

# LA OOGENESIS Y EL DESARROLLO FOLICULAR

Alvaro Castro Hernández

## 1. INTRODUCCION

A las células sexuales, el espermatozoide y el óvulo, las cuales se unen para iniciar el desarrollo de un nuevo individuo, se les conoce con el nombre genérico de GAMETO. En el caso de todos los organismos superiores los gametos son producidos por individuos sexualmente diferenciados. La fecundación de la <sup>re</sup>producción, en primera instancia, es hacer que estos dos tipos de gametos se junten en condiciones óptimas para que se produzca un nuevo individuo, con el cual se perpetua la especie. En segunda instancia la reproducción mantiene indefinidamente el paquete genético de la especie que va siendo transmitido y heredado a las siguientes generaciones mediante la fusión exitosa de los gametos.

Los gametos y las células de las cuales se originan constituyen el plasma germinal. Este plasma, a diferencia del PLASMA SOMATICO, puede vivir indefinidamente en generaciones sucesivas, pero para que esto suceda tiene que haber una unión exitosa de una célula sexual del macho (espermatozoide) con una sexual de la hembra (óvulo). Estos dos gametos conjugados pasan al nuevo individuo la dote hereditaria completa de la especie (24).

Las células de las cuales se originan los gametos, se llaman las CELULAS GERMINALES PRIMORDIALES, las cuales aparecen muy temprano en el desarrollo embrionario de los vertebrados (24).

## 2. HISTORIA DEL PLASMA GERMINAL EN EL CUERPO DEL VERTEBRADO

Las células germinales primordiales en los vertebrados son reconocidas en forma definitiva a una edad sorprendentemente temprana en el desarrollo embrionario. Esto ocurre aun antes de saber si el embrión va a ser un macho o una hembra, pues todavía las gonadas no han comenzado a tomar forma

como órganos definitivos (24). Se ha encontrado que las Células Germinales Primordiales en los mamíferos se originan del endodermo, apareciendo en el epitelio del saco vitelino (fig.1) entre la tercera y la cuarta semana del desarrollo embrionario (2, 4, 13). Estas células son más grandes (fig. 2) que las células somáticas y poseen núcleos grandes, redondos conteniendo nucleolos prominentes (2, 4). Desde el sitio de aparición éstas células emigran hacia los rebordes o crestas gonadales, ayudadas por enzimas líticas y mediante movimientos ameboides (4, 14). Se ha postulado que los rebordes gonadales secretan una sustancia quimiotáctica ("Teleferon") la cual atrae las células germinales (2, 28, 34). Algunas de estas células ocasionalmente pueden viajar pasivamente a través de la circulación sanguínea y anclarse en la gónada en formación (2) (fig.3).

No todas las células germinales primordiales llegan a los rebordes gonadales. Algunas se pierden durante la migración y otras se degeneran en el camino (2). Durante la emigración las células germinales se multiplican por mitosis aumentando su número considerablemente cuando han colonizado la gónada (2).

### 3. COLONIZACION DE LA GONADA PRIMORDIAL

Las gónadas en los vertebrados se desarrollan como una agregación celular del borde superior de la capa visceral (somática) del mesodermo lateral, en la mitad posterior del cuerpo embrionario (fig. 3). Más tarde, la conexión entre esta masa celular y la pared peritoneal (celómica) se constriñe lateralmente y la gónada queda suspendida de la pared peritoneal únicamente por una capa doble de peritoneo, el mesorquio o mesovario (6).

La gónada primordial consiste de una capa de epitelio celómico (mesodermico) engrosado que se sitúa en la cavidad corporal, lateral al mesenterio dorsal, cubriendo un núcleo de tejido mesenquimal. Al llegar las células primordiales al reborde gonadal se sitúan en la corteza y/o en la parte medular del reborde gonadal (2, 6). En general, en términos morfológicos, las células permanecen en la corteza si la gónada primordial se va a diferenciar en un ovario, mientras que el paso de las células a la médula (mesenquima) está asociado con la diferenciación en un testículo (1,2).

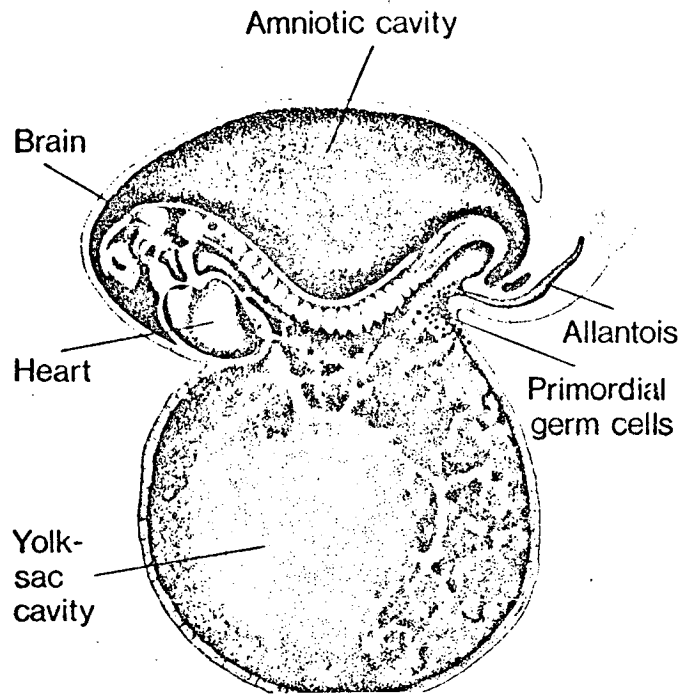


Fig. 1. Embrión humano de 24 días con su amnios. Las células germinales primordiales (puntos negros) están agrupadas en el techo del saco vitelino y en la pared ventral del intestino primitivo posterior. (Tomado de C.R. Austin y R.V. Short I. Germ Cells and Fertilizacion. 1a. ed. 1972. London. p. 4).



Fig. 2. Una sección de un embrión humano de aproximadamente 31 días mostrando las células germinales primordiales en la pared del intestino primitivo posterior y en el mesenterio intestinal. Las células son más grandes que las células somáticas vecinas y una de ellas (flecha) está en metafase mitótica (Tomado de C.R. Austin y R.V. Short: I. Germ Cells and Fertilization, 1a. ed. 1972, London, p.2).

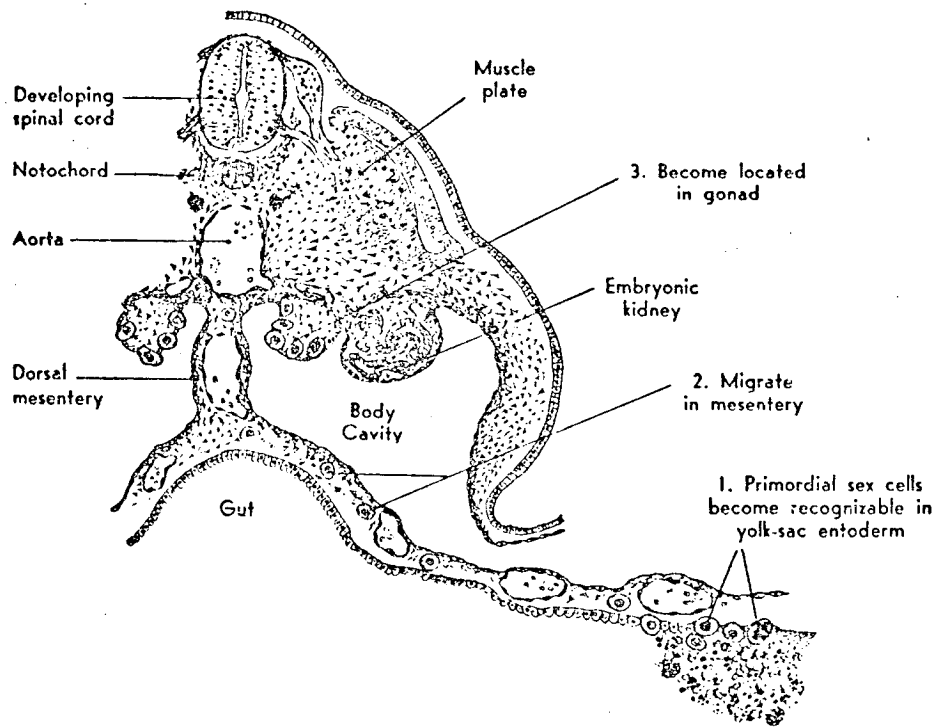


Fig. 3. Sección esquemática a través de la parte media corporal de un embrión joven, ilustrando la manera como las células germinales primordiales se originan en el endodermo del sacc vitelino y emigran a la gonada en crecimiento (Tomado de B.M. Patten: Early Embryology of the Chick. 5a ed. 1971. New York. p.13.)

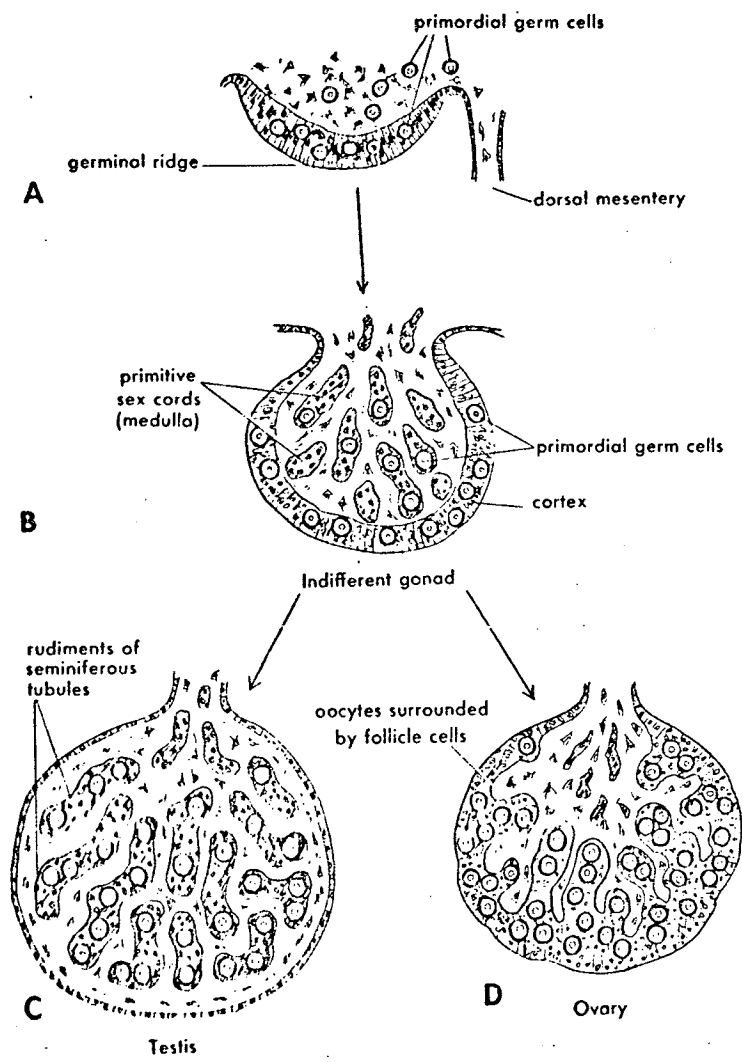


Fig. 4. Diagrama mostrando el desarrollo de las gonadas en los vertebrados superiores. A. Reborde o cresta gonadal; las células germinales primordiales están parcialmente embebidas en el epitelio del reborde y en el mesenquima adyacente. B. En la gonada indiferenciada, las células germinales están en la corteza y en los cordones sexuales primarios. C. Gonada diferenciada como testículo; corteza está reducida; las células germinales en cordones sexuales. D. Gónada diferenciada como ovario; los cordones sexuales primarios reducidos; la corteza aumentada y conteniendo las células germinales (Tomado de B.I. Balinsky: An Introduction to Embryology 3a. Ed. 1970. Washington. p. 491).

En los estadios tempranos de la diferenciación gonadal el sexo del embrión únicamente se puede diferenciar por estudios citogenéticos (X o Y); en términos de morfología e histología general la gónada esta indiferenciada y su diferenciación puede conducir a la formación de un ovario o un testículo de acuerdo a su constitución genética (2). (fig. 4).

Puesto que el proceso que conduce a la formación de los gametos ocurre antes de la diferenciación sexual, podemos tomar las Células Germinales Primordiales como un punto de partida común para la formación de los dos tipos de gametos (masculino y femenino) (fig. 5). Esta conferencia va a considerar únicamente la formación del gameto femenino. Por lo tanto nos vamos a limitar solamente a la formación del gameto femenino (oogénesis).

#### 4. OOGENESIS

La oogénesis (fig. 6) puede ser mejor definida como la formación, desarrollo y maduración del gameto femenino. Este proceso comienza en la vida embrionaria y continua hasta el tiempo de la ovulación en la vida adulta (2,4).

La gónada indiferenciada de la hembra rapidamente toma la forma de la glándula del adulto, aunque diminuta (inmediatamente después del nacimiento en la mayoría de las especies). La población de células germinales rapidamente se transforman en oogonias en la gonada diferenciada. Las oogonias se multiplican rapidamente por mitosis. Asi en el humano, de 1700 células germinales que hay durante la emigración en el primer mes de gestación, se incrementa a 600.000 durante el 2do. mes de gestación y cerca a 7 millones en el 5to. mes. Luego esta población declina rápidamente a 2 millones al nacimiento por el proceso de atresia, pero otro factor que contribuye a esta declinación es el eventual cese de mitosis en las oogonias y su transformación en oocitos unas pocas semanas después del nacimiento en la mayoría de las especies. De este punto en adelante los oocitos son incapaces de aumentar su número y por lo tanto el número de células germinales puede únicamente reducirse y esto ocurre con el incremento de la edad cronológica por el proceso de atresia y la ovulación. Esta declinación se mantiene hasta la llegada de la menopausia en la mujer (o del cese de la actividad sexual en los animales) cuando unos pocos ooci-

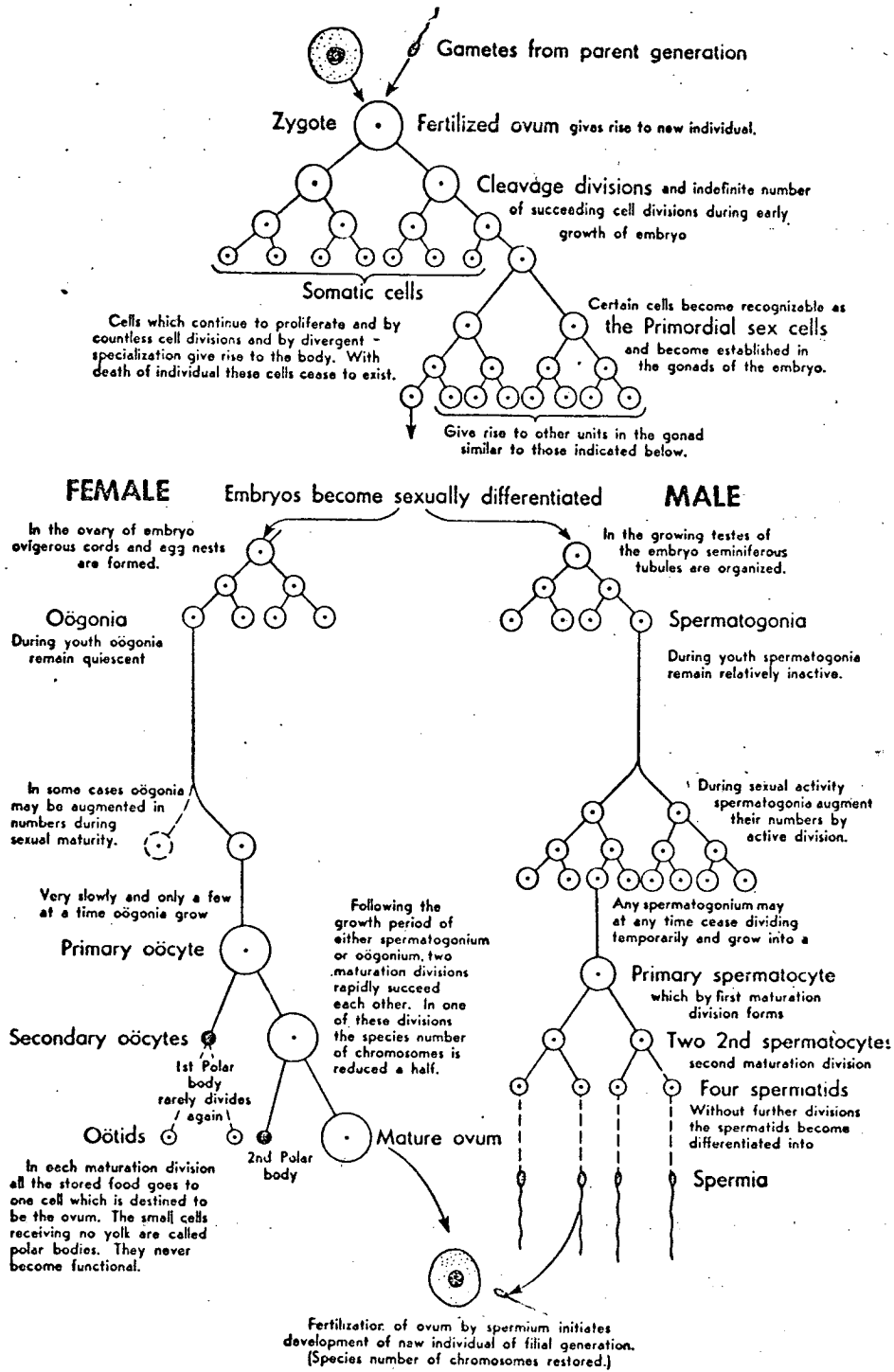


Fig. 5. Cuadro mostrando un esquema de la historia de los gametos y el plasma germinal y de donde se derivan. (Tomado de B. M. Patten: Early Embryology of the chick. 5a. Ed. 1971 New York, p.14).

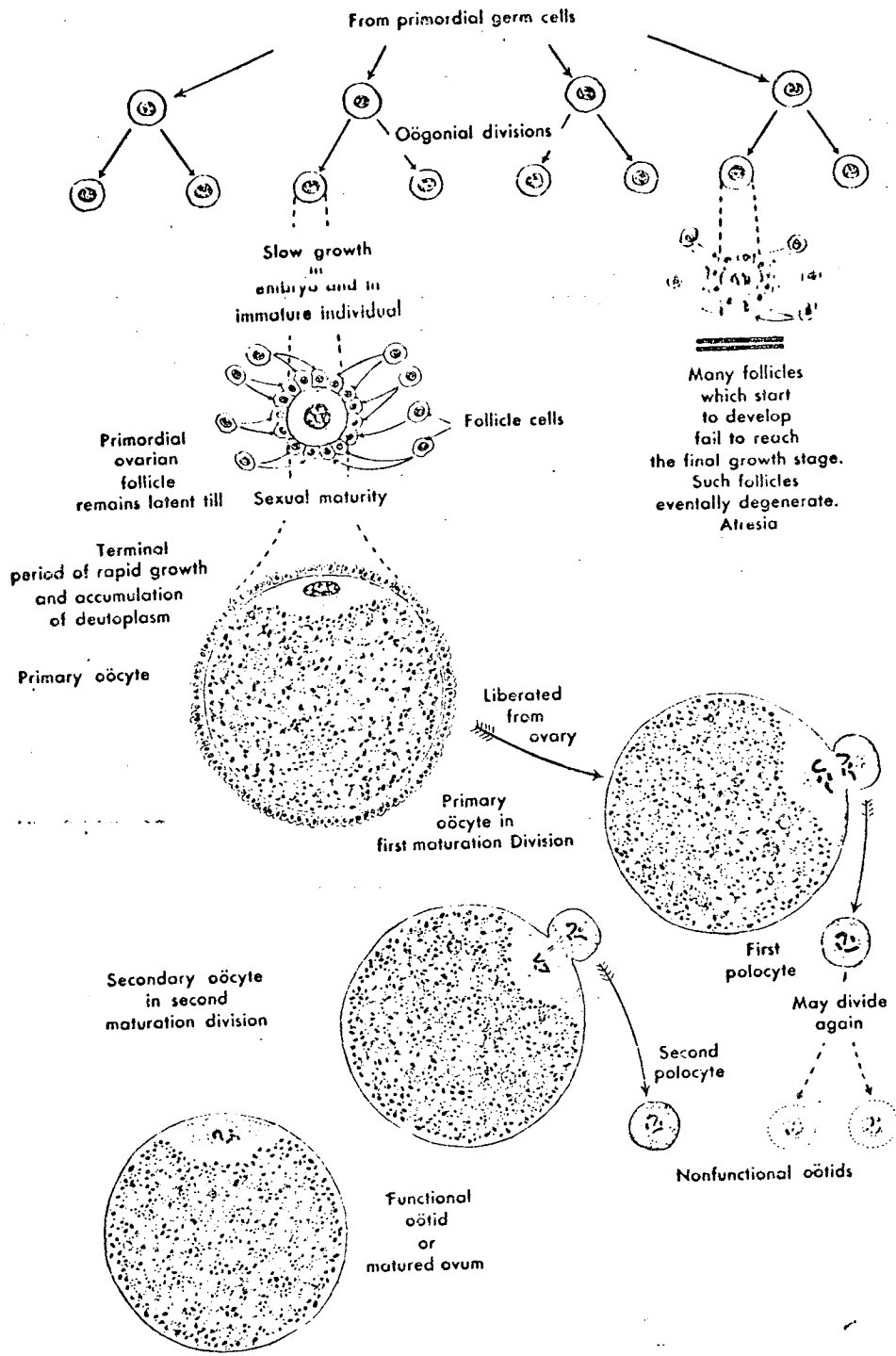


Fig. 6. Diagrama para mostrar los principales pasos en el crecimiento y maduración del óvulo. (Tomado de B. M. Patten: Early Embryology of the chick. 5a. ed. 1971. New York. p. 22).

tos se observan en el ovario. De los 7 millones observados en el ovario humano unicamente 400 a 500 son ovulados (2).

En el desarrollo de la oogénesis, el evento más importante que ocurre es el de la meiosis, el cual en cierto sentido es el opuesto de la fertilización, el anterior reduciendo el número de cromosomas a la mitad, mientras que el último restaurando la diploidia cromosómica (2, 4).

## 5. LA MEIOSIS

La meiosis consiste de dos divisiones celulares, la primera de las cuales involucra la reducción del número de cromosomas a la mitad (diploide a haploide) y permite el intercambio de información genética entre los diferentes pares de cromosomas, un miembro de cada par habiéndose derivado de la madre y el otro del padre. La segunda división se parece a una mitosis pero con cromosomas haploides (fig. 7). Estas divisiones celulares son acompañadas de una división desigual del citoplasma, de tal manera que dos cuerpos polares son formados (2).

El mecanismo que controla la iniciación de la meiosis se conoció solamente cuando se demostró que un tejido (el mesonefros) interactúa con la gónada en desarrollo liberando el mecanismo que principia la meiosis (8). En el ovario embrionario la sustancia inductora inicia la meiosis antes de que la oogonia sea rodeada por las células pregranulosas (antagónicas de la sustancia inductora), las que la aíslan de un futuro contacto directo con el mesonefros (fig. 6). Una vez se ha formado el folículo primario, la oogonia entra en la profase de la primera división meiótica transformándose en oocito primario (logra avanzar hasta el estado de diplotene de la profase), pero la sustancia inhibidora, producida por las células granulosas, se vuelve predominante y parece ser la responsable de la primera interrupción meiótica que ocurre en el caso de la oogénesis (5, 8, 23).

La primera profase meiótica en la hembra se lleva a cabo hasta el estado de diplotene, inmediatamente después del nacimiento en la mayoría de las especies y la célula se comienza a agrandar considerablemente. Los oocitos entran en una fase prolongada de arresto meiótico el cual termina un poco antes de la ovulación con los cambios preovulatorios que ocurren en

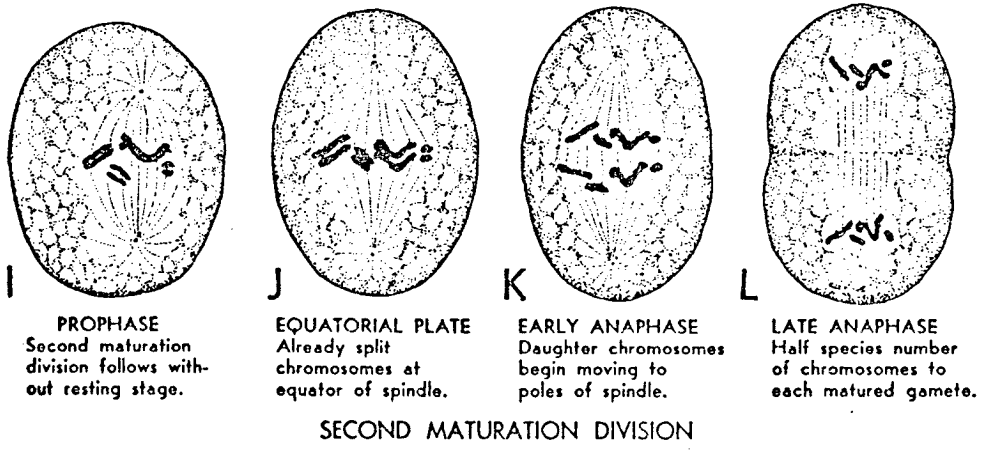
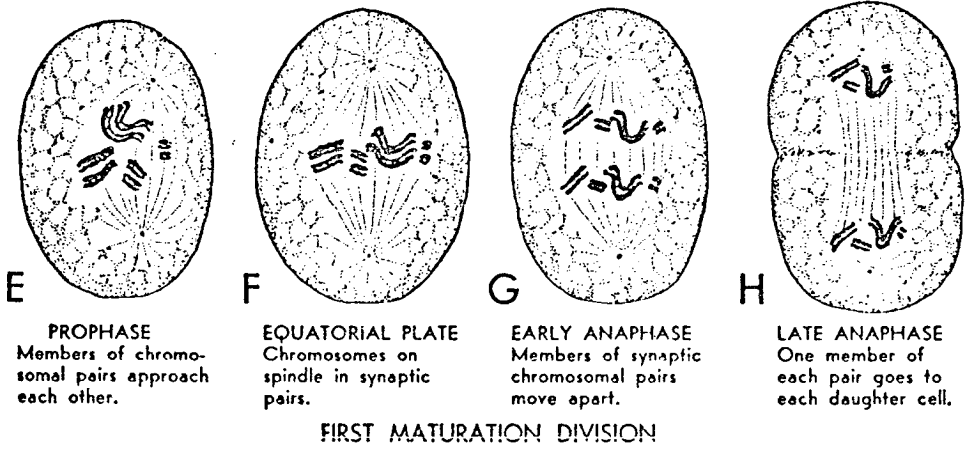
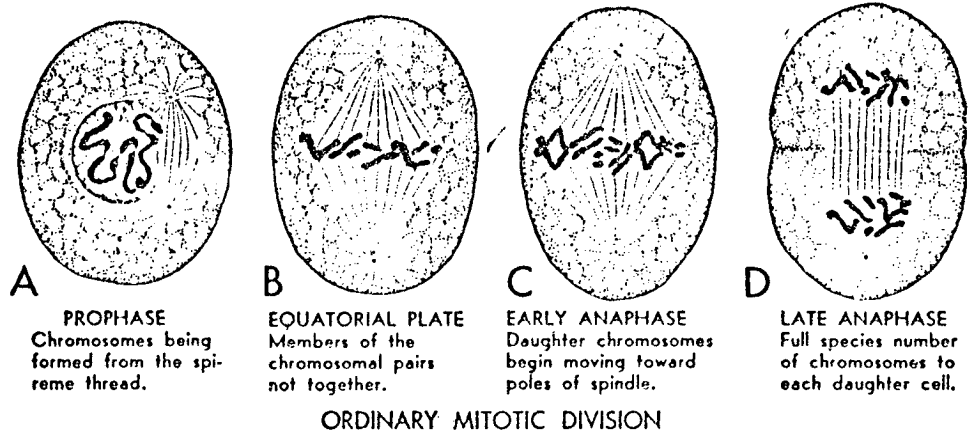


Fig. 7. Diagramas mostrando esquematicamente las diferencias entre una división de reducción (meiótica) en el proceso de maduración y una división mitótica.

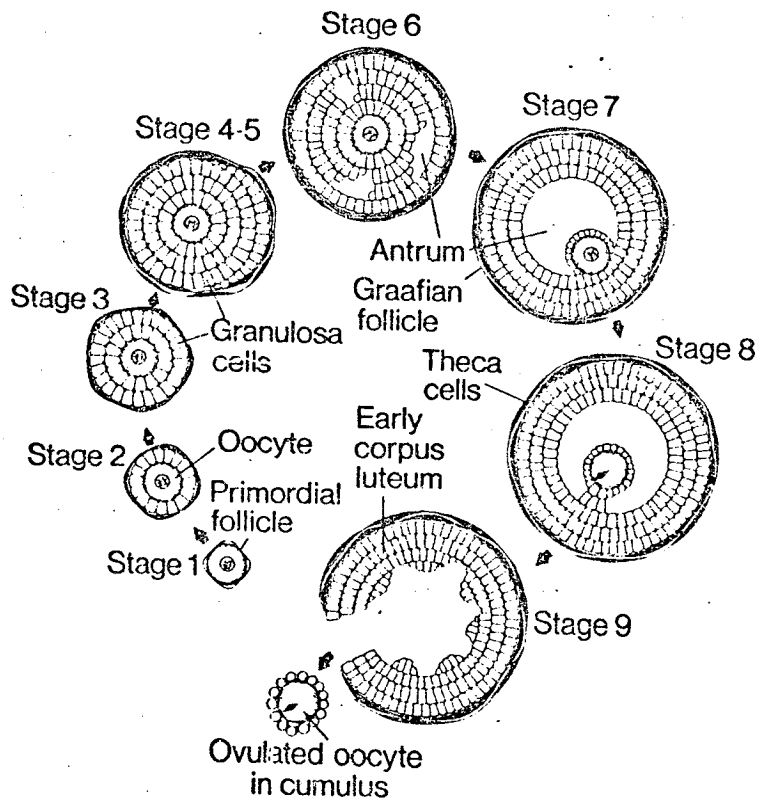


Fig. 8. Representación diagramática del Crecimiento folicular. (Tomado de C.R. Austin y R.V. Short: I. Germ Cells and Fertilization. 1a. ed. 1972. London p. 29).

el folículo de Graaf. En el humano, el primer oocito viable en reiniciar la meiosis lo hace a la pubertad y el último en pasar por la maduración preovulatoria se puede observar en mujeres de 45-50 años de edad (2). En contraste en el macho, la meiosis no comienza sino al tiempo de la pubertad y se ha postulado que este retardo es el resultado de un aislamiento extremadamente temprano de los gonocitos, lo cual los protege de la acción de la sustancia inductora de la meiosis y los expone a la sustancia antagónica (21).

En el macho el número de espermatozoides disponible para la reproducción es vasta ya que las espermatogonias son continuamente reemplazadas por mitosis a través de la vida adulta. En cambio las células germinales del ovario tienen una vida limitada y un número finito de divisiones mitóticas. Consecuentemente la población de células germinales en la hembra tienen un límite superior el cual con la desaparición de las oogonias, decrece rápidamente con el incremento de la edad por el proceso de atresia (2).

## 6. CRECIMIENTO FOLICULAR

Pronto, después que los oocitos son formados, se rodean de una capa de células epiteliales aplanadas, estableciéndose el folículo primordial (células pregranulosas) (2, 33).

Teniendo en cuenta el tamaño, la tasa de crecimiento y algunas características histológicas, el desarrollo folicular se ha dividido en tres etapas: folículo primario, folículo en crecimiento y folículo de Graaf (2) (fig 8). Los primeros folículos en crecimiento aparecen en los ovarios en unos pocos días después del nacimiento, en la mayoría de las especies, pero únicamente con el establecimiento de un correcto balance hormonal, y los ciclos reproductivos a la pubertad le es permitido al desarrollo folicular terminar en ovulación (2).

El crecimiento folicular involucra cambios en la forma de las células, las cuales se vuelven columnares y un aumento de estas células por mitosis. Un líquido subsecuentemente se acumula en los espacios entre estas células, y el folículo en ese momento se describe como vesicular (2).

La gran mayoría de los folículos vesiculares que se producen se degeneran o atrofian en varias fases de su formación. El número de folículos que

llegan a la ovulación esta fijado por la especie mediante los niveles de gonadotropinas circulantes. Así, en la hembra humana unicamente un folículo usualmente ovula cada mes, y el resto (20 ó más) que han alcanzado el mismo estado de crecimiento se degeneran. La inyección de gonadotropinas adicionales causa que más folículos ovulen, una técnica que se ha explotado comercialmente en la superovulación de monotocos (2).

Cerca del 90 por ciento de todos los oocitos en los ovarios de ratones, ratas y monos sexualmente maduros estan encerrados en folículos primordiales consistiendo de una capa de células granulosas (epiteliales) aplanadas.

El resto (10%) son los folículos en crecimiento y folículos de Graff (folículos vesiculares) (2).

Los primeros sintomas del crecimiento folicular en los folículos primordiales son: 1) Un aumento en el tamaño del oocito. 2) Un cambio en la forma de las células de granulosa (de aplanadas a columnares) y aumento numerico por mitosis y 3) La formación de la zona pelúcida (2).

Subsecuentemente, por división de las células de granulosa la membrana granulosa se compone de 2, 3 y 4 capas.

Por este tiempo capilares sanguineos invaden la capa fibrosa de células y rodean el folículo y forman una capa vascular, la teca interna. Esta capa es rodeada por fibroblastos de la teca externa y se convierten en la única fuente de nutrientes para la membrana granulosa y el oocito (2). Durante cada ciclo reproductivo, como una consecuencia directa de un suficiente nivel circulatorio de FSH, un grupo de folículos en crecimiento (estados 4-5 en fig. 8) son estimulados a seguir creciendo y madurar.

El número de folículos así "seleccionados" esta determinado por la cantidad disponible de gonadotropina. Esta fase de crecimiento, dependiente de la gonadotropina, involucra una mayor multiplicación en el número de células de granulosa y también el paso de líquido folicular a los espacios entre ellas, (estado 6 en fig. 8). Este líquido se parece al suero sanguineo y es probablemente derivado directamente de los capilares de la teca, con una ligera modificación producida por las células foliculares (2).

La concentración de hormonas pituitarias y ováricas llegan a ser mucho mayor en el fluido folicular que en el plasma periférico. Se ha encontrado que la LH además de una mayor concentración, tiene una mayor actividad

biológica que la LH del suero preovulatorio (10, 36).

La concentración de LH y Progesterona tiene una importante correlación con el estado de madurez del folículo, encontrándose marcadas diferencias individuales entre folículos en diferentes estados (36).

También se han detectado niveles de prolactina más altos en el líquido folicular preovulatorio que en el suero, lo que indica que hay un transporte selectivo y una retención de PRL en el líquido folicular posiblemente relacionado con el crecimiento y la maduración del oocito primario (30).

En el líquido folicular también se han identificado mucopolisacaridos sulfatados, los cuales lo tornan algo viscoso. La presencia de ciertas proteínas en el líquido folicular como la ceruloplasmina, el fibronógeno, la  $\alpha$  2 macroglubina, la antitrombina III y el plasminógeno, tiene que ver con el estado fisiológico del oocito primario. Cuando se detectan en ciertos niveles que se consideran basales, el total de los oocitos primarios maduran y se pueden fertilizar (16).

Mediante investigaciones realizadas en oocitos de diversos mamíferos (16, 22, 23) se ha demostrado que los esteroides están involucrados en los últimos estadios de la maduración nuclear y citoplasmática, pero no intervienen en la regulación de la tasa de transporte de aminoácidos a través de la membrana del oocito durante este periodo.

Es probable que las sustancias anteriormente mencionadas y otras menos conocidas estén involucradas en el mecanismo de retroalimentación del control intraóvarico del crecimiento y maduración folicular (11).

El líquido folicular tiene actividad de inhibición sobre la maduración del oocito primario pero no tiene relación significativa con la tasa de fertilización y con la segmentación in vitro (12).

A medida que la cantidad de líquido folicular aumenta las cavidades que ocupa aumentan en tamaño y se vuelven confluentes para formar el antro.

El folículo es en este momento denominado folículo de Graaf. Con el incremento adicional del antro, el oocito ocupa una posición a un lado del folículo y está rodeado de 2 o más capas de células granulosas. La más interna se vuelve columnar en su forma y se constituye en la "corona radiada" o "cumulus oophorus" el cual persiste alrededor del óvulo por un periodo de tiempo después de la ovulación. La disolución de estas células

mientras el óvulo esta todavía en el folículo o inmediatamente después de la ovulación en un signo seguro de que estan ocurriendo cambios degenerativos que resultan en la muerte del oocito (2).

El crecimiento folicular es un proceso continuo y el número de folículos en cada uno de los estados de 1 a 5, fluctua ligeramente con las fases del ciclo reproductivo. La población se mantiene así en un estado estable, los folículos progresando al siguiente estado unicamente para mantener el número constante en ese estado. Pero con la llegada al estado 5, el número de folículos fluctua considerablemente siendo esto más común durante la primera parte del ciclo estral y menos común después de la ovulación (2).

Los factores que inician el crecimiento folicular en los folículos primordiales permanecen en su mayoría desconocidos. Es difícil de explicar cómo unos pocos folículos son seleccionados para que comiencen a crecer, mientras que otros vecinos aparentemente idénticos no son afectados. Los signos más tempranos del crecimiento, casi con certeza, ocurren en el oocito el cual desencadena los cambios en las células granulosas. No parece que las hormonas de la pituitaria inicien el crecimiento folicular puesto que las fases iniciales del crecimiento continúan después de la remoción de la glándula pituitaria. El crecimiento hasta las 4 capas de células granulosas se piensa es independiente del control hormonal, mientras que el proceso por encima de este estado es controlado por las hormonas (2, 25, 29, 31). Sin embargo, en otros estudios (19, 26) se demostró en ratones que después de la hipofisectomia el número de los folículos primarios disminuía y terminaba en atresia. Estos resultados indican que la regulación del crecimiento folicular inicial es bastante complejo y requiere de más investigación.

En contraste, existe mayor conocimiento del desarrollo de los folículos de Graaf a partir de los precursores (estados 6 a 8 en fig. 8).

En estudios de órganos en cultivo y de terapia de reemplazo en animales cuya glándula pituitaria ha sido quirúrgicamente removida, la inyección de PMSG y de extractos de pituitaria y de estrógenos naturales y sintéticos ha promovido un crecimiento adicional del folículo y del antro. Preparaciones relativamente puras de FSH se postula son menos efectivas que las que contienen LH (2). La óptima concentración puede estar alrededor de 1:3 respectivamente.

También se conoce que la acción de PMSG en el crecimiento folicular en ratas hipofisectomizadas es aumentada con un pretratamiento con estrógenos. Parece ser que el principal mecanismo de control en el crecimiento final del folículo y su antro involucra un pico de FSH en presencia de LH, la función del cual es asegurar una síntesis adecuada de esteroides (especialmente estrógenos). El efecto combinado de estas hormonas determinan no solamente el número de folículos que se desarrollan hasta el folículo maduro de Graaf, sino también la proporción de folículos que ovulan comparados con los que se degeneran (2).

### 7. FORMACION Y FUNCION DE LA ZONA PELUCIDA

La zona pelúcida consiste de mucopolisacaridos y material digerible por tripsina (2). La zona pelúcida se forma alrededor de los oocitos que estan rodeados de una capa completa de células granulosas columnares. Islas de material fibrilar se depositan en los espacios entre células granulosas adyacentes y la superficie del oocito (fig. 9). La fuente de las fibrillas es desconocido aunque islas de material observadas dentro del retículo endoplasmático de ambos, las células foliculares y el oocito, puede ser el precursor de este material. La transformación celular de las sustancias proteinaceas en mucopolisacaridos, se sabe, ocurre en las vesiculas de Golgi, las cuales estan usualmente cerca a la superficie del oocito en regiones donde la zona pelúcida esta siendo depositada. Hay poca duda del papel que juega las células de la granulosa en el proceso de formación de la zona pelúcida pero más estudios se requieren para precisar el papel desempeñado por el oocito (2, 3).

Las islas de material de la zona (fig. 9) se fusionan y eventualmente forman una capa de apariencia gelatinosa la cual termina completamente rodeando el óvulo. La estructura en alguna forma se parece a un cedazo, en el cual microvellos interdigitales del oocito y extensiones más grandes de las células granulosas ocupan canales dentro de la zona (fig. 10). Estas conecciones son importantes en el metabolismo del oocito ya que en estados avanzados del crecimiento folicular utiliza como sustratos respiratorios unicamente el piruvato y el lactato (7), sustancias que puede obtener solamente de las células foliculares de la granulosa.

forma el número de óvulos que ovulan, el cual es más o menos constante para cada especie (2).

El pico de LH (o el aumento en estrógenos que causa) se sostiene e induce a una oleada de mitosis en las células granulosas de tal manera que alcanzan un tamaño óptimo en el folículo de Graaf. El volumen del líquido folicular en el antro también se aumenta dramáticamente. El folículo así se agranda considerablemente, su tamaño final variando entre especies (rata 1.5 mm; cerda 8 mm; mujer 10-15 mm; yegua 30-50 mm) (2).

Durante la maduración final del folículo las células adyacentes al óvulo adquieren su forma columnar característica. Inicialmente el cumulus oophorus es una amplia zona (fig. 11). Esta zona gradualmente se reduce en extensión, parcialmente por los movimientos y desprendimientos de las células granulosas pero también por la acumulación de líquido folicular. El área de conexión es eventualmente reducida a un tallo y por este tiempo la capa más interna del cumulus (ahora denominada corona radiada) consiste de células largas y delgadas. El oocito con su envoltura de células coronales flota libremente en el líquido folicular un poco antes de la ovulación (2). No hay duda que la reiniciación de los cambios meióticos en el oocito del folículo de Graaf es inducido por el pico de LH, pero el mecanismo preciso es todavía incompletamente conocido.

En la especie humana y en los mamíferos se muestran tres eventos separados para que el oocito primario en el folículo de Graaf madure fisiológicamente. La remoción del factor inhibidor de la meiosis, la actividad biosintética y los cambios en la membrana y el citoplasma. Los dos últimos son dirigidos por estímulos positivos del folículo ovárico (5, 11, 19).

La primera señal de la naturaleza del mecanismo del control de la meiosis se obtuvo con el descubrimiento de que los oocitos de los mamíferos, una vez removidos del folículo y colocados en un medio de cultivo, reinician espontáneamente la meiosis en ausencia de gonadotropinas (11). Este descubrimiento dio lugar a la hipótesis sobre la presencia de sustancias inhibitoras de origen intrafolicular que inhiben la meiosis y que las hormonas gonadotropicas suprimen el efecto de esta(s) sustancia(s) en folículos preovulatorios. La primera evidencia directa que apoyó esta hipótesis se obtuvo cuando se observó que el líquido folicular inhibe la meiosis de los oocitos (12).

La zona es impermeable a solutos de peso molecular grandes como los polisacáridos y las proteínas. Estas sustancias atraviesan la zona a través de estas proyecciones de las células foliculares en forma de vesículas que son introducidas en el citoplasma del oocito (2).

Por lo tanto las células granulosas, las cuales más tarde se transforman en el "cumulus oophorus", son esenciales para la nutrición del óvulo una vez se establece la zona pelúcida.

Recientes investigaciones han demostrado que la presencia de tales comunicaciones entre el oocito y las células granulosas explican la iniciación rápida de los cambios que ocurren en el folículo crecido siguiente a la descarga de la LH preovulatoria. En este momento las células del cumulus son extraídas de la zona pelúcida y el oocito primario reinicia la meiosis (15, 17, 20).

Las implicaciones que se deducen son que las influencias inhibitoras metabólicas y/o los potenciales eléctricos son modificados y que una pérdida prematura del contacto entre el oocito y las células granulosas puede ocasionar una pérdida de coordinación con el folículo y por lo tanto la eventual atresia (9).

## 8. MADURACION PREEVULATORIA

Si la ovulación debe ocurrir, el folículo de Graaf (y el óvulo en su interior) deben llevar a cabo cambios adicionales que unicamente se pueden realizar bajo condiciones hormonales precisas y controladas. El nivel de la FSH circulante permanece elevado por unicamente un periodo corto al comienzo de la fase de crecimiento preovulatorio, después de la cual la cantidad de las gonadotropinas circulantes (FSH y LH) permanece constante hasta un tiempo cercano a la ovulación. El comienzo de la maduración preovulatoria esta marcada por un súbito y dramático incremento en la secreción de gonadotropinas por la pituitaria, especialmente de LH (pico de LH). En realidad ambos la FSH y la LH aumentan sus niveles plasmáticos y consecuentemente la proporción de estas hormonas es tan importante en el control de la maduración como la LH sola. De todas maneras, estas hormonas alcanzan un valor óptimo para la especie, el cual afecta la maduración final del oocito y el folículo; ellas también regulan en cierta

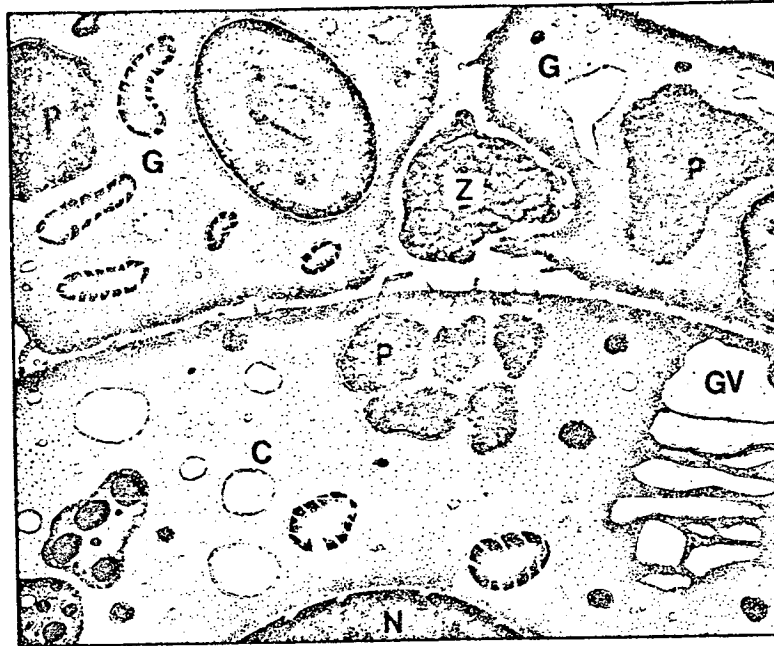


Fig. 9. Una micrografía idealizada mostrando la formación inicial de la zona pelúcida (Z) entre las células granulosas (G). El material precursor (P) se encuentra en las células granulosas y el oocito; las vesículas de Golgi (G.V.) en el oocito pueden ser las responsables de la formación de este material. C=Citoplasma, N=Núcleo. (tomado de C.R. Austin y R.V. Short: I. Germ Cells and Fertilization 1a. ed. 1972. London, p. 26).

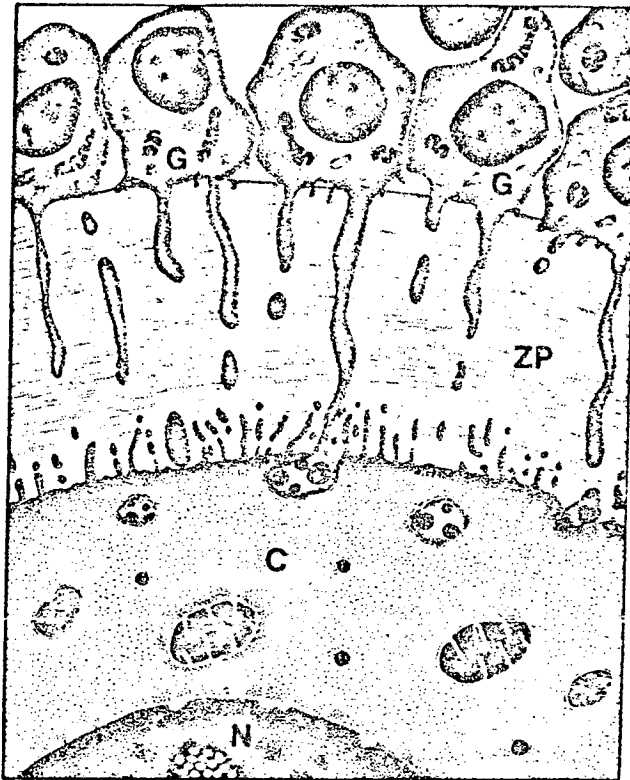


Fig. 10. Estructura de la zona pelúcida completamente formada (ZP) alrededor de un oocito en un folículo de Graaf. Microvellos que se originan del oocito se interdigitan con procesos provenientes de las células granulosas (G). Estos procesos penetran el citoplasma del oocito (C) y pueden proveerlo de nutrientes y proteínas maternas (Tomado de C.R. Austin y R.V. Short: I. Germ Cells and Fertilization 1a. ed. 1972. London p.25).

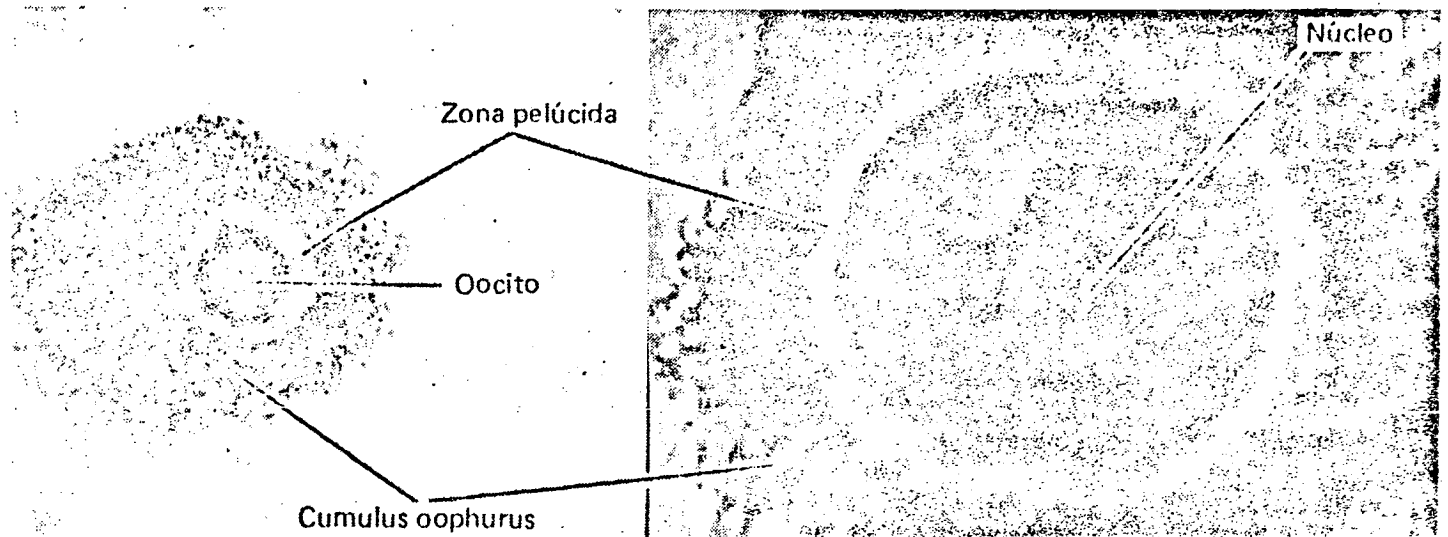


Fig. 11. Microfotografías de un oocito primario de bovino extraído de un folículo secundario. Se aprecia claramente el núcleo, la zona pelúcida y el cumulus oophorus (Tomado de Centro de Fertilidad y Esterilidad de Medellín "CEFES". Oogenesis y desarrollo folicular. Gametos vol 1 No. 2 1986, p. 7).

Con una serie de experimentos se demostró que las células granulosas son la fuente de estas sustancias (23, 32). Posteriormente se aisló este factor y actualmente se sabe que es un polipeptido de bajo peso molecular cuya acción supresora posiblemente requiere del concurso del cumulus oophorus porque no es efectiva en ausencia de éste (18). El mecanismo preciso no se conoce, pero hay indicios que este podría incluir el bloque de la transcripción de un RNA específico ya que la presencia de  $\alpha$  amanitina (inhibidor de la RNA transcriptasa) en el momento del segundo reinicio de la meiosis, bloquea completamente la maduración. La remoción o neutralización del inhibidor de la transcripción, en este caso, de la  $\alpha$  amanitina, libera bruscamente la actividad transcripcional la cual se observa inmediatamente después de la reiniciación de la meiosis (23). Experimentos recientes han demostrado que durante el periodo de reiniciación de la meiosis ocurre una disminución del adenosin monofosfato cíclico (AMPC) en el oocito. Microinyecciones de anti-AMPC a oocitos indujeron la meiosis en éstos, lo que confirma el papel que juega este compuesto en la interrupción meiótica (19). Sin embargo, recientemente se demostró, en ovarios de coneja, que la adición continua de dibutilil adenosin monofostato cíclico (BU 2 AMPC) estimula la producción de progesterona y estradiol, aunque no ocurre ovulación ni maduración de oocitos foliculares. Pero si la exposición al compuesto no es continua, se induce la reiniciación de la meiosis en el oocito folicular. Estos resultados sugieren que, al menos en estos mamíferos in situ, después del incremento de las gonadotropinas se requiere elevaciones transitorias y no continuas de AMPC para que se inicie la maduración del oocito (35).

Trabajos experimentales recientes demuestran que los esteroides intervienen en la maduración del citoplasma. Un alto porcentaje de estos oocitos, en presencia de gonadotropinas, maduran normalmente y luego de reimplantados desarrollan hijos viables por inhibición de la enzima 20  $\alpha$  colesterol oxidasa o de la 17  $\alpha$  hidrolasa en estos mismos cultivos, so observan importantes anormalidades en la maduración del citoplasma y del núcleo. En los cultivos a los que se les administra esteroides de origen exógeno, se reduce significativamente la proporción de oocitos anormales. Otros investigadores reportan además que la presencia de esteroides en cultivo de oocitos desnudos (sin células granulosas) reduce

Con una serie de experimentos se demostró que las células granulosas son la fuente de estas sustancias (23, 32). Posteriormente se aisló este factor y actualmente se sabe que es un polipeptido de bajo peso molecular cuya acción supresora posiblemente requiere del concurso del cumulus oophorus porque no es efectiva en ausencia de éste (18). El mecanismo preciso no se conoce, pero hay indicios que este podría incluir el bloqueo de la transcripción de un RNA específico ya que la presencia de  $\alpha$  amanitina (inhibidor de la RNA transcriptasa) en el momento del segundo reinicio de la meiosis, bloquea completamente la maduración. La remoción o neutralización del inhibidor de la transcripción, en este caso, de la  $\alpha$  amanitina, libera bruscamente la actividad transcripcional la cual se observa inmediatamente después de la reiniciación de la meiosis (23). Experimentos recientes han demostrado que durante el periodo de reiniciación de la meiosis ocurre una disminución del adenosina monofosfato ciclico (AMPC) en el oocito. Microinyecciones de anti-AMPC a oocitos indujeron la meiosis en éstos, lo que confirma el papel que juega este compuesto en la interrupción meiótica (19). Sin embargo, recientemente se demostró, en ovarios de coneja, que la adición continua de dibutiril adenosina monofostato ciclico (BU 2 AMPC) estimula la producción de progesterona y estradiol, aunque no ocurre ovulación ni maduración de oocitos foliculares. Pero si la exposición al compuesto no es continua, se induce la reiniciación de la meiosis en el oocito folicular. Estos resultados sugieren que, al menos en estos mamíferos in situ, después del incremento de las gonadotropinas se requiere elevaciones transitorias y no continuas de AMPC para que se inicie la maduración del oocito (35).

Trabajos experimentales recientes demuestran que los esteroides intervienen en la maduración del citoplasma. Un alto porcentaje de estos oocitos, en presencia de gonadotropinas, maduran normalmente y luego de reimplantados desarrollan hijos viables. Por inhibición de la enzima  $20\alpha$  colesterol oxidasa o de la  $17\alpha$  hidrolasa en estos mismos cultivos, se observan importantes anormalidades en la maduración del citoplasma y del núcleo. En los cultivos a los que se les administra esteroides de origen exógeno, se reduce significativamente la proporción de oocitos anormales. Otros investigadores reportan además que la presencia de esteroides en cultivo de oocitos desnudos (sin células granulosas) reduce

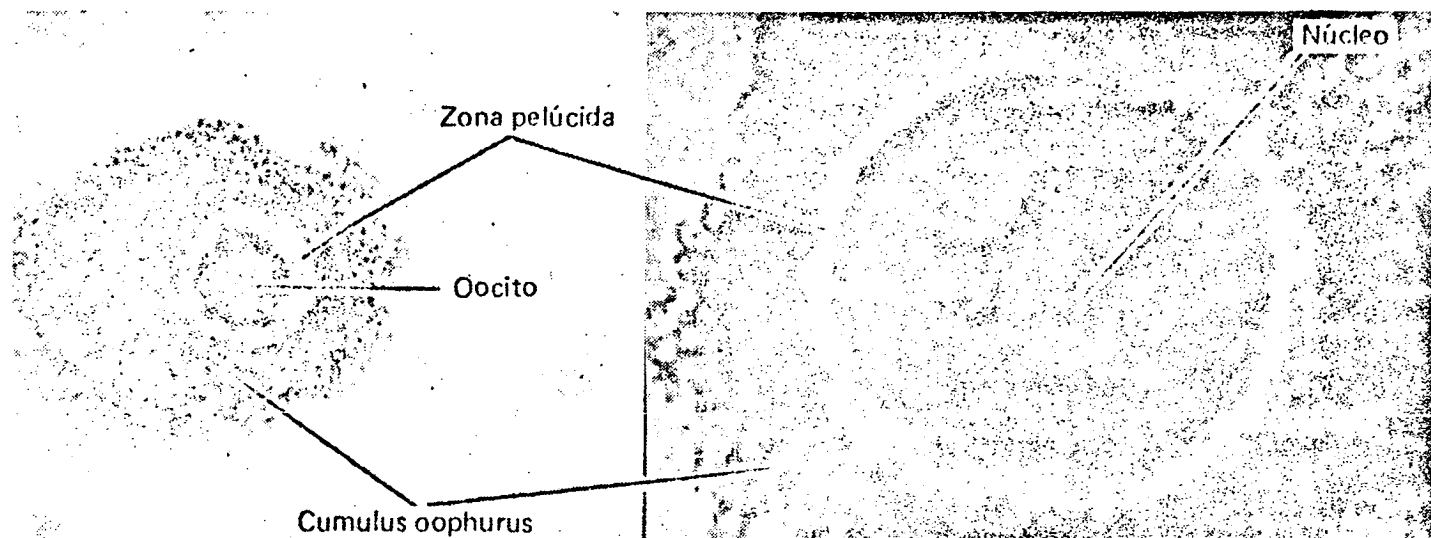


Fig. 11. Microfotografías de un oocito primario de bovino extraído de un folículo secundario. Se aprecia claramente el núcleo, la zona pelúcida y el cumulus oophorus (Tomado de Centro de Fertilidad y Esterilidad de Medellín "CEFES". Oogenesis y desarrollo folicular. Gametos vol 1 No. 2 1986, p. 7).

significativamente la incidencia de aberraciones cromosómicas en la metafase I y en la metafase II (22, 23). La hipótesis de que los esteroides son esenciales para la maduración del oocito ha sido sustentada por una variedad de experimentos in vivo llevados a cabo en diferentes especies de mamíferos (21, 32). Se ha observado que los oocitos removidos de sus folículos preovulatorios seis horas después de la liberación de la LH y transferidos a oviductos de receptoras apropiadas, inician la maduración, se fertilizan y producen embriones normales. Por lo contrario, los oocitos removidos más temprano, seis horas antes de la liberación de la LH, no se desarrollan normalmente. Es claro que aunque los esteroides son importantes durante este tiempo de inducción, por si solas son incapaces de inducir la maduración (9).

Los cambios en la estructura del folículo de Graaf están acompañados por la reiniciación de la meiosis dentro del oocito. Al inicio de la maduración preovulatoria el óvulo es todavía un oocito primario cuyo progreso a través de la meiosis fue interrumpida por un periodo prolongado de arresto celular al llegar al estado diplotene de la primera división meiótica.

Del estado diplotene (estado de "vesicula germinal") el oocito del folículo de Graaf continúa al estado de diakinesis completando la profase de la primera división meiótica y sin parar completa la primera división meiótica (metafase, anafase y telofase), dividiéndose el citoplasma del oocito rápidamente y en forma desigual dando origen al primer cuerpo polar (desprovisto de citoplasma). En algunos mamíferos el cuerpo polar pronto se degenera, pero en otras persiste por tiempos prolongados, y alcanza a acompañar el embrión en sus primeras divisiones mitóticas (clivaje). El primer cuerpo polar algunas veces se divide en dos células por el tiempo en que la segunda división meiótica se lleva a cabo (2). Inmediatamente después que el primer cuerpo polar es formado el oocito secundario se embarca en la segunda división meiótica; la profase es muy corta o prácticamente no existe y el proceso llega hasta la metafase.

La metafase II en la mayoría de las especies es el segundo estado de arresto meiótico y es en esa fase que la ovulación generalmente ocurre. La finalización de la segunda división meiótica del oocito depende ahora de la penetración por el espermatozoide a la fertilización (2) (fig.12).

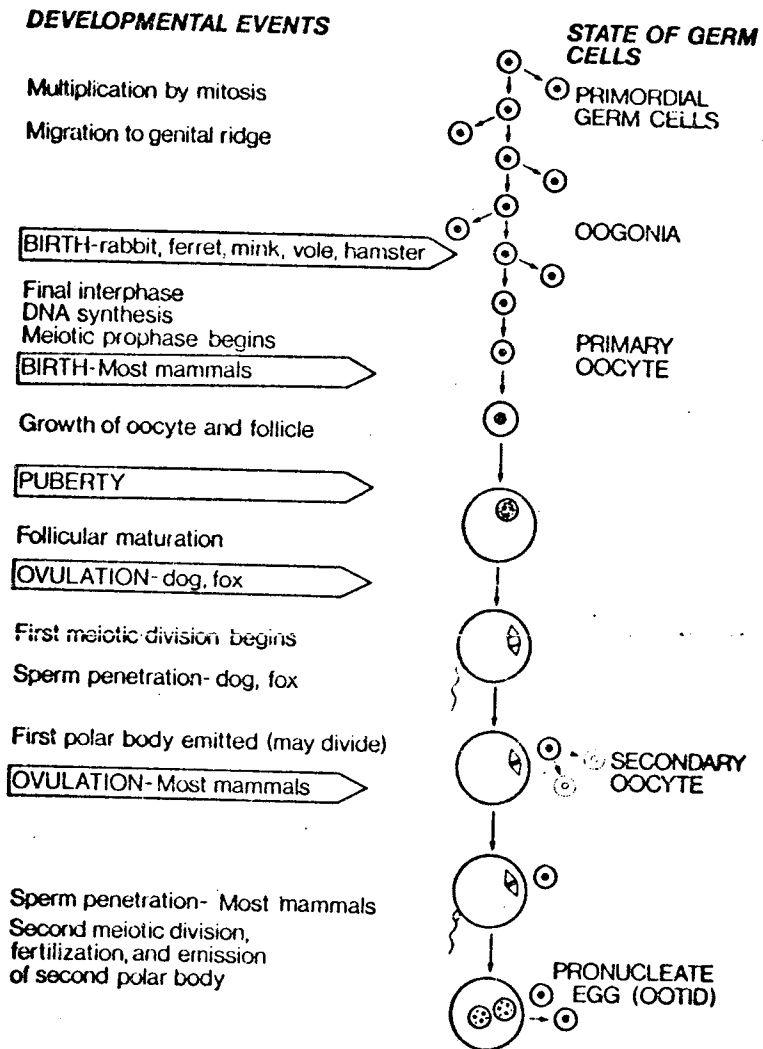


Fig. 12. Ciclo de vida de la célula germinal femenina (Tomado de C.R. Austin y R.V. Short: I. Germ Cells and Fertilization. 1a. ed. 1972. London. p.36).

El punto de vista más común en relación con el segundo arresto meiótico es que el óvulo entra en un estado de inhibición cuando la segunda división meiótica alcanza la metafase; los procesos metabólicos continúan pero a un nivel subnormal y gradualmente van declinando a medida que el óvulo envejece después de la ovulación (1). La entrada del espermatozoide, en alguna forma, destruye la inhibición reasumiendo el óvulo la segunda división meiótica y expulsando el segundo cuerpo polar, y completando así la maduración del ovulo (pronúcleo femenino).

El pronúcleo femenino se conjuga con el pronúcleo masculino formado por el gameto maduro y se inicia una nueva vida.

#### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Un gran interés científico está despertando en estos años el crecimiento y la diferenciación del oocito. Esto es comprensible, puesto que no únicamente es el oocito la célula más grande del cuerpo, sino que tiene todo el potencial de desarrollarse en un nuevo y completo individuo. Es aún más capaz de llevar a cabo este proceso sin la intervención del gameto masculino y por lo tanto debe llevar consigo toda la maquinaria necesaria para hacerlo. Finalmente la oogénesis incluye la meiosis, un proceso complejo que asegura suficiente estabilidad para garantizar la continuidad de la especie y al mismo tiempo suficiente variabilidad para garantizar el progreso genético de las especies.

Aunque se han hecho considerables progresos en delucidar los procesos físico-químicos que gobiernan el desarrollo de la oogénesis, todavía permanece desconocido, algunos de los mecanismos que inhiben o inducen la maduración del oocito y del folículo.

#### REFERENCIAS

1. Arey, L. 1965. Development Anatomy: A testbook and laboratory manual of embryology. Philadelphia W.B. Saunders Co. p.5.
2. Austin, C.R., Short, R.V. 1972. Reproduction in Mammals I. Germ cells and fertilitation. Cambridge University Press, New York. N.Y. p. 1-14.

3. Baker, T.G. 1971. Electron microscopy of the primary and secondary oocyte In: *Advances in the Biosciences*. Raspé G. (Ed.) Oxford Pergamon. p.6.
4. Baker, T.G. 1963. A quantitative and cytological study of germ cells in human ovaries. *Proc. R. Soc. London (Biol)* 158:417.
5. Baker, T.H. 1979. The control of oogenesis in mammals. In: *Ovarion follicular development and function*. Midgley, A.R. Sandler, W.A. (Ed.) New York, Raven Prees. p.353.
6. Balinsky, B.I. 1971. *Introducción a la Embriología*. Editora Omega, 2da. Edición. Barcelona, España. p.204.
7. Brinster, R.L. 1970. In Vitro cultivation of mammalian ova. In: *Advances on the Biosciences*. Raspé, G. (Ed.) Oxford Pergamen. Vol. 4. p.199.
8. Byscov, A.G. 1974. Does the rate ovari act as a trigger for set on of meiosis? *Nature* 252:396.
9. Centro de Fertilidad y Esterilidad de Medellín (CEFES). 1986. *Oogénesis y Desarrollo Folicular*. Vol 1 No. 2. p. 6 y 11.
10. Cha, K., Barnes, R., Marrs, R., Lobo, R. 1985. Oocyte maturity in the spontaneous cycle correlates with follicular fluid (FF) progesterone (PROG) levels and LH of greater biology activity. 41st Annual Meeting of the American Fertility Society. Abstr. p.33.
11. Edwards, R.G. 1977. *Early human development: From the oocyte to implantation*. Scientific Foundation of Obstetric and Gynaecology. Philipp, E.E.; Barnes, J.; Newton, M. (Ed.) 2nd. Ed. London Heineman. p.175.
12. Espinosa-Garcia, J.A., Gibbons, W.E., Findley, E.W., Gitlin, S.A., Ash, P.K. 1985. Relationship of oocyte maturation inhibition activity of human follicular fluid to oocyte maturation, fertilization rate and cleavage rate. 41st Annual Meeting of American Fertility Society. Abstr. p.4.
13. Everett, W.B. 1943. Observational and experimental evidences relating to the origen and differentiation of the definitive germs cell in mice. *J. Exp. Zool.* 92:49.
14. Falin, L. 1969. The development of the genital glands and the origen of germ cells in human embryogenesis. *Act. Anat.* 72:195.
15. Franchi, L.L., Baker, T.G. 1980. Oogenesis and follicular growth. In: *Human Reproduction*. Hafez, E.J.E. (Ed). Harper E Row Publishers. p. 149-177.
16. Gulamali, F., Ackerman, A., Pleban, P. 1985. Correlation of follicular fluid proteins with status in human in vitro fertilization

- (IVF) patients. In: Abstracts of the 41st Annual Meeting of the American Fertility Society. p. 119.
17. Hafez, S.E.S. 1980. Human Reproduction. Hagerstown. E Row publishers. p. 149-177.
  18. Hillensjo, T., Schwartz, K. 1979. Ovarian follicular and corpus luteum function. New York, Plenum Press. p.283-293.
  19. Koering, M.J. 1969. Cyclic changes in ovarian morphology during the cycle menstrual in macaca mulatta. Am. J. Anat. 126:73.
  20. Linder, H.R., Amstendam, A., Salomon, Y. 1977. Intraovarian factors in ovulation: Determinations of follicular response to gonadotropins. J. Reprod. Fertil. 51:215.
  21. Midgley, A.R., Richards, J.S. 1976. Hormone-receptor interaction in the development of ovarian follicles and corpora lutea. In: Ovulation in the Human. Crosignani, R.G., Mishell, D.R. (Eds) New York Academic. p.87.
  22. Moore, R.M., Warnes, G.M. 1978. Control of Ovulation. Crighton, D.B. Fuxcroft, G.R., Haynes, N.B., Lamming, G.E. (Eds) Butterworths, London p. 159.
  23. Moore, R.M., Warnes, G.M. 1979. Regulation of meiosis in mammalian oocytes. British Med. Bull. 35:99-103.
  24. Patten, B.M. 1971. Early Embriology of the Chick. McGraw-Hill Book Co. (Ed.) New York. 5ed. p.11.
  25. Pedersen, T. 1971. Follicle growth in the mouse ovary. In: Oogenesis. Biggers, J.D., Schultz, A.W. (Eds) Baltimore, University Park Press. p. 361.
  26. Puistola, U., Salo, T., Martikainen, H., Ronberg, L. 1986. Type IV collagenolytic activity in human preovulatory follicular fluid. Fert. Steril. 45:578-580.
  27. Raj. S.H., Nath, N., Sing, K.B., Raj, H.G. 1985. Effect of gonadotropins on synthesis of secretory proteins by granulosa cells. Abstracts of the 41st Annual Meeting of the American Fertility Society. p.42.
  28. Roquiska, T., Ozdzanski, W. Komar, A. 1971. Behavior of mouse primordial germ cell in the chick embryo. J. Embryo. Exp. Morphol. 25: 155.
  29. Ritchie, W.G. 1985. Ultrasound in the evaluation of normal and induced ovulation. Fert. Steril. 43:167-181.
  30. Subramanian, A.G., Sacco, M.F., Hayes, M.E. 1985. Selective retention

of prolactin in the preovulatory follicular fluid. Abstracts of the 41st Annual Meeting of the Annual Meeting of the American Fertility Society. p. 84.

31. Susuki, S., Kuraswa, S., Kitai, H. 1985. Meiosis inducing effects of anti-CAMP serum injected into oocyte by micromanipulation. Abstracts of the 41st Annual Meeting of the American Fertility Society. p.43.
32. Thibault, C. 1977. Are follicular and oocyte maturation independent processes? J. Repro. Fertil. 51:1-15.
33. Van-Wagenen, G., Simpson, M.E. 1965. Embriology of the ovary and testis: Homo-sapiens and Macaca mulatta. New Haven, Yale.
34. Witshie, E. 1951. Embryogenesis of the adrenal and the reproductive gland. Rec Prog. Horm. Res. 6:1.
35. Yoshimura, Y., Hosoi, Y., Atlas, S.J., Walach, E.E. 1985. Effects of cyclic AMP on rabbit oocyte maturation. Abstracts of the 41st Annual Meeting of the American Fertility Society. p.98.
36. Yul, C.H., Barnes, R., Marrs, R., Lobo, R. 1986. Correlation of the bioactivity of luteinizing hormone in follicular fluid with oocyte maturity in the spontaneous cycle. Fertil, Steril. 45:388:341.