diferencia de la inhibina, que ejerce su acción a distancia a través de la sangre, las activinas son secretadas por la hipófisis por el mismo gonadotropo y ejercen su efecto a nivel autocrino y paracrino, estimulando la liberación de FSH (Corrigan et al., 1991; Phillips, 2005)

En el líquido folicular se ha aislado otra proteína que suprime la secreción de FSH sin homología con las anteriores, denominada follistatina, que es una glicoproteína de cadena única, cuya acción supresora de la secreción de FSH se debe a su gran capacidad de unión a la activina, con lo que se neutraliza la acción estimuladora de esta hormona (Nakamura et al., 1990; Ueno

et al., 1987). Se ha demostrado que la follistatina es sintetizada en la hipófisis en las células folículo-estrelladas y modulan la acción de la activina en la secreción de FSH (Gospodarowicz and Lau, 1989). Debido a que no hay cambios específicos en los niveles séricos de follistatina durante el ciclo menstrual y la activina presenta cambios muy leves, sólo durante la fase lútea, se cree que el principal efecto de estas proteínas sobre la secreción de FSH se ejerce a través de mecanismos paracrinos en la hipófisis (Phillips, 2005; Evans et al., 1998; Muttukrishna et al., 1996). Sin embargo, hay indicios que sugieren que la activina incrementa el número de receptores de FSH en las células granulosas y aumenta su actividad aromatasas; de esta forma, ayuda al crecimiento de los folículos en respuesta a la estimulación con FSH y eleva los niveles de estradiol (Xiao et al., 1992; Miro et al., 1991).



Además, se ha propuesto que estas proteínas pueden controlar el momento de aparición del cuerpo lúteo. La activina inhibe la producción de progesterona y probablemente retrasa la luteinización, mientras que la folistatina puede inhibir la aromatización en el folículo e incrementar la síntesis de progesterona (Kretser et al., 2002, Xiao and Findlay, 1991). Todo esto ha conducido al razonamiento de que la activina retrasa la luteinización y mantiene al folículo en crecimiento en respuesta a la FSH, mientras que la folistatina promueve la luteinización. La activina poco a poco limita su propia acción local porque estimula en la granulosa la síntesis de folistatina e inhibina, con lo que se favorece la luteinización del folículo dominante.

En cuanto a la selección folicular, la inhibina y la activina tienen un papel importante porque la inhibina disminuye los niveles de FSH circulante, que compromete el desarrollo de los folículos más pequeños y la activina, producida por folículos preovulatorios grandes, suprime el crecimiento de los folículos adyacentes mediante un efecto paracrino (Mizunuma et al., 1999). Además, se ha demostrado que la activina puede estimular la maduración *in vitro* de oocitos humanos, lo que demuestra la complejidad del control paracrino en el desarrollo folicular (Alak et al., 1998).

## ESTEROIDES GONADALES

### Bioquímica

El ovario y el testículo, en respuesta a la estimulación de las gonadotropinas, producen hormonas lipídicas esteroideas. Las hormonas esteroideas son los estrógenos, que tienen 18 átomos de carbono; los andrógenos, con 19 átomos de carbono; y las progestinas, con 21 átomos de carbono. Además, la corteza suprarrenal sintetiza otras hormonas esteroideas llamadas adrenocorticales, que tienen 21 átomos de carbono. Los esteroideos forman una subclase de lípidos, que pertenece a una gran familia de compuestos químicos denominados terpenos o isoprenoides porque se forman de la polimerización de una unidad de isopreno y se caracterizan por tener una estructura esquelética básica de 4 anillos fusionados (3 de 6 carbonos y uno de 5 carbonos), denominada perhidrociclopentanofenantreno. Los carbonos de los anillos de dicha estructura han sido numerados a fin de describir los grupos funcionales unidos a ella.

### Síntesis

El precursor de las hormonas esteroideas es el colesterol, cuyo nombre se debe a que es además, el compuesto madre de los ácidos biliares. Para la biosíntesis

del colesterol, el ácido acético se convierte en ácido mevalónico; posteriormente, el ácido mevalónico se transformará en escualeno, que fue hallado por primera vez en el hígado de tiburones, de allí su nombre; finalmente, el escualeno se convierte en colesterol (fig. 5-7).

La síntesis de ácido mevalónico, a partir del ácido acético, requiere la condensación de 3 moléculas de acetyl-CoA. Éste es importante en la síntesis y oxidación de lípidos y está constituido por una molécula de acetato (ácido acético) unida a un cofactor llamado coenzima A (CoA). La coenzima A actúa en estas reacciones como un transportador de grupos acilo. Todos los órganos productores de esteroideos, excepto la placenta, pueden sintetizar el colesterol a partir del acetato. Sin embargo, la fuente principal es el colesterol sanguíneo, que penetra en las células ováricas a través de un receptor de membrana para las lipoproteínas de baja densidad que lo transportan (Speroff et al., 1999).

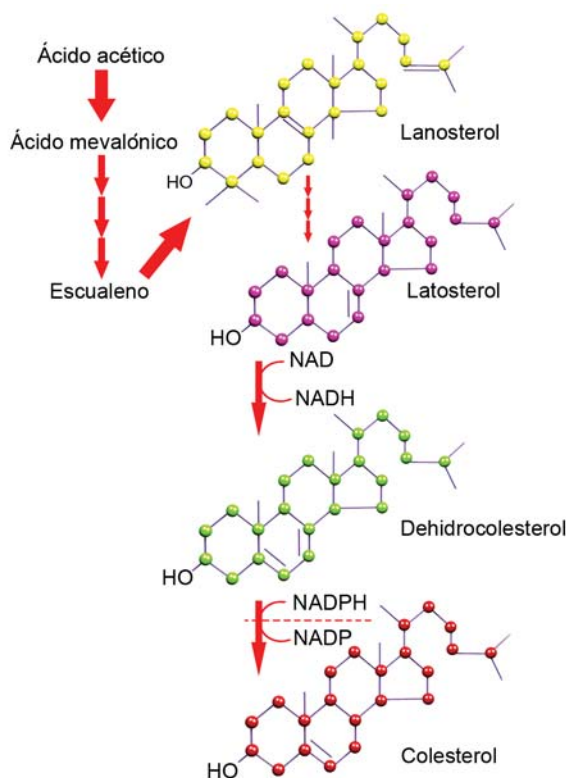


Figura 5-7. Metabolismo del colesterol.

La síntesis del colesterol a partir del escualeno, así como la conversión del colesterol en hormonas esteroideas, implica reacciones de hidroxilación que necesitan la forma reducida del nicotinamida adenina dinu-

cleótido fosfato (NADPH) y oxígeno molecular. En los tejidos productores de hormonas esteroideas, que son la corteza suprarrenal, el ovario, los testículos y la placenta, el paso inicial en la síntesis de la hormona es el ingreso del colesterol en la mitocondria. Este paso depende de proteínas transportadoras y permite regular la síntesis esteroidea de forma aguda (Clark et al., 1995). El patrón de las vías para síntesis de todas las hormonas esteroideas es similar. Esto explica por qué el ovario es capaz de sintetizar las tres clases de esteroideas sexuales: estrógenos, andrógenos y progestinas. Sin embargo, por la ausencia de ciertas enzimas el ovario no sintetiza glucocorticoides ni mineralocorticoides, que provienen de las glándulas suprarrenales.

En la mitocondria, el colesterol (de 27 átomos de carbono) se transforma en pregnenolona, un compuesto de 21 átomos de carbono (C21), al perder un fragmento lateral de 6 átomos de carbono. Una vez formada la pregnenolona, la síntesis ulterior puede seguir dos vías diferentes, pero ambas convergen porque tan-

to la dehidroepiandrosterona, como la 17-hidroxiprogesterona se pueden transformar en androstenodiona y ésta, a su vez, en testosterona (Simpson, 1979).

Estos dos andrógenos pueden ser transformados por la actividad de la enzima aromatasa en estrógenos, principalmente el estradiol, aunque también se puede originar a partir de la androstenodiona por la vía de la estrona, la cual también se puede secretar en cantidades significativas (fig. 5-8).

Los tipos de esteroideas producidos y secretados dependerán de la actividad enzimática de la célula esteroideogénica y de su condición fisiológica. La vía  $\Delta^4$ -3-cetona es la predominante en el cuerpo lúteo, mientras que la vía  $\Delta^5$ -3 $\beta$ -hidroxiesteroide es característica de tejidos no lúteos. Por consiguiente, el cuerpo lúteo secreta principalmente progesterona y estrógenos por la vía  $\Delta^4$ , mientras que en el folículo, la DHA y la androstenodiona sirven como precursores para los estrógenos (Speroff et al., 1999).

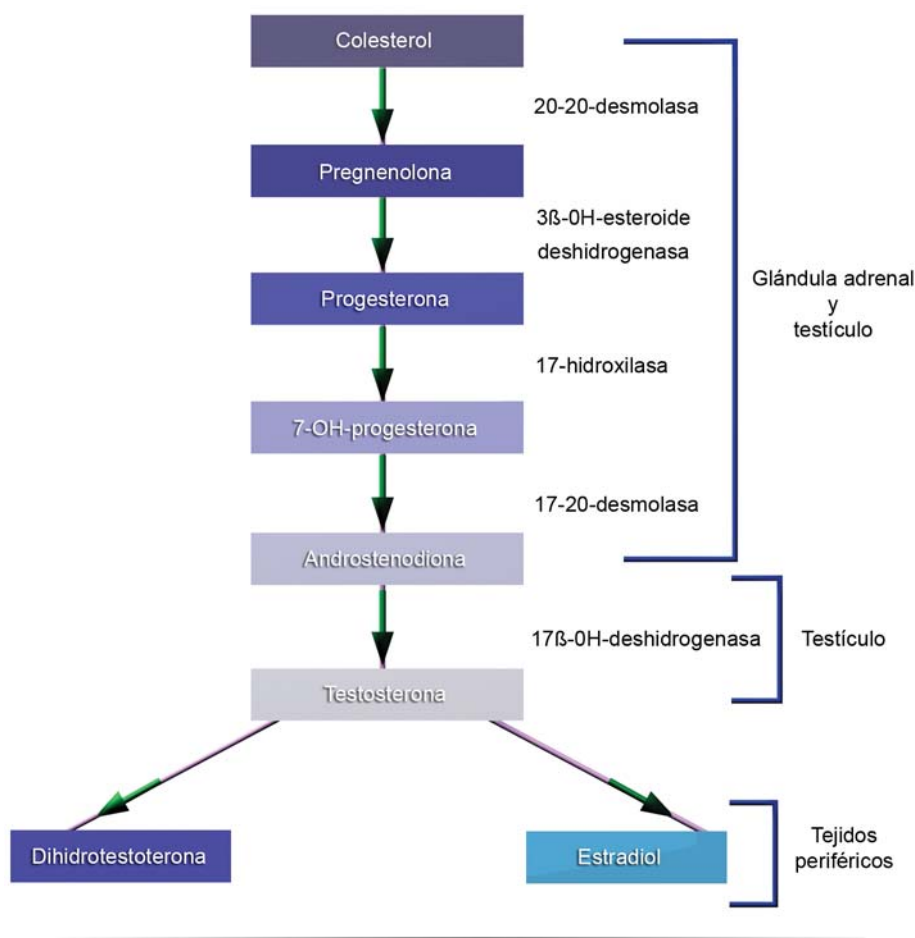


Figura 5-8. Metabolismo de las hormonas a partir del colesterol.



### Sistema de las dos células / dos gonadotropinas

Este modelo permite explicar cómo se acoplan las células de la teca y de la granulosa del folículo para la síntesis de esteroides (fig. 5-9) (Ryan et al., 1966; Leung and Armstrong, 1980). El folículo ovárico es el encargado de sintetizar los esteroides sexuales y a medida que se desarrolla, despliega una actividad esteroidogénica cada vez mayor, en respuesta a la estimulación de las gonadotropinas. Las células de la teca poseen, desde el

principio, receptores para la hormona luteinizante; sin embargo, en los estadios iniciales del desarrollo folicular, los receptores de LH no están presentes en las células de la granulosa y su aparición es estimulada por la FSH. En respuesta al estímulo de la LH, las células de la teca sintetizan esteroides, especialmente andrógenos que difunden hacia las células de la granulosa donde son aromatizados; la capacidad de transformar andrógenos en estrógenos a través de la aromatización es estimulada por la FSH (Carr et al., 2005).

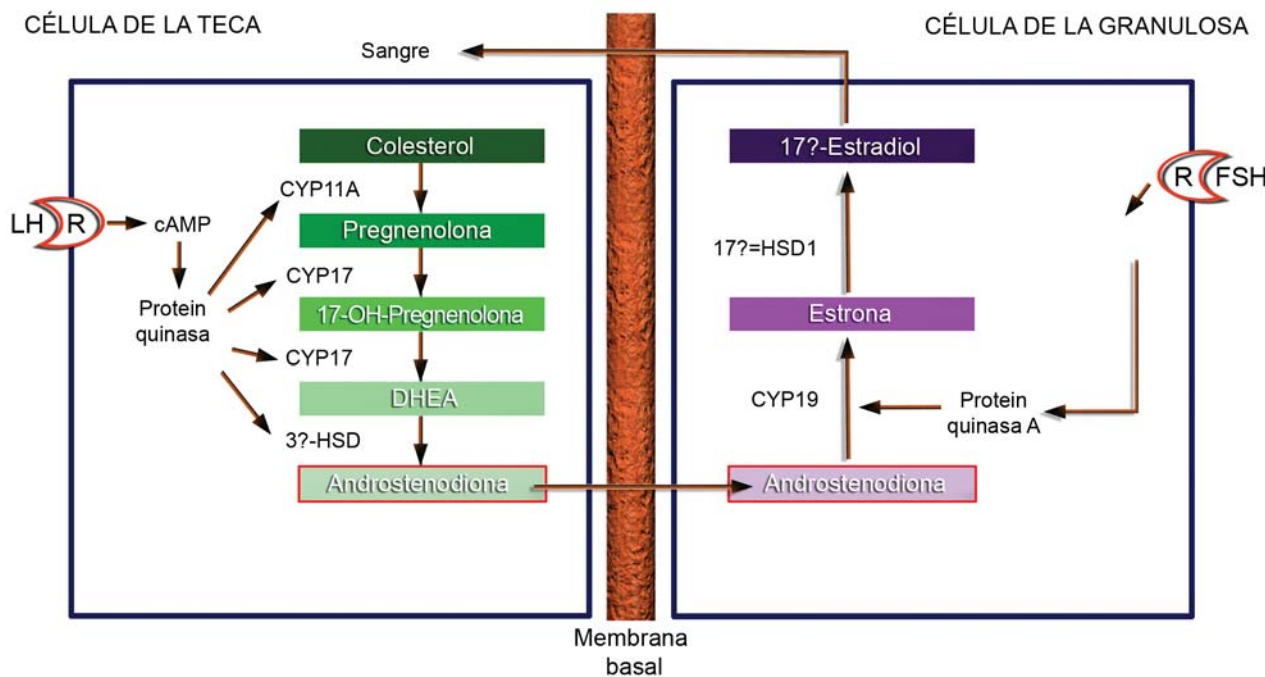


Figura 5-9. Sistema de las dos células / dos gonadotropinas.

El estradiol producido por esta acción conjunta y coordinada de las células de la teca y de la granulosa y la misma FSH, promueven la aparición de nuevos receptores de FSH en las células de la granulosa, con el consiguiente aumento de la sensibilidad del folículo a esta hormona y la promoción del crecimiento folicular. Además, la FSH estimula la aparición de los receptores de LH en las células de la granulosa, de forma que la oleada de LH en la mitad del ciclo induce la ovulación y la transformación de las células granulosas en cuerpo lúteo.

En la fase lútea, la LH es el principal estímulo para la producción de progesterona y estrógenos. Aunque tanto las células de la teca como las de la granulosa, poseen la capacidad de aromatizar andrógenos y transformarlos en estrógenos. La actividad aromatasa de las

células granulosas es varias veces mayor que la de las células de la teca, por lo que la granulosa es la principal fuente de estrógenos en el folículo en crecimiento, a partir de la aromatización de los andrógenos de la teca (Hillier et al., 1981).

Durante el desarrollo folicular, las células de la teca aumentan la expresión de la P450c17 (CYP17), que es la enzima limitante en la conversión de los sustratos de 21 átomos de carbono en andrógenos. Por el contrario, las células granulosas no expresan esta enzima y por tanto, son dependientes de la presencia de andrógenos tecales a fin de producir estrógenos (Sasano et al., 1989). La expresión creciente de la enzima P450arom en las células de la granulosa es un marcador bioquímico de desarrollo folicular. La síntesis de estrógenos requiere entonces, la cooperación entre las células de



la granulosa y las células tecaes. Por el contrario, las células de la granulosa son capaces de producir progesterona de forma independiente.

### Interconversión periférica

Durante la síntesis de esteroides, las formas precursoras o intermedias, por su carácter liposoluble, pueden salir de las células e ingresar en la circulación, donde se pueden cuantificar. Estos precursores se comportan como prehormonas porque son convertidos en formas biológicamente activas en los tejidos periféricos; por ejemplo, la tasa de producción de testosterona en la mujer normal es de 0,2-0,3 mg/día y, aproximadamente el 50% procede de la conversión periférica de la androstenodiona a testosterona, mientras que un 25% es secretado por el ovario y el otro 25%, por la suprarrenal (Baird et al., 1968).

En mujeres normales, aproximadamente el 60% de la testosterona circulante y prácticamente el 100% de la dihidrotestosterona (DHT) derivan de la conversión periférica de la androstenodiona. La mayor parte de la DHT deriva de la testosterona que penetra en la célula blanco, que es la célula sensible a la hormona, y se convierte en DHT por medio de una 5 $\alpha$ -reductasa (5 $\alpha$ Red). También el estriol es un metabolito periférico de la estrona y del estradiol y no es un producto secretado por el ovario.

La interconversión de andrógenos a estrógenos ocurre en la placenta, cerebro, músculos, piel, adipocitos y glándula mamaria, porque la enzima aromatasa (P450arom) se encuentra en estos tejidos. Los sitios más importantes de aromatización de esteroides son el tejido muscular y el adiposo, responsables del 30% y el 15%, respectivamente, de la aromatización extraglandular total de andrógenos a estrógenos; de allí la presencia de ciertos signos de feminización en los hombres obesos, como la ginecomastia (Longcope et al., 1978; Bembo and Carlson, 2004).

### Andrógenos en la mujer

Los andrógenos, que son hormonas importantes en la fisiología endocrina femenina, provienen del ovario, la glándula suprarrenal y de la conversión periférica de estrógenos a andrógenos, en los tejidos adiposo, muscular, cutáneo y cerebral. Los ovarios normales secretan tres andrógenos principales:

*Androstenodiona.* Es el único andrógeno circulante que tiene una concentración sérica más alta en mujeres que en hombres, pero su actividad androgénica es sólo el 10% de la que tiene la testosterona. El aporte de la glándula suprarrenal a los niveles circulantes de esta hor-

mona depende de un ritmo circadiano; en horas de la mañana, hasta el 80% de la androstenodiona circulante es de origen suprarrenal, para luego descender dicho aporte al final del día. Esto es importante al considerar la hora de la determinación de la hormona con fines diagnósticos (Abraham, 1974).

A medida que se desarrolla el folículo ovárico, produce androstenodiona de forma creciente, alcanzando los niveles más altos al final de la fase folicular; este incremento se mantiene en la segunda mitad del ciclo porque el cuerpo lúteo también secreta androstenodiona (Judd and Yen, 1973). En general, se puede considerar que en promedio, el 50% de la androstenodiona circulante es de origen ovárico y el restante 50% es de origen suprarrenal. Los valores de referencia de la androstenodiona en mujeres son de 3,1 a 12,2 nmol/L.

*Testosterona y dihidrotestosterona.* La testosterona puede ejercer su acción de forma directa o en forma de dihidrotestosterona (DHT), cuando es transformada por la 5 $\alpha$ -reductasa en tejidos como los folículos pilosos, la próstata y los genitales externos (Wilson and Gloyne, 1970). La dihidrotestosterona es tres veces más potente que la testosterona. El 25% de los niveles circulantes de testosterona provienen del ovario, otro 25% es de origen suprarrenal y el restante 50% es derivada de la transformación periférica de la androstenodiona en el hígado, tejido adiposo y piel (Horton and Tait, 1996). En la mitad del ciclo, la contribución ovárica de testosterona aumenta en un 10-15%. Los valores de referencia de la testosterona en mujeres son de 0,7-2,8 nmol/L.

Poco menos de la décima parte de la testosterona circulante se encuentra en la forma de dihidrotestosterona, la cual puede actuar en cualquier célula sensible a la testosterona; sin embargo, esta hormona no ejerce efecto alguno en los tejidos exclusivamente sensibles a la DHT como el folículo piloso, en los que sólo la DHT penetra en el núcleo para proporcionar el mensaje androgénico. Los valores de referencia de la DHT en mujeres son de 0,07-0,86 nmol/L.

*Dehidroepiandrosterona (DHEA) y sulfato de DHEA (DHEAS).* Los ovarios producen una pequeña cantidad de DHEA, que representa aproximadamente el 10% de los niveles circulantes de esta hormona. Además, la DHEA presenta un tiempo de vida media corto ( $t_{1/2}$  = 25 min), porque es rápidamente transformada en DHEAS por la acción de la enzima esteroide sulfotransferasa hepática (Bird et al., 1978); a su vez, el DHEAS es constantemente hidrolizado por la enzima esteroide sulfatasa, para convertirse nuevamente en DHEA (Ahmed et al., 2002) y, de esta forma, se man-



tienen en relativo equilibrio los niveles circulantes de esta última.

La DHEA y el DHEAS son andrógenos débiles, con aproximadamente un 5% de la actividad de la testosterona. Son sintetizadas casi en su totalidad en las glándulas suprarrenales; sin embargo, se pueden convertir en el ámbito periférico en otros andrógenos y, eventualmente, en estrógenos. Así, por ejemplo, la DHEA se puede convertir en androstenodiona que, a su vez, puede ser transformada en testosterona o estrona. Por su parte, el DHEAS se puede transformar en androstenodiol y luego en testosterona, que puede ser aromatizada a estradiol. Por todo esto, se pueden considerar parte de un pool o reservorio circulante de esteroides sexuales (Yen, 2001b). El valor de referencia del DHEAS es de 2,5-10,4  $\mu\text{mol/L}$  y de la DHEA es de 5,5-24,3  $\mu\text{mol/L}$ .

*Androstenodiol.* Se presenta en dos formas: el  $3\alpha$ -androstenodiol, que es un metabolito relativamente inactivo que proviene de la DHT cuando es metabolizada por una  $3\alpha$ -cetereductasa, y el  $\Delta^5$ -androstenodiol, que tiene una actividad androgénica débil y es secretado por ovarios y suprarrenales. El  $3\alpha$ -androstenodiol es transformado, mediante la enzima  $\beta$ -glucuronidasa, en el glucuronato de  $3\alpha$ -androstenodiol; el cual no sólo se forma en el hígado, sino también en tejidos sensibles a andrógenos que también poseen la enzima, como la piel (Moghissi et al., 1984; Lobo et al., 1987).

Como se señaló previamente, el  $\Delta^5$ -androstenodiol es secretado principalmente por los ovarios y las suprarrenales aunque, aproximadamente 1/3 del nivel sanguíneo proviene de conversión periférica de la DHEA y el DHEAS; por lo que es un metabolito intermedio en la transformación de DHEAS en testosterona y se puede convertir posteriormente en estrógenos (Baulieu et al., 1965; Lebail et al., 2002).

### Proteínas transportadoras

Los esteroides circulan unidos a proteínas plasmáticas, ya sea en uniones débiles como a la albúmina, o en uniones más específicas, como con la globulina fijadora de testosterona-estradiol, «sexual hormone binding globulin»: SHBG, y la globulina fijadora de corticosteroides, CBG, o transcortina. Este último tipo de unión más específica puede retrasar el metabolismo periférico (Siiteri et al., 1982). La SHBG es una glicoproteína dimérica sintetizada por el hígado, con una afinidad por estrógenos y andrógenos aproximadamente 30.000 veces mayor que la albúmina (Hammond, 1990).

Más del 97% de la testosterona y del estradiol están unidos a las proteínas plasmáticas, específicamente a la SHBG e inespecíficamente a la albúmina. La testosterona se une más a la SHBG que a la albúmina (70% vs. 30%), pero el estradiol tiene menor afinidad por la SHBG que la testosterona y se une en gran proporción a la albúmina (aproximadamente 50%).

La progesterona, al igual que el cortisol, no se une a la SHBG sino a la CBG y a la albúmina. El cortisol se une fundamentalmente a la CBG (90%), mientras que la progesterona se une fundamentalmente a la albúmina (80%) (Graham and Clarke, 1997). Los esteroides habitualmente se miden en sangre como concentración total, sin discriminar la fracción unida a proteínas de la fracción libre, a pesar de que la fracción libre es la de mayor importancia biológica porque puede difundirse más fácilmente en el tejido (Giorgi, 1980).

Se considera que la fracción ligada a las proteínas plasmáticas actúa como un reservorio de hormonas esteroides. Debido a su baja afinidad y a sus rápidas velocidades de disociación, los esteroides no conjugados fijados a la albúmina generalmente se tratan como libres y biológicamente disponibles (Englebienne, 1984). Sin embargo, en la actualidad, se sabe que el significado de la fracción unida a las proteínas puede ser más complejo porque las membranas celulares poseen sitios de fijación específicos para la SHBG y la CBG, pero no si esto facilita la internalización de la hormona o si tiene otro significado (Hryb et al., 1985).

También se ha planteado la hipótesis de que la proteína plasmática actúa como modulador de la capacidad de respuesta a la hormona, mediante el control de la disponibilidad de la molécula esteroide libre. En el plasma, la SHBG es dos veces mayor en mujeres que en hombres; esto se debe a que la síntesis de esta proteína es estimulada por los estrógenos e inhibida por los andrógenos. Debido a la elevada sensibilidad de la síntesis de SHBG a los estrógenos y andrógenos circulantes, el nivel circulante de esta proteína transportadora se considera un factor fundamental para el control del equilibrio entre las hormonas sexuales (Joseph, 1994).

### Metabolismo

Los esteroides circulantes son metabolizados en el hígado y sus metabolitos conjugados y excretados en la orina, principalmente en forma de glucuronatos y, en cierta medida, como ésteres sulfonatos. El metabolismo del esteroide involucra enzimas reductasas hepáticas, presentes en el citosol y en el retículo endoplasmático, y aunque la conjugación de un esteroide



reduce o elimina generalmente su actividad, la hidrólisis de la unión éster del esteroide conjugado en los tejidos blanco puede restablecer la forma activa. De este modo, la reducción del doble enlace del anillo A de la progesterona produce pregnenolona, y la reducción adicional del grupo 20-ceto produce pregnanodiol, que se excreta en la orina como glucurónido de pregnanodiol. Por otro lado, el pregnanotriol es el principal metabolito urinario de la 17 $\alpha$ -hidroxiprogesterona.

El grupo 17 $\beta$ -hidroxilo de la testosterona es oxidado a 17-cetona, originando la androstenodiona y se reduce el anillo A con la formación de androsterona. La oxidación del carbono 17 transforma el estradiol en estrona y la hidroxilación del carbono 16 transforma al estradiol en estriol.

El estriol es el metabolito periférico de la estrona y del estradiol y no es un producto secretado por el ovario. El estradiol es el estrógeno más potente, seguido por la estrona, mientras que el estriol tiene una muy baja actividad hormonal (Lippman et al., 1977). Los estrógenos son excretados principalmente como glucuronatos o sulfonatos de estrona, estradiol y estriol junto a 2-hidroxiestrona. La estrona y la 2-hidroxiestrona son los principales metabolitos hallados en individuos normales.

## Receptores

Los esteroides libres en la circulación se difunden hacia el interior de sus células blanco, se combinan con receptores específicos y una vez que han cumplido su misión, retornan a la corriente sanguínea. Es posible que una molécula de hormona esteroidea pueda realizar su tarea varias veces, en distintas células blanco, antes de ser metabolizada y eliminada. Los receptores de esteroides se encuentran en su forma inactiva en el compartimiento citoplasmático o nuclear, pero al unirse a la hormona en el núcleo, sufren un cambio que los activa y los hace capaces de afectar la transcripción de genes específicos.

Estos receptores constituyen una superfamilia de proteínas, que incluye a los distintos grupos de hormonas esteroideas, tiroideas y el ácido retinoico, denominada la superfamilia de receptores nucleares con tres dominios principales: un dominio de unión a la hormona esteroide, un dominio de unión al ADN y un dominio de modulación de la transcripción. El más conservado es el dominio de unión al ADN, que en su forma activa aumenta hasta 10 veces su afinidad por el ADN (Evans, 1988).

Los receptores nucleares se dividen en los siguientes tres grupos:

- Tipo 1. Que incluyen al receptor de estrógenos, progesterona, andrógenos y mineralocorticoides. Este tipo de receptores forman homodímeros inducidos por el ligando y se unen a secuencias invertidas del ADN, denominadas elementos de respuesta.
- Tipo 2. Entre los que se encuentran el receptor de la vitamina D<sub>3</sub>, hormona tiroidea y retinoides.
- Tipo 3. Que agrupa a receptores poco conocidos, como el TR2, «testicular orphan receptor 2», y el TR4, «testicular orphan receptor 4», que se han denominado receptores huérfanos, «orphan receptors», porque no tienen ligando activador conocido (Giguere et al., 1988).

## NEUROESTEROIDES

El encéfalo es capaz de sintetizar esteroides en forma independiente de las gónadas y glándulas suprarrenales, como lo demuestran estudios en ratas, en los que se ha detectado la presencia de las enzimas que sintetizan esteroides, principalmente en los astrocitos tipo 1 y oligodendrocitos de la glía, y estudios en humanos, en los que se ha señalado que la DHEA, pregnenolona y progesterona están presentes en todas las regiones del encéfalo, en concentraciones más altas que las plasmáticas (Naftolin et al., 1975; Baulieu, 1997; Lacroix et al., 1987).

Aunque no se conoce completamente la función de los neuroesteroides, se sabe que pueden modificar las actividades de los receptores del ácido gama-aminobutírico (GABA<sub>A</sub>) y los de glutamato. La participación del GABA en el aprendizaje y la memoria hacen suponer que los neuroesteroides podrían relacionar su función con el área cognitiva (Spivak, 1994; Wu et al., 1991).

## PROLACTINA

Es una hormona hipofisaria constituida por un único polipéptido de 198 aminoácidos, cuya secuencia es sorprendentemente similar a la que tiene la hormona del crecimiento (Niall et al., 1971). El gen que codifica la prolactina se ubica en el cromosoma 6 y deriva de un precursor somatomotrófico común para prolactina, hormona del crecimiento y lactógeno placentario, cuya antigüedad evolutiva se calcula en unos 400 millones de años (Owerbach et al., 1981; Cooke et al., 1981).





Las células del lóbulo anterior de la hipófisis que secretan prolactina, se denominan mamotropas o lactotropas y son células acidófilas pequeñas que contienen gránulos de unos 200  $\mu\text{m}$  de diámetro (Fawcett, 1989). Durante la gestación, estas células sufren una hipertrofia considerable y sus gránulos aumentan en número y tamaño hasta los 600  $\mu\text{m}$ . Las células somatotropas son numerosas y pueden constituir hasta el 40% de la celularidad total de la adenohipófisis (Lloyd et al., 1988).

El receptor de la prolactina es una proteína transmembrana que pertenece a la superfamilia de receptores de citoquinas, cuyo gen se ubica en el cromosoma 5 y que no sólo se encuentra en la glándula mamaria, sino que se ha aislado en las siguientes estructuras: hipotálamo, hipófisis, tracto gastrointestinal, próstata, decidua, membranas fetales, células de Leydig, ovario, útero y glándulas adrenales. La hormona del crecimiento se une a su propio receptor y al receptor de prolactina; sin embargo, esta última no se puede unir al receptor de la hormona del crecimiento. La ubicuidad del receptor de la prolactina se justifica por la importancia fisiológica de la hormona, a la que se le han descrito unas 300 funciones biológicas. Además de sus múltiples funciones en la reproducción, participa en varios procesos de la homeostasis del organismo (Sun et al., 2005; Bazan, 1990; Crumeyrolle-Arias et al., 1993; Jin et al., 1997; Nagano et al., 1995).

### Regulación de la secreción

La síntesis y liberación de la prolactina hipofisaria, está regulada por los denominados factores inhibidores de prolactina, «prolactin inhibiting factors»: PIF, y los factores liberadores de prolactina, «prolactin releasing factors»: PRF (Yen and Jaffe, 2001). La prolactina presenta un ritmo de secreción circadiano, con niveles de la hormona en sangre mayores en las horas de sueño y también hay un aumento de su secreción debido a un reflejo neuroendocrino producido por la succión mamaria (Parker et al., 1974).

*Factores inhibidores.* El principal factor inhibidor de la prolactina es la dopamina, una monoamina cuyo precursor es el aminoácido tirosina. La dopamina se une a un receptor localizado en la membrana plasmática, lo que reduce la síntesis y liberación de prolactina (Maurer, 1980).

Se ha propuesto que el ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) es también un inhibidor de la prolactina, al ser liberado al sistema portal hipofisario por terminaciones GABAérgicas en la eminencia media y el lactotrofo hipofisario poseer receptores para GABA (Grossman

et al., 1981). Se cree que, mientras la inhibición de la prolactina por parte de la dopamina es constante y tónica, el GABA puede inhibir en forma episódica en respuesta a ciertos estímulos, en lugar de ser secretado constantemente en sangre portal. Probablemente existen otras sustancias inhibidoras de la secreción de prolactina aún no caracterizadas (Murai et al., 1989).

*Factores estimuladores.* En 1998, se encontró el gen que codifica el péptido liberador de prolactina, «prolactin releasing peptide» PrRP, una proteína que está presente en extensas áreas del cerebro anterior y del tallo cerebral de la rata, así como también que existen dos preproteínas de 31 y 20 aminoácidos denominadas PrRP31 y PrRP20, respectivamente. A pesar de que el receptor de PrRP se encuentra en los lactotrofos hipofisarios, no se ha encontrado el péptido PrRP en las terminaciones nerviosas de la eminencia media, donde se ubican los factores liberadores o inhibidores hipofisarios. Por esto, se cree que el PrRP regula la secreción de PRL mediante un mecanismo diferente al de otras hormonas liberadoras (Ibata et al., 2000).

El lactotrofo posee receptores para la hormona liberadora de tirotrina (TRH), la cual es un potente estimulador de la secreción de prolactina; esto trae como consecuencia que los niveles sanguíneos de hormonas tiroideas puedan influenciar indirectamente la secreción de prolactina a través del efecto de retroalimentación que ejercen sobre la TRH (Jacobs et al., 1971). De esta forma, en los casos de hipotiroidismo primario, los niveles bajos de tiroxina ( $T_4$ ) y triyodotironina ( $T_3$ ), inducen un aumento de la secreción de TRH y niveles elevados de PRL. El hipertiroidismo produce indirectamente una disminución en la síntesis y liberación de prolactina, a menos que predominen otros factores que favorezcan la liberación de esta hormona.

Los estrógenos promueven la síntesis y liberación de prolactina por parte de la hipófisis porque, por una parte, el lactotrofo posee receptores estrogénicos, cuya activación incrementa la síntesis de PRL y, por otra, los estrógenos pueden modular en esta célula la sensibilidad a otros factores que regulan la síntesis y secreción de PRL. De tal manera que los estrógenos regulan positivamente los receptores de TRH del lactotrofo y reducen la sensibilidad de esta célula a la dopamina, aunque este último hallazgo surge de estudios en roedores y no en humanos (Raymond et al., 1978; Lean et al., 1977).

El péptido intestinal vasoactivo, VIP por «vasoactive intestinal peptide», la oxitocina, los opioides endógenos y otras sustancias también estimulan la secreción de prolactina, lo que demuestra la alta complejidad de los mecanismos de regulación de esta hormona.



## INSULINA Y LEPTINAS

La insulina es una hormona peptídica producida por las células  $\beta$  de los islotes de Langerhans, cuya principal función es la regulación del metabolismo de los carbohidratos, grasas y proteínas, principalmente en los músculos, tejido adiposo e hígado (Shuldiner et al., 1988; White and Kahn, 1993). En humanos, el gen de la insulina se encuentra en el cromosoma 11 y codifica una proteína de 110 aminoácidos de cadena única denominada preproinsulina que, por proteólisis, se convierte en proinsulina, el cual será dividido por endopeptidasas para transformarse en insulina activa (Dumonteil and Philippe, 1996).

Para ejercer su función, la insulina se une a un receptor de membrana que estructuralmente es un heterotetrámero, constituido por dos subunidades  $\alpha$  y dos subunidades  $\beta$ . La unión de la insulina a su receptor resulta en la activación de varios eventos metabólicos, que incluyen: síntesis proteica, lipogénesis, transporte de electrólitos transmembrana, y muchos otros efectos en el metabolismo de los carbohidratos, de los cuales el más importante es la estimulación del transporte transmembrana de glucosa (White and Kahn, 1993).

En la actualidad, se ha señalado la presencia de receptores de insulina en los compartimientos folicular y estromal del ovario humano, lo cual hace que este órgano sea sensible al efecto de la insulina, al influenciar la esteroidogénesis (Barbieri and Ryan, 1983; Poretsky et al., 1984). De igual manera, se ha demostrado la producción de factores de crecimiento similares a la insulina, tipo I y tipo II (IGF-I e IGF-II), con la síntesis de sus respectivas proteínas fijadoras para estos factores. Estos factores de crecimiento son polipéptidos que modulan la proliferación y diferenciación y operan a través de receptores específicos de membrana, que actúan localmente en forma autocrina y paracrina (Fortune et al., 2004).

Se ha estudiado el efecto de estos factores en la fisiología ovárica y la conclusión aparente de todos estos estudios es que la insulina participa en el desarrollo normal del folículo (Poretsky and Kalin, 1987; Giudice, 1992; Erickson and Danforth, 1995). En efecto, en condiciones de hiperinsulinismo, la alteración de la homeostasis de la insulina modifica la función ovárica.

### Receptores en el ovario

Los niveles de insulina en sangre periférica de una mujer sana son de 10  $\mu$ U/ml, en ayunas, y cerca de 50

$\mu$ U/ml en la primera hora después de una carga oral de glucosa. En mujeres obesas, estos niveles son mayores, cerca de 15  $\mu$ U/ml, y 60  $\mu$ U/ml, después de la carga de glucosa. En los casos de resistencia a la insulina, como en algunas formas del síndrome de ovario poliquístico o en los estadios tempranos de la diabetes mellitus tipo II, estos niveles ascienden a 20-35  $\mu$ U/ml en ayunas y 120-180  $\mu$ U/ml después de la carga glucosada (Poretsky, 1991; Dunaif, 1992). El paso final de la insulina al líquido folicular se lleva a cabo, probablemente, por trasudación, y las concentraciones de insulina en el líquido folicular oscilan en un amplio rango, desde 2  $\mu$ U/ml hasta 65  $\mu$ U/ml, con un valor promedio de aproximadamente 16  $\mu$ U/ml (Diamond et al., 1985; Webster et al., 1985).

Tanto en modelos animales como en los seres humanos, los receptores de insulina se encuentran ampliamente distribuidos en todos los compartimientos ováricos, que incluyen la granulosa, la teca y el estroma (Poretsky and Kalin, 1987; Poretsky et al., 1984; Poretsky et al., 1985). La regulación de la expresión del receptor de insulina en el ovario humano ha sido investigada y, al igual que en otros órganos, la insulina misma desempeña el papel más importante en este proceso. In vitro, la exposición a la insulina produce una disminución del número de receptores disponibles, «down regulation», como ocurre con muchas otras hormonas proteicas. In vivo, este fenómeno ha sido observado en ovario de ratas en las que se induce hiperinsulinismo.

En mujeres en edad reproductiva, las gonadotropinas y las hormonas esteroideas pueden estar involucradas en la regulación del receptor de insulina (Poretsky et al., 1990).

### Efectos en la esteroidogénesis

En los estudios in vitro, la insulina estimula directamente la esteroidogénesis, tanto en las células de la teca como en las de la granulosa, lo que incrementa la producción de estrógenos, andrógenos y progesterona (Poretsky and Kalin, 1987; Willis et al., 1996). Sin embargo, in vivo no se ha podido demostrar que la insulina favorezca la esteroidogénesis en el ovario; se piensa que para que la insulina pueda favorecer la esteroidogénesis, requiere una exposición prolongada y altas concentraciones de la hormona (Nestler et al., 1992).

### Interacción con las gonadotropinas

Estudios in vitro e in vivo sugieren que la insulina potencia la respuesta esteroidogénica a las gonadotropinas (Willis et al., 1996; Garzo and Dorrington,



1984). En las células de la granulosa, el efecto puede ser mediado por un incremento del número de los receptores de LH, además de aumentar, junto a la FSH, la capacidad de unión de la LH a sus receptores (Davoren et al., 1986). Además, la insulina puede actuar en la hipófisis al aumentar la sensibilidad a la GnRH (Soldani et al., 1994).

### Efectos en el crecimiento ovárico y formación de quistes

Con respecto al efecto trófico sobre el ovario, se sabe que la insulina puede estimular el crecimiento de las células de la teca-intersticial *in vitro* (Duleba et al., 1997). Por otra parte, en mujeres con síndrome de ovarios poliquísticos, se ha logrado correlacionar los niveles de insulina con el aumento del tamaño de los ovarios (Pache et al., 1992).

### Efectos en la producción de la globulina fijadora de hormona sexual (SHBG)

Se ha demostrado en estudios *in vitro* e *in vivo* que, en el hígado, la insulina disminuye la producción de la SHBG (Nestler et al., 1991). La supresión de la producción de SHBG puede ser la responsable del hiperandrogenismo en algunas pacientes con resistencia a la insulina. Aunque es evidente que la hiperinsulinemia contribuye al desarrollo de hiperandrogenismo, no todas las condiciones clínicas asociadas a hiperinsulinemia generan una producción aumentada de andrógenos por los ovarios.

## FACTORES DE CRECIMIENTO SIMILARES A LA INSULINA

También llamados somatomedinas, son péptidos que poseen similar estructura y función que la insulina y son mediadores de la acción de la hormona del crecimiento. El IGF-I es un polipéptido de 70 aminoácidos de cadena simple cuya secuencia es homóloga con la del IGF-II, la proinsulina y la relaxina. El IGF-I es considerado como un péptido de origen y acción exclusivamente postnatal. Es secretado principalmente por el hígado, bajo la influencia de la hormona del crecimiento e induce el crecimiento longitudinal del hueso. El IGF-II es un polipéptido de 67 aminoácidos, de cadena simple que es, aproximadamente, 70% homólogo con el IGF-I y 50% homólogo con la proinsulina. Se cree que el IGF-II es importante en el crecimiento y desarrollo embrionario y fetal. Ambos factores IGF inducen la expresión de genes responsables de la proliferación y diferenciación celular (Humbel, 1990).

Las acciones biológicas de los IGF sobre los órganos blanco están moduladas por seis diferentes proteínas transportadoras (IGFBP). Estas proteínas no glicosiladas se unen a los IGF y sirven como transportadores del factor en el plasma y regulan el efecto de los IGF sobre los tejidos. La acción regulatoria de estas proteínas se debe a la unión y secuestro de los IGF que previene su unión al receptor. Aparentemente, las proteínas fijadoras también ejercen un efecto sobre la célula que es independiente del factor de crecimiento.

### Efectos en el ovario

Los efectos de los IGF sobre el ovario están relacionados principalmente con la estimulación de la esteroidogénesis y la respuesta a las gonadotropinas. Los IGF pueden interactuar con tres receptores diferentes: el del IGF-I, IGF-II y el receptor de la insulina. En el ovario se ha demostrado que el IGF-II ejerce su acción a través del receptor de IGF-I, que es sintetizado principalmente por las células de la teca, estimula la síntesis del ADN y la secreción de los estrógenos por la granulosa, en donde también incrementa la síntesis del receptor de LH (Adashi et al., 1989; El-Roey et al., 1993). Por tanto, este factor actúa en forma sinérgica con la FSH en la estimulación de la esteroidogénesis y, después que aparece el receptor de la LH en las células granulosas, aumenta la producción de progesterona inducida por LH (Druckmann and Rohr, 2002).

El IGF-II es producido tanto por las células tecales como por las células de la granulosa; sin embargo, los niveles más altos se encuentran en esta última.

Este factor estimula la proliferación de las células granulosas y su secreción de estradiol y prostaglandinas al incrementar la aromatización de andrógenos (Mason et al., 1994). El efecto del IGF-II, en la producción de estradiol, en las células que son preincubadas con insulina, es más pronunciado, posiblemente debido a que la insulina ejerce un efecto de regulación a favor de los receptores tipo I del IGF.

Igualmente, el IGF-II estimula la síntesis de ADN en las células de la granulosa y la proliferación de éstas (Di Blasio, 1994). También se ha descrito, por efecto del IGF-II, un aumento de la producción de andrógenos por las células de la teca (Gomez et al., 1993; Adashi, 1995).

## LAS LEPTINAS Y EL OVARIO

La leptina es un péptido de 167 aminoácidos, sintetizado exclusivamente en los adipocitos de varias especies animales y los seres humanos, que se une a di-



versas proteínas transportadoras (Sinha et al., 1996a). El nivel plasmático de leptina es mayor en las mujeres que en los hombres, por un efecto supresor de la testosterona en la secreción del péptido (Rosenbaum et al., 1996).

La leptina es secretada en forma de pulsos de alta frecuencia, cuya amplitud es mayor en las personas obesas; sus niveles séricos dependen de la ingestión de alimentos, porque declinan durante el ayuno y aumentan con la ingesta; además, su secreción es estimulada por la insulina y los glucocorticoides e inhibida por las catecolaminas (Sinha et al., 1996b). El receptor de leptina se encuentra en la membrana celular y se ubica en varias regiones del cerebro, en especial el hipotálamo, donde regula el comportamiento alimentario y estimula la secreción de gonadotropinas. Se han identificado receptores de las leptinas en el ovario, donde inhibe la producción ovárica de estradiol y progesterona, pero puede estimular la producción de andrógenos, mediante la estimulación de la  $17\alpha$ -hidroxilasa (Zachow et al., 1997).

Parecen ser necesarios niveles adecuados de leptinas en sangre para la activación del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, ya que se relacionan con el peso corporal, el ciclo menstrual y la aparición de la pubertad. Entonces, la insulina estimula la secreción de leptinas que, a su vez, aumentan la respuesta de la hipófisis a la GnRH y promueven la secreción de gonadotropinas (Goumenou et al., 2003).

En estados caracterizados por hipoinsulinemia, tales como ayuno prolongado, bajo peso y diabetes mellitus tipo I no tratada, puede originarse amenorrea, debido a que disminuyen los niveles de leptina circulantes y ocurre la desactivación del eje hipotálamo-hipófisis-ovario. Por otra parte, los estados de hiperinsulinismo se asocian a altos niveles de leptina circulante, que puede tener influencia en el hiperandrogenismo y anovulación que acompañan a la hiperinsulinemia (Poretsky et al., 1999).

## CICLO MENSTRUAL

El ciclo menstrual se define como la expresión repetitiva de un conjunto de acontecimientos en la fisiología reproductiva femenina, que involucran el hipotálamo, la hipófisis, los ovarios y el útero. Estos eventos conducen a la liberación de un oocito maduro apto para ser fertilizado y la preparación del endometrio para la implantación. Sin embargo, cuando no ocurre la implantación del embrión, el endometrio se descama, es decir, su capa funcional se desprende a

fin de renovarse, y el ciclo culmina con el sangrado menstrual.

Cada ciclo tiene una duración media de 28 días, no obstante, se aprecia un incremento de los intervalos intermenstruales en los extremos de la vida reproductiva de la mujer (Treloar et al., 1967). La prolongación de estos intervalos se asocia a ciclos anovulatorios que son frecuentes durante la adolescencia y el inicio de la menopausia (Collett, 1954).

Clínicamente, el primer día de sangrado es aceptado como el inicio de un ciclo menstrual (día 1), que continúa los días siguientes con una numeración correlativa. Otra forma de describir el ciclo menstrual es indicando el día 0 como el día de la ovulación y los anteriores a éste como -1, -2, etc., y los posteriores como +1, +2, etc.

El inicio de cada ciclo está determinado por la regresión del cuerpo lúteo del ciclo anterior, que produce una drástica disminución de los niveles de estradiol y progesterona, lo cual ocasiona la degeneración y descamación del endometrio. Esta disminución de los esteroides ováricos sensibiliza el eje hipotálamo-hipófisis, que incrementa la secreción de gonadotropinas, favoreciendo así el desarrollo folicular del ciclo siguiente (fig. 5-10).

Se desconocen los mecanismos que determinan cuáles y cuántos folículos iniciarán su crecimiento en un ciclo determinado, pero se sabe que el número que inicia su crecimiento parece ser dependiente del tamaño del pool residual de folículos primordiales inactivos (Gougeon et al., 1994). Cada folículo establece competencia con el resto de la cohorte y, al final, uno sólo se logrará desarrollar hasta completar la ovulación y su transformación en cuerpo lúteo.

Se cree que el tiempo necesario para que un folículo alcance el estado preovulatorio es de 85 días y que durante la mayor parte de este período, el proceso es independiente de factores hormonales (Oktay et al., 1988). Sólo en la última etapa del desarrollo folicular, que transcurre durante la primera mitad del ciclo menstrual, requiere de la intervención de la FSH. Si en esta etapa los folículos no son rescatados por la hormona, sufrirán atresia. Entonces, el crecimiento inicial de los folículos transcurre a lo largo de muchos ciclos menstruales, hasta que esta cohorte folicular es reclutada al momento de la transición del final del ciclo anterior y el comienzo del ciclo menstrual, en el que la cohorte aportará el folículo destinado a ovular (Mais et al., 1986; McGee and Hsueh, 2000)



El ciclo menstrual comprende tres etapas o fases denominadas: folicular, ovulatoria y lútea, que se fundamentan en los fenómenos ováricos. Por otro lado, en el endometrio se distinguen también tres fases denominadas: proliferativa, secretora y menstrual. Esta

última se caracteriza por el sangrado, que es el parámetro clínico que marca el inicio del ciclo menstrual, aunque el reclutamiento de la cohorte de folículos ováricos que se desarrollarán en dicho ciclo haya ocurrido en los días finales del ciclo anterior.

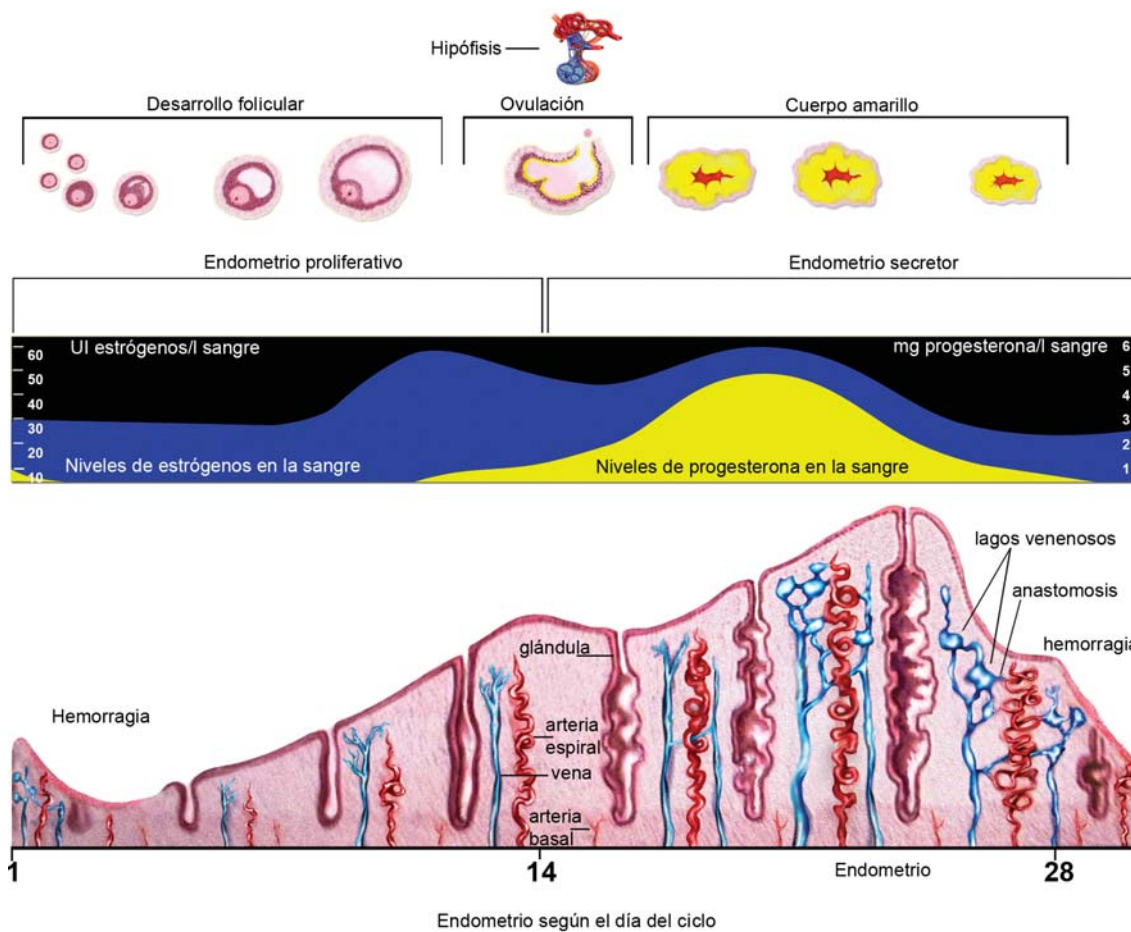


Figura 5-10. Cambios durante el ciclo menstrual.

### Fase folicular

Comprende la primera mitad del ciclo y se caracteriza por el desarrollo de un grupo de folículos ováricos, de los cuales sólo uno llegará a madurar y ovular. Como se ha explicado, el reclutamiento folicular se inicia en la fase luteínica tardía del ciclo anterior. Para que se produzca el desarrollo folicular, es necesario que exista una liberación pulsátil de GnRH durante 14 días, a una frecuencia dentro de los requerimientos fisiológicos, capaz de estimular la secreción de FSH y LH por parte del gonadotropo, acompañada de la disminución de los niveles de estradiol, progesterona e inhibina A, como consecuencia de la muerte del cuer-

po lúteo originado en el ciclo anterior (Vermesh and Kletzky, 1987; Welt et al., 1997). La secreción pulsátil de GnRH es más frecuente pero de menor amplitud durante la fase folicular en comparación con la fase lútea, con un leve incremento en frecuencia en el momento preovulatorio.

Las gonadotropinas son responsables del desarrollo folicular posterior al reclutamiento. La FSH estimula la proliferación de las células de la granulosa, la síntesis de receptores de LH y la actividad aromataza que transforma los andrógenos sintetizados en la teca en



estradiol. Por su parte, la LH estimula a las células de la teca para que sintetizen y secreten andrógenos. El folículo ovárico es una unidad funcional endocrina, que sintetiza estrógenos de acuerdo a un trabajo acoplado de la teca y las células de la granulosa, que se ha denominado sistema de las dos células/dos gonadotropinas. La actividad aromatasa de las células de la granulosa es muy superior a la de las células de la teca (Sasano et al., 1989). Además, en los folículos preantrales y antrales, los receptores para LH se encuentran sólo en las células de la teca, y los receptores para FSH, sólo en las células de la granulosa (Kobayashi et al., 1990). Por consiguiente, las células de la teca, estimuladas por la LH, producen andrógenos, los cuales serán transformados en estrógenos en la granulosa, mediante el proceso de aromatización estimulado por la FSH.

El proceso de selección de un folículo único, denominado folículo dominante de Graaf (Regnier de Graaf, 1641-1673, médico y anatomista holandés), ocurre durante los 5 a 7 días de la fase folicular (Goodman and Hodgen, 1983) y se asocia con una mayor capacidad del folículo que va a ovular, de biosintetizar y secretar andrógenos, estrógenos e inhibina con respecto al resto de la cohorte folicular. Durante este período, el folículo dominante produce estradiol de manera cada vez mayor, lo cual conduce a un mecanismo de regulación dual porque, por una parte, actúa suprimiendo la liberación de FSH y, por otra, ejerce un efecto de retroalimentación positiva sobre la LH, estimulando el incremento de los niveles de esta hormona, que se hace más evidente durante la fase folicular tardía.

La supresión progresiva de la liberación de la FSH, por el efecto de retroalimentación negativa ejercida por el incremento de estradiol producido por el folículo dominante, impide el desarrollo del resto de la cohorte folicular. Sin embargo, a pesar del descenso en los niveles de FSH, el folículo dominante continúa siendo dependiente de esta hormona para su desarrollo, que es posible gracias a que posee una mayor cantidad de receptores para FSH, que le permite a las células de la granulosa proliferar más rápidamente que el resto de los folículos. Adicionalmente, la FSH estimula el desarrollo de los receptores de LH en las células de la granulosa. En presencia de FSH, los estrógenos se convierten en la hormona dominante en el líquido folicular (McNatty et al., 1980).

Los folículos antrales, con una adecuada proliferación de células de la granulosa, contienen altas concentraciones de estrógenos y una baja proporción de andrógenos. Estos folículos, además, son los que probablemente contienen oocitos sanos, porque un eleva-

do ambiente androgénico en el líquido folicular antagoniza la proliferación de las células granulosas y promueve cambios degenerativos en el oocito (McNatty et al., 1980). A diferencia de lo que sucede en el folículo dominante, el descenso de los niveles de FSH limita la capacidad de aromatización y la producción de estrógeno en los folículos menos maduros, lo que promueve la conversión hacia un microambiente androgénico que conlleva cambios atrésicos irreversibles.

Durante la fase folicular temprana, la activina producida por las células de la granulosa de folículos inmaduros promueve todas las actividades de la FSH (Xiao et al., 1992; Miro and Hillier, 1992). Posteriormente, en la fase folicular tardía, la producción de inhibina por la granulosa disminuye la síntesis de activina y promueve la síntesis de andrógenos tecales, a fin de proveer a la granulosa del sustrato necesario para la aromatización a estrógenos (Sawetawan et al., 1996). La activina antagoniza a la inhibina en este efecto estimulante de la síntesis de andrógenos y se establece un balance a fin de prevenir el predominio de un microambiente androgénico. A medida que el folículo crece, disminuye la producción de activina y se incrementa la producción de inhibina (Marrs et al., 1984). En conclusión, el folículo dominante altera la secreción de gonadotropinas mediante mecanismos de retroalimentación evocados por los esteroides y péptidos ováricos, a fin de optimizar su propio microambiente endocrino folicular, en detrimento del desarrollo de los folículos más pequeños (Mais et al., 1986; Phillips, 2005).

La LH aumenta sus niveles conforme lo hacen los niveles de estrógenos, por lo que la concentración de estradiol y el tiempo que esta hormona permanece alta, resultan ser factores determinantes en el mecanismo de retroalimentación positiva. El incremento de LH estimula a su vez la producción de andrógenos en las células de la teca. Por último, gracias al aumento de estradiol, la LH eleva tanto su cantidad como su bioactividad en la mitad del ciclo (Carr et al., 2005).

Además de los procesos en el ovario, durante el ciclo menstrual normal, el endometrio experimenta una serie de modificaciones para cumplir sus funciones de preparación para la implantación del oocito fecundado y la formación de la porción materna de la placenta. Específicamente durante la fase folicular, gracias a la acción de los estrógenos, el endometrio comienza un proceso de proliferación, donde se incrementan las divisiones mitóticas de las células del epitelio y del estroma. Las glándulas endometriales aumentan en número y longitud, las arterias espirales se van alargando, realizando un trayecto menos tortuoso, aunque no



alcanzan todavía el tercio superficial del endometrio. La actividad proliferativa del endometrio se puede extender hasta un día después de la ovulación.

### Fase ovulatoria

La ovulación, definida como la expulsión de un oocito maduro del folículo de Graaf, es consecuencia de un abrupto incremento en los niveles de la hormona luteinizante, que produce una serie de cambios bioquímicos. La continuación de la maduración oocitaria, la luteinización del folículo con aumento de la secreción de progesterona, la maduración del *cumulus oophorus*, la ruptura de la pared folicular y, finalmente, la liberación de un oocito maduro capaz de ser fecundado, son funciones biológicas ejercidas por la LH durante la ovulación, necesarias para la fecundación y el desarrollo embrionario inicial (Tsafriri, 2002) (fig. 5-11).

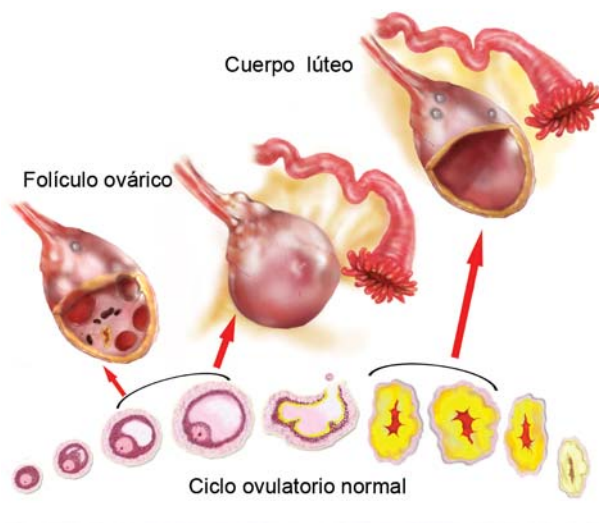


Figura 5-11.  
Crecimiento y ruptura folicular.

La ovulación se desencadena por el efecto de un incremento súbito e importante en la secreción de LH, denominado oleada o pico de secreción de LH. El efecto de los estrógenos en la secreción de FSH es siempre inhibitorio; por el contrario, el efecto del estradiol en la secreción de LH depende de su concentración y duración del estímulo. En efecto, a bajas concentraciones séricas, los estrógenos ejercen un efecto inhibitorio en la secreción de LH. Sin embargo, una elevada concentración de estradiol ejerce un efecto estimulador en la liberación de LH.

Aproximadamente 2 o 3 días antes de que se produzca la oleada de LH, las concentraciones séricas de estradiol, inhibina, progesterona y  $17\alpha$ -hidroxipro-

gesterona experimentan un incremento paulatino. La elevación de estradiol es debida a que el folículo dominante secreta cantidades cada vez mayores de esta hormona. Cuando la concentración de estrógenos se hace lo suficientemente alta y sostenida, conduce a una descarga masiva de LH. Para ejercer este efecto de retroalimentación positiva, se requiere una concentración sérica de estradiol superior a los 200 pg/ml, la cual se debe mantener por aproximadamente 50 horas (Young and Jaffe, 1976). Este nivel de estradiol nunca se alcanza antes de que el folículo dominante tenga un diámetro superior a los 15 mm (Cahill et al., 1998).

Esta descarga activa la reanudación de la meiosis en el oocito, favorece la luteinización de las células de la granulosa, la producción de progesterona y la síntesis de prostaglandinas (esenciales para la ruptura del folículo). El incremento de los niveles de progesterona es un reflejo de la luteinización de las células de la granulosa después que éstas han adquirido receptores de LH, hormona capaz de iniciar la síntesis de progesterona y de  $17\alpha$ -hidroxiprogestero (McNatty et al., 1979). El pico de LH producido a mitad del ciclo se acompaña de una elevación, aunque de menor magnitud, en los niveles de FSH.

La progesterona experimenta un incremento significativo entre las 12 y 24 horas previas a la ovulación, como consecuencia de la luteinización de la granulosa. Este incremento de progesterona se cree que es el responsable de la descarga de FSH en la mitad del ciclo que acompaña al pico de LH, con el fin de garantizar una cantidad adecuada de receptores de LH en la granulosa. Durante la mitad del ciclo, los andrógenos también experimentan un incremento de sus niveles, como consecuencia de los restos de tejido tecal, de aquellos folículos que alcanzaron menor desarrollo durante el ciclo.

Bajo las condiciones hormonales descritas anteriormente, la ovulación ocurre entre las 34 y 36 horas luego de la oleada de LH (Pauerstein et al., 1978). La duración promedio de la oleada de LH se estima en 48 horas y se caracteriza por presentar un brazo rápidamente ascendente, que tiene una duración de aproximadamente 14 horas, acompañado de una declinación rápida de los niveles circulantes de estradiol,  $17\alpha$ -hidroxiprogestero e inhibina B y un ascenso de inhibina A. Luego un brazo descendente, más prolongado que el anterior, con una duración estimada en 20 horas, que se caracteriza por la elevación abrupta de progesterona e inhibina A y una disminución de  $17\alpha$ -hidroxiprogestero, estradiol, e inhibina B. En efecto, a medida que la LH alcanza su valor máximo, los ni-



veles de estradiol descienden, lo cual puede ser atribuido a un mecanismo de regulación negativo, que ejerce la LH sobre sus mismos receptores en el folículo.

En las 4 a 6 horas previas a la ovulación, se produce un aumento de la capilaridad folicular e hiperemia y cuando sólo faltan 2 horas para que ésta ocurra, el folículo protruye hacia el exterior del ovario; luego las conexiones de colágeno son degradadas y se incrementa la presión intrafolicular, lo cual culmina en la expulsión del oocito y la masa celular que lo rodea. La lisis del colágeno, que ocurre durante la ovulación, es el producto de la activación de una cascada de enzimas proteolíticas, entre ellas el factor activador del plasminógeno, la plasmina y de las metaloproteínas de la matriz, que degradan el estroma perifolicular y descomponen el entramado de las fibras de colágeno que suministran el sustento a la pared folicular (Tsafiriri, 2002).

El flujo sanguíneo ovárico también experimenta cambios durante la ovulación, aumentándose como consecuencia del estímulo producido por las gonadotropinas. Este incremento ha podido ser confirmado por el uso de la ecografía Doppler transvaginal, que permite la evaluación del flujo vascular folicular (Collins et al., 1991). Durante la ovulación hay disolución de la matriz extracelular y disociación del colágeno tecal, junto con un incremento en la permeabilidad vascular y edema del tejido folicular.

Los leucocitos y las células endoteliales residentes en el folículo secretan citocinas que reclutan leucocitos vecinos, provocando su migración. Además, estas citocinas activan unas moléculas denominadas integrinas, que inducen la adhesión de los leucocitos al tejido. Estos leucocitos adheridos liberan enzimas proteolíticas como la elastasa y la colagenasa, que permiten la digestión de las proteínas de la matriz extracelular causando cambios estructurales en la pared folicular, que provocan la ruptura del folículo (Bukulmez, 2000).

### Fase lútea

Poco antes de la ruptura del folículo, las células granulosas aumentan de tamaño y aparece el característico aspecto vacuolado, asociado con la acumulación de luteína, un pigmento amarillo que da nombre al cuerpo lúteo (fig. 5-12). Luego que ha ocurrido la ovulación, las células de la granulosa se transforman en células luteínicas productoras de progesterona y el folículo se transforma en el cuerpo lúteo. La población celular del cuerpo lúteo no es homogénea y se compone de dos tipos: las células lúteas grandes, que se cree se originan de las células de la granulosa, y las células

pequeñas, más numerosas y cuyo origen pudieran ser las células tecales (Retamales et al., 1994). Las primeras tienen mayor capacidad esteroidogénica, pero no se ha logrado detectar en ellas receptores para LH; mientras que estos receptores son numerosos en las células lúteas pequeñas (Brannian and Stouffer, 1991).



Figura 5-12.  
Cuerpo amarillo.

La angiogénesis es un aspecto resaltante de la luteinización y se produce debido a la secreción de factores de crecimiento producidos por las células granulosas luteinizadas, como el factor de crecimiento del endotelio vascular, «vascular endotelial growth factor»: VEGF (Christenson and Stouffer, 1997). Los capilares penetran en la capa de la granulosa, hasta alcanzar la cavidad central y, alrededor del día 8 o 9 luego de la ovulación, se logra el punto máximo de vascularización, lo cual se corresponde con los niveles máximos de estradiol y progesterona en sangre.

La progesterona actúa en el ámbito local, al preparar el endometrio para la implantación y, además, detiene el crecimiento folicular. En efecto, los bajos niveles de gonadotropinas que se producen por retroalimentación negativa generada por la progesterona, los estrógenos y la inhibina, evitan el crecimiento folicular durante la fase lútea. La secreción de progesterona y estradiol por el cuerpo lúteo es episódica y sincronizada con los pulsos de LH (Filicori et al., 1984).

El cuerpo lúteo declina aproximadamente unos 9 a 11 días después que ha ocurrido la ovulación, su duración depende de un balance entre los factores luteotrópicos y luteolíticos, cuyos mecanismos de control presentan importantes diferencias de una especie a otra. En humanos, como hormona luteotrópica desta-





ca principalmente la LH, que a través de receptores en las células luteínicas estimula la producción de AMPc. Otro importante factor luteotrópico en el ciclo menstrual humano es la prostaglandina  $E_2$ .

Cuando no ocurre la implantación, el cuerpo lúteo degenera, evento este que precede a la menstruación. Los mecanismos de la luteólisis intraovárica no son bien conocidos, aunque se sabe que en él participan ciertas prostaglandinas y la oxitocina. En el caso de que ocurra la implantación, las células del trofoblasto embrionario secretan HCG, que inhibe los mecanismos luteolíticos.

La fase luteínica del ciclo menstrual marca en el endometrio, el inicio de la fase secretora, caracterizada por el engrosamiento endometrial a causa del edema estromal y la acumulación de la secreción de las glándulas uterinas, ricas en carbohidratos. Por su parte, las arterias espirales incrementan su longitud y su trayecto se hace cada vez más tortuoso, hasta que logran alcanzar la porción superficial del endometrio.

La acción consecutiva del estradiol y la progesterona sobre el endometrio es capaz de producir un cambio en las células del estroma, denominado decidualización, que proporciona un medio favorable para la nutrición del embrión y hace posible la formación de una capa especializada que facilita la separación de la placenta al finalizar el embarazo.

## RESUMEN

El sistema hormonal del cuerpo humano es un complejo mecanismo donde actúan varias glándulas controladas por centros localizados en el cerebro que, a su vez, estimulan la secreción de hormonas diseminadas por varias partes del organismo. La hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) es el principal mensajero hipotalámico y responsable de la regulación de las gonadotropinas hipofisarias y, por tanto, de la función gonadal, la cual controla todos los aspectos de la reproducción.

Las neuronas que sintetizan GnRH se localizan principalmente en el hipotálamo y su secreción pulsátil es indispensable para el buen funcionamiento de la hipófisis, porque las variaciones en la frecuencia y amplitud de sus pulsos modulan la secreción de gonadotropinas durante el ciclo menstrual. La actividad de estas neuronas es regulada por el efecto de retroalimentación hormonal en el hipotálamo, por el sistema catecolaminérgico central, que ejerce un efecto estimulador en la secreción; por el sis-

tema opioidérgico hipotalámico, que tiene un efecto inhibitorio; por el óxido nítrico, que permite la sincronización; por los tanicitos y por autorregulación.

Las gonadotropinas son hormonas secretadas por la hipófisis anterior, esenciales para la regulación de la función gonadal y reproductora de los seres humanos y otros mamíferos. Las células que sintetizan las gonadotropinas se denominan gonadotropos y se encuentran dispersas entre otros tipos celulares. Los receptores para gonadotropinas se encuentran en las gónadas; específicamente en la granulosa y teca del ovario, y en las células de Sertoli. En el ámbito celular se ubican en la membrana plasmática, acoplados a las proteínas G, y la interacción con las hormonas produce un cambio en su conformación que activa un sistema de señal intracelular. La regulación de la secreción de gonadotropinas está dada por la GnRH, los esteroides sexuales, la inhibina, la activina y la folistatina.

En el ovario, la síntesis de esteroides sexuales se explica mediante el modelo del sistema de las dos células/dos gonadotropinas, que permite analizar cómo se acoplan las células de la teca y de la granulosa del folículo ovárico, para la adecuada producción de andrógenos y estrógenos. Una vez en la circulación, los esteroides se encuentran unidos a proteínas plasmáticas, ya sea en uniones débiles como a la albúmina, o en uniones más específicas, como a la globulina fijadora de testosterona-estradiol (SHBG) y la globulina fijadora de corticosteroides (CBG); sin embargo, la fracción libre es la que ejerce la acción. Se considera que la fracción ligada a las proteínas plasmáticas actúa como un reservorio de hormonas esteroides.

La prolactina es una hormona hipofisaria indispensable durante la lactancia materna, cuyo principal factor inhibitorio es la dopamina y su secreción es estimulada por los estrógenos, la hormona liberadora tirotrópica (TRH) y el péptido liberador de prolactina (PrRP).

La presencia de receptores de insulina en los compartimientos folicular y estromal del ovario humano hace que este órgano sea sensible al efecto de la insulina. Así como también a la acción de factores de crecimiento similares a la insulina, que son polipéptidos que modulan la proliferación y diferenciación y operan a través de receptores específicos de membrana, que actúan localmente en forma autocrina y paracrina.



El ciclo menstrual se define como la expresión repetitiva de un conjunto de acontecimientos en la fisiología reproductiva femenina, que involucran al hipotálamo, la hipófisis, los ovarios y el útero. Estos eventos conducen a la liberación de un oocito maduro apto para ser fertilizado y la preparación del endometrio para la implantación. Comprende tres etapas o fases, denominadas folicular, ovulatoria y lútea, que se fundamentan en los fenómenos ováricos del ciclo menstrual. Por otro lado, en el endometrio se distinguen también tres fases, denominadas proliferativa, secretora y menstrual.

## REFERENCIAS

- ABRAHAM G (1974). Ovarian and adrenal contribution to peripheral androgens during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab*; 39:340-346.
- ACKLAND J, NIKOLICS K, SEEBURG P, JACKSON I (1988). Molecular forms of gonadotropin-releasing hormone associated peptide (GAP): changes within the rat hypothalamus and release from hypothalamic cells in vitro. *Neuroendocrinology*; 48:376-386.
- ADASHI E (1995). Insulin-like growth factors as determinants of follicular fate. *J Soc Gynecol Invest*; 2:721-726.
- ADASHI E, RESNICK C, ROSENFELD R (1989). Insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-II hormonal action in cultured rat granulosa cells: mediation via type I but not type II IGF receptors. *Endocrinology*; 125:572-574.
- AHMED S, OWEN C, JAMES K, SAMPSON L, PATEL C (2002). Review of estrone sulfatase and its inhibitors: an important new target against hormone dependent breast cancer. *Curr Med Chem*; 9:263-273.
- ALAK B, COSKUN S, FRIEDMAN C, KENNARD E, KIM M, SEIFER D (1998). Activin A stimulates meiotic maturation of human oocytes and modulates granulosa cell steroidogenesis in vitro. *Fertil Steril*; 70:1126-1130.
- ANDERSON R, BROWN M, GOLDSTEIN J (1977). Role of the coated endocytic vesicle in the uptake of receptor-bound low density lipoprotein in human fibroblasts. *Cell*; 10:351-364.
- ANTHONY E, KING J, STOPA E (1984). Immunocytochemical localization of LHRH in the median eminence, infundibular stalk, and neurohypophysis. Evidence for multiple sites of releasing hormone secretion in human and other mammals. *Cell Tissue Res*; 236:5-14.
- BAIRD D, HORTON R, LONGCOPE C, TAIT J (1968). Steroid prehormones. *Perspect Biol Med*; 11:384-421.
- BARBIERI R, MAKRIAS A, RYAN K (1983). Effects of insulin on steroidogenesis in cultured porcine ovarian theca. *Fertil Steril*; 40:237-241.
- BARRY J, CARETTE B (1975). Immunofluorescence study of LRF neurons in primates. *Cell Tissue Res*; 164:163-168.
- BAULIEU E, CORPECHOT C, DRAY F, EMILIOZZI R, LEBEAU M, MAUVAIS JARVIS P, ROBEL P (1965). An adrenal-secreted «androgen»: dehidroisoandrosterone sulfate. Its metabolism and tentative generalization on the metabolism of other steroid conjugates in man. *Recent Prog Horm Res*; 21:411-500.
- BAULIEU E (1997). Neurosteroids: of the nervous system, by the nervous system, for the nervous system. *Recent Prog Horm Res*; 52:1-32.
- BAZAN J (1990). Structural design and molecular evolution of a cytokine receptor superfamily. *Proc Natl Acad Sci USA*; 87:6934-6938.
- BEMBO S, CARLSON H (2004). Gynecomastia: its features, and when and how to treat it. *Cleve Clin J Med*; 71(6):511-517.
- BIRD C, MURPHY J, BOROOMAND K, FINNIS W, DRESSEL D, CLARK A (1978). Dehidroepiandrosterone: kinetics of metabolism in normal men and women. *J Clin Endocrinol Metab*; 47:818-822.
- BOULOUX P, HU Y, MACCOLL G (2002). Recent advances in the pathogenesis of Kallmann's syndrome. *Prog Brain Res*; 141:79-83.
- BRANNIAN J, STOUFFER R (1991). Progesterone production by monkey luteal cell subpopulations at different stages of the menstrual cycle: changes in agonist responsiveness. *Biol Reprod*; 44:141-149.
- BUKULMEZ O, ARICI A (2000). Leukocytes in ovarian function. *Human Reproduction Update*; 6:1-15.
- CAHILL D, WARDLE P, HARLOW C, HULL M (1998). Onset of the preovulatory luteinizing hormone surge: diurnal timing and critical follicular prerequisites. *Fertil Steril*; 70:56-59.
- CARR B, BLACKWELL R, AZZIZ R (2005). The ovary and the normal menstrual cycle. In: CARR B, BLACKWELL R, AZZIZ R (eds.). *Essential Reproductive Medicine*. New York: McGraw-Hill.
- CARR D, BULLEN B, SKRINAR G, ARNOLD M, BEITINS I, MARTIN J, MCARTHUR J (1981). Physical conditioning facilitates the exercise-induced secretion of beta-endorphin and beta-lipotropin in women. *N Engl J Med*; 305:560-563.
- CASSEL D, SELINGER Z (1978). Mechanism of adenylate cyclase activation through the beta-adrenergic receptor: catecholamine-induced displacement of bound GDP by GTP. *Proc Natl Acad Sci USA*; 75:4155-4159.
- CATT K, HARWOOD J, CLAYTON R, DAVIES T, CHAN V, KATIKINENI M, NOZU K, DUFAU M (1980). Regulation of peptide hormone receptors and gonadal steroidogenesis. *Recent Prog Horm Res*; 36:557-662.
- CHONGTHAMMAKUN S, CLAYPOOL L, TERASAWA E (1993). Ovariectomy increases in vivo LHRH release in pubertal, but not prepubertal, female rhesus monkeys. *J Neuroendocrinol*; 5:41-50.



- CHRISTENSON L, STOUFFER R (1997). Follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone/chorionic gonadotropin stimulation of vascular endothelial growth factor production by macaque granulosa cells from pre-and periovulatory follicles. *J Clin Endocrinol Metab*; 82:2135-2142.
- CLARK B, SOO S, CARON K, IKEDA Y, PARKER K, STOCCHO D (1995). Hormonal and developmental regulation of the steroidogenic acute regulatory protein. *Mol Endocrinol*; 9:1346-1355.
- CLARKE I, CUMMINS J (1985). Increased gonadotropin-releasing hormone pulse frequency associated with estrogen-induced luteinizing hormone surges in ovariectomized ewes. *Endocrinology*; 116:2376-2383.
- CLARKE I, CUMMINS J (1982). The temporal relationship between gonadotropin releasing hormone (GnRH) and luteinizing hormone (LH) secretion in ovariectomized ewes. *Endocrinology*; 111:1737-1739.
- COLLETT M, WERTENBERGER G, FISKE V (1954). The effect of age upon the pattern of the menstrual cycle. *Fertil Steril*; 5:437-448.
- COLLINS W, JURKOVIC D, BOURNE T, KURJAK A, CAMPBELL S (1991). Ovarian morphology, endocrine function and intra-follicular blood flow during human ovulation. *Ultrasound Obstet Gynecol*; 5:53-59.
- COOKE N, COIT D, SHINE J, BAXTER J, MARTIAL J (1981). Human prolactin: cDNA structural analysis and evolutionary comparisons. *J Biol Chem*; 256:4007-4016.
- CORRIGAN A, BILEZIKJIAN L, CARROLL R, BALD L, SCHMELZER C, FENDLY B, MASON A, CHIN W, SCHWALL R, VALE W (1991). Evidence for an autocrine role of activin B within rat anterior pituitary cultures. *Endocrinology*; 128:1682-1684.
- CROWLEY W, FILICORI M, SPRATT D, SANTORO N (1985). The physiology of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) secretion in men and women. *Rec Prog Horm Res*; 41:473-531.
- CRUMEYROLLE-ARIAS M, LATOUCHE J, JAMMES H, DJIANE J, KELLY P, REYMOND M, HAOUR F (1993). Prolactin receptors in the rat hypothalamus: autoradiographic localization and characterization. *Neuroendocrinology*; 57:457-466.
- DAVIS J (1994). Mechanisms of hormone action: luteinizing hormone receptors and second-messenger pathways. *Curr Opin Obstet Gynecol*; 6:254-261.
- DAVOREN J, KASSON B, LI C, HSUEH A (1986). Specific insulin-like growth factor (IGF) I-and II-binding sites on rat granulosa cells: relation to IGF action. *Endocrinology*; 119:2155-2162.
- DI BLASIO A, VIGANO P, FERRARI A (1994). Insulin-like growth factor-II stimulates human granulosa-luteal cell proliferation in vitro. *Fertil Steril*; 61:483-487.
- DIAMOND M, WEBSTER B, CARR R, WENTZ A, OSTEN K (1985). Human follicular fluid insulin concentrations. *J Clin Endocrinol Metab*; 61:990-992.
- DRUCKMANN R, ROHR U (2002). IGF-1 in gynaecology and obstetrics: update 2002. *Maturitas*; 41(1):65-83.
- DULEBA A, SPACZYNSKI R, OLIVE D, BEHRMAN H (1997). Effects of insulin and insulin-like growth factors on proliferation of rat ovarian theca-interstitial cells. *Biol Reprod*; 56:891-897.
- DUMONTEIL E, PHILIPPE S (1996). Insulin gene: organization, expression and regulation. *Diabet Med*; 22:164-173.
- DUNAIF A (1992). Diabetes mellitus and polycystic ovary syndrome. In: DUNAIF A, GIVENS J, HASELTINE F, MERRIAM G (eds.). *Polycystic Ovary Syndrome*. Boston: Blackwell Scientific Publications.
- EL-ROEY A, CHEN X, ROBERTS V, LEROITH D, ROBERTS C JR, YEN S (1993). Expression of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-II and the IGF-I, IGF-II, and insulin receptor genes and localization of the gene products in the human ovary. *J Clin Endocrinol Metab*; 77:1411-1418.
- ENGLIENNE P (1984). The serum steroid transport proteins: biochemistry and clinical significance. *Mol Aspects Med*; 7:313-396.
- ERICKSON G, DANFORTH D (1995). Ovarian control of follicle development. *Am J Obstet Gynecol*; 172:736-747.
- EVANS L, MUTTUKRISHNA S, GROOME N (1998). Development, validation and application of an ultra-sensitive two-site enzyme immunoassay for human follistatin. *J Endocrinol*; 156:275-282.
- EVANS R (1988). The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science*; 240:889-895.
- FAWCETT D (1989). Hipófisis. En: FAWCETT D (ed.). *Tratado de Histología*. México: McGraw-Hill Interamericana.
- FERIN M, VAN VUGT D, WARDLAW S (1984). The hypothalamic control of the menstrual cycle and the role of endogenous opioid peptides. *Recent Prog Horm Res*; 40:441-485.
- FIDDES J, TALMADGE K (1984). Structure, expression and evolution of the genes for the human glycoprotein hormones. *Recent Prog Horm Res*; 40:43-78.
- FILICORI M, BUTLER J, CROWLEY W (1984). Neuroendocrine regulation of the corpus luteum in the human. Evidence for pulsatile progesterone secretion. *J Clin Invest*; 73:1638-1647.
- FILICORI M, SANTORO N, MERRIAM G, CROWLEY W JR (1986). Characterization of the physiological pattern of episodic gonadotropin secretion throughout the human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab*; 62:1136-1144.
- FINDLELL P, WONG K, JACKMAN J, DANIELS D (1993).  $\beta_1$ -adrenergic and dopamine ( $D_1$ )-receptors coupled to adenylyl cyclase activation in GT1 gonadotropin-



- releasing hormone neurosecretory cells. *Endocrinology*; 132:682-688.
- FORTUNE J, RIVERA G, YANG M (2004). Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. *Anim Reprod Sci*; 82-83:109-126.
- FOSTER D, RYAN K (1979). Endocrine mechanisms governing transition into adulthood: a marked decrease in inhibitory feedback action of estradiol on tonic secretion of luteinizing hormone in the lamb during puberty. *Endocrinology*; 105:896-904.
- FRAWLEY L, NEILL J (1984). Biphasic effects of estrogen on gonadotropin-releasing in monolayer cultures of rat and monkey pituitary cells. *Endocrinology*; 114:659-663.
- GALLY J, MONTAGUE P, REEKE G, EDELMAN G (1990). The NO hypothesis: possible effects of a short-lived, rapidly diffusible signal in the development and function of the nervous system. *Proc Natl Acad Sci USA*; 87:3547-3551.
- GARZO V, DORRINGTON J (1984). Aromatase activity in human granulosa cells during follicular development and the modulation by follicle-stimulating hormone and insulin. *Am J Obstet Gynecol*; 148:657-662.
- GEARING M, TERASAWA E (1991). The alpha-1-adrenergic neuronal system is involved in the pulsatile release of luteinizing hormone-releasing hormone in the ovariectomized female rhesus monkey. *Neuroendocrinology*; 53:373-381.
- GHARIB S, LEUNG P, CARROLL R, CHIN W (1990). Androgens positively regulate follicle-stimulating hormone  $\beta$ -subunit mRNA levels in rat pituitary cells. *Mol Endocrinol*; 4:1620-1626.
- GIGUERE V, YANG N, SEGUI P, EVANS R (1988). Identification of a new class of steroid hormone receptors. *Nature*; 331:91-94.
- GIORGI E (1980). The transport of steroid hormones into animal cells. *Int Rev Cytol*; 65:49-115.
- GIUDICE L (1992). Insulin-like growth factors and ovarian follicular development. *Endocr Rev*; 13:641-669.
- GÓMEZ E, TARIN J, PELLICER A (1993). Oocyte maturation in humans: the role of gonadotropins and growth factors. *Fertil Steril*; 60:40-46.
- GOODMAN A, HODGEN G (1983). The ovarian triad of the primate menstrual cycle. *Recent Prog Horm Res*; 39:1-73.
- GOSPODAROWICZ D, LAU K (1989). Pituitary follicular cells secrete both vascular endothelial growth factor and follistatin. *Biochem Biophys Res Commun*; 165:292-298.
- GOUGEON A, ECOCHARD R, THALABARD J (1994). Age-related changes of the population of human ovarian follicles: increase in the disappearance rate of non-growing and early-growing follicles in aging women. *Biol Reprod*; 50:653-663.
- GOUMENOU A, MATALLIOTAKIS I, KOUMANTAKIS G, PANIDIS D (2003). The role of leptin in fertility. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*; 106(2):118-124
- GRAHAM J, CLARKE C (1997). Physiological action of progesterone in target tissues. *Endocrine Reviews*; 18:502-519.
- GROSSMAN A, DELITALA G, YEO T, BESSER G (1981). GABA and muscimol inhibit the release of prolactin from dispersed rat anterior pituitary cells. *Neuroendocrinology*; 32:145-149.
- HALVORSON L, CHIN W (2001). Hormonas gonadotóricas: biosíntesis, secreción, receptores y acción. En: BARBIERI R, JAFFE R, YEN S (eds.). *Endocrinología de la Reproducción*. Buenos Aires: Editorial Panamericana.
- HAMMOND G (1990). Molecular properties of corticosteroid binding globulin and the sex-steroid binding proteins. *Endocr Rev*; 11:65-79.
- HAYFLICK J, ADELMAN J, SEEBURG P (1989). The complete nucleotide sequence of the human gonadotropin-releasing hormone gene. *Nucleic Acid Res*; 17:6403-6404.
- HILLIER S, REICHERT L JR, VAN HALL E (1981). Control of preovulatory follicular estrogen biosynthesis in the human ovary. *J Clin Endocrinol Metab*; 52:847-856.
- HORTON R, TAIT J (1966). Androstenedione production and interconversion rates measured in peripheral blood and studies on the possible site of its conversion to testosterone. *J Clin Invest*; 45:301-313.
- HRYB D, KHAN M, ROSNER W (1985). Testosterone-estradiol-binding globulin binds to human prostatic cell membranes. *Biochem Biophys Res Commun*; 128:432-440.
- HUMBEL R (1990). Insulin-like growth factors I and II. *Eur J Biochem*; 190:445-462.
- IBATA Y, IJIMA N, KATAOKA Y, KAKIHARA K, TANAKA M, HOSOYA M, HINUMA S (2000). Morphological survey of prolactin-releasing peptide and its receptor with special reference to their functional roles in the brain. *Neuroscience Research*; 38:223-230.
- ILLINGWORTH P, REDDI K, SMITH K, BAIRD D (1991). The source of inhibin secretion during the human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab*; 73:667-673.
- JACOBS L, SNYDER P, WILBER J, UTIGER R, DAUGHADAY W (1971). Increased serum prolactin after administration of synthetic thyrotropin releasing hormone (TRH) in man. *J Clin Endocrinol Metab*; 33:996-998.
- JACOBSON W, KALRA S (1989). Decreases in mediobasal hypothalamic and preoptic area opioid ( $^3\text{H}$ )naloxone binding are associated with the progesterone-induced luteinizing hormone surge. *Endocrinology*; 124:199-206.
- JIN L, QIAN X, KULIG E, SANNO N, SCHEITHAUER B, KOVACS K, YOUNG W JR, LLOYD R (1997). Prolactin receptor messenger ribonucleic acid in normal and neoplastic human pituitary tissues. *J Clin Endocrinol Metab*; 82:963-968.



- JOSEPH D (1994). Structure, function and regulation of androgen-binding protein/sex-hormone binding globulin. *Vitam Horm*; 49:197-280.
- JUDD H, YEN S (1973). Serum androstenedione and testosterone levels during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab*; 36:475-481.
- KALANTARIDOU S, MAKRIGIANNAKIS A, ZOUMAKIS E, CHROUSOS G (2004). Stress and the female reproductive system. *J Reprod Immunol*; 62(1-2):61-68.
- KING J, LETOURNEAU R (1994). Luteinizing hormone-releasing hormone terminals in the median eminence of rats undergo dramatic changes after gonadectomy, as revealed by electron microscopic image analysis. *Endocrinology*; 134:1340-1351.
- KNOBIL E (1980). The neuroendocrine control of the menstrual cycle. *Recent Prog Horm Res*; 36:53-88.
- KOBAYASHI M, NAKANO R, OOSHIMA A (1990). Immunohistochemical localization of pituitary gonadotropins and gonadal steroids confirms the «two-cells, two-gonadotropin» hypothesis of steroidogenesis in the human ovary. *J Endocrinol*; 126:483-488.
- KOZLOWSKI G, COATES P (1985). Ependymoneuronal specializations between LHRH fibers and cells of the cerebroventricular system. *Cell Tissue Res*; 242:301-311.
- KRETZER D, HEDGER M, LOVELAND K, PHILLIPS D (2002). Inhibins, activins and follistatin in reproduction. *Hum Reprod Update*; 8:529-541.
- KUKKONEN J (2004). Regulation of receptor-coupling to (multiple) G proteins. A challenge for basic research and drug discovery. *Receptors Channels*; 10(5-6):167-83.
- LACROIX C, FIET J, BENAIS J, GUEUX B, BONETE R, VILLETTE J, GOURMEL B, DREUX C (1987). Simultaneous radioimmunoassay of progesterone, androst-4-enedione, pregnenolone, dehydroepiandrosterone and 17-hydroxyprogesterone in specific regions of human brain. *J Steroid Biochem*; 28:317-325.
- LEAN A, GARON M, KELLY P, LABRIE F (1977). Changes in pituitary thyrotropin releasing hormone (TRH) receptor level and prolactin response to TRH during the rat estrous cycle. *Endocrinology*; 100:1505-1510.
- LE BAIL J, LOFTI H, CHARLES L, PEPIN D, HABRIOUX G (2002). Conversion of dehydroepiandrosterone sulfate at physiological plasma concentration into estrogens in MCF-7 cells. *Steroids*; 67:1057-1064.
- LERANTH C, MACLUSKY N, SHANABROUGH M, NAFTOLIN F (1988). Catecholaminergic innervation of luteinizing hormone-releasing hormone and glutamic acid decarboxylase immunopositive neurons in the rat medial preoptic area. An electron-microscopic double immunostaining and degeneration study. *Neuroendocrinology*; 48:591-602.
- LERANTH C, SEGURA LM, PALKOVITS M, MACLUSKY NJ, SHANABROUGH M, NAFTOLIN F (1985) The LHRH-containing neuronal network in the preoptic area of the rat: demonstration of LHRH-containing nerve terminals in synaptic contact with LHRH neurons. *Brain Res*. 21;345(2):332-336.
- LEUNG P, ARMSTRONG D (1980). Interactions of steroids and gonadotropins in the control of steroidogenesis in the ovarian follicle. *Ann Rev Physiol*; 42:71-82.
- LING N, YING S, UENO N, ESCH F, DENORROY L, GUILLEMIN R (1985). Isolation and partial characterization of a Mr 32.000 protein with inhibin activity from porcine follicular fluid. *Proc Natl Acad Sci USA*; 82:7217-7221.
- LIPPMAN M, MONACO M, BOLAN G (1977). Effects of estrone, estradiol and estriol on hormone-responsive human breast cancer in long-term tissue culture. *Cancer Res*; 37:1901-1907.
- LLOYD R, ANAGNOSTOU D, CANO M, BARKAN A, CHANDLER W (1988). Analysis of mammosomatotropic cells in normal and neoplastic human pituitary tissues by the reverse hemolytic plaque assay and immunocytochemistry. *J Clin Endocrinol Metab*; 66:1103-1110.
- LOBO R, PAUL W, GENTZSCHEIN E, SERAFINI P, CATALINO J, PAULSON R, HORTON R (1987). Production of 3 alpha-androstanediol glucuronide in human genital skin. *J Clin Endocrinol Metab*; 65:711-714.
- LONGCOPE C, PRATT J, SCHNEIDER S, FINEBERG S (1978). Aromatization of androgens by muscle and adipose tissue in vivo. *J Clin Endocrinol Metab*; 46:146-152.
- LÓPEZ F, MERCHENTHALER I, MORETTO M, NEGRO-VILAR A (1998). Modulating mechanisms of neuroendocrine cell activity: the LHRH pulse generator. *Cellular Molecular Neurobiology*; 18:125-146.
- LOUMAYE E, CATT K (1982). Homologous regulation of gonadotropin-releasing hormone receptors in cultured pituitary cells. *Science*; 215:983-985.
- LUISI S, FLORIO P, REIS F, PETRAGLIA F (2005). Inhibins in female and male reproductive physiology: role in gametogenesis, conception, implantation and early pregnancy. *Hum Reprod Update*; 11(2):123-135.
- MAHACHOKLERTWATTANA P, BLACK S, KAPLAN S, BRISTOW J, GRUMBACH M (1994). Nitric oxide synthesized by gonadotropin-releasing hormone neurons is a mediator of N-methyl-D-aspartate (NMDA)-induced GnRH secretion. *Endocrinology*; 135:1709-1713.
- MAIS V, KAZER R, CETEL N, RIVIER J, VALE W, YEN S (1986). The dependency of folliculogenesis and corpus luteum function on pulsatile gonadotropin secretion in cycling women using a gonadotropin-releasing hormone antagonist as a probe. *J Clin Endocrinol Metab*; 62:1250-1255.
- MARIAN J, COOPER R, CONN P (1981). Regulation of the rat pituitary gonadotropin-releasing hormone receptor. *Mol Pharmacol*; 19:399-405.



- MARKS D, SMITH M, VRONTAKIS M, CLIFTON D, STEINER R (1993). Regulation of galanin gene expression in gonadotropin-releasing hormone neurons during the estrous cycle of the rat. *Endocrinology*;132:1836-1844.
- MARRS R, LOBO R, CAMPEAU J, NAKAMURA R, BROWN J, UJITA E, DI ZEREGA G (1984). Correlation of human follicular fluid inhibin activity with spontaneous and induced follicle maturation. *J Clin Endocrinol Metab*;58:704-709.
- MASON A, HAYFLICK J, ZOELLER R, YOUNG W III, PHILLIPS H, NIKOLICS K, SEEBURG P (1986). A deletion truncating the gonadotropin-releasing hormone gene is responsible for hypogonadism in the hpg mouse. *Science*; 234:1366-1371.
- MASON H, WILLIS D, HOLLY J, FRANKS S (1994). Insulin preincubation enhances insulin-like growth factor-II (IGF-II) action on steroidogenesis in human granulosa cells. *J Clin Endocrinol Metab*; 78:1265-1267.
- MAURER R (1980). Dopaminergic inhibition of prolactin synthesis and prolactin messenger RNA accumulation in cultured pituitary cells. *J Biol Chem*;255:8092-8097.
- MCA RDLE C, FRANKLIN J, GREEN L, HISLOP J (2002). The gonadotrophin-releasing hormone receptor: signalling, cycling and desensitisation. *Arch Physiol Biochem*; 110(1-2):113-122.
- McGEE E, HSUEH A (2000). Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endocr Rev*; 21(2):200-214.
- McLACHLAN R, ROBERTSON D, HEALY D, BURGER H, DE KRETZER D (1987). Circulating immunoreactive inhibin levels during the normal human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab*; 65:954-961.
- McNATTY K, MAKRI S A, DEGRAZIA C, OSATHANONDH R, RYAN K (1979). The production of progesterone, androgens, and estrogens by granulosa cell, thecal tissue, and stromal tissue from human ovaries in vitro. *J Clin Endocrinol Metab*; 49:687-699.
- McNATTY K, MAKRI S A, DEGRAZIA C, OSATHANONDH R, RYAN K (1980). Steroidogenesis by recombined follicular cells from the human ovary in vitro. *J Clin Endocrinol Metab*; 51:1286-1292.
- MERCHENTHALER I, GORCS T, SETALO G, PETRUSZ P, FLERKO B (1984). Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) neurons and pathways in the rat brain. *Cell Tissue Res*; 237:15-29.
- MERCHENTHALER I, LOPEZ F, NEGRO-VILAR A (1993). Anatomy and physiology of central galanin-containing pathways. *Prog Neurobiol*; 40:711-769.
- MERCHENTHALER I, LOPEZ F, NEGRO-VILAR A (1990). Colocalization of galanin and luteinizing hormone-releasing hormone in a subset of preoptic hypothalamic neurons: anatomical and functional correlates. *Proc Natl Acad Sci USA*; 87:6326-6330.
- MINARETZIS D, JAKUBOWSKI M, MORTOLA J, PAVLOU S (1995). Gonadotropin-releasing hormone receptor gene expression in human ovary and granulosa-lutein cells. *J Clin Endocrinol Metab*; 80:430-434.
- MINEGISHI T, NAKAMURA K, TAKAKURA Y, IBUKI Y, IGARASHI M, MINEGISHI T (1991). Cloning and sequencing of human FSH receptor cDNA. *Biochem Biophys Res Commun*; 175:1125-1130.
- MINEGISHI T, NAKAMURA K, TAKAKURA Y, MIYAMOTO K, HASEGAWA Y, IBUKI Y, IGARASHI M, MINEGISHI T (1990). Cloning and sequencing of human LH/HCG receptor cDNA. *Biochem Biophys Res Commun*;172:1049-1054.
- MIRO F, HILLIER S (1992). Relative effects of activin and inhibin on steroid hormone synthesis in primate granulosa cells. *J Clin Endocrinol Metab*;75:1556-1561.
- MIRO F, SMYTH C, HILLIER S (1991). Development-related effects of recombinant activin on steroid synthesis in rat granulosa cells. *Endocrinology*; 129:3388-3394.
- MIZUNUMA H, LIU X, ANDOH K, ABE Y, KOBAYASHI J, YAMADA K, YOKOTA H, IBUKI Y, HASEGAWA Y (1999). Activin from secondary follicles causes small preantral follicles to remain dormant at the resting stage. *Endocrinology*; 140:37-42.
- MOGHISSI E, ABLAN F, HORTON R (1984). Origin of plasma androstenediol glucuronide in men. *J Clin Endocrinol Metab*; 59:417-421.
- MORELLO K, WURZ G, DEGRIGORIO M (2002). SERMs: current status and future trends. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*; 43:63-76.
- MURAI I, GARRIS P, BEN-JONATHAN N (1989). Time-dependent increase in plasma prolactin after pituitary stalk section: role of posterior pituitary dopamine. *Endocrinology*; 124:2343-2349.
- MUTTUKRISHNA S, FOWLER P, GEORGE L, GROOME N, KNIGHT P (1996). Changes in peripheral serum levels of total activin A during the menstrual cycle and pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab*; 81:3328-3334.
- NAFTOLIN F, RYAN K, DAVIES J, REDDY VV, FLORES F, PETRO Z, KUHN M, WHITE R, TAKAOKA Y, WOLIN L (1975). The formation of estrogens by central neuroendocrine tissues. *Recent Prog Horm Res*; 31:295-319.
- NAGANO M, CHASTRE E, CHOQUET A, BARA J, GESPACH C, KELLY P (1995). Expression of prolactin and growth hormone receptor genes and their isoforms in the gastrointestinal tract. *Am J Physiol*; 268:431-442.
- NIALL H, HOGAN M, SAUER R, ROSENBLUM I, GREENWOOD F (1971). Sequences of pituitary and placental lactogenic and growth hormones: evolution from a primordial peptide by gene reduplication. *Proc Natl Acad Sci USA*; 68:866-870.
- NAKAMURA T, TAKIO K, ETO Y, SHIBAI K, SUGINO H (1990). Activin-binding protein from rat ovary is follistatin. *Science*; 247:836-838.
- NEER E (1995). Heterotrimeric G proteins: organizers of transmembrane signals. *Cell*; 80:249-257.



- NESTLER J, CLORE J, BLACKARD W (1992). Effects of insulin on steroidogenesis in vivo. In: DUNAIF A, GIVENS J, HASELTINE F, MERRIAM G (eds.). *Polycystic Ovary Syndrome*. Boston: Blackwell Scientific Publications.
- NESTLER J, POWERS L, MATT D, STEINGOLD K, PLYMATE S, RITTMASER R, CLORE J, BLACKARD W (1991). A direct effect of hyperinsulinemia on serum sex hormone-binding globulin levels in obese women with the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*; 72:83-89.
- OKTAY K, NEWTON H, MULLAN J, GOSDEN R (1998). Development of human primordial follicles to antral stages in SCID/hpg mice stimulated with follicle stimulating hormone. *Hum Reprod*; 13:1133-1138.
- OWERBACH D, RUTTER W, COOKE N, MARTIAL J, SHOWS T (1981). The prolactin gene is located on chromosome 6 in humans. *Science*; 212:815-816.
- PACHE T, DE JONG F, HOP W, FAUSER B (1993). Association between ovarian changes assessed by transvaginal sonography and clinical and endocrine signs of the polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*; 59:544-549.
- PARKER D, ROSSMAN L, VANDER LAAN E (1974). Relation of septentrined human prolactin release to REM-non REM cycles. *J Clin Endocrinol Metab*; 38:646-651.
- PARSONS T, PIERCE J (1980). Oligosaccharide moieties of glycoprotein hormones: bovine lutropin resists enzymatic deglycosylation because of terminal O-sulfated N-acetylhexosamines. *Proc Natl Acad Sci USA*; 77:7089-7093.
- PAUERSTEIN C, EDDY C, CROXATTO H, HESS R, SILER-KHODR T, CROXATTO H (1978). Temporal relationships of estrogen, progesterone, and luteinizing hormone levels to ovulation in women and infrahuman primates. *Am J Obstet Gynecol*; 130:876-886.
- PEARSE B (1976). Clathrin: a unique protein associated with the intracellular transfer of membrane by coated vesicles. *Proc Natl Acad Sci USA*; 73:1255-1259.
- PHILLIPS D (2005). Activins, inhibins and follistatins in the large domestic species. *Domest Anim Endocrinol*; 28(1):1-16.
- PORETSKY L (1991). On the paradox of insulin-induced hyperandrogenism insulin-resistant states. *Endocr Rev*; 12:3-13.
- PORETSKY L, SMITH D, SEIBEL M, PAZIANOS A, MOSES A, FLIER J (1984). Specific insulin binding sites in the human ovary. *J Clin Endocrinol Metab*; 59:809-811.
- PORETSKY L, GRIGORESCU F, SEIBEL M, MOSES A, FLIER J (1985). Distribution and characterization of the insulin and insulin-like growth factor I receptors in normal human ovary. *J Clin Endocrinol Metab*; 61:728-734.
- PORETSKY L, KALIN M (1987). The gonadotropic function of insulin. *Endocr Rev*; 8:132-141.
- PORETSKY L, BHARGAVA G, SAKETOS M, DUNAIF A (1990). Regulation of human ovarian insulin receptors in vivo. *Metabolism*; 39:161-166.
- PORETSKY L, CATALDO N, ROSENWAKS Z, GIUDICE L (1999). The insulin-related ovarian regulatory system in health and disease. *Endocrine Reviews*; 20:535-582.
- PREVOT V, DUTOIT S, CROIX D, TRAMU G, BEAUVILLAIN J (1998). Semi-quantitative ultrastructural analysis of the localization and neuropeptide content of gonadotropin releasing hormone nerve terminals in the median eminence throughout the estrous cycle of the rat. *Neuroscience*; 84:177-191.
- PREVOT V (2002). Glial-neuronal-endothelial interactions are involved in the control of GnRH secretion. *J Neuroendocrinol*; 14:247-255.
- PROBST W, SNYDER L, SCHUSTER D, BROSIUS J, SEALFON S (1992). Sequence alignment of the G-protein coupled receptor superfamily. *DNA Cell Biol*; 11:1-20.
- RASMUSSEN D, GAMBACCIANI M, SWARTZ W, TUEROS V, YEN S (1989). Pulsatile gonadotropin-releasing hormone release from the human mediobasal hypothalamus in vitro: opiate receptor-mediated suppression. *Neuroendocrinology*; 49:150-156.
- RAYMOND V, BEAULIEU M, LABRIE F, BOISSIER J (1978). Potent antidopaminergic activity of estradiol at the pituitary level on prolactin release. *Science*; 200:1173-1175.
- REID R, QUIGLEY M, YEN S (1983). The disappearance of opioidergic regulation of gonadotropin secretion in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*; 57:1107-1110.
- RETAMALES I, CARRASCO I, TRONCOSO J, LAS HERAS J, DEVOTO L, VEGA M (1994). Morpho-functional study of human luteal cell subpopulations. *Hum Reprod*; 9:591-596.
- RONNEKLEIV O, RESKO J (1990). Ontogeny of gonadotropin-releasing hormone-containing neurons in early fetal development of rhesus macaques. *Endocrinology*; 126:498-511.
- ROSENBAUM M, NICOLSON M, HIRSCH J, HEYMSFIELD S, GALLAGER D, CHU F, LEIBEL R (1996). Effects of gender, body composition, and menopause on plasma concentrations of leptin. *J Clin Endocrinol Metab*; 81:3424-3427.
- ROSSMANITH W, YEN S (1987). Sleep-associated decrease in luteinizing hormone pulse frequency during the early follicular phase of the menstrual cycle: evidence of a opioidergic mechanism. *J Clin Endocrinol Metab*; 65:715-718.
- ROUSSEAU-MERCK, MISRAHI M, ATGER M, LOOSFELT H, MILGROM E, BERGER R (1990). Localization of the human luteinizing hormone/choriogonadotropin receptor gene (LHCGR) to chromosome 2p21. *Cytogenet Cell Genet*; 54:77-79.



- RYAN K, PETRO Z (1966). Steroid biosynthesis by human ovarian granulosa and thecal cells. *J Clin Endocrinol Metab*; 26:46-52.
- SAR M (1984). Estradiol is concentrated in tyrosine hydroxylase-containing neurons of the hypothalamus. *Science*; 223:938-940.
- SASANO H, OKAMOTO M, MASON J, SIMPSON E, MENDELSON C, SASANO N, SILVERBERG S (1989). Immunolocalization of aromatase, 17 $\alpha$ -hydroxylase and side-chain-cleavage cytochromes P-450 in the human ovary. *J Reprod Fertil*; 85:163-166.
- SAWETAWAN C, CARR B, MCGEE E, BIRD I, HONG T, RAINEY W (1996). Inhibin and activin differentially regulate androgen production and 17 $\alpha$ -hydroxylase expression in human ovarian thecal-like tumor cells. *J Endocrinol*; 148:213-221.
- SCHWANZEL-FUKUDA M, BICK D, PFAFF D (1989). Luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) expressing cells do not migrate normally in an inherited hypogonadal (Kallmann) syndrome. *Mol Brain Res*; 6:311-326.
- SEEBURG P, ADELMAN J (1984). Characterization of cDNA for precursor of human luteinizing hormone releasing hormone. *Nature*; 311:666-668.
- SEEBURG P, MASON A, STEWART T, NIKOLICS K (1987). The mammalian GnRH gene and its pivotal role in reproduction. *Recent Prog Horm Res*; 43:69-98.
- SHIVERS B, HARLAN R, MORELL J, PFAFF D (1983). Absence of oestradiol concentration in cell nuclei of LHRH-immunoreactive neurones. *Nature*; 304:345-347.
- SHULDINER A, BARBETTI F, RABEN N, SCAVO L, SERRANO J (1998). Insulin. In: LEROITH D (ed.). *Insulin-like growth factors: molecular and cellular aspects*. Boca Raton: CRC Press.
- SIITERI P, MURAI J, HAMMOND G, NISKER J, RAYMOURE W, KUHN R (1982). The serum transport of steroid hormones. *Recent Prog Horm Res*; 38:457-510.
- SILVERMAN A, SILVERMAN R, LEHMAN M, WITKIN J, MILLAR R (1987). Localization of a peptide sequence contained in the precursor to gonadotropin releasing hormone (GnRH). *Brain Res*; 402:346-350.
- SIMPSON E (1979). Cholesterol side-chain cleavage, cytochrome P450, and the control of steroidogenesis. *Mol Cell Endocrinol*; 13:213-227.
- SINHA M, OPENTANOVA I, OHANNESIAN J, KOLACZYNSKI J, HEIMAN M, HALE J, BECKER G, BOWSHER R, STEPHENS T, CARO J (1996a). Evidence of free and bound leptin in human circulation. Studies in lean and obese subjects and during short-term fasting. *J Clin Invest*; 98:1277-1282.
- SINHA M, STURIS J, OHANNESIAN J, MAGOSIN S, STEPHENS T, HERMAN M, POLONSKY K, CARO J (1996b). Ultradian oscillations of leptin secretion in humans. *Biochem Biophys Res Commun*; 228:733-738.
- SOLDANI R, CAGNACCI A, YEN S (1994). Insulin, insulin-like growth factor I (IGF-I) and IGF-II enhance basal and gonadotrophin-releasing hormone-stimulated luteinizing hormone release from rat anterior pituitary cells in vitro. *Eur J Endocrinol*; 131:641-645.
- SPEROFF L (1999). Hormone biosynthesis, metabolism and mechanism of action. In: SPEROFF L, GLASS R, KASE N (eds.). *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*. Portland: Publisher Wolters Kluwer.
- SPIVAK C (1994). Desensitization and noncompetitive blockade of GABA<sub>A</sub> receptors in ventral midbrain neurons by a neurosteroid dehydroepiandrosterone sulfate. *Synapse*; 16:113-122.
- SPRANGERS S, BRENNER R, BETHEA C (1989). Estrogen and progesterin receptor immunocytochemistry in lactotropes versus gonadotropes of monkey pituitary cell cultures. *Endocrinology*; 124:1462-1470.
- STEELE R, WEISZ J (1974). Changes in sensitivity of estradiol-LH feedback system with puberty in the female rat. *Endocrinology*; 95:513-520.
- SUN B, FUJIWARA K, ADACHI S, INOUE K (2005). Physiological roles of prolactin-releasing peptide. *Regul Pept*; 126(1-2):27-33.
- TALMADGE K, VAMVAKOPOULOS N, FIDDES J (1984). Evolution of the genes for the beta subunits of human chorionic gonadotropin and luteinizing hormone. *Nature*; 307:37-40.
- TERASAWA E, FERNANDEZ D (2001). Neurobiological mechanisms of the onset of puberty in primates. *Endocrine Reviews*; 22:111-151.
- THOTAKURA N, BLITHE D (1995). Glycoprotein hormones: Glycobiology of gonadotrophins, thyrotrophin and free alpha subunit. *Glycobiology*; 5:3-10.
- TILBROOK A, DE KRETZER D, CLARKE I (1993). Human recombinant inhibin A suppresses plasma follicle stimulating hormone to intact levels but has no effect on luteinizing hormone in castrated rams. *Biol Reprod*; 49:779-788.
- TILBROOK A, DE KRETZER D, CLARKE I (2001). Influence of the degree of stimulation of the pituitary by gonadotropin-releasing hormone on the action of inhibin and testosterone to suppress the secretion of the gonadotropins in rams. *Biol Reprod*; 64:473-481.
- TRELOAR A, BOYNTON R, BEHN B, BROWN B (1967). Variation of human menstrual cycle through reproductive life. *Int J Fertil*; 12:77-126.
- TSAFIRI A (2002). Ovulación. En: REMOHÍ J, PELLICER A, SIMÓN C, NAVARRO J (eds.). *Reproducción Human*. Madrid, McGraw-Hill Interamericana; (2ª ed).
- UENO N, LING N, YING S, ESCH F, SHIMASAKI S, GUILLEMIN R (1987). Isolation and partial characterization of follistatin: a single-chain Mr 35.000 monomeric protein that inhibits the release of follicle stimulating hormone. *Proc Natl Acad Sci USA*; 84:8282-8286.





- URBAN R, DAVIS M, ROGOL A, JOHNSON M, VELDHUIS J (1988). Acute androgen receptor blockade increases luteinizing hormone secretory activity in men. *J Clin Endocrinol Metab*; 67:1149-1155.
- VALE W, RIVIER J, VAUGHAN J, MCCLINTOCK R, CORRIGAN A, WOO W, KARR D, SPIESS J (1986). Purification and characterization of an FSH releasing protein from porcine follicular fluid. *Nature*; 321:776-779.
- VALENÇA M, JOHNSTON C, CHING M, NEGRO-VILAR A (1987). Evidence for a negative ultrashort loop feedback mechanism operating on luteinizing hormone-releasing hormone neuronal system. *Endocrinology*; 121:2256-2259.
- VAN VUGT D, LAM N, FERIN M (1984). Reduced frequency of pulsatile luteinizing hormone secretion in the luteal phase of the rhesus monkey: involvement of endogenous opiates. *Endocrinology*; 315:1095-1101.
- VERMESH M, KLETZKY O (1987). Longitudinal evaluation of the luteal phase and its transition into the follicular phase. *J Clin Endocrinol Metab*; 65:653-658.
- WANG C, LASLEY B, LEIN A, YEN S (1976). The functional changes of the pituitary gonadotrophs during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab*; 42:718-728.
- WATSON R, LANGUB M, LANDIS J (1992). Further evidence that most luteinizing hormone-releasing hormone neurons are not directly estrogen-responsive: simultaneous localization of luteinizing hormone-releasing hormone and estrogen receptor immunoreactivity. *J Neuroendocrinol*; 4:311-318.
- WEBSTER B, CARR R, WENTZ A, OSTEEN K (1985). Human follicular fluid insulin concentrations. *J Clin Endocrinol Metab*; 61:990-992.
- WELT C, MARTIN K, TAYLOR A, LAMBERT-MESSERLIAN G, CROWLEY W JR, SMITH J, SCHOENFELD D, HALL J (1997). Frequency modulation of follicle-stimulating hormone (FSH) during the luteal-follicular transition: evidence for FSH control of inhibin B in normal women. *J Clin Endocrinol Metab*; 82:2645-2652.
- WHITE M, KAHN C (1993). Mechanisms of insulin action. In: MOLLER D (ed.). *Insulin Resistance*. Chichester, NY: John Wiley & Sons.
- WHITLOCK K (2005). Origin and development of GnRH neurons. *Trends Endocrinol Metab*; 16(4):145-151.
- WILDT L, HAUSLER A, MARSHALL G, HUTCHISON J, PLANT T, BELCHETZ P, KNOBIL E (1981a). Frequency and amplitude of gonadotropin-releasing hormone stimulation and gonadotropin secretion in the rhesus monkey. *Endocrinology*; 109:376-385.
- WILDT L, HUTCHISON J, MARSHALL G, POHL C, KNOBIL E (1981b). On the site of action of progesterone in the blockade of the estradiol-induced gonadotropin discharge in the rhesus monkey. *Endocrinology*; 109:1293-1294.
- WILLIAMS C, NISHIHARA M, THALABARD J, O'BYRNE K, GROSSER P, HOTCHKISS J, KNOBIL E (1990). Duration and frequency of the multiunit electrical activity associated with the hypothalamic gonadotropin releasing hormone pulse generator in the rhesus monkey: differential effects of morphine. *Neuroendocrinology*; 52:225-228.
- WILLIS D, MASON H, GILLING-SMITH C, FRANKS S (1996). Modulation by insulin of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone actions in human granulosa cells of normal and polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab*; 81:302-309.
- WILSON J, GLOYNA R (1970). The intranuclear metabolism of testosterone in the accessory organs of reproduction. *Recent Prog Horm Res*; 26:309-336.
- WRAY S (2001). Development of luteinizing hormone releasing hormone neurones. *J Neuroendocrinol*; 13:3-11.
- WU F, GIBBS T, FARB D (1991). Pregnenolone sulfate: a positive allosteric modulator at the N-methyl-D-aspartate receptor. *Mol Pharmacol*; 40:333-336.
- XIAO S, FINDLAY J (1991). Interactions between activin and follicle-stimulating hormone-suppressing protein and their mechanisms of action on cultured rat granulosa cells. *Mol Cell Endocrinol*; 79:99-107.
- XIAO S, ROBERTSON D, FINDLAY J (1992). Effects of activin and follicle-stimulating hormone (FSH)-suppressing protein/follistatin on FSH receptors and differentiation of cultured rat granulosa cells. *Endocrinology*; 131:1009-1016.
- YEN S (2001a). Neuroendocrinología de la reproducción. En: YEN S, JAFFE R, BARBIERI R (eds.). *Endocrinología de la reproducción* (4ª ed.). Buenos Aires: Editorial Panamericana.
- YEN S, JAFFE R (2001). Prolactina en la reproducción humana. En: YEN S, JAFFE R, BARBIERI R (eds.). *Endocrinología de la reproducción* (4ª ed.). Buenos Aires: Editorial Panamericana.
- YEN S (2001b). Anovulación crónica causada por trastornos endocrinos periféricos. En: YEN S, JAFFE R, BARBIERI R (eds.). *Endocrinología de la reproducción* (4ª ed.). Buenos Aires: Editorial Panamericana.
- YOUNG J, JAFFE R (1976). Strength-duration characteristics of estrogen effects on gonadotropin response to gonadotropin-releasing hormone in women. *J Clin Endocrinol Metab*; 42:432-442.
- ZACHOW R, MAGOFFIN D (1997). Direct intraovarian effects of leptin: impairment of the synergistic action of insulin-like growth factor-I on follicle-stimulating hormone-dependent estradiol-17 beta production by rat ovarian granulosa cells. *Endocrinology*; 138:847-850.
- ZIECIK A, BODEK G, BLITEK A, KACZMAREK M, WACLAWIK A (2005). Nongonadal LH receptors, their involvement in female reproductive function and a new applicable approach. *Vet J*; 169(1):75-84.

