

Papel del oocito en la dinámica folicular (Revisión de literatura)¹

Bernardo Agudelo² J. MD, Ginobs³; Juan Guillermo Maldonado MVZ, MS⁴; Neil Vásquez A. Biol.⁵

RESUMEN: En el presente artículo se hace una revisión crítica sobre la dinámica folicular en la mujer, se actualizan los conocimientos sobre el papel del oocito en la dinámica del folículo y se discuten los aspectos moleculares de las diferentes fases de diferenciación folicular. La diferenciación de la gónada femenina, la diferenciación morfológica folicular, la dinámica folicular durante el ciclo menstrual y los determinantes hormonales de la maduración o atresia folicular, se tratan con énfasis en nuevos elementos aportados por la biología molecular. Asimismo, se discute la interacción entre las células de la granulosa y de teca con el oocito y el papel dual que sobre éste parece ejercer el AMP-cíclico. Para finalizar se postulan aproximaciones teóricas sobre la relación entre el AMPc y el factor inhibidor de la meiosis (OMI).

PALABRAS CLAVES: AMP-Cíclico, teca, granulosa, factores de desarrollo, dinámica folicular, oocito.

SUMMARY: In this paper a critical review is made on follicular dynamics in the woman, the role of oocyte on follicular dynamics as well as the molecular interactions during follicular growth and differentiation. The process of fetal gonadal and follicular morphological differentiation during menstrual cycle and hormonal determinants of follicular development or atresia are also reviewed in the scope of molecular biology. In addition, oocyte and theca or granulosa cell interactions and the key role cyclic-AMP plays in oocyte survival are discussed. Finally, several approximations are proposed on the relationship between cAMP and Oocyte Inhibition Meiosis (OMI) factor.

KEY WORDS: Cyclic-AMP, theca, granulosa, growth factors, follicular dynamics, oocyte.

Introducción

La reproducción es la garantía para la subsistencia de las especies y probablemente está presente desde el principio de la vida. Uno de los grandes pasos evolutivos se dio hace 3600 a 3000 millones de años, cuando las formas primitivas de entonces pudieron buscarse y fusionarse, muy probablemente a nivel molecular (1). En la escala evolutiva, los eucariotes dan otro gran salto cuando se diferencian en dos géneros, cada uno con una representación genética de sus antecesores y con la capacidad de acoplarse a través de procesos sexuales. De esta forma, la reproducción mediada por unidades funcionales especializadas (gametos) proporciona ventajas en la regulación y control del material genético (segregación genética), en la especialización de los procesos de gestación y crianza y garantiza así la mayor eficiencia reproductiva. En contraposición a estas ventajas evolutivas aparece implícita una desventaja, tal vez altruista, como es la pérdida de la inmortalidad, propiedad hasta entonces presente en los procariotes (2).

La división meiótica de las células germinales tiene como objetivos el entrecruzamiento de material genético

y la sucesión de dos rondas de segregación cromosómica (3), para los cuales el material cromosómico es guardado en los gametos hasta el momento de la complementación sexual entre los sexos opuestos garantizando la variabilidad de las especies eucariotas (4). Otras fortalezas evolutivas de la reproducción sexuada son la organización estructural en las gónadas, donde se almacenan y protegen los gametos y se garantiza un relativo orden en el proceso de selección; el impulso y retrocontrol del sistema nervioso y la integración de los sistemas neural, inmune y endocrino, en uno sólo (5).

La disponibilidad de los gametos maduros con capacidad para fecundar o ser fecundado es el producto de la diferenciación de células blásticas totipotenciales que en el género femenino específicamente, se expresa en un delicado proceso interactivo entre la regulación neuro-inmuno-endocrina, la reserva potencial de gametos en las gónadas y la preparación de los órganos encargados de la fecundación, implantación y gestación (modificación del endometrio y descamación cíclica) (6).

Diferenciación de la gónada femenina

La responsabilidad de los gametos para la reproducción eficiente se adquiere desde la fase embrionaria y a partir de entonces son el único puente existente de una generación a la otra (7). En el humano, en la tercera semana de vida embrionaria, entre 700 a 1000 células blásticas (*Stem Cells*) destinadas a ser células germinales primordiales, migran por medio de movimientos ameboideos desde el endodermo extraembrionario del

¹ Grupo de Investigación financiado por Colciencias (proyecto 1115-04-036-96).

² Correspondencia al Dr. Bernardo Agudelo

^{3,4,5} Programa de Reproducción, Grupo de Biogénesis, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, AA 1226, Medellín, Colombia.

saco vitelino hacia la cresta urogenital en la cavidad celómica intraembrionaria. Durante la etapa de migración y aún cuando llegan a la cresta gonadal, las células se dividen activamente durante varios ciclos mitóticos alcanzando una población de seis a siete millones de oogonias en la gónada de la semana veinte (8). A pesar de la variable dirección que toman las células desde su origen en el saco vitelino, existe una vía de atracción hacia la gónada mediada al parecer por proteínas de adhesión como la fibronectina, por quimioatrayentes originados en la gónada, o por la interacción del ligando Kit (KL o factor STEEL) sintetizado en las células mesenquimales como factor de supervivencia y proliferación de las células blásticas, detectado a lo largo de la vía de migración hacia la gónada, y que interactúa con el receptor c-kit (proto-oncogene) presente en las células germinales en el período embrionario (9-11).

Las células blásticas comparten características que garantizan los procesos de autorrenovación y de propagación clonal, tales como: el potencial de diferenciación, la capacidad de dividirse asimétricamente, el potencial de auto-renovación, la conservación en estado de quiescencia mitótica o meiótica y la capacidad de renovación por clones. Estas propiedades varían según el destino celular y es así como las células de la línea germinal del nemátodo *Caenorhabditis elegans*, se someten a divisiones asimétricas para mantener el linaje de la línea germinal, mientras que las otras se destinan a diferentes frentes somáticos; durante su viaje a la gónada las células germinales se someten a por lo menos cinco rondas de autorrenovación simétrica, proceso que al parecer cambia en el tiempo con divisiones de predominio simétrico cuando es necesario que el número de blastos se expanda. Existe dependencia a factores locales de diferenciación y proliferación, como el factor KL que promueve en la etapa de migración la proliferación (KL soluble) y en la gónada la supervivencia (KL transmembránico) (9-13).

Las divisiones mitóticas de las células germinales cesan cuando éstas se rodean de células mesenquimales de la cresta gonadal, que constituyen las futuras células de la granulosa del folículo ovárico y las células sustentaculares de Sertoli en el testículo (11). La oogonia presenta divisiones mitóticas hasta que se convierte en oocito primario, cuando ingresa en la primera división meiótica con el fin de facilitar la segregación del material genético; el freno se realiza en el estadio de diplotene de la profase I (13-15). En las espermatogonias el freno ocurre en mitosis hasta la pubertad, cuando entran en meiosis (11).

La capacidad de dividirse meióticamente es una propiedad de los organismos eucariotes, que en los animales vertebrados se expresa en toda su magnitud en las células blásticas totipotenciales, "*Stem Cells*", presentes durante la embriogénesis y la citodiferenciación y que persiste como propiedad de la división celular de las células germinales (gametos masculino y femenino) (12). Bajo ciertas condiciones anormales como en la malignidad de las células hematopoyéticas, en células infectadas por virus y en linfocitos activados con fitohemaglutinina (PHA) se presenta división meiótica (16); en los eucariotes

unicelulares, como los hongos, en respuesta a situaciones adversas tales como la carencia de nutrientes o la alteración de la temperatura, la célula se divide meióticamente para producir conidias (esporas) con capacidad de tolerar la situación crítica y garantizar la posterior reproducción (16-17).

En el ciclo celular la transición de fase S (replicación del DNA) es siempre precedida por una fase M (mitosis) y la continuación del ciclo hacia una nueva fase S (síntesis) requiere la desfosforilación de una quinasa de proteína constitutiva, la p34^{cdc2}, que en conjunto con la síntesis y acumulación de la ciclina B, conforman el factor promotor de la maduración (MPF) (15, 17-19).

El freno de la meiosis es equivalente al estado de reposo mitótico previo a la segregación cromosómica (fase G2) en el cual la p34^{cdc2} está inactivada por la fosforilación del residuo Y15 (tyrosina) de la unidad catalítica (18), con la diferencia de no requerir el paso por el registro ("checkpoint") conocido como START, que se encarga de inducir la duplicación de los husos polares y de los cinetocoros para activar la segregación de las cromátides hermanas (15, 17). Así, en la célula que entra a la meiosis, los componentes enzimáticos de la maquinaria del ciclo celular se reservan en forma inactiva conformando un acúmulo del complejo conocido como pre-MPF, que es sólo activado cuando se reanuda la meiosis por la acción de quinasa de proto-oncogenes tipo c-mos y otras dependientes de AMPc y de calcio (3, 11, 17, 20). En consecuencia, durante la meiosis no ocurre replicación del DNA (fase S) y se suceden dos rondas de segregación genómica; así, en la meiosis I se segregan los cromosomas homólogos y en la meiosis II las cromátides hermanas. La continuación de la meiosis hace parte de los procesos de maduración y capacitación del oocito en conjunto con sus células de la granulosa y células tecaes del folículo, como unidad funcional de la dinámica folicular.

En el ovario humano las primeras oogonias rodeadas de una capa de células aplanadas de la granulosa se aprecian desde la semana ocho a doce y es a partir de este momento cuando se define el folículo primordial (8, 21) en el que existe capacidad de síntesis de estrógenos (acción de aromatasa) a partir de andrógenos, pero al parecer independiente de la acción de la LH, FSH o hCG (8, 22). Antes de alcanzar la meiosis y durante el tránsito hacia ella, muchas oogonias degeneran por activación de procesos apoptóticos (14); los folículos primordiales que sobrevivan permanecerán hasta el momento de la ovulación (intervalo de 12 a 50 años en la mujer).

No se conoce aún el factor que induce el freno meiótico: podría proceder de las células de la granulosa (Factor Inhibidor de Meiosis - OMI) y ser una sustancia peptídica de menos de 2000 Da, depender de la integridad de asociación entre el oocito y las células del cúmulus oóforo o ser determinado genéticamente por el oocito (15, 22).

Alrededor del octavo mes de desarrollo fetal cesan las divisiones mitóticas y la población está constituida totalmente por folículos primordiales, cuyo número viene en progresiva reducción por medio de mecanismos atrésicos -apoptosis (14), fenómeno que parece ser la norma en el

destino de las células germinales. Al momento de nacer, quedan sólo dos millones y al inicio de la pubertad, la población existente en los ovarios es de 400.000 folículos primordiales. Durante el período reproductivo, la atresia continúa siendo el curso "natural" del 99,99% de los folículos primordiales y solamente alcanzarán el objetivo reproductivo, la ovulación del oocito mejor capacitado, unos 450 a 500 de ellos (0,006% del total inicial). Finalmente, unos cuantos serán fertilizados para cerrar así un ciclo reproductivo en la evolución, la proyección de la especie.

Diferenciación morfológica folicular

Cada unidad folicular está compuesta de: (a) oocito, (b) membrana basal, (c) células de la granulosa y (d) células estromales de la teca. Desde el folículo primordial hasta el folículo ovulatorio, cada uno de los elementos presenta cambios de maduración celular, citoplasmática y membranal. Por ende, estas modificaciones se acompañan o reflejan en la capacidad de síntesis de proteínas (receptores, enzimas, proteínas estructurales y mensajeros químicos), esteroides (hormonas sexuales), ácidos nucleicos (transcripción y transducción genética), lípidos (estructurales, prostaglandinas, energéticos), entre otros (7).

La maduración de la unidad folicular se inicia espontáneamente sin requerimiento de las gonadotropinas. De esta forma desde el período embrionario se aprecia la transición hacia el folículo primario, caracterizado por una hilera de células de la granulosa que adoptan el aspecto coboidal y la definición de la membrana basal. Por divisiones mitóticas de la granulosa, éstas aumentan en número (aproximadamente 900 células) formando entre cuatro a seis hileras de células alrededor del oocito, el que apenas muestra un leve aumento de su volumen (21). El depósito folicular en el ovario está constituido principalmente por esta clase de folículo, de donde la mayoría de ellos pasan hacia la atresia más que hacia la maduración y crecimiento de un folículo dominante (14).

Cuando se inicia la maduración del sistema neuro-inmuno-endocrino (hacia los 7-8 años), con producción inicial de adrenostato (liberación de hormona liberadora de corticotropina -CRh- y de hormona corticotrópica -ACTH-), surgen cambios de sensibilización progresiva del gonadostato, con liberación nocturna de la hormona luteinizante (LH). A los 2-3 años de pulsatilidad, el gonadostato madura su sensibilidad progresiva (retrocontrol con los andrógenos, estrógenos y péptidos) hasta establecerse en la pubertad la pulsatilidad funcional que induce cambios en la gónada a nivel de las unidades foliculares, con aparición de la respuesta a la LH y a la hormona folículo estimulante (FSH) (6, 8, 23).

En los mamíferos, el desarrollo de los folículos es un proceso continuo. Cada día se aprecia el curso de los folículos primordiales hacia la atresia o la maduración (23). La cantidad de unidades que dejan la reserva folicular varía de acuerdo con la edad: es de 31 por día en menores de 30 años, 9 por día entre los 31 y 40 años y uno por día entre los 40 y 50 años. A los 38 años ocurre un cambio radical en la maduración ya que en la población

de folículos primordiales aumenta significativamente la tendencia a sufrir degeneración (24).

La foliculogénesis se puede apreciar como un proceso dinámico, activo y complejo, a través del cual el folículo destinado a ovular pasa por varios estadios de maduración en un largo período de aproximadamente 85 días (en humanos y primates), desde el momento en el que es seleccionado por los estímulos de la gonadotropinas, hasta el momento de la ovulación (25). Durante este tiempo, los folículos seleccionados en la cohorte ovulatoria se encuentran bajo la influencia de los niveles hormonales de los 2 a 3 ciclos precedentes (21).

Dinámica folicular en la mujer

Los procesos y estadios de la dinámica folicular en la mujer se resumen de la siguiente manera:

a. *Folículo primordial*: constituido por el ovocito rodeado de lámina basal y de una capa sencilla de células de la granulosa, aplanadas, para un volumen total de 60m. Avanza espontáneamente hacia la fase preantral y constituye el depósito principal de células germinales en el ovario, siendo el 95% de las unidades en conjunto con los folículos intermedarios y los primarios. Los factores que inducen el AMPc intracelular estimulan la maduración de estas unidades primordiales y facilitan la apoptosis; sin embargo, los factores de crecimiento de los mastocitos y de las células blásticas le sirven como factores de supervivencia cuando son cultivados *in vitro* (26).

b. *Folículo intermedio*: es transitivo hacia el folículo primario, aquí las células de la granulosa se tornan mas cuboidales. Existe una estrecha y recíproca comunicación entre la granulosa y el ovocito a través de uniones en brecha, "gap junctions", que garantizan la supervivencia de ambos. El lapso potencial hasta la ovulación es superior a los 150 días (7, 21).

c. *Folículo primario*: se constituye una sola capa de células cuboidales de la granulosa, alcanza un diámetro entre 50 y 100m y es independiente de las gonadotropinas y muchos de ellos terminan en la atresia.

d. *Folículo secundario o preantral*: las células de la granulosa se dividen por mitosis para constituir dos capas, con diámetro de 115-150 m. Muestra capacidad de síntesis proteica con expresión de receptores para FSH, síntesis de factores de crecimiento y síntesis de estradiol, aunque la producción es baja e insensible a los cambios cíclicos de las gonadotropinas. Una característica de este folículo es la modificación de las células estromales perifoliculares hacia células de la teca, con expresión de receptores para la LH y desarrollo de la capacidad de síntesis de andrógenos (presencia de las enzimas 17 a hidroxilasa -17-20_{lyase} y P_{450 SCC}) (27).

A partir de este momento y durante los tres ciclos siguientes (85 días) hasta la ovulación, la unidad pasa a depender de las gonadotropinas y del ambiente hormonal inducido. Según la clasificación de Gougeon, este estadio corresponde a la clase 1 de la fase de crecimiento (600-1000 células granulosa), que por división mitótica activa la multiplicación de la granulosa y la colección intersticial de líquido antral hasta alcanzar la clase 4 (375.000 células y diámetro de 2 mm). En cada una de las

clases (1 a 4) el 24, 35, 15 y 24% de los folículos, respectivamente, sufren el proceso de atresia (22-23, 25).

e. Folículo antral: cuando las cavidades de líquido intersticial coalescen en un sólo antro folicular, el folículo ha alcanzado un diámetro superior a los 2 mm y desde este momento entra en la fase de selección de la cohorte folicular (alrededor de la parte media de la fase lútea previa). Esta etapa dura aproximadamente 10 días, durante los cuales se presentan las clase 5 y 6 de Gougeon, con aumento diametral en relación directa con la mitosis de la granulosa ($1,87 \times 10^6$ células y $9,4 \times 10^6$ células, respectivamente). En esta etapa de selección, los folículos muestran progresiva e intensa respuesta a la FSH cíclica, expresan receptores de FSH en la granulosa, de LH en la teca y ocurre un aumento progresivo de la síntesis de estradiol folicular (desde 3,3 nmol/mg hasta 1620 nmol/mg de proteína en folículo dominante) y aumentan los factores de crecimiento (coadyuvantes de las gonadotropinas). La mayoría de estas unidades muestran atresia por apoptosis (58%-77%) (14, 22).

Cuando el folículo alcanza el diámetro de 10 mm (clase 7, día 8-10 de fase folicular), ingresa a la etapa de maduración y dominancia, la población de células de la granulosa es de 10 millones y la vascularización de la teca aumenta considerablemente. Se aprecia una elevada concentración de receptores de FSH en relación con los otros folículos que ingresaron a la cohorte, la síntesis de andrógenos precursores (androstenediona) es baja pero constante, el estradiol aunque permanece bajo, su concentración es creciente (expresión máxima de aromatasa en granulosa) (23).

Los factores de crecimiento asociados con la dinámica del folículo se expresan de manera considerable para contribuir con la selectividad de las células de la granulosa a la FSH. Son pocos los folículos de la misma cohorte que alcanzan la maduración y de éstos el 50% entran en atresia. Hasta el momento se cree que el proceso de selección es un fenómeno de competencia entre los folículos en donde aquel seleccionado alcanza ventajas respecto del número de receptores de FSH y luego de receptores de LH (28); además, la capacidad óptima de respuesta a la FSH en las fases avanzadas del folículo es la garantía para que la atresia no sobrevenga (14) y el folículo tolere los efectos inhibitorios de la LH (29).

f. Folículo preovulatorio: el objetivo final de la dinámica folicular es alcanzar el máximo estado de maduración de la unidad. A partir del folículo de 16 mm (clase 8 de Gougeon), el número de células de la granulosa fluctúa entre 47 a 60 millones; la actividad mitótica disminuye, (<0,1%), la vascularización de la teca es máxima y alcanza la membrana basal; la actividad de aromatasa está en su mayor nivel y por tanto la aromatización de andrógenos tecales es máxima; la FSH en conjunto con los factores de crecimiento y los estrógenos, induce la síntesis de receptores para la LH en las células de la granulosa (22).

Esta capacidad de respuesta a la LH facilita: la síntesis de progesterona preovulatoria y con ello garantiza que la conformación del cuerpo lúteo sea óptima y por tanto el transporte tubárico y la implantación (30, 31) la cascada de eventos ovulatorios (activación del plasminógeno, sín-

tesis de prostaglandinas F2a); y posiblemente sirva como última señal ovárica hacia el eje hipotalámico hipofisiario sensibilizado por los estrógenos (31).

El aspecto más trascendente de este estadio es la maduración del ovocito, condición sin la cual éste no puede ser fertilizado. Se requieren tres niveles de maduración: nuclear, membranal y citoplasmático. El estradiol preovulatorio parece tener un efecto extragenómico sobre la maduración del ovocito, induce un aumento transitorio del calcio intracelular, con lo cual activa mecanismo intracelulares dependientes de segundo mensajero (32). La reanudación de la meiosis es requisito fundamental para garantizar la fecundabilidad; el OMI no se ha identificado por completo, sin embargo parece que un determinado umbral de AMPc en las células del cumulus podría actuar como OMI y por efecto del pico de LH, aumentaría por encima del nivel funcional, liberando la meiosis (15). Otro factor producido en la granulosa de folículos antrales es la sustancia inhibidora mülleriana (MIS), la que además de ser crítica para la foliculogénesis normal actúa directamente sobre las células del cúmulus y el ovocito, bloqueando la meiosis (33).

La atresia continúa siendo una posibilidad riesgosa en el destino del folículo y en el folículo preovulatorio es absolutamente dependiente de los niveles preovulatorios de FSH y de LH (32, 34) y, en consecuencia, del balance positivo de la relación estradiol: androstenediona o estradiol: testosterona (35).

Determinantes hormonales de la dinámica folicular

El centro regulador del proceso reproductivo es la estructura funcional del eje hipotálamo-hipófisis-gonada, el que a su vez depende de factores hormonales de otros sistemas (lactotrofo, tiroideo, adrenal, pineal). La pulsatilidad de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRh) requiere en primates y en el humano, de una periodicidad (71 minutos en fase folicular y 216 minutos en fase lútea), para garantizar una adecuada respuesta de la hipófisis, con liberación de LH y FSH (6, 36). Sin embargo, no existe una absoluta correlación entre la pulsatilidad de la GnRh y las gonadotropinas, situación que refleja el intrincado funcionamiento del eje con moduladores de los sistemas de retrocontrol: b-endorfina (inhibe), dopamina (inhibe), noradrenalina (estimula), proteína asociada a la GnRh (GAP, inhibitoria), prolactina (inhibe); péptidos ováricos como la inhibina (regula la FSH), activina (estimula la FSH); esteroides ováricos como el 17 β -estradiol (regulación negativa y sensibilización positiva), testosterona (regulación negativa), progesterona (inhibe la LH, estimula pico preovulatorio), y 20 α -OH-progesterona (inhibe GnRh) (37, 38).

El establecimiento de la ritmicidad hipotalámica-hipofisiaria, requiere de un proceso de maduración con interacción de los sistemas neuro-inmuno-endocrino. Sin embargo, el sistema solo es completo cuando existen unidades foliculares funcionales en las gónadas (dependientes directamente de la existencia e integridad de los dos cromosomas X, como se demuestra por el síndrome de Turner) (6, 36), que garantiza los procesos de retrocontrol positivo y negativo entre ambos componentes.

En la mujer, el número de unidades foliculares existentes al inicio de la pubertad garantiza un depósito suficiente para la disponibilidad de los 400-500 óvulos que van a madurar. El curso natural de cada unidad folicular es hacia la degeneración o atresia, más que hacia la culminación de la meiosis (14, 23). Los eventos de degeneración y atresia se han asociado con procesos determinados genéticamente, como es el caso de la muerte celular programada o apoptosis, que se ha vinculado con la presencia de diversos genes supresores (familias *bcl-2* y *ced-9*) o genes de susceptibilidad (*myc*-oncogene, *fas* gene) (14, 34, 39-40).

Teniendo en cuenta el origen de la unidad folicular, la célula germinal primitiva es la precursora de la ovogonia y la inductora de la transformación gonadal. Su componente genético se conserva en meiosis hasta la ovulación y durante el largo intervalo de relativa "tranquilidad" genética (de 15 a 50 años) ocurren todos los eventos de la dinámica folicular, desde el curso hacia la atresia por apoptosis hasta la selección y maduración como folículo dominante. Por lo tanto, se podría esperar que sea a partir de la célula germinal que se da inicio a los impulsos inductores de su propio destino y a los determinantes de las células vecinas (células de la granulosa y de la teca).

La atresia folicular se aprecia en forma considerable a partir del folículo primario (23) y para que ella no ocurra se requieren algunas condiciones:

1. Una estrecha comunicación funcional entre la ovogonia y las células de la granulosa de la corona y del cúmulo oóforo, que se realiza por medio de uniones en brecha, a través de las cuales pasan péptidos, ácidos nucleicos y otros compuestos con pesos moleculares menores de 1000 Da (7, 22-23). Además, existe una directa relación entre el número de células de la granulosa y la supervivencia de la unidad folicular, lo que quizá refleje el potencial mitótico en el folículo seleccionado (25, 41).

2. Del adecuado estímulo por las gonadotropinas, principalmente de la FSH, considerada como el principal factor para la expresión de un gran número de genes que intervienen en la maduración folicular (síntesis de los factores de crecimiento intrafoliculares, las enzimas necesarias para la esteroidogénesis, los factores amplificadores o reguladores de la expresión del programa de desarrollo celular, la inhibina y la activina) (28, 41-43).

3. La acción potenciadora de los factores de crecimiento (factor de crecimiento epidérmico - EGF-, factor transformador del crecimiento tipo alfa - TGF α -, factor de crecimiento de fibroblastos tipo básico - bFGF-, factor insulinoide de crecimiento tipo I - IGF.I), sintetizados en las células de la granulosa, por medio de los cuales se regulan las funciones locales del folículo seleccionado y posiblemente se modulen en forma parafolicular los folículos de la cohorte destinados a la atresia (25, 27-28, 38, 42).

4. Del balance adecuado entre los andrógenos (sintetizados en la teca) y el 17 β -estradiol (sintetizado en la granulosa). El folículo seleccionado y destinado a la ovulación, con mejores condiciones para la fertilización, muestra en el líquido folicular una relación andrógenos/

estradiol menor de 1 y niveles de androstenodiona y testosterona bajos desde el comienzo de la fase folicular (22-23, 35).

5. Adecuada expresión génica de genes vinculados con la protección del folículo contra la apoptosis, como es la presencia del oncogene *c-myc*. Este gene y su proteína *myc*, se han identificado en forma abundante en el ovocito del folículo primordial, preantral y preovulatorio, y en las células de la granulosa de folículos preantrales; y en forma leve en las células del folículo preovulatorio. Su presencia en las fases de selección folicular y establecimiento del dominio celular, sugiere un papel regulador del crecimiento y de la autonomía adquirida por la unidad folicular a nivel de las células de la granulosa (39-40).

En contraposición, se han identificado algunos factores condicionantes del proceso atrésico del folículo, como son:

1. La pérdida de contacto entre el ovocito y las células de la granulosa. El ovocito desnudo de las células de la corona inicia indefectiblemente el proceso de degeneración y muerte (23).

2. La alteración de la relación existente entre la FSH y la LH en los momentos en que se inicia la selección folicular (25, 27, 44). De esta condición se desprende la sobrestimulación de las células de la teca, con producción local aumentada de andrógenos y acumulación de andrógenos no aromatizables (5 α -dihidrotestosterona) en el líquido folicular, que a su vez inhibe la síntesis de estrógenos por bloqueo de la aromatasa (14). Otros efectos antiestrogénicos de los andrógenos son el bloqueo de la mitosis en las células de la granulosa, el bloqueo de la inducción de factores de transcripción en el genoma, y el estímulo de la síntesis de progesterona que a su vez induce la atresia.

3. La secreción de un péptido similar a la GnRH de acción paracrina o autocrina, estimularía la expresión génica de la globulina fijadora -4 del factor insulinoide de crecimiento (IGFBP-4), que se reconoce como un inductor de la atresia apoptótica por ser antagonista de la acción de la FSH (45). Otros factores paracrinos, como la interleukina-6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), sintetizados por células de la teca y del sistema inmune, favorecen la atresia por estímulo de la biosíntesis de andrógenos (25, 46).

4. El pico de la LH, es inductor de la atresia y de los mecanismos apoptóticos en las unidades foliculares sin una adecuada síntesis de 17 β -estradiol (baja expresión de la aromatasa), con síntesis reducida de receptores de FSH (reducido efecto de los niveles de AMPc), o reducción de la expresión de los factores de crecimiento (EGF, TGF α , bFGF, IGF-I) (25, 36, 41). La LH induce la síntesis de prostaglandinas (Pg E $_2$ y Pg F 2 α), que a su vez son coadyuvantes del proceso de luteinización folicular y por ende inducen la atresia (27) y parece ser el factor desencadenante de la meiosis a través del aumento del AMPc en las células del cúmulo (22-23, 15). La reanudación de la meiosis en el ovocito es un punto final en el proceso de maduración y en consecuencia conduce hacia la atresia y muerte en las siguientes 24 horas, a no ser que ocurra la fecundación.

Conclusiones

El destino de un folículo sería la consecuencia del balance entre la expresión de factores "naturales" determinantes de la atresia por apoptosis y la presencia de factores condicionantes del rescate y selección del folículo, con garantías para la conformación de un ambiente propicio para la supervivencia. El ovocito parece ser el director de su propio destino y con él las células de la granulosa y de la teca. Por lo tanto, desde el momento en el que se inicia la multiplicación de las células germinales primordiales, por sus características descritas, están capacitadas para dar origen a una célula madre (línea germinal) y a una célula hija en cada división mitótica; luego en la meiosis la célula demuestra un comportamiento autónomo de conservación del material genómico y de regulación del crecimiento hasta el momento en el cual, por la presencia de las gonadotropinas en la fase de maduración sexual, actúan como desencadenantes de procesos genéticos reguladores de la citodiferenciación

y la maduración enzimática (activación de onco-genes que pertenecen a familias de factores de transcripción). De esta forma, aunque las células de la granulosa muestran una relativa autonomía al inicio de su división mitótica con síntesis esteroidea y proteica hasta la fase de folículo primario, si no existe la activación por las gonadotropinas y por lo tanto la activación genómica en el oocito y este no está condicionado para la activación de genes reguladores de la transcripción genómica, no se puede esperar desarrollo ulterior del folículo aunque exista una estrecha comunicación celular. El destino de la célula germinal está determinado desde el instante en el que inicia la meiosis, ser capaz de buscar otra célula haploide para complementar el número cromosómico necesario para reanudar la mitosis y así sobrevivir, o activar los genes necesarios para desencadenar los eventos apoptóticos y así morir. El oocito es el destinatario de la supervivencia de las especies animales y su ambiente vecino contribuye en su principal objetivo: lograr la reproducción.

BIBLIOGRAFIA

- Hass H. Del pez al hombre. Ed. Salvat. 1987; 274.
- Sagan C, Druyan A. Sombras de antepasados olvidados. Ed. Planeta, Santafé de Bogotá. 1993; 470.
- Kleckner N. Meiosis: how could it work. Proc Nat Acad Sci USA 1996; 93: 8167-8174.
- Villee CA, Solomon EP, Martín CE, et al. Biología. Interamericana, México. 2a ed. 1992; 1404.
- Vélez A. El hombre, herencia y conducta. Ed. Universidad de Antioquia. Medellín, 1990; 452.
- Hotchkiss J, Knobil E. The menstrual cycle and its neuroendocrine control. En: Knobil E, Neil JD. The physiology of reproduction. Raven Press, New York, 2nd ed. 1994; 711-749.
- Wassarman PM, Abertini DF. The mammalian ovum. En: Knobil E, Neil JD. The physiology of reproduction. Raven Press, New York, 2nd ed. 1994; 79-122.
- Carr BR. Disorders of the ovary and female reproductive tract. En: Wilson JD, Foster DW. Williams textbook of endocrinology. W.B. Saunders, Philadelphia, 8th ed. 1994; 733-798.
- Lsmaíl RS, Okawara Y, Fryer JN, VanDerHyden BC. Hormonal regulation of the ligand for c-kit in the rat ovary and its effects on spontaneous oocyte meiotic maturation. Mol Reprod Dev 1996; 43: 458-469.
- Pelliniemi LJ, Dym M. The fetal gonad and sexual differentiation. En: Tulchinsky D, Little AB. Maternal-fetal endocrinology. Saunders, Philadelphia, 2nd ed. 1994; 298-320.
- Kierszenbaum AL. Mammalian spermatogenesis in vivo and in vitro: a partnership of spermatogenic and somatic cell lineages. Endocrine Rev 15: 116-134.
- Morrison SJ, Shah NM, Anderson DJ. Regulatory mechanisms in stem cell biology. Cell 1997; 88: 287-298.
- Cecconi S, Rossi G, de Felici M, Colonna R. Mammalian oocyte growth in vitro is stimulated by soluble factor(s) produced by preantral granulosa cells and by sertoli cells. Mol Reprod Dev 1996; 44: 540-546.
- Hsueh AJW, Billig H, Tsafiri A. Ovarian follicle atresia: a hormonally controlled apoptotic process. Endocrine Rev 1994; 15: 707-724.
- Tsafiri A, Dekel N. Molecular mechanisms in ovulation. Molecular biology of the female reproductive system. Academic Press, 1994; 207-257.
- Logothetou-Rella, H. Meiosis in hematological malignancies. In situ cytogenetic morphology. Histol Histopathol 1996; 11: 943-963.
- Murray A, Hunt T. The cell cycle, an introduction. Ed. W.H. Freeman, Co. New York. 1993; 251.
- Nurse P. Ordering S phase and M phase in the cell cycle. Cell 1994; 79: 547-550.
- King RW, Jackson PK, Kirschner MV. Mitosis in transition. Cell 1994; 79: 563-571.
- Heikinheimo O, Lanzendorf SE, Baka SG, Gibbons WE. Cell cycle genes c-mos and cyclin-b1 are expressed in a specific pattern in human oocytes and preimplantation embryos. Mol Hum Reprod 1995; 10: 699-707.
- Gougeon A. Regulation of ovarian follicular development in primates: facts and hypotheses. Endocrine Rev 17: 121-154.
- Mendelbaum J, Thibault CH. Folliculogenèse. En: Mauvais-Jarvis P, Sitruk-Ware R. Médecine de la reproduction. Gynécologie endocrinienne. Flammarion, Paris. 2^{ème} ed. 1986; 73-92.
- Driancourt MA, Gougeon A, Roÿere D, Thibault CH. La fonction ovarienne. En: Thibault C, Levasseur MC. La reproduction chez les mammifères et l'homme. Ellipses, Paris. 1991; 273-298.
- Faddy MJ, Gosden RG. A mathematical model of follicle dynamics in the human ovary. Human Reprod 1995; 10: 770-775.
- Gougeon A. Régulation intra-gonadyque de l'origine folliculaire humaine: réalités et hypothèses. Ann Endocrinol Paris 1994; 55: 63-73.
- Dolci S, Williams DE, Ernst MK, et al. Requirement for mast cell growth factor for primordial germ cell survival in culture. Nature 1991; 352: 809-811.
- Terranova PF. Regulation of the granulosa cell: growth factor interactions. Semin Reprod Endocrinol 1991; 9: 313-320.
- Erickson GFF, Danforth DR. Ovarian control of follicle development. Am J Obstet Gynecol 1995; 172: 736-746.
- McNeilly AS, Crow W, Brooks J, Evans G. Luteinizing hormone pulses, follicle-stimulating hormone and control of follicle selection in sheep. J Reprod Fertil Suppl 1992; 45: 5-19.
- Mio Y, Sekijima A, Iwabe T, et al. Subtle rise in serum progesterone during the follicular phase as a predictor of the outcome of in vitro fertilization. Fertil Steril 1992; 58: 159-166.
- Batista MC, Cartledge TP, Zellmer AW, et al. Evidence for a critical role of progesterone in the regulation of the midcycle gonadotropin surge and ovulation. J Clin Endocrinol Metab 1992; 74: 565-570.
- Tesarik J, Mendoza C. Nongenomic effects of 17 β -estradiol on maturing human oocytes: relationship to oocyte developmental potential. J Clin Endocrinol Metab 1995; 80: 1438-1443.
- Lee MM, Donahoe PK. Müllerian inhibiting substance: a gonadal hormone with multiple functions. Endocrine Rev 1993; 14: 152-164.
- Guo MW, Mori E, Xu JP, Mori T. Identification of fas antigen associated with apoptotic cell death in murine ovary. Biochem Biophys Res Com 1994; 203: 1438-1446.

35. Andersen CY, Ziebe S. Serum levels of free androstenedione, testosterone and oestradiol are lower in the follicular phase of conceptional than of non-conceptional cycles after ovarian stimulation with a gonadotrophin-releasing hormone agonist protocol. *Hum Reprod* 1992; 7: 1365-1370.
36. Krasnow J. Advances in understanding ovarian physiology: regulation of steroidogenic enzymes in ovarian follicular differentiation. *Semin Reprod Endocrinol* 1991; 9: 283-302.
37. Bringer J, Hedon B, Orsetti A, Jaffiol C. Exploration hormonale de la femme. *Encycl Med Chir. Paris, Gynecologie*, 1987; 73: 1-18.
38. Strauss JF, Steinkampf MP. Pituitary-ovarian interactions during follicular maturation and ovulation. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172: 726-735.
39. Maruo T. Expression of oncogenes, growth factors and their receptors in follicular growth, regression and atresia: their roles in granulosa cell proliferation and differentiation. *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi* 1995; 47: 738-750 (Abst).
40. Li S, Maruo T, Ladines-Llave CA, Kondo H, Mochizuki M. Stage-limited expression of myc oncoprotein in the human ovary during follicular growth, regression and atresia. *J Endocrinol* 1994; 41: 83-92.
41. Cordray JP, Merceron RE, Guiller X, Nys P. Des nouvelles connaissances réfèrent au croissance folliculaire. *Rev Fr Gynecol Obstet* 1994; 89: 240-244.
42. Danforth DR. Endocrine and paracrine control of oocyte development. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172: 747-752.
43. Simpson ER, Mahendroo MS, Means GD, et. al. Aromatase cytochrome P⁴⁵⁰, the enzyme responsible for estrogen biosynthesis. *Endocrine Rev* 1994; 15: 342-355.
44. Shoham Z, Jacobs HS, Isler V. Luteinizing hormone: its role, mechanism of action, and detrimental effects when hypersecreted during the follicular phase. *Fertil Steril* 1993; 59: 1153-1161.
45. Erickson GF, Sadrkhanloo R, Liu XJ, Shimasaki S, Ling N. Extrapituitary actions of gonadotropin-releasing hormone: stimulation of insulin-like growth factor-binding protein- 4 and atresia. *Endocrinol* 1994; 34: 1365-1372.
46. Magofin DA. Regulation of differentiated functions in ovarian theca cells. *Semin Reprod Endocrinol* 1991; 9: 321-331.