

# **CAPÍTULO 12**

## **EJE HIPOTÁLAMO-HIPÓFISO-OVÁRICO (HHO)**

Xesús Casabiell

El funcionamiento de este eje es similar, en cuanto a diseño y organización general, al del eje hipotálamo-hipófiso testicular (ver capítulo 11), aunque con algunas particularidades que lo hacen más complejo, y que vienen dictadas por el carácter cíclico de su funcionamiento, en contraste con el funcionamiento continuo del eje hipotálamo-hipófiso testicular. En nuestra especie, en condiciones normales, los ovarios producen un único folículo dominante y por consiguiente una única ovulación en cada ciclo menstrual. El folículo dominante es el responsable de la producción de estradiol durante la fase folicular del ciclo. Tras la ovulación, el folículo dominante da lugar al cuerpo lúteo, que segrega grandes cantidades de progesterona durante la fase luteínica del ciclo menstrual. El estradiol y la progesterona actúan sobre el útero preparándolo para la implantación del embrión. La existencia de esta actividad cíclica viene determinada por la aparición, cuando las circunstancias hormonales son adecuadas, de un cambio en los mecanismos de realimentación que se establecen entre los esteroides gonadales y las gonadotropinas hipofisarias. Mientras que en el macho esta realimentación siempre es de carácter negativo (los esteroides gonadales frenan la secreción de LH y FSH), en la hembra esta realimentación negativa revierte inmediatamente antes de la ovulación, estableciéndose temporalmente un lazo de realimentación positiva en el que los estrógenos potencian la secreción de LH, precipitando la

ovulación. Además, el hecho de que la reproducción supone en los mamíferos un coste metabólico muy importante para la hembra pero no para el macho, determina la existencia de un nivel adicional de regulación, que condiciona la funcionalidad del eje HHO a la existencia de unas reservas energéticas mínimas en la hembra.

## **FOLICULOGÉNESIS**

La foliculogénesis se inicia con el reclutamiento de un folículo primordial “durmiente” al *pool* de folículos en crecimiento y finaliza, bien con la ovulación, o bien con la desaparición del folículo por atresia. En nuestra especie, la foliculogénesis es un proceso largo, transcurriendo entre el reclutamiento y la ovulación aproximadamente un año. Los folículos primordiales van a sufrir una compleja serie de fenómenos de proliferación y diferenciación que los transformarán en folículos preantrales. Del *pool* de folículos preantrales, en cada ciclo menstrual uno de ellos va a completar su maduración (selección y crecimiento del folículo de De Graaf); el resto, acabarán sufriendo un proceso de atresia folicular. La maduración folicular puede dividirse en dos fases: durante la fase preantral (independiente de gonadotropinas) el folículo sufrirá un proceso de crecimiento y diferenciación, sometido a una regulación de tipo autocrino/paracrino por factores de crecimiento locales. Durante la fase antral (dependiente de gonadotropinas) se produce un enorme crecimiento del tamaño folicular (que llega a alcanzar los 25 mm); esta fase está regulada fundamentalmente por FSH y LH, aunque diferentes factores de crecimiento producidos localmente participan en la regulación positiva o negativa de la foliculogénesis, la ovulación y la luteogénesis a través de mecanismos aún no bien caracterizados.

La foliculogénesis tiene lugar en la corteza ovárica, pudiéndose distinguir cuatro estadios de desarrollo diferentes: reclutamiento del folículo primordial, desarrollo del folículo preantral, selección y crecimiento del folículo de De Graaf y atresia folicular.

El folículo primordial contiene un oocito primario (25  $\mu\text{m}$ ), en estado de arresto meiótico, rodeado por una capa única de células de la granulosa aplanadas. La lámina basal que rodea a las células de la granulosa aísla al folículo del resto del tejido ovárico, sin acceso directo al sistema vascular y, en consecuencia, al sistema endocrino. El reclutamiento de los folículos primordiales comienza ya durante la vida intrauterina y no cesa hasta que se agota la reserva ovárica. Este proceso sigue un patrón de tipo biexponencial: la velocidad se duplica cuando la reserva ovárica ha caído hasta un valor crítico próximo a los 25.000 folículos primordiales (lo que ocurre hacia los 37,5 años y se asocia con una caída acusada de la fertilidad). Los factores implicados en el reclutamiento folicular en nuestra especie se conocen relativamente mal, aunque se han identificado factores de tipo activador (ligando de *kit* derivado de la granulosa, proteína osteomorfogénica 7 derivada de la teca, niveles elevados de FSH) y factores de tipo inhibidor (factor inhibidor mülleriano).

Durante la fase de folículo primario las células de la granulosa adoptan una morfología cuboidea y adquieren potencial mitótico. Comienzan a expresarse receptores para FSH en las células de la granulosa, lo que se atribuye a una acción autocrina/paracrina de la activina producida por la propia granulosa; el oocito experimenta un gran aumento de tamaño (supera las 100  $\mu\text{m}$ ) que parece mediado, al menos en parte, por el ligando de *kit* derivado de la granulosa, y un proceso de reactivación genómica. Se expresan nuevas proteínas, como ZP1/ZP2/ZP3 (forman zona pelúcida), GDF-9 (*growth differentiation factor-9*, que estimula proliferación a nivel de granulosa, teca y folículos preantrales) y BMP-15 (*bone morphogenic protein-15*). Aparecen uniones *gap* entre el oocito y la granulosa (un paso crucial: el crecimiento del oocito/folículo se detiene en los *knockout* de conexina 37), que permitirán el paso de nutrientes y sustancias reguladoras hacia el oocito (cAMP,  $\text{Ca}^{2+}$ , etc.). El oocito retoma su potencial mitótico, aunque éste estará reprimido por el cAMP producido por las células de la granulosa.

Durante la fase de folículo secundario se produce la estratificación de las células de la granulosa (GDF-9, BMP-15) y la diferenciación de células

del estroma ovárico que rodean al folículo, con aparición de las dos capas de la teca, interna y externa. La teca se vasculariza (angiogénesis), lo que permite ahora el acceso de las gonadotropinas al folículo en crecimiento.

El folículo de De Graaf, o folículo antral, se caracteriza por la aparición de una cavidad (antro folicular). El líquido folicular que lo rellena es un exudado plasmático, modificado por la presencia de productos de secreción aportados por el oocito y por las células de la granulosa. Es el medio en el que residen el folículo y las células de la granulosa, y a través del cual las moléculas reguladoras tienen que pasar a uno y otro lado de este microambiente. La aparición de esta cavitación a nivel de uno de los polos del folículo requiere del concurso de dos proteínas expresadas por el propio folículo: el ligando de *kit* derivado de la granulosa y la conexina 37 del oocito. La ausencia de cualquiera de estas dos proteínas bloquea el desarrollo de folículos antrales con la consiguiente infertilidad. Los folículos antrales se clasifican arbitrariamente en cuatro estadios de maduración: pequeño (01-06 mm), mediano (07-11 mm), grande (12-17mm) y preovulatorio (18-23 mm). El tamaño del folículo antral está determinado por la expansión del líquido folicular (que aumenta 350 veces, desde 20 ml a 7 ml) y por la proliferación de las células de la granulosa y de la teca (cuyo número aumenta en un factor de hasta 100).

Las células que integran el folículo antral se organizan espacialmente de una forma característica. Las células de la teca forman la capa más exterior, y se subdividen en dos poblaciones: teca externa, integrada por células musculares lisas inervadas por el sistema nervioso autónomo y de significación biológica poco conocida, y teca interna, integrada por células epitelioides que muestran la ultraestructura típica de las células esteroideogénicas. Están dotadas de receptores para LH e insulina, produciendo en respuesta a la estimulación cantidades elevadas de andrógenos, principalmente androstenediona, y disponen de una rica irrigación capilar.

Las células de la granulosa se organizan en cuatro subtipos: las células granulosas de la membrana, las periantrales, las del *cumulus oophorus* y las de la corona *radiata*. Todas ellas expresan receptores para FSH

durante el desarrollo del folículo antral, pero no son funcionalmente equivalentes: solo las células granulosas de la membrana tienen capacidad para expresar P450 aromatasa y receptor de LH. Esta organización espacial-funcional parece estar controlada por el establecimiento de un gradiente de morfógenos que se origina en el oocito, algunos de los cuales han sido identificados, como GDF-9 y BMP-15.

Al final de la fase luteínica del ciclo menstrual, uno de los miembros de la cohorte de folículos antrales es “seleccionado” y pasa a ser el folículo dominante. En este folículo la capacidad proliferativa de las células de la granulosa y de la teca se mantiene elevada de manera que crece con rapidez, en tanto que disminuye en el resto de los folículos antrales. El mecanismo subyacente al proceso de selección folicular no se conoce bien. Aunque sabemos que la captación de FSH hacia el líquido folicular por parte del folículo dominante es un paso crucial, los mecanismos que determinan que un único folículo adquiera esta capacidad para “secuestrar” FSH siguen siendo uno de los grandes problemas no resueltos de la fisiología de la reproducción.

### **Acción de la FSH sobre las células de la granulosa**

La FSH desempeña un papel crucial en la selección y el desarrollo del folículo dominante al controlar la expresión genética en las células de la granulosa, induciendo:

- la estimulación mitótica de las mismas (que pasan de ser aproximadamente  $1 \times 10^6$  en el momento de la selección a más de  $50 \times 10^6$  en el estadio preovulatorio)
- la expresión de P450 aromatasa, crucial para que el folículo adquiera su potencial estrogénico, al permitir la conversión de la androstenediona producida por la teca en estradiol
- la adquisición de la capacidad enzimática precisa para la luteinización (que permanece sin embargo reprimida por factores inhibidores derivados del oocito hasta que la ovulación es inminente)

- la expresión de receptores de LH (también reprimida por el oocito hasta el inicio del estadio preovulatorio).

### **Acción de la LH sobre las células de la teca**

La LH no es esencial para la selección, pero es muy importante en la regulación del folículo dominante al estimular la síntesis de androstenediona. Aproximadamente cuando se inicia la formación del antro folicular, las células de la teca sufren un proceso de diferenciación, expresando genes para el receptor de LH, el receptor de insulina, receptores de HDL y LDL y diferentes genes implicados en la síntesis de andrógenos a partir de colesterol. En virtud de estas modificaciones, las células de la teca interna de todos los folículos antrales, dominantes o no, adquieren la capacidad para producir androstenediona. Otros ligandos y factores de crecimiento han sido implicados en el proceso de citodiferenciación de las células de la teca interna inducido por la acción de la LH, aunque su papel fisiológico concreto no ha sido todavía establecido con claridad salvo en el caso de la insulina, que además de actuar sinérgicamente con la LH, puede también inducir por sí misma la producción de androstenediona (de hecho, la hiperinsulinemia induce hiperandrogenismo en algunas mujeres). La HDL y la LDL potencian también la acción de la LH sobre las células de la teca interna; la HDL es el estímulo más potente conocido para la producción de andrógenos por la teca.

### **Esteroidogénesis**

El folículo dominante produce estradiol mediante el denominado mecanismo de las dos células/dos gonadotropinas. En esencia, la acción de la LH sobre las células de la teca interna determina un aumento de la síntesis y secreción de androstenediona. Este andrógeno difunde hacia el líquido folicular, donde alcanza concentraciones muy elevadas. Las células de la granulosa, que en respuesta a la estimulación por FSH expresan P450 aromatasa, captan la androstenediona producida por las células de la teca interna y la aromatizan a estrona, que se convierte posteriormente,

por acción de la 17 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa, a estradiol que se secretará al torrente sanguíneo.

## **OVULACIÓN**

En torno al día 15 de cada ciclo ovárico normal, el folículo preovulatorio libera hacia el oviducto un oocito maduro rodeado por las células del *cumulus ooforus*. Para que se produzca la ovulación es necesaria la acción conjunta de los picos preovulatorios de LH y FSH. La LH induce la maduración meiótica del oocito y la formación del estigma (punto de ruptura de la pared folicular). La maduración meiótica, inhibida hasta ahora por la presencia de elevadas concentraciones de cAMP en el oocito, se reinicia una vez que los picos preovulatorios de LH y FSH provoquen una disminución de los niveles de cAMP, probablemente en parte como consecuencia de un fenómeno de *down-regulation* de receptores de LH y FSH en las células de la granulosa. La formación del estigma en la pared folicular se inicia una vez que el pico preovulatorio de LH dispara la producción de progesterona (PG) y prostaglandinas en el folículo preovulatorio. La hipótesis que se baraja es que el pico de LH induciría la expresión de progesterona y receptores de progesterona en la granulosa. La activación del receptor de progesterona, a su vez, induciría la expresión de COX-2 y la formación de prostaglandinas, que desencadenarían la liberación de enzimas proteolíticos, degradando la pared folicular para permitir la ovulación (los ratones *knockout* de receptor de progesterona o de COX-2 son infértiles ya que no se forma el estigma, lo que bloquea la expulsión del oocito maduro hacia los oviductos). Por su parte, la FSH induce la mucificación y expansión de las células del *cumulus*, un proceso que es también indispensable para la fertilización.

## **LUTEINIZACIÓN**

Tras la ovulación, las células foliculares sufren una transformación que da lugar al cuerpo lúteo, una glándula endocrina especializada en la

secreción de grandes cantidades de estrógenos y progesterona durante la primera semana de la fase luteínica del ciclo. Estas hormonas son formadas en las células de la granulosa luteinizadas, a partir de la androstenediona sintetizada por las células de la teca luteinizadas (la síntesis de estradiol por el cuerpo lúteo se realiza también mediante el mecanismo de las dos células/dos gonadotropinas).

Si no se produce la implantación, el cuerpo lúteo comienza a degenerar a los 8 días de la ovulación (luteolisis), dando lugar al *corpus albicans*, un nódulo blanquecino de tejido conectivo. Las señales implicadas en la interrupción de la producción de esteroides por el cuerpo lúteo en regresión, y en la potenciación de la apoptosis en el mismo no se han caracterizado aún de forma completa.

## **REGULACIÓN DEL EJE HHO: CICLO OVÁRICO**

Denominamos ciclo ovárico a los cambios hormonales, ováricos y endometriales que se producen cíclicamente en respuesta a señales hormonales generadas a nivel hipotalámico, hipofisario y ovárico. El esquema general de regulación de este eje es, en líneas generales, similar al del eje HHT, aunque existen tres diferencias fundamentales:

- mientras que la actividad testicular es en esencia continua durante la vida fértil, la actividad ovárica se organiza de forma cíclica, con producción de un único gameto maduro en cada ciclo ovárico, acompañada de modificaciones sustanciales a nivel endometrial en preparación de una eventual implantación del óvulo fertilizado.
- en el eje HHT la acción de los esteroides gonadales sobre la secreción de gonadotropinas hipofisarias es siempre negativa. En el eje HHO, en cambio, dependiendo de la dosis, de la evolución temporal de los niveles y del estado hormonal previo, los estrógenos pueden tanto inhibir (realimentación negativa) como estimular (realimentación positiva) la secreción de GnRH. Así, durante la fase preovulatoria se instaura un fenómeno transitorio de realimentación positiva, con potenciación de la secreción de LH por los elevados



niveles de estrógenos. La realimentación negativa por estrógenos no se ejerce directamente sobre las neuronas productoras de GnRH (que no expresan receptores de estrógenos) sino sobre otros grupos neuronales que a su vez proyectan sobre el gonadostato. La progesterona puede también igualmente estimular o inhibir la secreción de GnRH en función del contexto hormonal en un momento dado, pero sus efectos sobre la hipófisis son poco importantes.

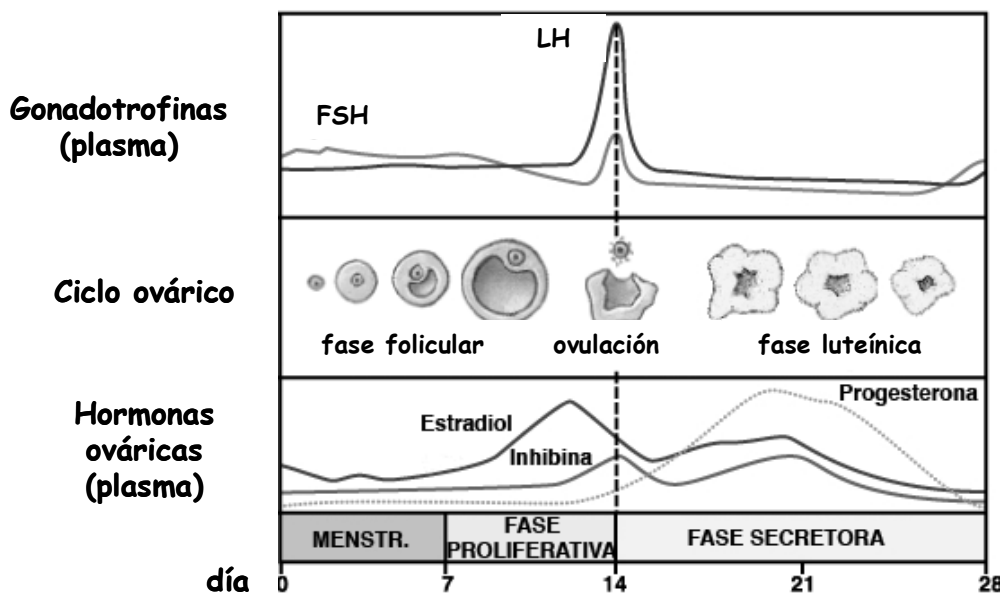
- el alto coste metabólico que supone la reproducción para la hembra en los mamíferos hace que sea necesario un mecanismo que asegure que las reservas energéticas almacenadas sean suficientes para que la gestación no comprometa la supervivencia materna ni la viabilidad del feto. Por esta razón, se establece un lazo de realimentación en la hembra entre las reservas energéticas y el gonadostato hipotalámico. Solo cuando el nivel de reservas supera un mínimo, se puede poner en marcha la actividad del eje HHO.

El ciclo ovárico se divide en dos fases, la fase folicular (o proliferativa) y la fase luteínica (o secretoria), cada una de ellas de unas dos semanas de duración, y separadas por el fenómeno de la ovulación. Los cambios hormonales que se producen a lo largo del ciclo son complejos, pero pueden resumirse en la siguiente secuencia de acontecimientos (figura 12.3):

- fin de la fase luteínica: la caída de la inhibina que se produce tras la ovulación determina un aumento de los niveles de FSH.
- fase folicular temprana: el aumento de la FSH inicia el reclutamiento de folículos.
- fase folicular media: como consecuencia del reclutamiento folicular se inicia el ascenso de los niveles de estrógenos, que determinan una caída progresiva de la FSH. El folículo dominante se desarrolla y aumenta la producción de estrógenos.
- fase folicular tardía: el aumento de estrógenos, en presencia de FSH, induce la expresión de receptores de LH en la granulosa. Comienza la producción de progesterona. Esta progesterona actúa sobre la

hipófisis “primada” por estrógenos induciendo un aumento de LH. El aumento de LH potencia la síntesis de andrógenos en la teca, lo que resulta en un aumento de la producción de estrógenos por la granulosa.

- fase periovulatoria: el aumento de los niveles de estrógenos (se alcanzan valores superiores a 200 pg/l durante 48-50 h) instaaura un mecanismo de realimentación positiva (como hemos mencionado, exclusivo de las hembras de mamíferos), lo que dispara los niveles de LH. El aumento de LH determina luteinización de la granulosa y aumenta aún más la progesterona. El aumento de progesterona causa el pico de FSH.
- ovulación, seguida de una caída brusca de los niveles de estrógenos por desensibilización de los receptores de LH (inducida por el propio pico de LH) y también como consecuencia de la inhibición de su síntesis por la progesterona.



**Figura 12.3.** Principales modificaciones hormonales durante el ciclo ovárico

- fase luteínica inicial: caen los niveles de LH por desaparición del feedback positivo (caída estrógenos) y por el propio agotamiento de la reserva hipofisaria de LH. Se forma el cuerpo lúteo y aumentan los niveles de progesterona.
- fase luteínica media: máxima actividad del cuerpo lúteo, concentraciones máximas de progesterona y nuevo aumento de los niveles de estrógenos.
- fase luteínica tardía: regresión funcional del cuerpo lúteo y disminución de los niveles de progesterona, estrógenos e inhibina.

### **Regulación del eje HHO: papel de las reservas energéticas**

En los mamíferos, la fertilidad está estrechamente ligada a la existencia de unos niveles mínimos de reservas adiposas (ver capítulo). Este fenómeno se ha interpretado clásicamente asumiendo la existencia de una señal permisiva producida por el tejido adiposo, y es bien conocido que la edad de la menarquía se correlaciona de manera más estrecha con el peso corporal total que con la edad cronológica (hipótesis del peso crítico). Esta señal permisiva actuaría informando al hipotálamo de que las reservas energéticas son suficientes para garantizar la gestación y la lactancia, dos situaciones enormemente gravosas para las reservas energéticas en las hembras de mamíferos. Durante la última década se han acumulado datos experimentales que demuestran que la leptina, una hormona producida por el tejido adiposo, sería la señal permisiva implícita en la hipótesis del peso crítico. Así, los ratones *ob/ob*, que no expresan leptina funcional, no alcanzan la madurez sexual y permanecen toda su vida adulta en un estadio prepuberal a menos que se les administre leptina exógena. El patrón de secreción de gonadotropinas en pacientes con anorexia nerviosa o en mujeres con amenorrea inducida por el ejercicio (con niveles de grasa corporal total excesivamente bajos y leptina circulante claramente disminuida) es de tipo prepuberal, con pérdida de la pulsatilidad de LH, y revierte a la normalidad una vez que se recuperan unos niveles mínimos de grasa corporal. Se han identificado receptores de leptina a nivel hipotalámico y en la hipófisis, así como en tejidos

reproductores periféricos, como el ovario, el útero y el testículo. La administración intracerebroventricular de anticuerpos antileptina suprime la pulsatilidad de LH en la rata y la administración de leptina previene la disminución de la pulsatilidad de LH que se produce durante el ayuno en roedores y primates.

Además de los datos que sugieren que la leptina ejerce un papel facilitador sobre la funcionalidad del eje hipotálamo-hipófiso-gonadal, especialmente en la hembra, se ha descrito también un papel regulador de los esteroides gonadales sobre la secreción de leptina por el tejido adiposo. Sorprendentemente, esta regulación muestra un acusado dimorfismo sexual (figura 12.4): en la mujer, la secreción basal de leptina por tejido adiposo *in vitro* es elevada, y esta secreción es potenciada por estrógenos e inhibida por andrógenos; en el hombre, por el contrario, este eje regulador parece no ser operativo, con secreción basal de leptina baja *in vitro*, que no se ve modificada ni por andrógenos ni por estrógenos. No se han identificado los mecanismos responsables de esta sensibilidad diferencial del tejido adiposo a esteroides gonadales, aunque la existencia de la misma podría explicar el marcado dimorfismo sexual que muestran los niveles de leptina en mamíferos, con niveles más elevados en la hembra que en el macho, incluso después de corregir las diferencias en la grasa corporal total.

## BIBLIOGRAFÍA

- Armstrong DG, Webb R** 1997 Ovarian follicular dominance: the role of intraovarian growth factors and novel proteins. *Rev Reprod* 2:139.
- Baldelli R, Diéguez C, Casanueva FF** 2002 The role of leptin in reproduction: experimental and clinical aspects. *Ann Med* 34:5.
- Casabiell X, Piñeiro V, Vega F, De la Cruz LF, Diéguez C, Casanueva FF** 2001 Leptin, reproduction and sex steroids. *Pituitary* 4:93.
- Karsch FJ** 1987 Central actions of ovarian steroids in the feedback regulation of pulsatile secretion of luteinizing hormone. *Ann Rev Physiol* 49:365.
- Larsen PR, Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS** 2002 *Williams Textbook of Endocrinology* (10<sup>th</sup> Ed.). Saunders.
- Leung PCK, Armstrong DT** 1980 Interactions of steroids and gonadotropins in the control of steroidogenesis in the ovarian follicle. *Ann Rev Physiol*. 42:71.
- Tresguerres JAF** 1989 *Fisiología Endocrina*. EUDEMA, Madrid.
- Woodruff TK, Mather JP** 1995 Inhibin, activin and the female reproductive axis. *Ann Rev Physiol* 57:219.