



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

EVALUACIÓN HORMONAL Y RITMO DEL CICLO ESTRAL EN EL
SÍNDROME METABÓLICO INDUCIDO POR UNA DIETA HIPERGLÚCIDA.

Tesis

que para obtener el título de

LICENCIADA EN BIOLOGÍA

PRESENTA:

ALEJANDRA VELÁZQUEZ MARTÍNEZ

DIRECTORA: D. en C. BERENICE VENEGAS MENESES

CO-DIRECTOR: D. en C. MIGUEL ÁNGEL JORGE GUEVARA FONSECA

PUEBLA, PUE., 18 DE OCTUBRE DE 2024



Índice

Resumen	3
Marco teórico	4
Ovarios	4
<i>Foliculogénesis</i>	6
<i>Ovulación</i>	17
Ciclo estral.....	20
Síndrome metabólico.....	24
Objetivos.....	34
Hipótesis	34
Pregunta de investigación	35
Justificación	35
Métodos.....	37
Animales de experimentación	37
Monitoreo del ciclo estral.....	38
Prueba de tolerancia oral a la glucosa	39
Sacrificio	39
Manejo de órganos	39
Análisis bioquímico en suero sanguíneo.....	39
Análisis estadístico	40
Resultados	41
Discusión.....	52
Conclusiones.....	57
Referencias	58

Resumen

El síndrome metabólico representa un importante factor de riesgo para desarrollar diabetes tipo 2 (DT2), enfermedad cardiovascular y problemas de disfunción ovárica como lo es el síndrome de ovario poliquístico (SOP). El presente trabajo analizó los efectos de una dieta hiperglúcida sobre las funciones ováricas en la rata adulta. Se utilizaron doce ratas hembra de la cepa Long-Evans durante 90 días posteriores al destete, las cuales se dividieron en dos grupos experimentales: el primero fue alimentado con una dieta normocalórica y el otro con una dieta hiperglúcida para inducir el síndrome metabólico.

Una vez presentada la apertura vaginal en los animales, se les realizó la citología vaginal diariamente y a partir de los 110 días postnatal se iniciaron los sacrificios cuando las ratas presentaron un estro vaginal. Previo al sacrificio, a las ratas se les administró glucosa por vía oral y se les tomó una muestra de sangre intracardiaca cada 30 minutos hasta los 90 minutos bajo anestesia, al finalizar se recolectó la sangre troncal para realizar análisis de bioquímica en suero sanguíneo y perfil hormonal.

Los resultados mostraron diferencias significativas en la concentración de lípidos, el índice HOMA y en la concentración sanguínea de estradiol y testosterona del grupo experimental con respecto al grupo control, lo que derivó en una desregulación del ciclo estral comprobada con los frotis vaginales. Estos resultados coinciden con los signos reportados en anteriores estudios sobre la comorbilidad del SM con las funciones reproductivas en mujeres, encontrando a la dieta hiperglúcida como un factor desencadenante indirecto de los problemas de disfunción ovárica.

Marco teórico

Ovarios

Los ovarios son un par de órganos del aparato reproductor femenino ubicados en la cavidad pélvica, uno a cada lado de un cuerno uterino (Fig. 1), cuyas dos principales funciones son la ovogénesis y la esteroidogénesis. El ovario (Fig. 2) está compuesto por una médula al centro de éste en donde se depositan un conjunto de vasos sanguíneos, tejido conjuntivo laxo, vasos linfáticos y nervios; también existe una región cortical que rodea a la región medular nombrada como corteza, la cual está compuesta por un epitelio superficial en donde se depositan una banda de tejido conjuntivo, la túnica albugínea y una zona interna que contiene los folículos ováricos rodeados por un estroma sensible a las hormonas hipofisiarias y ováricas (Of journal “Morphologia”, 2019).

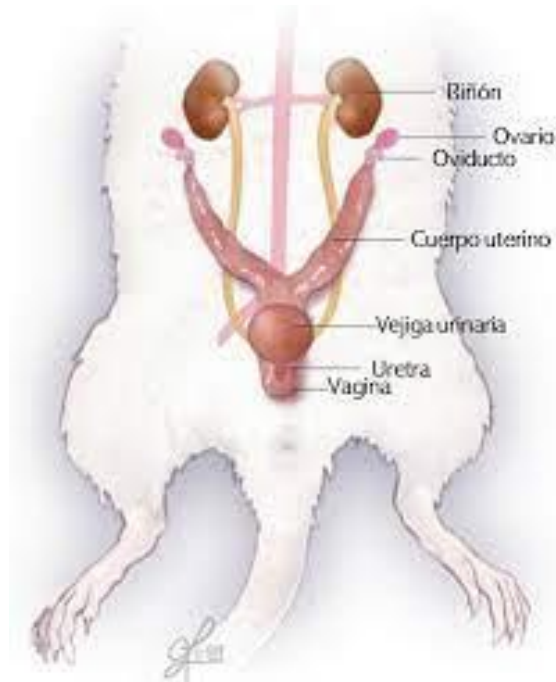


Figura 1. Morfología del aparato reproductor de la ratona hembra. Tomado de Castillo, L., 2020

La maduración ovárica en las ratas ocurre alrededor de los 42 días postnatal (DPN). En esa etapa el oviducto presenta aperturas en sus extremos proximal y distal hacia el ovario y al respectivo útero bicornue. El oviducto se encuentra rodeado por el mesenterio del oviducto, formando la bolsa ovárica. Aunque los cuernos uterinos parecen estar fusionados distalmente, hay dos cuernos uterinos distintos que se abren hacia la vagina. Cada cuerno uterino tiene un *ostium* provisional y externo, además de un canal cervical. El orificio vaginal se encuentra dorsal a la uretra (Plant et al., 2015).

En la corteza ovárica hay una capa menos vascularizada en donde están los folículos bajo la túnica albugínea y una capa ampliamente vascularizada del borde medular cortical en donde se encuentran los folículos en crecimiento, los folículos atrésicos y los cuerpos lúteos involutivos (Matsuzaki, 2021).

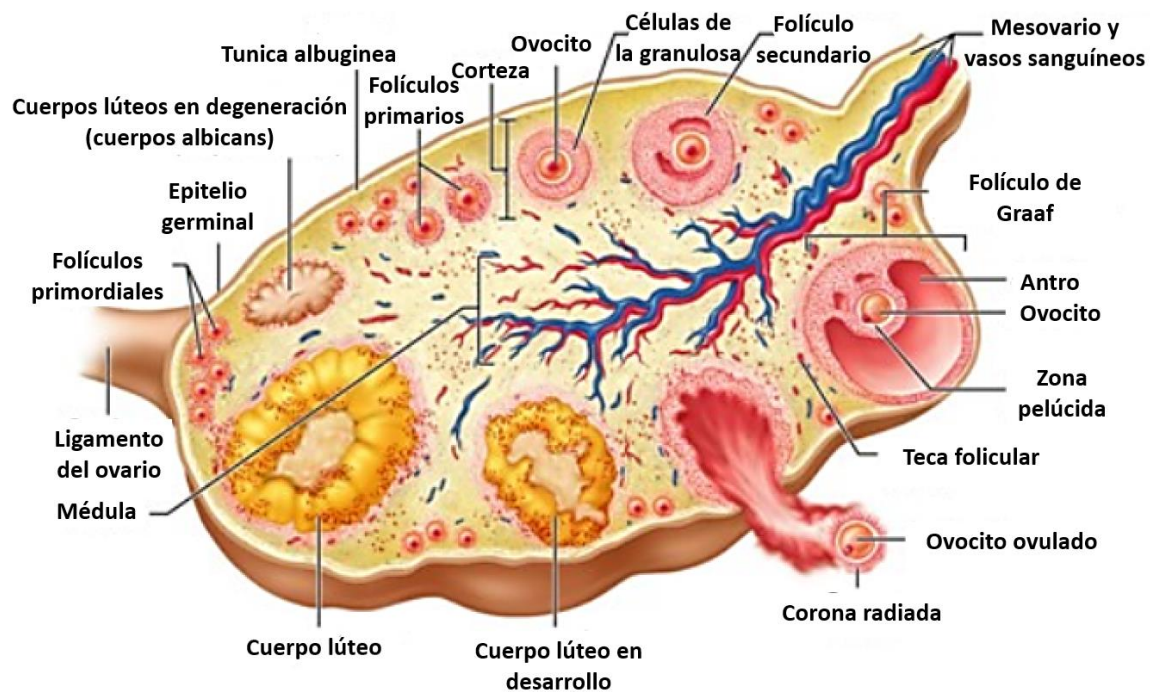


Figura 2 Estructura del ovario. Tomado de Benjamin Cummings for Human Anatomy & Physiology 7^o EDITION. 2006 y modificado al español.

La principal función de los ovarios es la producción de ovocitos. En las ratas se ha observado la ovulación de múltiples ovocitos por ovario (Fig. 3) y que, durante la ovulación, el ovario

izquierdo produce una media de seis óvulos, mientras que el derecho produce solamente cuatro, aunque actualmente se acepta que no existe una diferencia significativa entre la actividad de ambos ovarios y que la tasa de gestación es similar tanto si la ovulación ocurre en el ovario izquierdo como en el derecho (Carrasco García et al., 2008).

Otra de las funciones de los ovarios es la de producir hormonas esteroideas como los andrógenos dehidroepiandrosterona (DHEA), la androstenediona (AD) y la testosterona (T); igualmente encontramos estrógenos como el estradiol (E2), el estriol (E3) y la estrona (E1); y progestágenos como la progesterona (P4) (Sanchez-Garrido & Tena-Sempere, 2020).

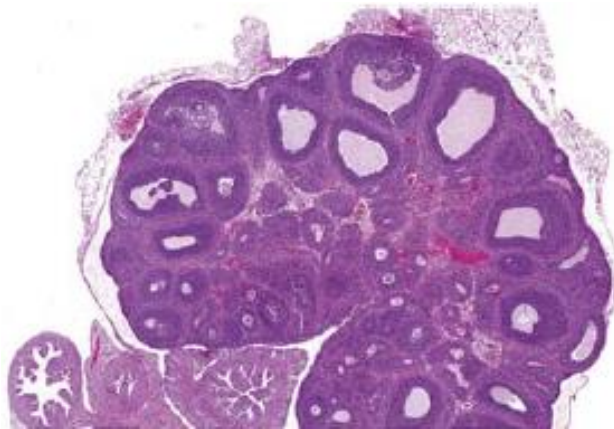


Figura 3 Ovario de rata en primer proestro a 34 DPN. El ovario muestra múltiples folículos antrales grandes que están listos para ovular y carece de atresia folicular. Tomado de The laboratory rat, 2020.

Foliculogénesis

La foliculogénesis en la rata se inicia neonatalmente y se caracteriza por la rápida formación de folículos entre las 24 y 72 horas después del nacimiento (Fig. 4). Si bien a las 24 horas los folículos son casi imperceptibles, las 36 horas casi 500 folículos se están desarrollando, y este número se duplica durante las 12 horas siguientes. Estos folículos están compuestos por un ovocito y una capa de células pre-granulosas aplanadas que lo rodean y constituye el primer estadio del desarrollo folicular. (Leung & Adashi, 2003).

Al inicio de la pubertad el ovocito comienza a cambiar de tamaño, las células foliculares del estroma se tornan cúbicas y al folículo se le denomina folículo primario. A medida que crece, el ovocito secreta proteínas específicas que se ensamblan en una zona extracelular denominada zona pelúcida, quien a través de la proliferación de sus células origina un epitelio estratificado conocido como células de la granulosa, quienes se encargan de formar una vaina de células conjuntivas conocidas como teca folicular, lo que concluye en la formación de una lámina basal situada en medio de las células foliculares y las células del estroma (Richards, 2018).

Cuando la capa de la granulosa alcanza 12 estratos celulares, comienza la formación de una cavidad llamada antro que contiene hialuronato líquido en su interior, alcanzando así la fase de folículo secundario, donde el ovocito deja de crecer. El tiempo estimado para que un folículo en desarrollo alcance la fase de folículo secundario puede ser de hasta 30 días (McGee & Hsueh, 2000).

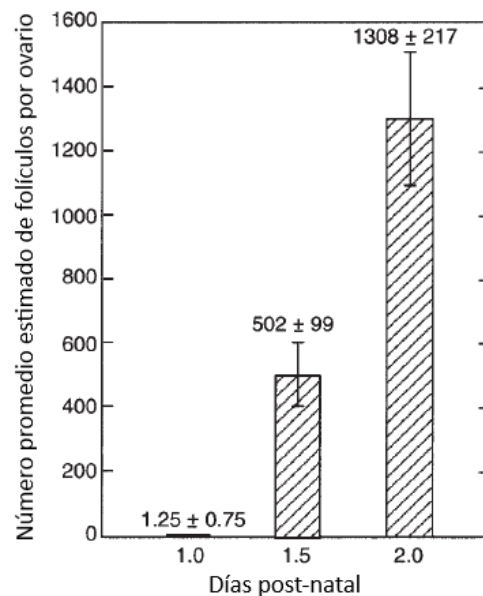


Figura 4 Desarrollo de folículos primordiales en el ovario de rata neonatal. Las columnas representan valores medios. Las líneas verticales indican errores estándar de las medias. $n = 4$ para cada columna. Tomado de Malamed, S., Gibney, J. A.,

and Ojeda, S. R. (1992). Ovarian innervation develops before initiation of folliculogenesis in the rat. Cell Tissue Res. 270, 87–93.

Las células de la granulosa constituyen un cúmulo oófero que se proyecta hacia el interior del antro, mientras que las células del cúmulo que rodean inmediatamente el ovocito y permanecen con él en la ovulación conforman la corona radiante o radiada. Durante la maduración folicular la cantidad de microvellosidades en la superficie de las células de la granulosa aumenta y se relaciona con el aumento de los receptores de hormona luteinizante (LH) en la superficie antral libre. El ovocito queda detenido en la metafase de la segunda división meiótica y solo se completa después de la ovulación si es fecundado por un espermatozoide (Coticchio et al., 2014). Cuando el folículo preovulatorio alcanza su máximo volumen, la capa de la granulosa se torna más fina, entonces el ovocito y las células del cúmulo se separan progresivamente del resto de la capa granulosa como premisa de la ovulación (Richards, 2018).

Esteroidogénesis

Las hormonas esteroides están comprendidas por cinco grupos de hormonas: los glucocorticoides, los mineralocorticoides, los progestágenos, los andrógenos y los estrógenos (Mathews, 2013). Estos tres últimos pueden ser sintetizados durante los eventos de la esteroidogénesis ovárica.

Tomando al colesterol como sustrato, las células del cuerpo lúteo resultante de la ovulación se encargan de la producción de progestágenos como la P4 bajo la influencia de la LH (Fig. 5) con la finalidad de preparar al endometrio para la implantación en caso de que ocurra la fecundación (Nagy et al., 2021).

Es importante mencionar que la traslocación del colesterol hacia la membrana interna mitocondrial está regulada por la proteína reguladora aguda esteroidogénica STARD1 (o también conocida como StAR) (Miller & Strauss, 1999). La expresión de StAR está controlada por un mecanismo que implica la unión de la LH a su receptor (LHCGR). Este receptor es

acoplado a proteína G en las células de la teca del ovario y la estimulación de la enzima adenilato ciclasa que cataliza la producción de AMPc a partir de ATP. El AMPc producido activa la proteína quinasa A, que cataliza la fosforilación de la proteína de unión al elemento de respuesta del AMPc (CREB), lo que produce la activación de la transcripción de StAR y otros factores asociados con la producción de hormonas esteroides (Fuentes & Silveyra, 2019).

La P4 entonces es sintetizada mediante dos reacciones enzimáticas: la conversión del colesterol en pregnenolona en la membrana mitocondrial interna por acción de la enzima de escisión de la cadena lateral del colesterol (abreviada como P450_{scc}) y la conversión de la pregnenolona en P4 por acción de la enzima 3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (abreviada como 3β-HSD) (Sundström-Poromaa et al., 2020).

La adrenodoxina es una proteína de hierro y azufre que transfiere electrones a los citocromos mitocondriales de P450 durante la síntesis de hormonas esteroides. Hay una expresión moderada del ARNm de adrenodoxina en las células de la teca al comienzo de la ovulación, pero se acrecienta principalmente en las células de la granulosa a medida que comienzan a sintetizar P4 (Leung & Adashi, 2003).

La síntesis de progestágenos resultan en diversas hormonas, pero tanto la 17α-hidroxi-progesterona como la 17α-hidroxi-pregnenolona pueden ser utilizadas como sustrato para comenzar la síntesis de andrógenos (Cussen et al., 2022a) tales como la DHEA producida por las células de la glomerulosa (Gallo-Payet & Battista, 2014), así como la AD y la T que se produce en los ovarios, las adrenales y otros tejidos como la piel (Bienenfeld et al., 2019).

Además, los ovarios son los principales órganos encargados de la síntesis de estrógenos, pero también son sintetizados por las glándulas adrenales y el tejido adiposo (Xiao et al., 2023). El E2 es el estrógeno circulante con mayor predominancia y es secretado principalmente por las células de la granulosa de los folículos ováricos y los cuerpos lúteos tomando al andrógeno AD como sustrato por la enzima aromatasa para dar lugar al estrógeno E1, el cual será nuevamente intervenida por la 17β-hidroxiesteroide

(Riquelme et al., 2019). La inervación extrínseca del ovario está conformada por nervios simpáticos y sensoriales, además de una agrupación pequeña de nervios parasimpáticos cuyo origen reside en la médula espinal, que al hacer sinapsis con las neuronas del complejo ganglio celiaco-mesentérico superior, se originan los somas del nervio ovárico superior (SON) y el nervio del plexo ovárico (OPN) (Ramírez, 2016). Los nervios extrínsecos arriban al ovario mediante dos rutas principales: el OPN que viaja a través de la arteria ovárica, y el SON que está asociado al ligamento suspensorio del ovario. Es así que las eferencias en la médula inervan elementos tales como la vasculatura, el tejido intersticial y los folículos en diversos grados de desarrollo (Gerendai et al., 2005).

Por otro lado, la inervación intrínseca surge de neuronas del interior del ovario, pues ocasionalmente las neuronas tanto de la corteza como de la médula se agrupan en ganglios, siendo los ganglios medulares los que se observan con más frecuencia (Leung & Adashi, 2003).

Se ha reportado una implicación de neurotransmisores contenidos en los nervios ováricos, como son la noradrenalina (NA) y el péptido intestinal vasoactivo (VIP), en el control de la esteroidogénesis folicular y sugiriendo la participación facilitadora de la inervación simpática en el desarrollo folicular (Gerendai et al., 2005).

El hallazgo de neurotrofinas (NT) develó la presencia de un complejo neurotrófico ligado a la inervación durante el desarrollo folicular. Los folículos primordiales inervados secretan NT, que son proteínas pertenecientes a la familia de los factores de crecimiento y actúan a través de receptores específicos expresados en las fibras inervadoras que también están presentes en las células no neuronales del ovario (Dissen et al., 2009), lo que indica que las NT no sólo apoyan la inervación de la gónada, sino que quizás pueden influir directamente sobre algunas funciones ováricas específicas (Nilsson et al., 2009). Por lo tanto, la inervación ovárica y los factores neurotróficos pueden actuar de manera coordinada pero independiente para controlar diversos aspectos de la fisiología ovárica, como el desarrollo folicular, la producción de esteroides y la ovulación (Meinel et al., 2015).

En la corteza se observaron neuronas ováricas en la región intersticial y sus procesos parecían densamente interconectados entre sí. También se observaron procesos dentro de la capa de células de la teca en los folículos en crecimiento y ocasionalmente parecieron inervar folículos primordiales. Ocasionalmente, las neuronas tanto de la corteza como de la médula se agrupan en ganglios, observándose con mayor frecuencia los ganglios medulares (D'Albora et al., 2002). En los ovarios de las ratas Long Evans CII-ZV, se encontró que las neuronas intrínsecas están ubicadas en la teca folicular, alrededor del cuerpo lúteo, en el estroma ovárico y alrededor de los quistes, lo que apunta hacia una participación activa de estas neuronas en procesos de desarrollo y remodelación de estructuras ováricas (Bravo-Benitez et al., 2022).

Eje Hipotálamo-Adenohipófisis-Ovario

En las hembras de los mamíferos, la maduración y la capacidad reproductiva es regulada por señales hormonales transmitidas entre el hipotálamo, la hipófisis anterior (adenohipófisis) y los ovarios, que funcionan en conjunto como un eje hormonal denominado Hipotálamo-Adenohipófisis-Ovario (Seppä et al., 2021). Más que cualquier otro animal de experimentación, la rata de laboratorio ha sido estudiada para obtener una comprensión fundamental de los mecanismos fisiológicos que gobiernan la ciclicidad ovárica (Tsutsumi & Webster, 2009).

Las neuronas hipotalámicas del área preóptica (POA) del prosencéfalo basal poseen axones que se proyectan hacia la eminencia media donde secretan la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), esta zona recibe irrigación por medio de las arterias hipofisarias superiores (Plant et al., 2015). Posteriormente la sangre con GnRH se drena en las venas portales hipofisarias y se dirige hasta el plexo secundario, donde esta red de capilares sinusoides y fenestrados finalmente irrigan a la adenohipófisis. Esta configuración anatómica facilita el envío eficaz de GnRH (Fig. 6) a la adenohipófisis para estimular a los

gonadotropos por medio del receptor GnRH-I para que estas células liberen gonadotropinas hipofisarias: la hormona folículo estimulante (FSH) y la LH que circulan para regular funciones ováricas tales como la esteroidogénesis, la foliculogénesis y la ovulación (Plant, 2020).

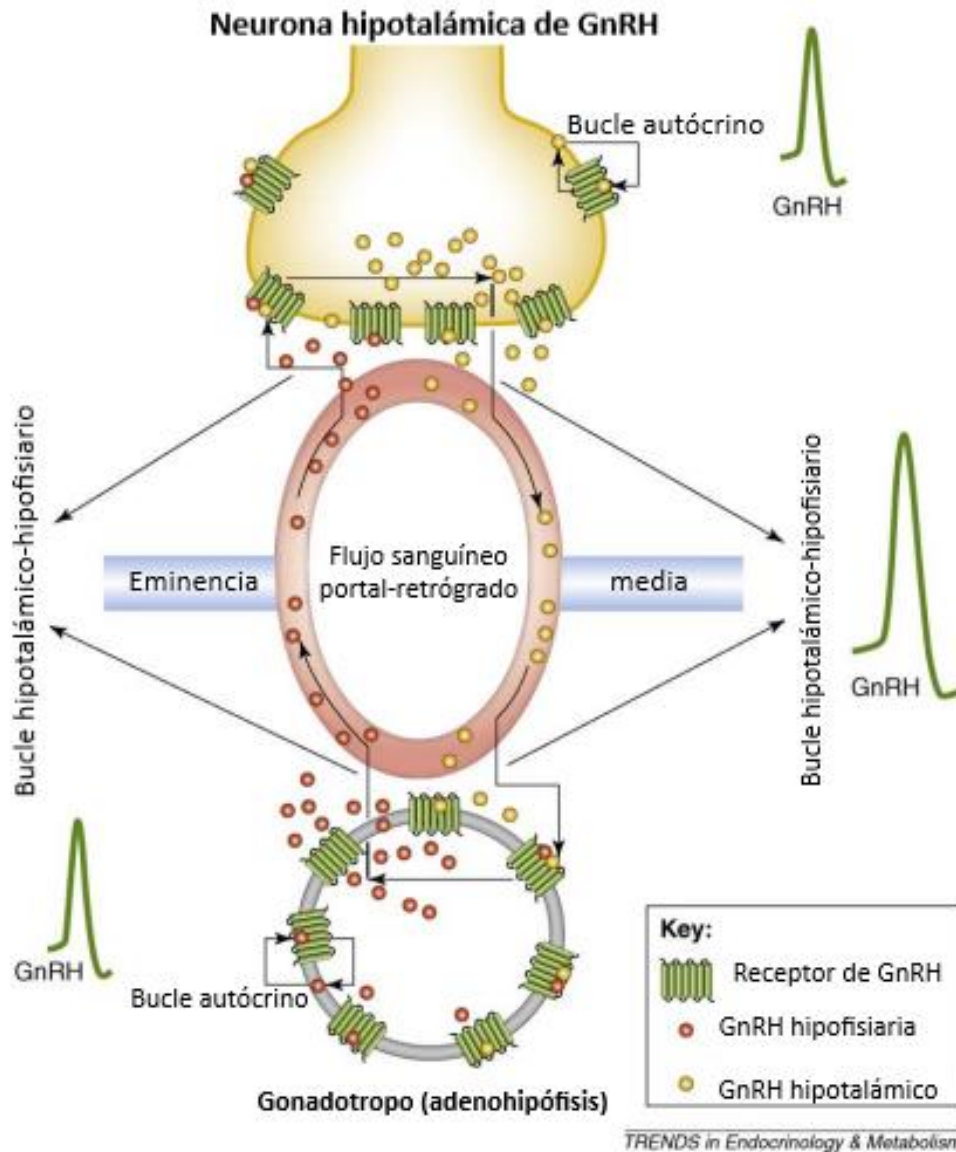


Figura 6 Comunicación de las neuronas GnRH con los gonadotropos de la adenohipófisis. Tomado de *The hypothalamic GnRH pulse generator: multiple regulatory mechanisms* 2009.

Las neuronas GnRH se sintonizan con las gónadas por medio del mecanismo de retroalimentación (positiva y negativa) de esteroides gonadales durante el ciclo ovárico (Fig. 7). Las neuronas GnRH no expresan receptores ER α , sino que las aferencias que expresan ER α transmiten la retroalimentación de E2 a las neuronas de GnRH (Starrett & Moenter, 2023).

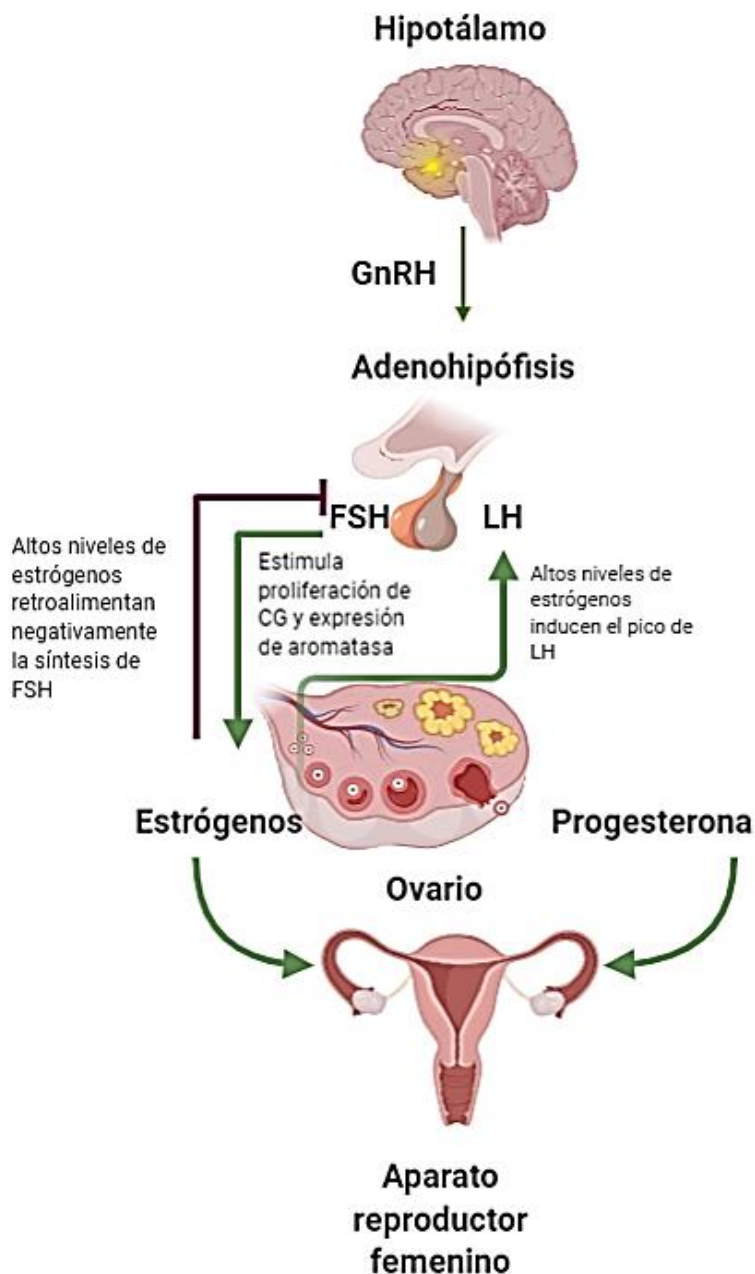


Figura 7: Eje Hipotálamo-Adenohipófisis-Gónadas. Tomado de Herrera, A. A. R., Hernández, V. D., & de Lourdes Saavedra Gómez, M. (s/f). UAPA. Ciclo Sexual Femenino. Unam.mx. Recuperado el 7 de septiembre de 2024, de https://repositorio-uapa.cuaieed.unam.mx/repositorio/moodle/pluginfile.php/2480/mod_resource/content/4/UAPA-Ciclo-Sexual-Femenino/index.html

Cuando el ovocito completa su proceso de maduración, las concentraciones de E2 alcanzan sus niveles máximos que actúan indirectamente como una señal para comenzar con la ovulación (Richards, 1980; Zeleznik & Plant, 2015). Son específicamente las neuronas del núcleo Antero-ventral peri-ventricular (AVPV) y las neuronas KNDy del núcleo Arcuato (ARC) del hipotálamo quienes expresan ER α . Durante el mecanismo de retroalimentación positiva por E2 las KNDy liberarán Glutamato (GLU) que excita a las neuronas AVPV quienes por su parte manifiestan un incremento de la acetilación de la histona del promotor de kisspeptina (Kiss1) ante la exposición a los altos niveles de E2, esto resulta en una expresión potenciada de Kiss1 en las neuronas AVPV (Fig. 8). Dicha Kiss1 se acopla al receptor GPR54 en el soma de las neuronas del POA y producen una oleada de GnRH, necesaria para la producción y liberación de LH (Leite et al., 2016).

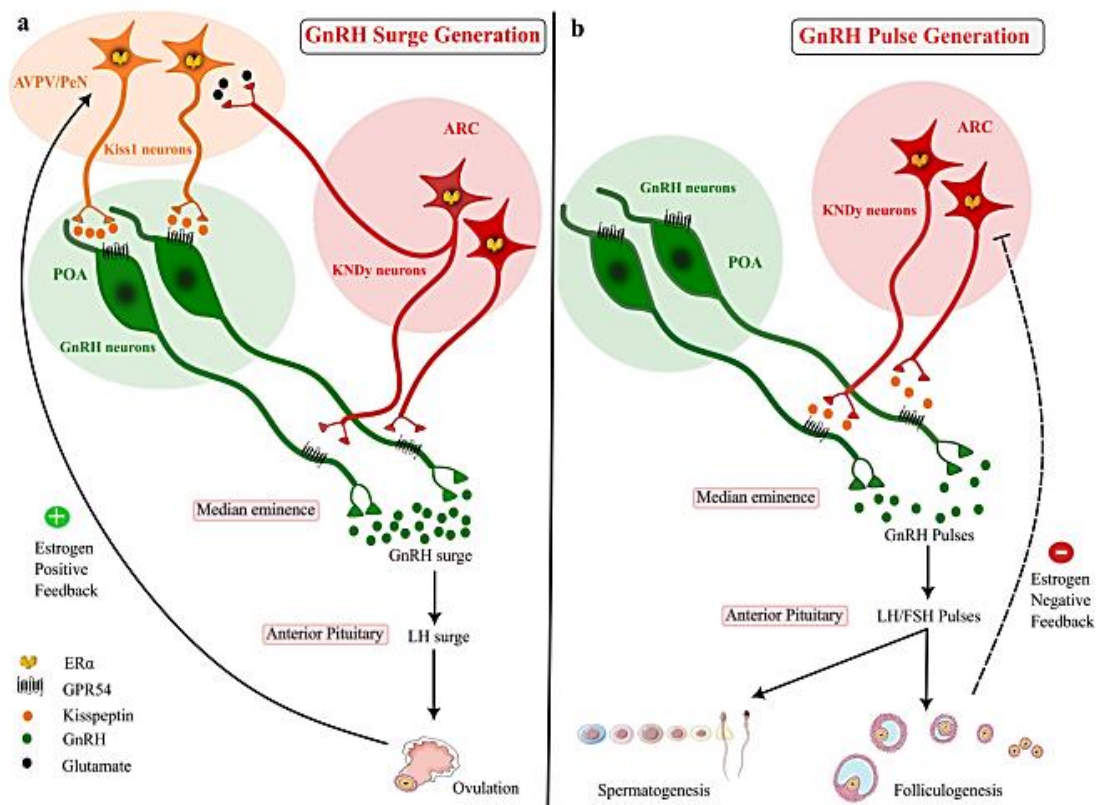


Figura 7 Papel de las neuronas del núcleo AVPV y ARC en la generación del oleaje y el pulso de GnRH. Tomado de Prashar et. al., 2023.

El pico de estradiol (E2) es un indicador del nivel de maduración del folículo preovulatorio, el cual ha desarrollado el nivel máximo de estratos de células de la granulosa y de células de la teca. Ambos tipos celulares sintetizan y liberan P4 durante la maduración del folículo, pero es al alcanzar el estado de folículo preovulatorio que secretan mayores concentraciones de dicho progestágeno, conocido como el pico de P4, que ocurre justo antes de la ovulación.

Una vez producida la ovulación, la concentración de E2 desciende drásticamente y esto da lugar a la retroalimentación negativa, en donde los bajos niveles de estrógeno inducen la desacetilación de la región promotora de Kiss1 de las neuronas KNDy y da como resultado una expresión de Kiss1 disminuida que actúa sobre los axones de GnRH en la eminencia media, generando un pulso de GnRH necesario para la síntesis de FSH (Yeo & Colledge, 2018). Las neuronas KNDy median la retroalimentación esteroide negativa a las neuronas GnRH y producen una liberación episódica de GnRH. Los niveles bajos de E2 provocan cambios en las neuronas KNDy respecto a la transición de la neurotransmisión, pasando de una transmisión glutamatérgica a la transmisión peptidérgica (Prashar et al., 2023).

La P4 comienza su participación como un regulador del eje, en el que disminuirá la producción del pulso de GnRH después de la ovulación. A pesar de que el cuerpo lúteo (formado tras la ovulación) también sintetiza P4, no lo hace en suficientes cantidades para sostener la inhibición de GnRH. Por lo tanto, cuando la fecundación no ocurre, tampoco hay una suficiente producción de P4 ovárico, lo que permite al hipotálamo volver a promover la síntesis de FSH en un nuevo ciclo ovárico (Plant et al., 2015).

Una liberación pulsátil de GnRH conduce a la regulación de la retroalimentación positiva en la adenohipófisis de acuerdo a su frecuencia de secreción pulsátil, con una frecuencia más rápida (1.48 Hz) que favorece la transcripción del gen de la subunidad LH-b y la liberación de LH, y una frecuencia más lenta (0.9 Hz) que favorece la transcripción del gen FSH-b y la liberación de FSH (Krsmanovic et al., 2009).

Ovulación

En las hembras de los mamíferos la ovulación empieza cuando las células de la granulosa y de la teca de los folículos ováricos maduros reciben el oleaje de LH que se une a su receptor, generando una cascada de señalización que modifica en el núcleo la expresión de distintos genes (Medeiros et al., 2021).

El éxito de este proceso requiere que previamente se lleven a cabo algunos cambios estructurales como formar una fisura en la pared del folículo para permitir la liberación del ovocito (Zhu & Fu, 2023). Esta liberación requiere la alteración de las capas celulares de la matriz extracelular (MEC), así como la ruptura de la lámina basal que separa los compartimentos de las células de la granulosa y la teca y la lámina basal en el epitelio de la superficie. De esta manera se debilita la pared del folículo y se genera una abertura en su ápice (Jones et al., 2019). Durante el proceso ovulatorio (Fig. 9) también hay una pérdida de epitelio de la superficie ovárica superficial (OSE) en la región apical del folículo ovulatorio (Duffy et al., 2019).

Aproximadamente 1 a 2 horas antes de la ruptura, las células del epitelio superficial comienzan a desprenderse de la superficie ovárica que recubre el ápice del folículo. El tejido conectivo comienza a fragmentarse y degradarse. La pared del folículo se vuelve más delgada. Los fibroblastos de la túnica albugínea y la teca externa se alargan y parecen transformarse de células inactivas a células móviles (Duffy et al., 2019).

También hay desprendimiento de algunas células de la granulosa hacia el antro folicular. Inmediatamente antes de la ovulación, el epitelio superficial se pierde y se produce la compactación de las capas de los compartimentos celulares de la túnica, la teca y la granulosa (Vigil et al., 2017). Curiosamente, estos cambios dinámicos se limitan a la región apical del folículo ovulatorio. La MEC de la túnica albugínea y la teca se disocia y dispersa y

finalmente desaparece, formando una abertura que conecta el líquido antral y el exterior del ovario (Gershon & Dekel, 2020).

La liberación del ovocito se inicia mediante el aumento de LH. Los primeros en responder son las células de la granulosa y de la teca, que expresan LHCGR (Richards, 2007). Las células de la granulosa y la teca producen citocinas, quimiocinas, prostaglandinas, hormonas esteroideas y otros mediadores autocrinos y paracrinos asociados con la inflamación entre los que encontramos a la Proteína 1 de respuesta al crecimiento temprano (Egr-1), interleucinas, Factor de Necrosis Tumoral- α , Ciclooxygenasa 2 (COX2), entre otros (Leung & Adashi, 2003).

Las proteasas producidas tanto por las células ováricas como por las células inmunitarias debilitan la lámina basal y facilitan la invasión de células endoteliales vasculares y células inmunitarias (Duffy et al., 2019). Los mediadores inflamatorios tradicionales, junto con estímulos específicos del folículo, desencadenan la expansión del cúmulo, la reanudación de la meiosis de los ovocitos y el desprendimiento del complejo de ovocitos en cúmulo de las células de la granulosa basal (García-Sáenz et al., 2022).

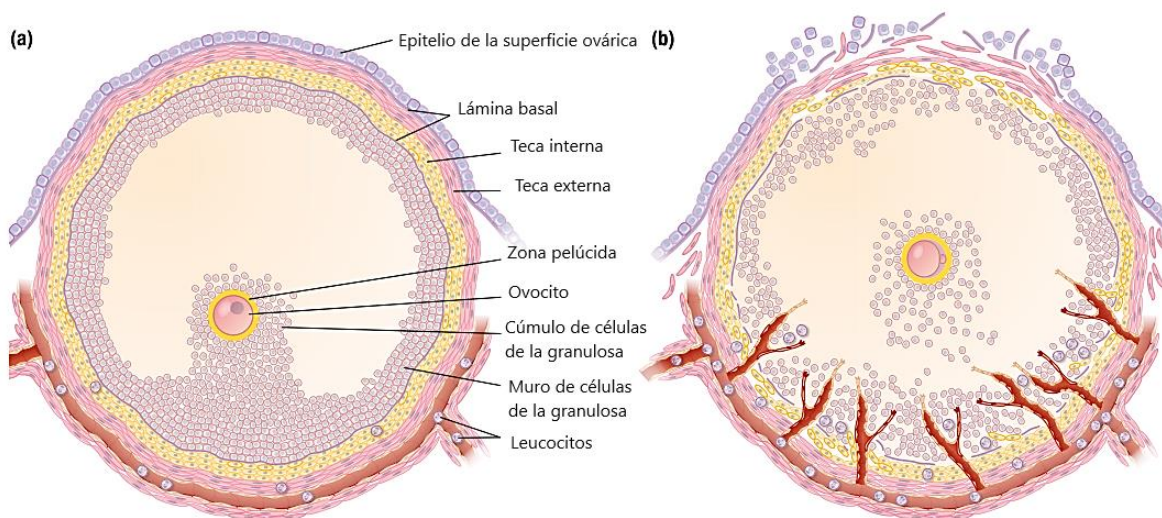


Figura 8. Liberación del ovocito. Tomado de Duffy 2019 y traducido al español.

El ápice del folículo experimenta constricción vascular, descelerización y remodelación extensa de la MEC. El resto del folículo sufre angiogénesis, diferenciación funcional de las células de la granulosa y de la teca, remodelación tisular y contracción. En última instancia, estos cambios funcionales y estructurales culminan en la ruptura y luteinización del resto del folículo simultáneamente (Tamanini & De Ambrogi, 2004).

Las concentraciones de LH que entran en contacto con el ovocito desensibilizan a los receptores de esta hormona en las células de la granulosa y dejan de producir estrógenos y estimula la síntesis de andrógenos (Messinis et al., 2010). Se reanuda la primera división meiótica del ovocito primario después del pico de LH y eso origina la formación del ovocito secundario y el primer cuerpo polar. Las células de la granulosa y de la teca sufren luteinización y producen progesterona (Of journal "Morphologia", 2019).

Luteinización

Algunos autores señalan como el completamiento de un ciclo ovárico a la diferenciación terminal de las células de la granulosa a células lúteas que han de conformar al cuerpo lúteo. Uno de los principales procesos que ocurre durante la formación del cuerpo lúteo en el ovario es la irrigación hacia los folículos ovulados avasculares (Richards et al., 1998).

Durante el ciclo estral de la rata, llegan a estar presentes en el ovario tres o más generaciones de cuerpos lúteos procedentes de los ciclos ováricos anteriores. De acuerdo con las observaciones anatómicas e histoquímicas, el cuerpo lúteo se origina tanto de las células de la granulosa como de las células de la teca. Cada conjunto de cuerpos lúteos persiste entre 12 y 14 días (Plant et al., 2015). En la rata, cada conjunto cíclico de cuerpos lúteos se puede distinguir en función del tamaño, la vascularización y las características de la tinción. Si la hembra experimentó un apareamiento infértil o artificial, el cuerpo lúteo persiste durante 12 a 14 días. Este período se conoce como pseudopreñez y la luteotrofina

liberada por el estímulo de apareamiento es la prolactina hipofisaria (PRL) (Liu et al., 2005) (Kooistra & Okkens, 2001).

Ciclo estral

El ciclo estral es una serie de fases por las que atraviesa el epitelio vaginal como reflejo de los eventos hormonales dados por el eje hipotálamo-adenohipófisis-gónada (Rosser, 1972). También es definido como el intervalo entre dos ovulaciones o como el periodo entre dos etapas de receptividad de las hembras por la cópula y los cambios fisiológicos subsecuentes a este acontecimiento. Tiene una duración estimada en 4 o 5 días con una correlación entre los ciclos circadianos y la fluctuación de hormonas ováricas que estimulan a la red neuronal de GnRH (Suckow et al., 2019).

En 1922, Evans y Long publicaron su estudio del ciclo estral de la rata y la ratona tomando en cuenta la presencia de las hormonas luteinizante y folículo estimulante, demostrando así su interacción con el ovario y el útero (Suckow et al., 2019). Este ciclo se encuentra técnicamente dividido en las fases de estro, metaestro, diestro y proestro; sin embargo, algunos autores dividen los ciclos solamente en proestro, estro y diestro (Goldman et al., 2007), mientras que otros toman en consideración la transición entre una fase y otra. La clasificación de las fases del ciclo estral puede hacerse arbitrariamente dependiendo de la naturaleza del trabajo realizado (Hernández López et al., 2023).

Dado que cada fase del ciclo está regulada por mecanismos neuroendocrinos que influyen en aspectos fisiológicos y conductuales, la evaluación diaria de los ciclos estrales usando la técnica de citología vaginal sigue siendo viable por su utilidad al ser poco invasiva, descriptiva, económica e inmediata, pero por ser poco exacta es muy conveniente incluir mediciones hormonales seriadas (Ajayi & Akhigbe, 2020).

Estro

Esta fase por lo regular inicia alrededor de la medianoche y tiene una duración de 9 a 12 horas. Las concentraciones de P4 son menores a 20 ng/mL, las de E2 no superan los 20 pg/mL y las de FSH son menores a los 500 ng/mL (Fig. 10). La observación de la citología vaginal revela que el epitelio vaginal alcanza su mayor crecimiento y por este motivo se observa una gran población de células epiteliales de descamación anucleadas, translúcidas y normalmente se encuentran en cúmulos rodeados de moco cervical blanquecino. No se observan leucocitos, sino hasta que empieza la fase de transición tardía donde empiezan a aumentar (Cora et al., 2015; Goldman et al., 2007; Toral Delgado, 2017).

Metaestro

Esta es la fase sucesora del estro y tiene una duración de 10 a 14 horas. Esta fase es considerada como una transición entre el estro y el diestro aunque algunos autores no la toman en cuenta para sus estudios sino que la categorizan dentro del diestro. Aquí se observa una disminución de las concentraciones de P4 que rondan los 10 a 20 ng/mL, las concentraciones de E2 van de los 10 a 20 pg/mL para finalizar de nuevo en los 10 pg/mL, mientras que la FSH es menor a los 200 ng/mL (Fig. 10). El monitoreo por citología vaginal muestra que el número de leucocitos (en su mayoría neutrófilos) aumenta considerablemente, también se observan células escamosas pero la presencia de células intermedias es predominante. Cabe mencionar que en las últimas horas del metaestro comienzan a aumentar las células parabasales (Cora et al., 2015; Goldman et al., 2007; Toral Delgado, 2017).

Diestro

Esta es la fase más larga del ciclo, pues tiene una duración de 55 a 72 horas. Se distingue porque el epitelio vaginal tiene el menor número de estratos celulares y por lo tanto las células que se observan en la citología son predominantemente células parabasales y leucocitos que comienzan a decrecer hacia el final de esta fase. Las células parabasales se distinguen por ser células redondas, de núcleos grandes que ocupan casi todo el citoplasma y se tiñen de color azul. En el diestro, se empiezan a observar células intermedias y algunas superficiales. Aunque anteriormente se decía que en una hembra sin

embarazo los cuerpos lúteos eran “no funcionales”, ahora se sabe que no lo son completamente, puesto que en esta fase sucede un pico de P4 de aproximadamente 20 pg/mL por los cuerpos lúteos durante 1 a 2 días, lo que corresponde a una tercera parte de la concentración del pico de P4 durante el proestro. (Cora et al., 2015; Goldman et al., 2007; Toral Delgado, 2017).

Proestro

Este es el período preovulatorio del ciclo estral, con una duración de 12 a 18 horas. Un rasgo muy notorio es el pico de E2 que ronda los 45 pg/mL a las 12:00 h de la tarde en esta fase. Posterior a la liberación de E2, también se observa un pico de LH de 35 ng/mL, un pico de FSH de alrededor de 400 ng/mL y un pico de P4 producido por las células de la granulosa y de la teca del folículo preovulatorio, cuya máxima concentración oscila los 60 ng/mL (Fig. 10). La citología vaginal de una rata hembra en proestro se distingue por la presencia de células superficiales nucleadas, estas células son angulares con sus bordes muy bien definidos (Cora et al., 2015). En esta fase no se observan leucocitos. En el caso de que se tomen en cuenta las fases intermedias, en el proestro temprano se pueden observar células intermedias. Dichas células denotan la transición de las células parabasales a superficiales, por lo que son células que aún no tienen los bordes definidos y los núcleos, aun cuando todavía se observan grandes, ya no ocupan el mayor volumen del citoplasma. Mientras que en el proestro tardío, predominan las células superficiales y se pueden empezar a observar células de descamación que se convierten en la población celular principal durante el estro. (Goldman et al., 2007). Durante las primeras horas de la tarde, poco antes del intervalo de oscuridad en la colonia, los niveles de estradiol descienden hasta rondar los 10 pg/mL, coincidiendo con los niveles basales en las primeras horas de la mañana del estro (Cora et al., 2015; Goldman et al., 2007; Toral Delgado, 2017).

El seguimiento de las fases por citología vaginal es útil siempre y cuando se tomen en cuenta algunas consideraciones. Los roedores son especies nocturnas, por lo que son muy sensibles a los cambios de horas luz-oscuridad, y las citologías vaginales se deben coleccionar a la misma hora y mantener a las hembras en un régimen horario de 12 horas luz por 12 oscuridad

(Klochkov & Gulevich, 1994). Con respecto a otros factores que pueden generar variaciones en los ciclos son: la edad, el estado nutricional, el estrés, las relaciones sociales y la temperatura, por lo que es importante reducir al máximo cualquier factor que pueda generar variaciones en los ciclos (Bommelaer-Bayet et al., 1990).

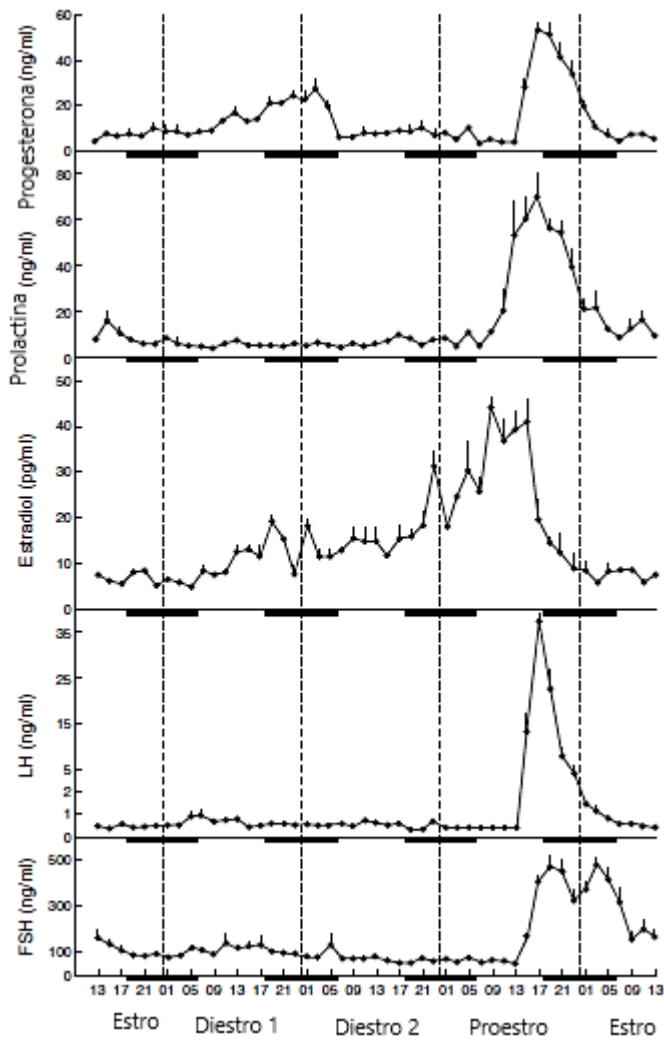


Figura 9 Concentración de hormonas durante el ciclo estral de la rata. Tomado de Neill's & Knobil , 2015 y traducido al español.

Síndrome metabólico

El Síndrome Metabólico (SM) es un grupo de padecimientos metabólicos que pronostican un aumento en el riesgo de diabetes tipo 2 (DT2) y enfermedad cardiovascular (ECV) (Huang, 2009). De acuerdo con la National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (NCEP III ATP) en 2005, se deben cumplir al menos con tres de los siguientes síntomas: resistencia a la insulina (RI), alteración de la glucosa en ayunas, intolerancia a la glucosa, obesidad, dislipidemia e hipertensión (Saklayen, 2018).

Resistencia a la insulina

De acuerdo con el Grupo Europeo para el estudio de la Resistencia a la Insulina (EGIR, por sus siglas en inglés, 1999), la RI se determina por un valor de insulina plasmática en ayunas mayor al percentil 75. Tales niveles son desencadenados cuando esta hormona ya no estimula al receptor de membrana INS-R o a su receptor nuclear por un cambio en las vías de transducción del receptor (Jameson et al., 2021).

En el tejido adiposo y en la musculatura esquelética de personas con DT2 (incluso en algunas que solo tienen obesidad) el metabolismo de la glucosa se encuentra alterado, así como también se manifiesta una incapacidad de modular el cese de la gluconeogénesis posiblemente como consecuencia indirecta del metabolismo defectuoso de lípidos en los adipocitos con RI, razón por la que a estos pacientes se les conoce como “resistentes a la insulina” (Banik et al., 2021).

Aunque la RI sea considerada como uno de los factores de riesgo para el desarrollo de DT2, generalmente no se diagnostica ni se trata en humanos. La razón principal es que muchos pacientes con esta afección no presentan anomalías en los niveles de glucosa en sangre, por lo que el diagnóstico dependería de la determinación de los niveles de insulina, que no siempre se miden en la práctica clínica (Diamanti-Kandarakis & Dunaif, 2012). Sin embargo, la RI está catalogada como un factor de riesgo de desarrollo de enfermedades crónicas-

degenerativas como la DT2, afecciones cardiovasculares y enfermedades hepáticas, así como algunas enfermedades neurodegenerativas, retinopatía y enfermedad renal. La RI también está relacionada a problemas de disfunción ovárica como lo es el Síndrome de Ovario Poliquístico (SOP) (Shrivastava & Conigliaro, 2023).

Hiperinsulinemia

Debido la RI en miocitos y adipocitos surgidos tras la falla del receptor INS-R y la consecuente inactividad del transportador de glucosa GLUT4, los niveles de glucosa en sangre tienden a incrementarse, por lo que el páncreas secreta mayores cantidades de insulina como una medida compensatoria del organismo para activar el transporte de glucosa y normalizar sus concentraciones en sangre (Zhao et al., 2023). Como consecuencia, tanto en ayunas como en estado de saciedad, se reflejan niveles plasmáticos de insulina más altos en relación con el nivel de glucosa. A esta condición la conocemos como hiperinsulinemia (Cardozo et al., 2011) que es verificable con el análisis bioquímico de la alteración de la glucosa en ayunas y alteración de la tolerancia a la glucosa (Huang, 2009).

La RI y la hiperinsulinemia están presentes tanto en mujeres delgadas como en mujeres obesas con SOP y son elementos clave de este padecimiento. A pesar de la RI periférica, la sensibilidad a la insulina permanece intacta o incluso puede aumentar en los ovarios de mujeres con síndrome de ovario poliquístico. Esta observación sugiere la presencia de resistencia selectiva a la insulina en el SOP que afecta de manera diferencial a los tejidos metabólicos y al ovario (Zhao et al., 2023).

Se ha manejado la hipótesis de que el aumento de insulina incrementa los sitios de unión de la LH y por consecuencia la respuesta de producción androgénica de AD y T (Raptis et al., 2020), pues la RI es una perturbación metabólica prevalente en mujeres con SOP que afecta al 75% de las pacientes. Otro mecanismo por el cual el exceso de insulina puede contribuir

al aumento de los niveles de andrógenos es mediante la inhibición de la unión de las hormonas sexuales (Tosi et al., 2017).

La hiperinsulinemia contribuye a la anovulación dependiente de andrógenos pues la insulina promueve los efectos estimulantes de la LH sobre la producción de andrógenos en las células de la teca y en las células de la corteza suprarrenal (F. F. He & Li, 2020). Incluso se ha cotejado la posibilidad de que la insulina funja como una co-gonadotropina que estimule la biosíntesis de andrógenos en el ovario activando la expresión y actividad de P450c17 en las células de la teca. Es de destacar que las células de la teca en mujeres con SOP son más sensibles a los efectos hiperandrogénicos de la insulina que las de mujeres sanas (Diamanti-Kandarakis & Dunaif, 2012).

Existe información que también apunta a la insulina como responsable de la liberación reducida de globulina fijadora de hormonas sexuales (SHBG) y reduce sus sitios de unión. La SHBG es una proteína circulante sintetizada por el hígado que se encarga del transporte de las hormonas esteroideas en la sangre, por lo que se trata del principal transportador de testosterona libre, que es el andrógeno en circulación activo (Ibáñez et al., 2017). Por lo tanto, la atenuación de los niveles de SHBG aumenta la biodisponibilidad de testosterona libre y ello induce un aumento de procesos androgénicos (Sadeghi et al., 2022), mismos que se abordarán en la sección de *hiperandrogenemia* de esta tesis.

Síndrome de ovario poliquístico

El SOP es una enfermedad endocrinológica que se caracteriza típicamente por el exceso de andrógenos, disfunción ovulatoria y la morfología poliquística en ovario. Se ha observado que durante el SM los ovarios y las glándulas adrenales conservan la sensibilidad a la insulina que otros órganos han perdido, como es el caso del hígado, el músculo esquelético y el tejido adiposo (Raptis et al., 2020). Anteriormente se creía que el ovario era el causante del SOP hasta que se reportó la presencia de hiperinsulinemia y una disminución de la sensibilidad a la insulina durante este síndrome, lo que causó que se le restara

responsabilidad a al ovario. Sin embargo, en 1990 durante una conferencia de consenso sobre el SOP celebrada entre los Institutos Nacionales de Salud y el Instituto Nacional de Desarrollo Infantil y Humano (NIH-NICHD) se añadió a los criterios diagnósticos el hiperandrogenismo y/o hiperandrogenemia, oligoovulación y excluyeron otras causas potenciales como hiperplasia suprarrenal congénita, síndrome de Cushing y tumores secretores de andrógenos (Leung & Adashi, 2003).

El criterio de Rotterdam (Tabla 1) sigue siendo el más utilizado y aceptado para el diagnóstico del SOP, en donde se identifican cuatro fenotipos. El fenotipo clásico (A) incluye hiperandrogenismo y sangrado uterino anormal con una imagen de ovario poliquístico obtenida por ultrasonido, el fenotipo B está comprendido por hiperandrogenismo y sangrado uterino anormal, el fenotipo C presenta hiperandrogenismo y morfología de ovario poliquístico, y el fenotipo D únicamente comprende una disfunción ovulatoria y una morfología de ovario poliquístico (Shrivastava & Conigliaro, 2023).

Fenotipos del SOP			
Presentación clínica			
Fenotipo	Exceso de andrógenos	Disfunción ovulatoria	Morfología de ovario poliquístico
A	✓	✓	✓
B	✓	✓	
C	✓		✓
D		✓	✓

Tabla 1 Criterios de Rotterdam para la clasificación de los fenotipos del SOP. Tomado de (Shrivastava & Conigliaro, 2023) y traducido al español.

La prevalencia del SOP varía entre poblaciones, así como el nivel de asociación entre el SOP y la RI o la obesidad. Estas diferencias pueden surgir de factores genéticos y de diferencias en el estilo de vida. La prevalencia del SOP entre mujeres jóvenes en edad reproductiva se sitúa generalmente entre el 5 % y el 10 % (Ehrmann, 2005).

Morfología de ovario poliquístico

Algunos autores parten del análisis de imagen del ovario en la ecografía para definir al SOP como la manifestación de 12 o más folículos preantrales subcapsulares de 2 a 8 mm que forman un signo de “collar de perlas negras” por ovario. Los ovarios con esta afectación se encuentran en una amplia variedad de trastornos no relacionados, incluso en hasta el 30% de las mujeres con menstruaciones normales y andrógenos circulantes normales (Dewailly, 2016).

Hiperandrogenemia

Tanto las glándulas suprarrenales como los ovarios contribuyen a la reserva de andrógenos circulantes en las mujeres. La glándula suprarrenal secreta preferentemente andrógenos débiles como la DHEA o su forma "de depósito" sulfatada DHEA-S (hasta el 90% de origen suprarrenal) (Burger, 2002). Estas hormonas, además de la AD pueden servir como prohormonas para andrógenos más potentes como la Testosterona o la Dihidrotestosterona (Cussen et al., 2022b).

El ovario y las glándulas adrenales son los sitios principales de producción de T y se estima que entre el 50% y el 75% de la T circulante se origina en estos órganos, mientras que el otro 50% tendría origen en la conversión periférica de prohormonas provenientes del hígado, la piel y el tejido adiposo, así como por la misma esteroidogénesis ovárica (Leung & Adashi, 2003). Sin embargo, en las mujeres con SOP las concentraciones de T en plasma son más altas que en mujeres sin esta afección, lo que origina que el tejido adiposo realice una mayor conversión de E1. El aumento de la alteración de E1 a E2 afecta el crecimiento del folículo y aumenta la proporción de LH a FSH, lo que provoca disfunción ovulatoria (Li et al., 2019).

Por lo tanto, los niveles circulantes de testosterona pueden ser el andrógeno de elección para evaluar la esteroidogénesis, y sus niveles circulantes pueden ofrecer una mejor discriminación entre una población de control y la población afectada con SOP. Se encontró que un nivel circulante de testosterona total era el mejor correlato hormonal del síndrome combinado de anovulación crónica hiperandrogénica y ovarios poliquísticos (Vital et. al, 2017). Muchos prefieren un nivel de testosterona libre o un nivel de testosterona biodisponible porque refleja mejor los efectos supresores de la hiperinsulinemia sobre la globulina fijadora de hormonas sexuales. Las pruebas son reproducibles y eliminan cualquier sesgo del observador en la identificación de mujeres con exceso de andrógenos; sin embargo, dada la variabilidad entre ensayos, es difícil asignar un nivel uniforme y específico de testosterona circulante, que es el límite para diagnosticar el síndrome de ovario poliquístico (Leung & Adashi, 2003).

Hiperprolactinemia

La prolactina (PRL) es una hormona hipofisiaria encargada de la estimulación en las glándulas mamarias para inducir la diferenciación y la proliferación de las células que cumplen con el rol de la lactancia, pero también tiene otras funciones relacionadas con la regulación hormonal (Emanuel et al., 2022). Debido a que la producción de prolactina es estimulada por E2, las mujeres con SOP exhiben diversos niveles de PRL, que pueden mostrarse desde superiores, iguales o incluso inferiores a los de las mujeres sin el síndrome (Saklayen, 2018).

Dislipidemia

En las pacientes con SOP, se toma en cuenta a la dislipidemia como indicador del riesgo cardiovascular a largo plazo. Esto se manifiesta más comúnmente como un nivel bajo de colesterol HDL, pero debido a que los triglicéridos suelen ser relativamente bajos, a menudo no se expresa un perfil lipídico aterogénico completo. Sin embargo, anomalías sutiles que

incluyen alteraciones en el tamaño de las partículas de lipoproteínas y el aumento de las subclases de LDL II y IV pueden contribuir a la susceptibilidad a la enfermedad macrovascular (Berneis et al. 2007). Los anticonceptivos orales combinados, incluidas las combinaciones del progestágeno antiandrogénico acetato de ciproterona con etinilestradiol, se utilizan a menudo para lograr el control del ciclo, disminuir los síntomas androgénicos, proteger el endometrio y también por su acción anticonceptiva. Su efecto sobre la tolerancia a la glucosa y el perfil lipídico es complejo y controvertido. Está claro que, en algunos individuos, pueden aumentar la intolerancia a la glucosa y los niveles de triglicéridos circulantes (Nader y DiamantiKandarakis 2007). El aumento de peso durante el uso de anticonceptivos orales también puede tener un efecto adverso sobre el riesgo cardiovascular a largo plazo.

La grasa es el macronutriente más rico en energía de la dieta y contiene 9 kcal/g, en comparación con sólo 4 kcal/g de carbohidratos y proteínas. Además, el cuerpo tiene una capacidad prácticamente infinita para almacenar grasa, especialmente en personas hiperinsulinémicas. Los experimentos con sobrealimentación de grasas sugieren que el exceso de grasa disminuye la oxidación de carbohidratos sin cambios aparentes en la oxidación de grasas. Cuando los carbohidratos están presentes en exceso o no se oxidan adecuadamente, la deposición de grasa aumenta mediante el proceso de lipogénesis *de novo*.

Los estudios transversales indican que una mayor ingesta de grasas se asocia con una sensibilidad a la insulina alterada, pero esta relación se debe principalmente a la obesidad (Riccardi y Rivellese 2000; Vessby 2003). Por el contrario, los estudios de intervención mostraron que un aumento razonable en la ingesta total de grasas (del 20% al 40%) no tuvo un impacto importante en la sensibilidad a la insulina (Riccardi ad Rivellese 2000). Por lo tanto, una posible crítica sobre los efectos nocivos de las dietas altas en proteínas y bajas en carbohidratos sobre el aumento de la ingesta de grasas puede no ser aplicable, al menos en intervenciones a corto plazo (McAuley et al. 2005). Se ha informado que un mayor

consumo de ácidos grasos insaturados mejora la sensibilidad a la insulina en sujetos sanos (Vessby et al. 2001), obesos y diabéticos tipo 2 (Summers et al. 2003).

Dietas hiperglúcidas

La carga glucémica de una dieta se define como la cantidad de carbohidratos multiplicada por el índice glucémico (IG). Los alimentos con un IG alto aportan carbohidratos rápidamente después de su ingestión. Una carga glucémica elevada se asocia con un mayor riesgo de diabetes y con un control glucémico deficiente en pacientes con diabetes establecida. La carga glucémica se puede controlar disminuyendo la cantidad de carbohidratos o consumiendo alimentos con un IG más bajo y esto mejora la sensibilidad a la insulina, disminuye la hiperglucemia posprandial, disminuye los triglicéridos y aumenta el colesterol HDL (Marsh y Brand-Miller 2005). Además de tener un IG bajo, los alimentos integrales pueden tener un papel específico en la protección contra el desarrollo de la diabetes. Las dietas bajas en carbohidratos han sido controvertidas y el interés público en estas dietas ha precedido y, en cierta medida, impulsado, el interés científico (Valerino-Perea et al., 2019).

Cepa Long Evans

La cepa de ratas LE surgió alrededor de la segunda década del siglo XX gracias a la colaboración de los doctores Joseph Long y Herbert Evans en Estados Unidos por una cruce de rata Wistar hembra con un macho de rata noruega gris silvestre capturado en Berkeley. Evans desarrolló tal nivel de observaciones en esta cepa que identificó a los hábitos alimenticios como uno de los elementos para la variabilidad biológica, por lo que desarrolló una dieta definida para las ratas destinadas a investigación científica, dejando un legado en el campo de la endocrinología y la fisiología reproductiva (Suckow et al., 2019).

La subcepa de la rata Long-Evans: Tokushima (LETL) es un modelo no muy común de DTI espontánea, que sirve como modelo para la DT2, tampoco muestra linfopenia, y a partir de la cual se ha generado una subcepa con tendencia diabética (KDP) y no diabética (Mordes *et al.*, 2004). Este modelo reveló el locus de susceptibilidad a la diabetes Iddm3, que codifica la ubiquitina ligasa Cblb, y uno de los pocos alelos diabetogénicos no MHC (Suckow *et al.*, 2019).

Antecedentes

El uso de modelos animales nos ayuda a dilucidar la patogénesis de muchos padecimientos, pues permite monitorear los efectos de fármacos y tratamientos. La rata ha sido ampliamente usada como modelo de investigación sobre la patogénesis del SOP debido a su facilidad de uso, sus ciclos reproductivos cortos y su alta similitud genética con el genoma humano (Rakic *et al.*, 2023). Las disfunciones ováricas como el SOP pueden ser inducidas en ratas como modelo experimental a través de la inhibición hormonal o enzimática, la exposición prolongada a la luz, la administración de andrógenos, la administración de una dieta alta en calorías e inclusive la tecnología transgénica. Debido a que las pacientes con SOP han manifestado una frecuente correlación entre la DM y la dislipidemia, se propone el uso del modelo de dieta rica en grasas para inducir problemas ováricos en ratas (Dejana *et al.*, 2021).

Podemos hacer un recorrido desde los primeros estudios con ratas que demostraron la inducción de problemas ováricos en ratas a través de la manipulación de la dieta. El estudio de Patel & Sha (2018) comparó a un grupo control que recibió una alimentación estándar contra un grupo experimental que recibió una dieta alta en grasas y encontraron hiperglicemia, RI y altas concentraciones de triglicéridos en sangre de su grupo experimental (Patel & Shah, 2018). Cabe destacar que esta dieta parece haber repercutido en la función hormonal, observando una disminución de estrógenos y un aumento de testosterona. En este estudio reportaron cambios en la morfología ovárica similares a los

del SOP; no obstante, la dieta del grupo experimental no condujo a una diferencia en el peso de ambos grupos (Patel & Shah, 2018).

En 2018 Moreno-Fernández demostró que la dieta alta en grasas y glucosa podía inducir el SM en ratas macho de la cepa Wistar (Moreno-Fernández et al., 2018). Puesto que el SM es una comorbilidad altamente señalada en pacientes con SOP, Niño et. al (2020) administraron una dieta alta en carbohidratos refinados a un grupo experimental de ratas Wistar a partir de las 8 semanas de nacimiento, encontrando un aumento en el peso corporal, mayor adiposidad y un aumento en el tamaño de los adipocitos en comparación con su grupo control. También reportan estros persistentes y altos niveles de LH que asociaron con una reducción en los folículos primordiales y primarios. Para ellos, estos resultados sugieren un deterioro en la reserva folicular ovárica (Niño et al., 2020).

Akintayo et. al. (2021) realizaron un estudio con ratas Wistar adultas en el que compararon a un grupo control, un grupo experimental que recibía inyecciones de letrozol y otro grupo experimental que recibía alimentación con D-fructosa y vieron que éste último mostró cambios histopatológicos en el útero pero no alteró el perfil hormonal ni el peso de los órganos (Akintayo et al., 2021).

De Melo et. al., (2021) sometieron a ratas Wistar de 21 DPN a una dieta alta en sucrosa, encontrando una mayor acumulación de tejido adiposo, hiperglucemia y RI que no se manifestó en su grupo control. Observaron una pubertad más temprana en el grupo experimental con respecto al control, así como un mayor número de folículos antrales atrésicos y folículos quísticos en los ovarios del grupo HSD (dieta alta en azúcares), que lo correlacionaron con una hipertrofia de los adipocitos periováricos (de Melo et al., 2021).

En un experimento más reciente de Rakic et. al., (2023) utilizaron ratas adultas de la cepa Wistar a las cuales dividieron en tres grupos: un grupo control, un grupo que recibió estradiol valerado y un tercer grupo que recibió valerato de estradiol con una dieta alta en grasas. Encontraron un aumento del peso corporal, un aumento en el peso del ovario y la prevalencia de estros persistentes en ambos grupos experimentales con respecto al control.

Igualmente, reportaron un aumento significativo de E2 y T pero una disminución significativa de P4 en ambos grupos experimentales con respecto al control (Rakic et al., 2023).

Por lo anterior, este estudio se centrará en analizar el efecto de una dieta alta en glúcidos a partir del destete sobre las funciones ováricas en ratas de la cepa Long Evans, las cuales han sido históricamente empleadas para estudios de ciclicidad estral.

Objetivos

General:

Analizar los efectos que ocasiona el SM inducido por una dieta hiperglúcida sobre el inicio de la pubertad, la ciclicidad estral y su relación con las hormonas gonadotrópicas y esteroideas en ratas adultas de la cepa Long-Evans.

Específicos:

- Reproducir el modelo de SM en ratas hembra adultas de la cepa Long Evans por la ingesta de una dieta hiperglúcida durante tres meses.
- Analizar el ritmo del ciclo estral en las ratas hembra adultas de la cepa Long Evans con SM.
- Cuantificar las hormonas gonadotrópicas y esteroideas en las ratas hembra adultas de la cepa Long Evans con SM.
- Mostrar si en las ratas hembra Long Evans con SM existen diferencias en el tamaño de los órganos reproductores relacionados con la función ovárica.

Hipótesis

En las ratas hembra adultas de la cepa Long-Evans, el síndrome metabólico inducido por una dieta hiperglúcida desde la etapa infantil repercute en el inicio de la pubertad, la ciclicidad estral y la síntesis de hormonas gonadotrópicas y esteroideas.

Pregunta de investigación

¿El síndrome metabólico inducido por una dieta hiperglúcida incidirá en el inicio de la pubertad, la ciclicidad estral de las ratas hembra de la cepa Long-Evans?

Justificación

La prevalencia del SM varía ampliamente a lo largo del mundo, pero hay reportes de que las poblaciones latinoamericanas y africanas tienen una mayor susceptibilidad al desarrollo de trastornos metabólicos (DeBoer, 2011). Y es precisamente México el país cuyo incremento del SM ha llamado la atención de los investigadores en las últimas décadas, puesto que se ha posicionado como una de las naciones con las prevalencias de SM más altas del mundo (Mendoza-Caamal et al., 2020).

El SM se ha convertido en un grave problema de salud pública en México y, por lo tanto, existe la necesidad de desarrollar estrategias dirigidas a prevenir y tratar el SM. De acuerdo al estudio de Ortiz *et. al.* 2022, se observó una prevalencia de SM del 44.2% entre la población mexicana según la definición del Adult Treatment Panel III (ATPIII), fue más alto que el 36% informado anteriormente en un metaanálisis de la prevalencia del SM entre adultos mexicanos por Gutiérrez-Solis et al., 2018. Otros estudios previos realizados en México de 2004 a 2021 utilizaron la definición de ATP III y encontraron una prevalencia que oscilaba entre el 21% y el 48%. La prevalencia de SM en adultos mexicanos obtenida de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2006, 2012, 2016 y 2018 fue de 40.2, 57.3, 59.99 y 56.31%, respectivamente. 2006, 2012, 2016 y 2018 fue de 40.2, 57.3, 59.99 y 56.31%, respectivamente.

Se han encontrado asociaciones específicas del SM con la edad y el IMC. La obesidad se asocia con una mayor prevalencia de SM, hiperglucemia, hipertrigliceridemia, colesterol HDL bajo, obesidad abdominal e hipertensión (Ortiz-Rodríguez et al., 2022). Además, el SM es una de las comorbilidades más observadas en mujeres con SOP. El SOP tiene implicaciones metabólicas que incluyen RI, dislipidemia y metabolismo anormal de la glucosa. Inclusive, las mujeres con SOP también muestran una propensión a ganar peso en exceso, lo que exacerba estos síntomas. Los factores de riesgo cardiovascular, como la inflamación crónica, el estrés oxidativo y la fibrinólisis alterada, aumentan con cierta evidencia de una mayor prevalencia de enfermedades ECV. El SOP también afecta negativamente la calidad de vida relacionada con la salud y puede limitar la capacidad de la mujer para optimizar un estilo de vida saludable (Gilbert et al., 2018).

El funcionamiento normal del aparato reproductor femenino está íntimamente ligado al funcionamiento adecuado del organismo para lograr un proceso reproductivo exitoso. Durante la vida de una mujer existen eventos normales como la pubertad, el embarazo y la menopausia que se relacionan con alteraciones en la homeostasis energética y en los niveles de esteroides gonadales seguidos del aumento de la grasa corporal y la resistencia a la insulina, componentes importantes del SM.

Derivado de todas las investigaciones a lo largo de los años, se ha reconocido que el SM es un estado fisiopatológico que puede existir incluso en ausencia de obesidad y actualmente existen modelos que imitan esta condición juntos o separados del estado de obesidad, por tanto, es necesario utilizar modelos animales apropiados con el propósito de estudiar la enfermedad y que nos ayuden a dilucidar un mejor tratamiento y prevención de estas enfermedades.

Por lo anterior, el presente trabajo tiene como finalidad estudiar los efectos del síndrome metabólico inducido desde la etapa infantil por una dieta hiperglúcida, sobre la función ovárica en la etapa adulta de la rata Long-Evans.

Métodos

Animales de experimentación

Todos los procedimientos descritos fueron desarrollados de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana del cuidado y manejo de animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999) y fueron aprobados por el Comité para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP) con el número de proyecto 2454. Se utilizaron ratas hembra de la cepa Long--Evans de 21 días postnatal (DPN) (n = 12) proporcionadas por el Bioterio "Claude Bernard" de la BUAP, las cuales fueron mantenidas en cajas de acrílico (n = 6), y en condiciones de 14 horas luz y 10 horas oscuridad, con alimentación e hidratación *ad libitum*, temperatura y humedad controlada. Los animales fueron clasificados en dos grupos experimentales, el grupo con dieta normoglúcida (DNG) y el grupo de dieta hiperglúcida (DHG) cada uno constituido por seis animales. El grupo DNC recibió una alimentación de mantenimiento para roedores de la marca LabDiet® en la presentación 5012 cuyas calorías provienen en un 28.5% de las proteínas, 13.1% de las grasas y en un 58.3% de los carbohidratos de acuerdo con el proveedor, por lo que este grupo fue denominado como dieta normocalórica (DNC). El grupo DHG recibió una alimentación para roedores de la marca LabDiet® en la presentación 5053 cuyas calorías provienen en un 24.4% de proteínas, 13.1% de grasas y 62.3% de carbohidratos de acuerdo con el proveedor.

Análisis zoométrico

Desde los 21 DPN en ambos grupos experimentales se realizó el monitoreo semanal del peso, la talla corporal y la circunferencia abdominal. Los animales fueron pesados en una báscula digital TRUPER®. La talla corporal se obtuvo con ayuda de la cinta métrica y se procedió a medir la punta de la nariz a la base de la cola, los resultados fueron registrados en centímetros. La circunferencia abdominal se obtuvo al colocar a la rata de forma vertical de cara al manejador para dejar descender los órganos abdominales y medir por debajo de las costillas, registrando el resultado en centímetros. Todas las mediciones fueron repetidas semanalmente a las 9:00 h del día hasta la fecha del sacrificio de los animales.

Monitoreo del ciclo estral

A partir de los 30 DNP se comenzó el monitoreo de la apertura vaginal. Una vez canalizada la vagina se les realizó diariamente la citología vaginal empleando un asa bacteriológica con la punta modificada a una forma de círculo de 1 mm de diámetro, la cual se esterilizó en un mechero de alcohol y se enfrió en 5 mL de agua purificada para la inserción suave y rápida en la vagina de cada rata, teniendo sumo cuidado de no mover bruscamente el asa en el interior del animal para no inducir una pseudopreñez. Una vez obtenida la muestra, esta se colocó en una laminilla rotulada con la fecha y el grupo, y se fijó con la flama del mechero. El proceso de esterilización y enfriado del asa se realizó por cada rata muestreada para evitar una contaminación de las muestras. Las muestras fueron teñidas con la técnica de hematoxilina & eosina y fueron observadas en un microscopio óptico (Leica inc.) en el objetivo 10x para determinar la fase del ciclo estral de acuerdo al tipo de células presentes y su proporción (Hernández López et al., 2023).

Se determinó el estro cuando se observó células epiteliales superficiales anucleadas teñidas de color rosado agrupadas en cúmulos y ausencia de leucocitos. Se determinó el diestro al observar células intermedias y parabasales con núcleos que abarcan casi todo el citoplasma teñidas de color azul y presencia de leucocitos. Por último, se determinó el proestro al observar las células superficiales con bordes bien definidos cuyo núcleo abarca una menor porción del citoplasma, por lo que habrá una tinción rosa con azul, y escasos leucocitos (Hernández López et al., 2023).

Prueba de tolerancia oral a la glucosa

A partir de los 110 DNP se iniciaron los sacrificios de los animales durante el estro vaginal siempre que hayan presentado como mínimo tres ciclos regulares previamente. A dichos animales se les pesó el día del sacrificio para determinar la dosis de glucosa correspondiente a cada rata bajo la fórmula 1.75 g /kg del animal. Se realizó una administración de glucosa oral utilizando Dextrosol de 75 g Hycel® para prueba de tolerancia a la glucosa, inmediatamente seguida de la toma de una muestra de sangre intracardiaca recolectada en un tubo sin aditivos bajo el efecto anestésico de isoflurano con SOFLORAN® 100 mL PiSA® en torunda de algodón cada 30 minutos hasta cumplir un periodo de 90 minutos con $n = 3$ en cada tiempo, dos tiempos por rata.

Sacrificio

Después de la toma de muestra, se efectuó la sedación del animal bajo anestesia de isoflurano con SOFLORAN en torunda de algodón. Una vez que los animales estuvieron anestesiados se realizó el sacrificio con guillotina para recolectar la sangre troncal en un tubo sin aditivos.

Manejo de órganos

Se extrajo el útero, los ovarios, las glándulas adrenales, el cerebro y la hipófisis, se les pesó en una balanza analítica con hidratación de NaCl al 0.9% y al finalizar se resguardaron en solución de paraformaldehído al 4% en frascos individuales rotulados por cada rata.

Análisis bioquímico en suero sanguíneo

Las muestras de sangre se utilizaron para la cuantificación de LH, FSH, prolactina, progesterona, testosterona, estradiol, testosterona libre y DHEA, colesterol total, triglicéridos, HDL, LDL y VLDL por quimioluminiscencia. Se calculó el índice HOMA-IR por

medio de la fórmula $[(\text{Insulina plasmática en ayunas } (\mu\text{U/mL}) \times \text{glucosa plasmática en ayunas (mmol/L)})/22,5]$; el índice HOMA-S% mediante la fórmula $(1/\text{HOMA-IR})(100)$; HOMA-B% usando la fórmula $[(\text{Insulina plasmática en ayunas } (\mu\text{U/mL}) \times 20) / (\text{glucosa plasmática en ayunas mg/dL} / 18)]-3.5$; y el HIS a través de la fórmula $1000/[(M2/18) \times (\text{Insulina plasmática en ayunas } (\mu\text{U/mL})]$. De igual forma se calculó el índice de disposición de insulina, de disfunción adipositaria por resistencia a insulina, aterogénico, de riesgo cardiovascular y de riesgo coronario.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron analizados y graficados con el programa de cómputo GraphPad Prism 9 utilizando el modelo estadístico de t de student y tomando como significativas aquellas diferencias ≤ 0.05 .

Resultados

En el análisis zoométrico (Fig. 11) no se encontraron diferencias significativas para el peso corporal (DNG: 165.9 g \pm 16.82 vs DHG: 179.4 g \pm 19.11 p = 0.5982), para la circunferencia abdominal (DNG: 12.92 cm \pm 0.48 vs DHG: 13.32 cm \pm 0.49 p = 0.5746) ni en la talla.

En el análisis del ciclo estral (Fig. 12) los resultados muestran la regularidad del ciclo estral en las ratas con DNG (Fig. 12A) y la irregularidad del ciclo en las ratas que recibieron la DHG (Figuras 12B), por lo que existe una disminución del porcentaje de ciclicidad (Fig. 12C) con diferencias significativas en el grupo DHG respecto al grupo DNG (DNG 73.07 % \pm 7.547 vs DHG: 50.27 % \pm 2.973 p = 0.0185).

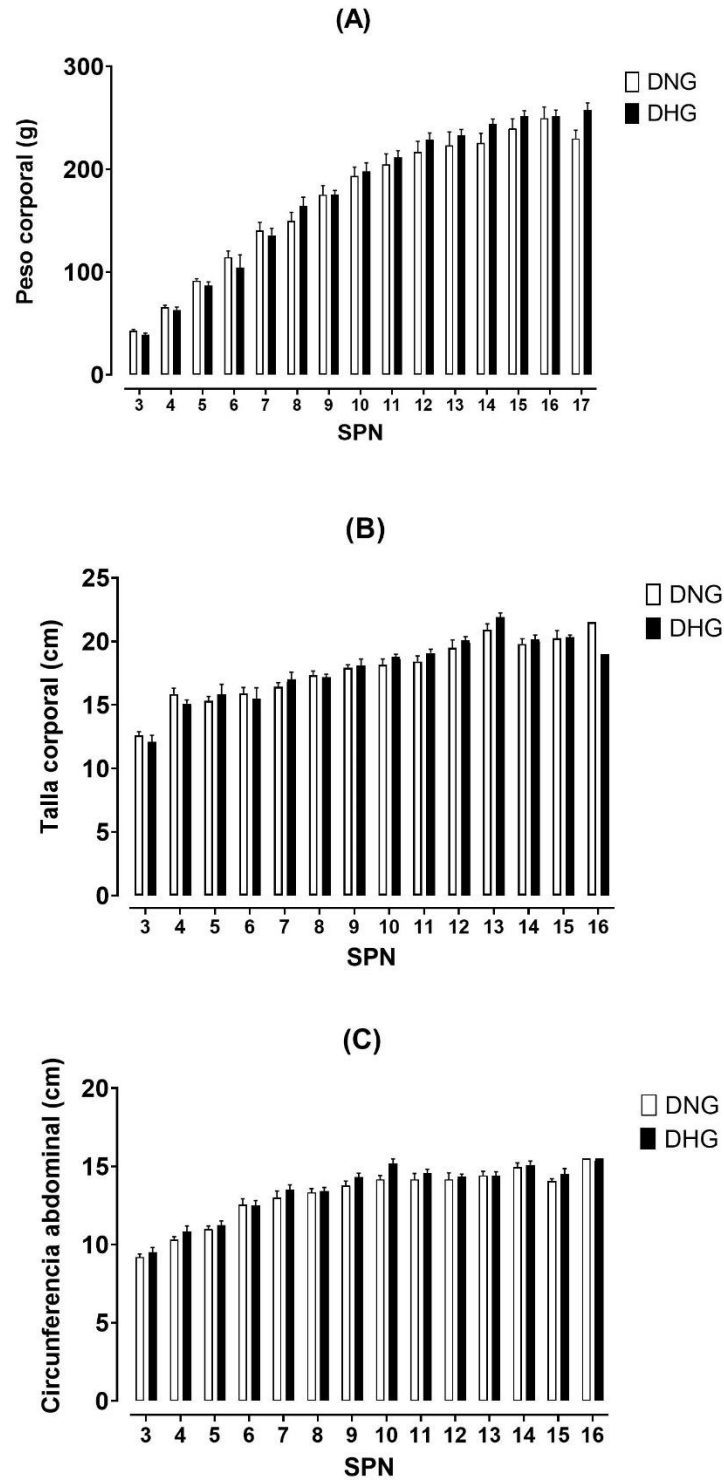


Figura 10: Análisis zoométrico de animales del grupo DNG y del grupo DHG de acuerdo cona postnatal (SPN). Se muestra la media \pm EEM del porcentaje de 11A: Peso corporal en gramos. 11B: Talla corporal en centímetros. 11C: Circunferencia abdominal en centímetros; a los 90 días posteriores de la ingesta de la dieta. n=6. t-student *p<0.05.

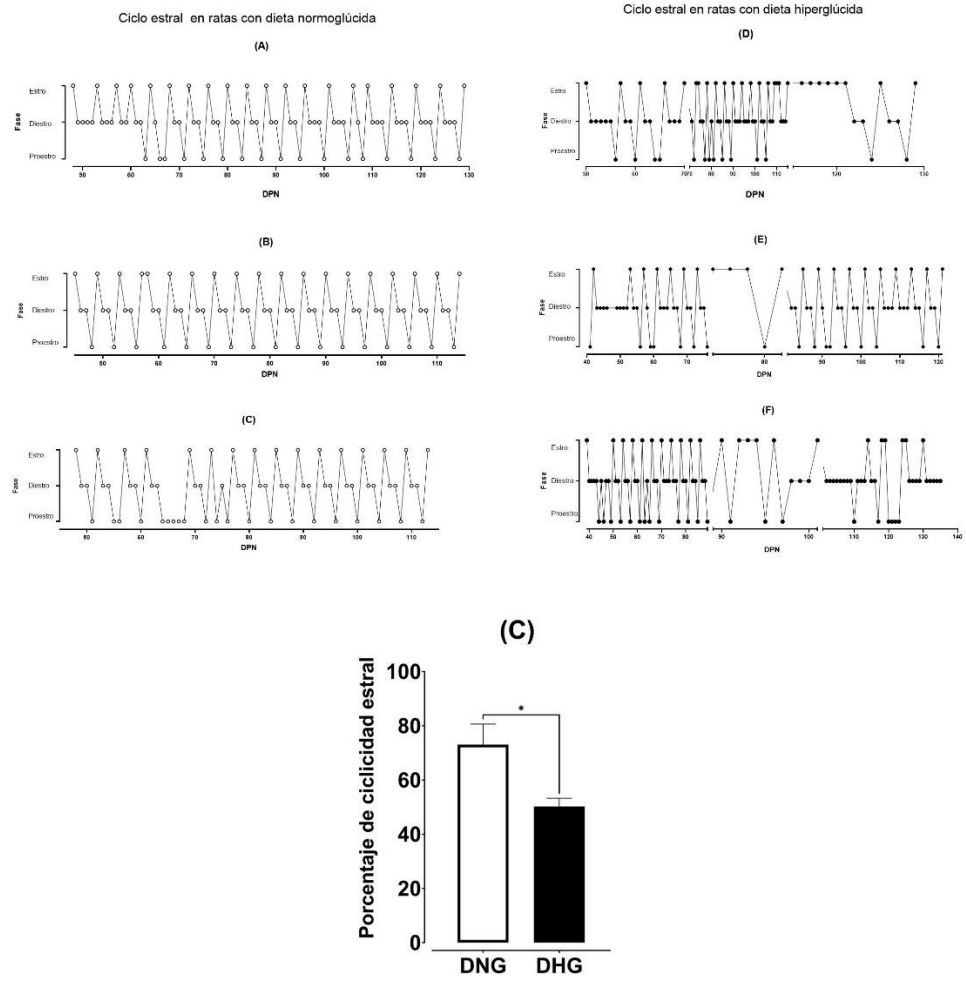


Figura 11: Ciclo estral de animales con DNG y con DHG. Se muestra la media \pm EEM del porcentaje de 12A: Ciclo estral regular en ratas con DNC. 12B: Ciclo estral irregular en ratas con DHG. 12C: Porcentaje de ciclicidad estral con diferencias significativas a los 90 días posteriores de la ingesta de dieta con n=6. t-student *p<0.05.

El análisis comparativo del peso relativo de los órganos extraídos (Fig. 13) mostró una disminución en mg del peso del ovario derecho en ratas con DHG con respecto al grupo DNG (DNG:14.65 ± 2.1 vs. DHG:13.11 ± 0.35 p = 0.45) sin diferencias significativas. En el ovario izquierdo tampoco se observaron diferencias significativas en el grupo DHG con respecto al grupo DNG (DNG:13.16 ± 2.58 vs. DHG:11.13 ± 0.45 p = 0.41). En la glándula adrenal derecha se observa una disminución del peso relativo en mg en el grupo DHG con respecto al grupo DNG (DNG:14.01 ± 0.39 vs. DHG:11.43 ± 0.54 p = 0.0047) con diferencias significativas, no obstante, en la adrenal izquierda la disminución del peso en el grupo DHG no representa una diferencia significativa respecto al grupo DNG (DNG:12.35 ± 0.53 vs. DHG:11.24 ± 0.52 p = 0.17). En el útero no se encontraron diferencias significativas en peso en mg entre grupos (DNG:172.5 ± 15.34 vs. 166.4 ± 8.53 p = 0.73). En el cerebro no se encontraron diferencias significativas con el peso en mg entre grupos (DNG:716.3 ± 31.07 vs. DHG:705.1 ± 9.59 p = 0.72). Finalmente, la comparación del peso relativo en mg de la hipófisis tampoco mostró diferencias significativas entre grupos (DNG:5.34 ± 0.94 vs. DHG:4.60 ± 0.34 p = 0.45).

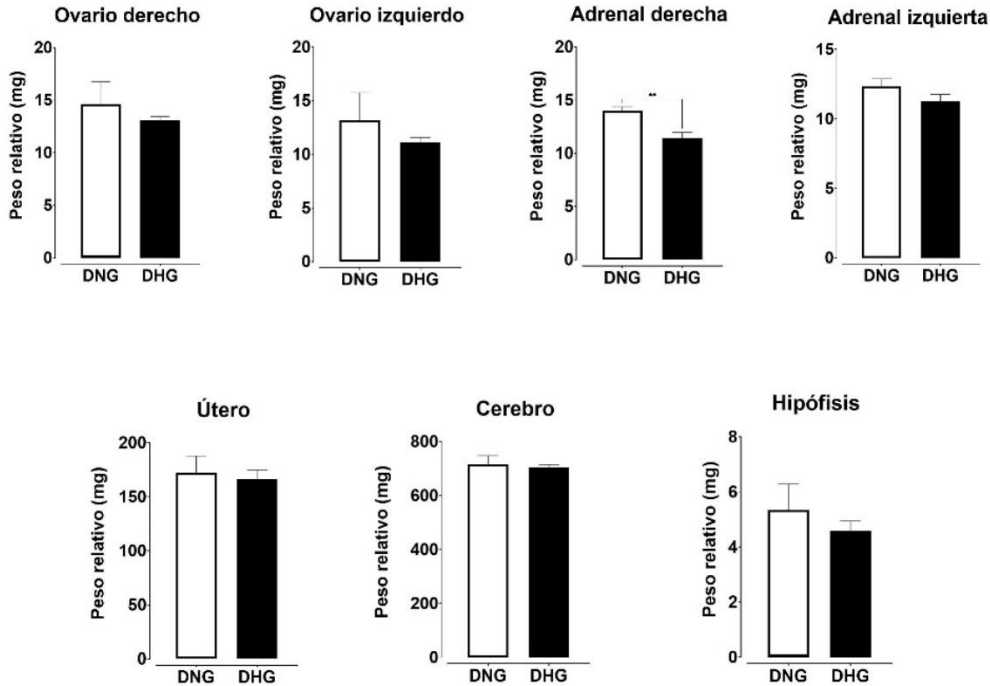


Figura 12: Peso relativo de órganos extraídos de los animales DNG y DHG. Se muestra la media \pm EEM del porcentaje de ovario derecho, ovario izquierdo, útero, adrenal derecha, adrenal izquierda, cerebro e hipófisis con diferencias significativas a los 90 días posteriores de la ingesta de dieta, $n=6$. *t*-student $*p<0.05$.

A los 90 días de ingesta de dieta, se muestra una mayor concentración de insulina en suero en el grupo DHG respecto al grupo DNG al tiempo 0 minutos (DNG: 19.44 mU/mL \pm 1.72 vs DHG: 30.04 mU/mL \pm 2.58 $p = 0.0162$) y 30 minutos (DNG: 21.39 mU/mL \pm 0.34 vs DHG: 37.60 mU/mL \pm 1.88 $p = 0.018$) con diferencias significativas, sin cambios a los 60 minutos (DNG: 18.13 mU/mL \pm 1.455 vs. DHG: 22.53 mU/mL \pm 1.683 $p = 0.0516$) y 90 minutos (DNG: 7.630 mU/mL \pm 2.680 vs. DHG: 14.93 mU/mL \pm 1.269 $p = 0.0664$) (Fig. 14A). Por otro lado, la concentración de glucosa fue mayor en el grupo DHG con respecto al grupo DNG al tiempo 0 (DNG: 135.8 mU/mL \pm 8.788 vs. DHG: 139.7 mU/mL \pm 14.62 $p = 0.8170$), al tiempo 30 (DNG: 150.3 mU/mL \pm 22.18 vs. DHG: 188.7 mU/mL \pm 16.19 $p = 0.2501$), al tiempo 60 (DNG: 117.8 mU/mL \pm 8.606 vs. DHG: 142.3 mU/mL \pm 21.53 $p = 0.2881$) y al tiempo 90 minutos (DNG: 117 mU/mL \pm 12 vs. DHG: 164.3 mU/mL \pm 14.89 $p = 0.1118$) sin diferencias significativas a lo largo de la prueba (Fig. 14B).

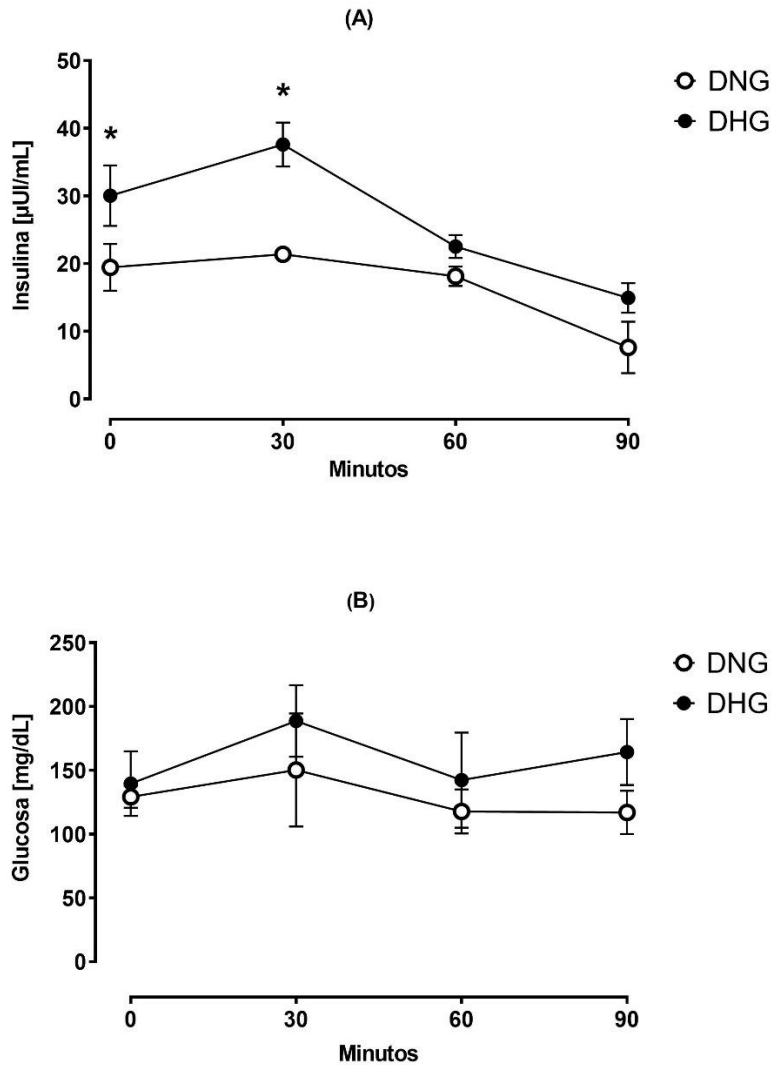


Figura 13: Cuantificación de insulina y glucosa en sangre de animales con dieta normoglúcida y con dieta hiperglúcida. Se graficó la media \pm EEM de 14A: concentración de insulina. 14B: concentración de glucosa en intervalos de 30 minutos. Los animales fueron sacrificados al cumplir 3 meses de ingesta de dieta, $n=6$. T de student $*p < 0.05$.

En el estudio de lípidos (Fig. 15) se analizó la concentración de colesterol, triglicéridos, HDL, LDL y VLDL. Se muestra una mayor concentración de colesterol total (Fig. 15A) en el grupo DHG respecto al grupo DNG (DNG:106.4 mg/dL \pm 3.74 vs. DHG:138.1 mg/dL \pm 5.23 $p = 0.0004$), una mayor concentración de triglicéridos (DNG: 67.75 mg/dL \pm 4.72 vs DHG: 96.83 mg/dL \pm 6.67 $p = 0.0032$) (Fig. 15B), una mayor concentración de HDL (DNG: 41.03 mg/dL \pm 1.57 vs DHG: 31.43 mg/dL \pm 3.26 $p = 0.0178$) (Fig. 15C), una mayor concentración de LDL (DNG: 50.14 mg/dL \pm 2.72 vs DHG: 86.50 mg/dL \pm 3.88 $p = 0.0001$) (Fig. 15D), y una mayor

concentración de VLDL (DNG: 15.26 mg/dL \pm 1.19 vs DHG: 20.15 mg/dL \pm 1.67 p = 0.0333) (Fig. 15E). Se encontraron diferencias significativas en todos los análisis.

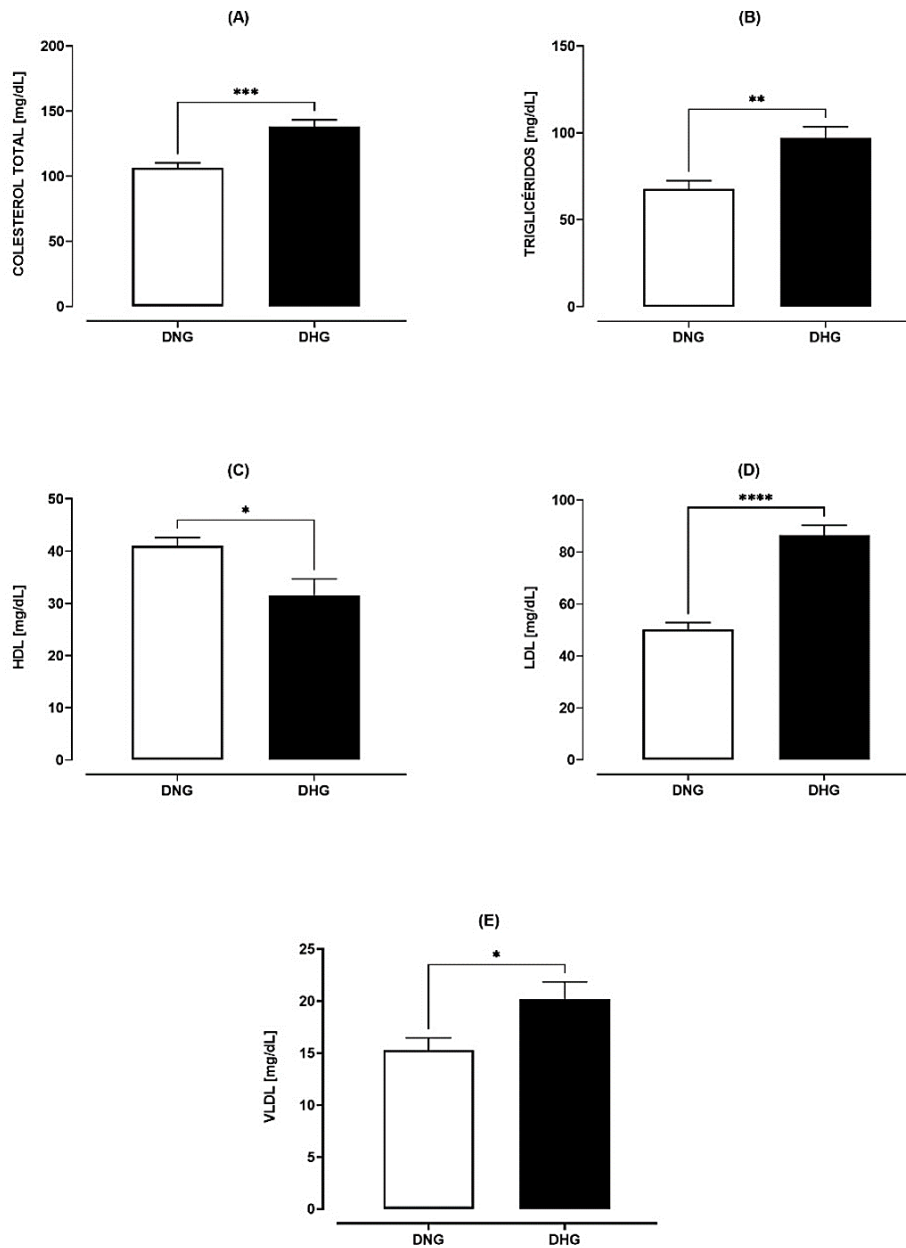


Figura 14: Concentración de lípidos en sangre de animales con DNG y DHG. Cada barra muestra la media \pm EEM de la concentración de 5A: Colesterol Total. 5B: Triglicéridos. 5C: HDL. 5D: LDL. 5E: VLDL. Se sacrificaron a las ratas a los 90 días posteriores de la toma de dieta, n=6. T de Student *p<0.05.

Respecto al análisis de los índices HOMA (Fig. 16), se observa un aumento en el grupo DHG respecto al grupo DNG de HOMA-IR (Fig. 16A) (DNG:1.025 \pm 0.05781 vs. DHG:1.737 \pm 0.2811

$p = 0.0336$), y de HOMA-S% (Fig. 16B) (DNG: 98.48 ± 5.649 $p = 0.0127$) con diferencias significativas, de HOMA-B% (Fig. 16C) (DNG: 51.34 ± 6.840 $p = 0.0863$) sin diferencia significativa, mientras que el índice HIS (Fig. 6D) disminuye en el grupo DHG respecto al grupo DNG (DNG: 7.293 ± 0.4193 vs. DHG: 4.477 ± 0.6617 $p = 0.0128$) con diferencias significativas.

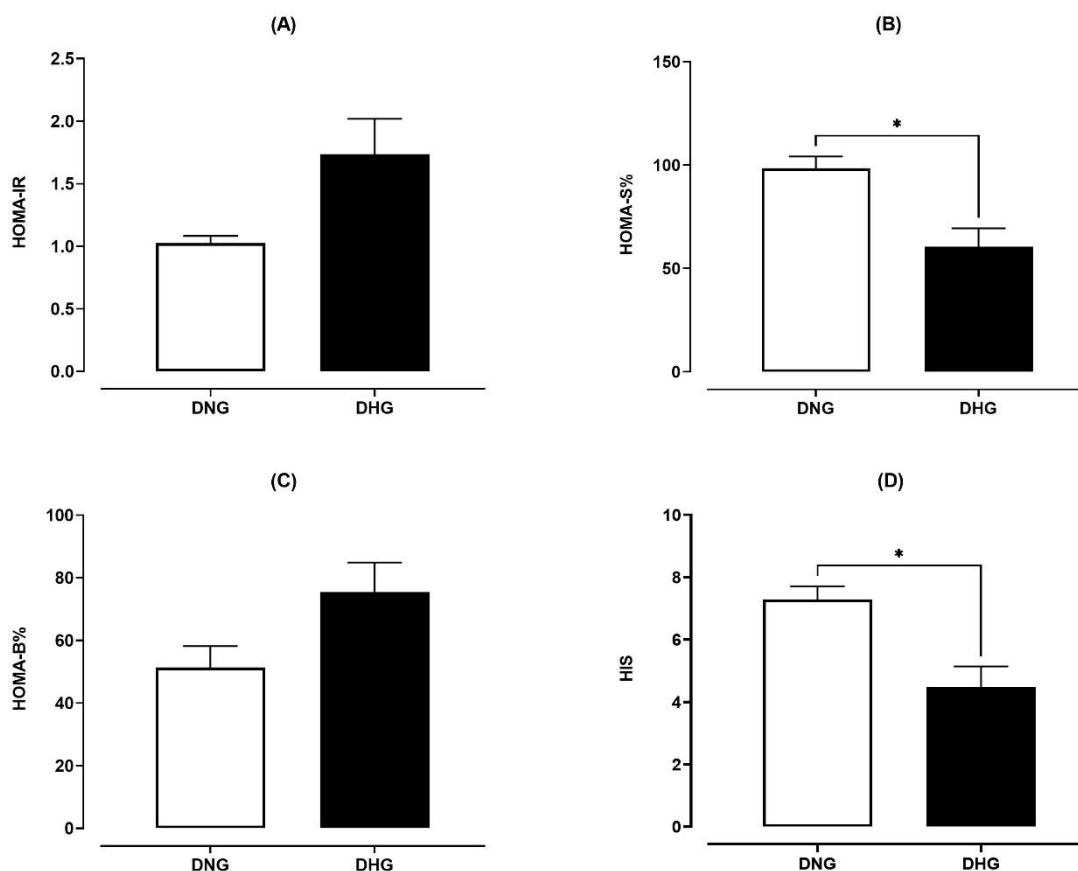


Figura 15: Evaluación del índice HOMA en animales con dieta DNG y DHG. Se muestra la media \pm EEM del porcentaje de 16A: HOMA-IR. 16B: HOMA-S%. 16C: HOMA-B%. 16D: HIS. Se sacrificaron a las ratas a los 90 días posteriores de la toma de dieta, $n=6$. *t-student* * $p < 0.05$.

En el estudio de los índices de riesgo coronario (Fig. 17) se mostró una disminución del índice de disposición de insulina (Fig. 17A) del grupo DHG respecto al grupo DNG (DNG: 0.1475 ± 0.01109 vs. DHG: 0.1376 ± 0.03180 $p = 0.7299$) sin diferencias significativas. Se muestra un aumento en el índice de disfunción adipositaria por resistencia a la insulina (Fig. 17B) en el grupo DHG respecto al grupo DNG (DNG: 0.1950 ± 0.06487 vs. DHG: 0.4167

± 0.05364 $p = 0.0550$) sin diferencias significativas. De igual forma se observa un aumento del Índice aterogénico (Fig. 17C) en el grupo DHG respecto al grupo DNG (DNG: 2.680 ± 0.1799 vs. DHG: 3.367 ± 0.2728 $p = 0.0791$) sin diferencias significativas, así como el Índice de riesgo cardiovascular (Fig. 17D) mostró un aumento en el grupo DHG respecto al grupo DNG (DNG: 3.795 ± 0.3815 vs. DHG: 4.237 ± 0.09838 $p = 0.38$) sin diferencias significativas. En cambio, el Índice de riesgo coronario (Fig. 17E) muestra un aumento en el grupo DHG respecto al grupo DNG (DNG: 1.68 ± 0.1799 vs. DHG: 2.887 ± 0.3927 $p = 0.0274$) con diferencias significativas.

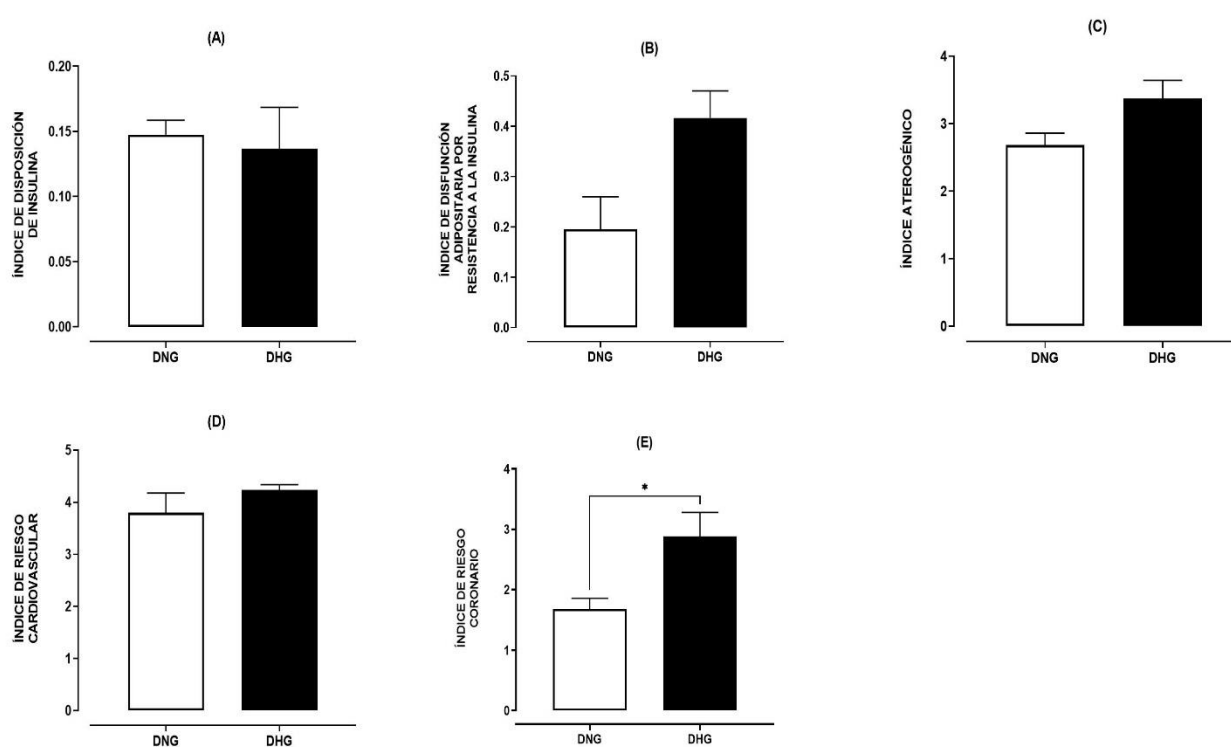


Figura 16: Índices de riesgo coronario en animales con DNG y DHG. Se muestra la media \pm EEM del porcentaje de 17A: Índice de disposición de insulina. 17B: Índice de disfunción adipositaria por resistencia a la insulina. 17C: Índice aterogénico. 17D: Índice de riesgo cardiovascular. 17E: Índice de riesgo coronario a los 90 días posteriores de la ingesta de dieta, $n=6$. *t*-student * $p < 0.05$.

En el estudio del perfil hormonal (Fig. 18) los resultados muestran un aumento en la concentración de LH (Fig. 18A) sin diferencias significativas (DNG: 2.971 UI/mL ± 0.6082 vs. DHG: 3.6 UI/mL ± 0.6782 $p = 0.5034$). Se observa una disminución de FSH (Fig. 18B) sin diferencias significativas (DNG: 4.186 UI/mL ± 0.4506 vs. 3.583 UI/mL ± 0.2926 $p = 0.3041$)

al igual que la P4 (Fig. 18C) (DNG:106.6 ng/mL \pm 11.69 vs DHG: 93.56 \pm 13.11 p = 0.4711). Se muestra un aumento en la concentración de E2 (Fig. 18D) con diferencias significativas (DNG:10.64 pg/mL \pm 1.558 vs. DHG:34.47 \pm 7.674 p = 0.0072). Se muestra un aumento en la concentración de testosterona (Fig. 18E) con diferencias significativas (DNG: 0.1757 ng/mL \pm 0.0097 vs DHG: 0.2533 ng/mL \pm 0.029 p = 0.0202). En el caso de la testosterona libre (Fig. 18F) se muestra un aumento en la concentración en el grupo DHG respecto al grupo DNG (DNG:1.771 \pm 0.4849 pg/mL vs. DHG:2.067 \pm 0.6751 p = 0.7237) sin diferencias significativas. Para el caso de la DHEA (Fig. 18G) se muestra un aumento en la concentración de DHEA en el grupo DHG respecto al grupo DNG (DNG:50.69 ng/mL \pm 4.432 vs. DHG:51.10 ng/mL \pm 2.665 p = 0.9493) sin diferencias significativas. Por último, en la Fig. 18H se observa una disminución en la concentración de PRL en el grupo DHG respecto al grupo DNG (DNG:12.99 ng/mL 6.777 DHG:12.82 ng/mL 5.084 p = 0.9849) sin diferencias significativas.

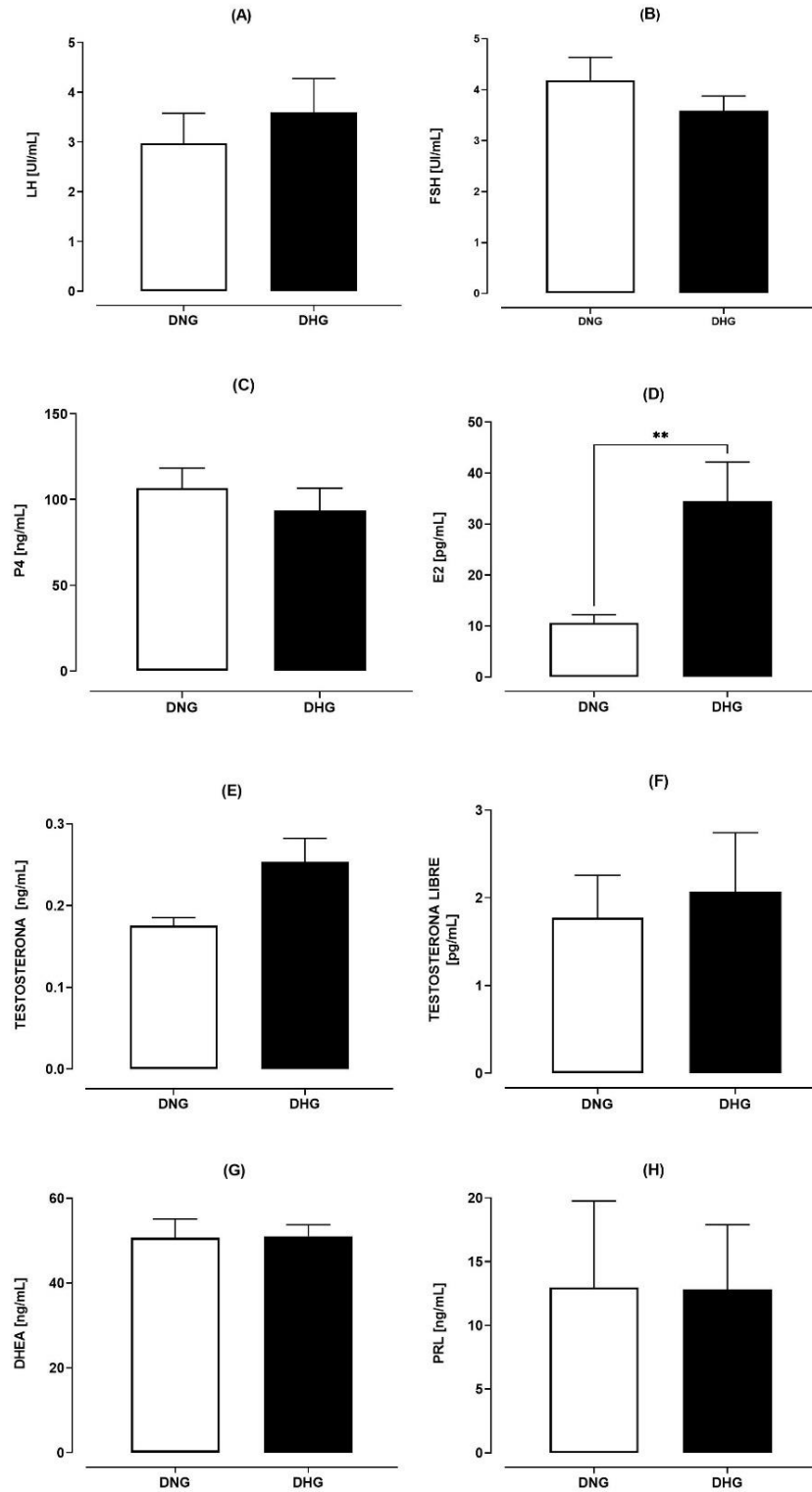


Figura 17: Perfil Hormonal en sangre de animales con dieta normocalórica y con dieta hiperglúcida. Cada barra muestra la media \pm EEM de la concentración de 18A: LH. 18B: FSH. 18C:P4. 185D: E2. 18E: Testosterona. 18F: Testosterona Libre. 18G: DHEA. 18H: Prolactina a los 90 días posteriores de la ingesta de dieta, n=6. t-student *p<0.05.

Discusión

El presente trabajo tuvo la finalidad de analizar los efectos que ocasiona el SM inducido por una dieta hiperglúcida sobre la función ovárica de ratas adultas de la cepa Long-Evans. Se utilizaron ratas hembra recién destetadas a la que se les indujo el SM por ingesta de una dieta hiperglúcida por tres meses desde el destete hasta la edad adulta. A estos animales se les evaluó la zoometría, la AV y la ciclicidad estral durante la inducción del modelo. A los 3 meses de la inducción del modelo, los animales fueron sacrificados tomando en consideración que presentaran un estro en la citología vaginal, y en el suero sanguíneo se analizaron los parámetros bioquímicos de: curva de tolerancia oral a la glucosa, curva de insulina; concentración de colesterol, triglicéridos, HDL, LDL y VLDL; HOMA, HOMA-IR, HOMA-S%, HOMA-B%; índice de disposición de insulina, índice de disfunción adipositaria por resistencia a la insulina, índice aterogénico, índice de riesgo cardiovascular, índice de riesgo coronario; LH, FSH, P4, E2, testosterona, testosterona libre, DHEA y prolactina. Los ovarios, el útero, las glándulas adrenales, el encéfalo y la hipófisis fueron extraídas y se analizó su peso relativo.

En los países en desarrollo, la urbanización y las tendencias demográficas se acompañan de cambios en el estilo y calidad de vida de sus habitantes, lo que conduce al desarrollo de enfermedades crónicas y degenerativas (Cardoso – Saldaña et al. 2008). En México, la dieta alimenticia se caracteriza por consumir productos incompatibles con las pautas alimentarias actuales, como bebidas energéticas y platillos con un alto contenido energético (Valerino-Perea et al., 2019).

Es particularmente importante estudiar el vínculo entre las dietas altas en carbohidratos y la alta predominancia de enfermedades en México, ya que las tasas de prevalencia de obesidad y diabetes se encuentran entre las más altas del mundo (36.1 % y 13.7 %, respectivamente), mientras que las Enfermedades Cerebrovasculares (ECV) siguen siendo la principal causa de muerte en el país (22.7 %). Esta alta carga de enfermedades se ha atribuido a la escasa adherencia de la población a las pautas dietéticas: pocos adultos mexicanos cumplen con la ingesta recomendada de alimentos saludables y la mayoría

excede las recomendaciones de alimentos ricos en energía, grasas y azúcares añadidos (Valerino-Perea et al., 2023).

La caracterización de un modelo experimental que permita evaluar nuevas estrategias de intervención para la prevención y/o tratamiento del SM, sigue siendo un reto para los investigadores que trabajan en este campo. El modelo de inducción de SM por el consumo crónico de dietas hiperglúcidas se ha analizado en ratas macho de la cepa Wistar y Sprague Dawley en donde se ha mostraron las características bioquímicas que demuestran que los animales presentan resistencia a la insulina y un desbalance en metabolismo de carbohidratos y lípidos (Treviño et al. 2015; Leonardi et al., 2020). Sin embargo, solo el 5% de estudios se ha realizado en modelos de roedores hembra (incluyendo ratones y ratas) (Leonardi et al., 2020), por lo que la evidencia no es suficientemente fuerte para pasar de la fase T0 en los estudios traslacionales.

Existe una fuerte correlación entre el SM y el SOP. Las anormalidades metabólicas como hiperinsulinemia, intolerancia a la glucosa y la consiguiente diabetes mellitus tipo II (Ehrmann et al. 1999, Park et al. 2001), obesidad, dislipidemia (Moran et al. 2010) y el síndrome cardiometabólico (Hoffman y Ehrmann 2008) se observan con bastante frecuencia en pacientes con SOP.

La prevalencia de la RI en pacientes con SOP oscila entre el 50 y el 70% (Dunaif 1997, Park et al. 2001, Carmina y Lobo 2004) y se produce independientemente de la obesidad (Dunaif et al. 1989). El efecto de la obesidad puede agravar la RI (Dunaif et al. 1989). Los niveles elevados de insulina aumentan la producción de andrógenos al aumentar la secreción de LH de la glándula pituitaria, actuando sinérgicamente con la LH en las células tecales y reduciendo la síntesis hepática de globulina transportadora de hormonas sexuales séricas (Nestler et al. 1991, Balen 2004, Sheehan 2004). La exposición a insulina en cultivos de células de la adenohipófisis causa un aumento dosis-dependiente en la liberación de LH basal y estimula la GnRH y la FSH (Adashi et al. 1981, Soldani et al. 1994, 1995). La hiperinsulinemia y la RI a largo plazo conducen a un aumento en los niveles séricos de testosterona total y libre (Adashi et al. 1981, Declue et al. 1991).

Si bien las dietas altas en grasas pueden ocasionar problemas en la función ovárica de las ratas hembra, hay poca evidencia de lo que ocasiona las dietas altas en carbohidratos en dichos animales, en especial en la cepa Long Evans. Dado lo anterior, en este estudio se utilizó el modelo de SM por ingesta de dietas hiperglúcidas en la rata hembra Long Evans.

Nuestros resultados mostraron que los parámetros zoométricos de animales con SM no mostraron una diferencia significativa con respecto al peso corporal, la talla y la circunferencia abdominal, a pesar de la diferencia del contenido calórico en las dietas proporcionadas. En ratas macho se ha mostrado un incremento en el peso corporal de estas ratas, sin embargo, no hay evidencias de lo que ocasiona este tipo de dietas en el peso de las ratas hembras (Treviño et al., 2015; Díaz et al., 2018). Existen estudios en donde han analizado dietas altas en grasas (HFD) durante 120 – 180 días en ratas hembra de la cepa Sprague Dawley y se ha mostrado que no hay diferencias en el peso corporal (Patel y Shah, 2018). Podemos validar la presencia del SM en el grupo DHG no solo por la RI manifestada ya que igualmente se manifestó el criterio de dislipidemia en todos los parámetros evaluados que culminan con un alto índice de riesgo coronario. Los datos concuerdan con los valores bioquímicos presentados en el grupo de investigación al analizar esta dieta (Treviño et al., 2015; Díaz et al., 2018; Fuentes et al. 2023). El desarrollo de RI y una mayor intolerancia a la glucosa en animales alimentados con una dieta hiperglicémica no se asoció con un aumento de peso corporal. Un estudio más detallado que pueda analizar los cambios en el hígado y el tejido adiposo puede ayudar a comprender la posible causa de la resistencia a la insulina sin desarrollar obesidad, tal como lo propone Patel y Shah en el 2018, en el modelo de dietas altas en grasas.

El inicio de la pubertad en ratas puede monitorearse a través de la AV y algunos estudios han señalado que la pubertad y la ciclicidad estral mantienen una dependencia con los cambios ambientales y nutricionales. En el trabajo de De Melo et. al. (2021), el grupo experimental recibió una dieta alta en sacarosa y observaron que el grupo experimental comenzó la pubertad antes que el grupo control. Si bien las ratas del presente experimento no mostraron el mismo adelanto, la desregulación del ciclo estral es un indicio de la disfunción ovárica.

Respecto a la ciclicidad de los animales, se observó la manifestación de estros persistentes en la citología vaginal en el grupo con SM. Lo anterior puede ser debido a que el aumento de insulina promueve la desregulación ovárica pues este órgano conserva la sensibilidad hacia dicha hormona (Zhao et. al. 2023).

La ciclicidad de este ciclo también depende de que las hormonas gonadotrópicas se liberen correctamente. Es muy probable que los problemas metabólicos repercutan en el eje hipotálamo-adenohipófisis-ovario. Durante este padecimiento también encontramos fallos en la regulación de la síntesis de hormonas gonadotrópicas. De hecho, la leptina, una hormona sintetizada en el tejido adiposo, actúa indirectamente sobre la GnRH a través de neuronas adyacentes que expresan el receptor de leptina para afectar las actividades neuronales de GnRH. Incluso la inflamación hipotalámica llega a perjudicar en el proceso ovulatorio haya o no obesidad (Chen et al., 2022). Una importante relación del SM respecto a problemas de disfunción ovárica (tales como el SOP) reside en el aumento de tejido adiposo, el cual funge como una glándula endocrina que se encarga de los procesos inflamatorios al ser responsable de la producción de hormonas como la leptina y la adiponectina, el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α por sus siglas en inglés), la interleucina 6 (IL-6) y por su participación en la conversión de corticoesteroides y hormonas sexuales esteroideas (Abraham Gnanadass et al., 2021).

Se debe mencionar que la hiperinsulinemia inhibe la síntesis de proteínas de unión al factor de crecimiento insulinoide 1 (IGF-I), lo que produce un aumento de IGF-I libre en la circulación que al entrar en contacto con las células de la teca promueven la producción de andrógenos, lo que conduce a la apoptosis de las células de la teca y la inhibición de la foliculogénesis. También se ha informado que la insulina estimula a la adenohipófisis para que libere LH, lo que podría aumentar la biosíntesis de andrógenos ováricos y adrenales, y comprometer la función ovárica (Sadeghi et al., 2022). En nuestros resultados se ha encontrado un aumento de testosterona libre, pero más aun un aumento en la concentración de estrógenos, lo que sugiere una mayor actividad en las células de la granulosa, y que está estrechamente relacionado a la presencia de estros persistentes.

En otro tipo de dietas como la alimentación con dieta alta en grasas (HFD, por sus siglas en inglés) durante 120-180 días a ratas adultas se ha mostrado que se produce RI, hiperinsulinemia, niveles séricos aumentados de progesterona, ciclo estral extendido y morfología ovárica alterada en ratas (Patel y Shah, 2018).

Un ejemplo de las repercusiones del SM en el SOP es el estudio de He *et. al.* (2019) en el que compararon el tratamiento que recibieron las pacientes de SOP para los problemas de infertilidad contra el tratamiento contra la infertilidad implementado en pacientes con SOP y SM en donde encontraron que el SM estuvo presente en un 27.2% de las pacientes del estudio, las cuales tuvieron un tratamiento contra la infertilidad de mayor duración (4.0 ± 2.2 años vs 3.7 ± 2.2 años, $p = 0.004$). El grupo de mujeres con SM mostró más casos con disfunción de la ovulación e infertilidad por factor tubárico (60.5 vs. 52.5%, $p = 0,005$) pero menos casos con disfunción de la ovulación e infertilidad por factor masculino (15.6% vs. 22.9%, $p = 0,002$) que aquellas sin SM (Y. He et al., 2019).

Un estudio *in vivo* con ratas demostró que las concentraciones altas de glucosa en sangre junto con un estado de inflamación pueden desencadenar la síntesis de PRL en el tejido adiposo. Algunos creen que la hiperprolactinemia no es más frecuente en mujeres con SOP y que cualquier asociación entre ellas es casual. Otros creen que la hiperprolactinemia puede ser una parte integral del SOP y que el SOP con hiperprolactinemia puede ser un fenotipo específico del SOP (Emanuel et al., 2022). También se ha demostrado que la hiperprolactinemia induce un estado de resistencia a la insulina en cohortes con SOP, sin embargo, en nuestro estudio no se encontró una diferencia significativa entre grupos para el estudio de PRL.

Conclusiones

El consumo de dietas hiperglicémicas a partir de la edad infantil en ratas hembra de la cepa Long Evans produce tanto alteraciones metabólicas como cambios en la ciclicidad presentando hiperandrogenismo e hiperestrogenismo inducido por la hiperinsulinemia, lo que nos podría apoyar a comprender como las dietas altas en carbohidratos pudieran ocasionar un desbalance hormonal, lo cual en un momento dado podría correlacionarse con la patogenia del SOP en mujeres con RI.

Referencias

- Abraham Gnanadass, S., Divakar Prabhu, Y., & Valsala Gopalakrishnan, A. (2021). Association of metabolic and inflammatory markers with polycystic ovarian syndrome (PCOS): an update. En *Archives of Gynecology and Obstetrics* 303 (3). <https://doi.org/10.1007/s00404-020-05951-2>
- Ajayi, A. F., & Akhigbe, R. E. (2020). Staging of the estrous cycle and induction of estrus in experimental rodents: an update. *Fertility Research and Practice*, 6(1). <https://doi.org/10.1186/s40738-020-00074-3>
- Akintayo, C. O., Johnson, A. D., Badejogbin, O. C., Olaniyi, K. S., Oniyide, A. A., Ajadi, I. O., Ojewale, A. O., Adeyomoye, O. I., & Kayode, A. B. (2021). High fructose-enriched diet synergistically exacerbates endocrine but not metabolic changes in letrozole-induced polycystic ovarian syndrome in Wistar rats. *Heliyon*, 7(1). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05890>
- Balen, A. (2004). The pathophysiology of polycystic ovary syndrome: trying to understand PCOS and its endocrinology. *Best practice & research clinical obstetrics & gynaecology*, 18(5), 685-706.
- Banik, S. D., Pacheco-Pantoja, E., Lugo, R., Gómez-De-regil, L., Aké, R. C., González, R. M. M., & Solis, A. L. G. (2021). Evaluation of anthropometric indices and lipid parameters to predict metabolic syndrome among adults in Mexico. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity*, 14. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S281894>
- Bienenfeld, A., Azarchi, S., Lo Sicco, K., Marchbein, S., Shapiro, J., & Nagler, A. R. (2019). Androgens in women: Androgen-mediated skin disease and patient evaluation. En *Journal of the American Academy of Dermatology* (Vol. 80, Número 6). <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2018.08.062>
- Bommelaer-Bayet, M. C., Wisner, A., Renard, C. A., Levi, F. A., & Dray, F. (1990). Circadian and Estral Changes in the Hypothalamic Prostaglandin E2 Content and [3H]Prostaglandin E2 Binding in Female Rats. *Journal of Neuroendocrinology*, 2(2). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.1990.tb00850.x>
- Bravo-Benitez, J. M., Cruz, Y., Lucio, R. A., Venegas, B., Díaz, A., Morales-Ledesma, L., Domínguez, R., & Morán, C. (2022). Intrinsic innervation of the ovary and its variations in the rat senescence process. *Journal of Molecular Histology*, 53(2). <https://doi.org/10.1007/s10735-022-10069-7>
- Burger, H. G. (2002). Androgen production in women. *Fertility and Sterility*, 77(SUPPL. 4). [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(02\)02985-0](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(02)02985-0)

- Cardoso, Saldaña. (2008). Exceso de peso y síndrome metabólico en adolescentes en la Ciudad de México. *Archivo de Cardiología México*, 80 (1).
- Cardozo, E., Pavone, M. E., & Hirshfeld-Cytron, J. E. (2011). Metabolic syndrome and oocyte quality. En *Trends in Endocrinology and Metabolism* (Vol. 22, Número 3). <https://doi.org/10.1016/j.tem.2010.12.002>
- Carrasco García, A. A., Ángel, M., Pernas, C., Cabrera, P. P., & Castilla, P. C. (2008). Estudio de la actividad contractil uterina basal durante el ciclo estral de la rata Study of basal activity uterine contractile during the cycle estral of the rat. *Revista Médica de la Universidad Veracruzana*, 8(1).
- Chen, X., Xiao, Z., Cai, Y., Huang, L., & Chen, C. (2022). Hypothalamic mechanisms of obesity-associated disturbance of hypothalamic–pituitary–ovarian axis. En *Trends in Endocrinology and Metabolism* (Vol. 33, Número 3). <https://doi.org/10.1016/j.tem.2021.12.004>
- Cora, M. C., Kooistra, L., & Travlos, G. (2015). Vaginal Cytology of the Laboratory Rat and Mouse: Review and Criteria for the Staging of the Estrous Cycle Using Stained Vaginal Smears. *Toxicologic Pathology*, 43(6). <https://doi.org/10.1177/0192623315570339>
- Coticchio, G., Dal Canto, M., Renzini, M. M., Guglielmo, M. C., Brambillasca, F., Turchi, D., Novara, P. V., & Fadini, R. (2014). Oocyte maturation: Gamete-somatic cells interactions, meiotic resumption, cytoskeletal dynamics and cytoplasmic reorganization. *Human Reproduction Update*, 21(4). <https://doi.org/10.1093/humupd/dmv011>
- Cussen, L., McDonnell, T., Bennett, G., Thompson, C. J., Sherlock, M., & O'Reilly, M. W. (2022a). Approach to androgen excess in women: Clinical and biochemical insights. En *Clinical Endocrinology* (Vol. 97, Número 2). <https://doi.org/10.1111/cen.14710>
- Cussen, L., McDonnell, T., Bennett, G., Thompson, C. J., Sherlock, M., & O'Reilly, M. W. (2022b). Approach to androgen excess in women: Clinical and biochemical insights. En *Clinical Endocrinology* (Vol. 97, Número 2). <https://doi.org/10.1111/cen.14710>
- D'Albora, H., Anesetti, G., Lombide, P., Les Dees, W., & Ojeda, S. R. (2002). Intrinsic neurons in the mammalian ovary. En *Microscopy Research and Technique* (Vol. 59, Número 6). <https://doi.org/10.1002/jemt.10231>
- DeBoer, M. D. (2011). Ethnicity, obesity and the metabolic syndrome: Implications on assessing risk and targeting intervention. En *Expert Review of Endocrinology and Metabolism* (Vol. 6, Número 2). <https://doi.org/10.1586/eem.11.17>
- Dejana, R., Nikola, J., Marija, B. I., Aleksandra, D., Ognjen, D., Tatjana, V., Kristina, A., Vladimir, J., & Jovana, J. J. (2021). Challenges in Establishing a Relevant Model of

- Polycystic Ovary Syndrome in Rats – A Mini Review. *Serbian Journal of Experimental and Clinical Research*, 0(0). <https://doi.org/10.2478/sjecr-2021-0034>
- de Melo, G. B., Soares, J. F., Costa, T. C. L., Benevides, R. O. A., Vale, C. C., Paes, A. M. de A., & Gaspar, R. S. (2021). Early Exposure to High-Sucrose Diet Leads to Deteriorated Ovarian Health. *Frontiers in Endocrinology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.656831>
- Dewailly, D. (2016). Diagnostic criteria for PCOS: Is there a need for a rethink? *En Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology* (Vol. 37). <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2016.03.009>
- Diamanti-Kandarakis, E., & Dunaif, A. (2012). Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome revisited: An update on mechanisms and implications. *Endocrine Reviews*, 33(6). <https://doi.org/10.1210/er.2011-1034>
- Dissen, G. A., Garcia-Rudaz, C., & Ojeda, S. R. (2009). Role of neurotrophic factors in early ovarian development. *En Seminars in Reproductive Medicine* (Vol. 27, Número 1). <https://doi.org/10.1055/s-0028-1108007>
- Duffy, D. M., Ko, C., Jo, M., Brannstrom, M., & Curry, T. E. (2019). Ovulation: Parallels with inflammatory processes. *En Endocrine Reviews* (Vol. 40, Número 2). <https://doi.org/10.1210/er.2018-00075>
- Dunaif A, Segal KR, Futterweit W, Dobrjansky A. Profound peripheral insulin resistance, independent of obesity, in polycystic ovary syndrome. *Diabetes*. 1989 Sep;38(9):1165-74. doi: 10.2337/diab.38.9.1165. PMID: 2670645.
- Emanuel, R. H. K., Roberts, J., Docherty, P. D., Lunt, H., Campbell, R. E., & Möller, K. (2022). A review of the hormones involved in the endocrine dysfunctions of polycystic ovary syndrome and their interactions. *En Frontiers in Endocrinology* (Vol. 13). <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1017468>
- Fuentes, N., & Silveyra, P. (2019). Estrogen receptor signaling mechanisms. *En Advances in Protein Chemistry and Structural Biology* (Vol. 116). <https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2019.01.001>
- Fuentes, E., Venegas, B., Muñoz-Arenas, G., Moran, C., Vazquez-Roque, R. A., Flores, G., ... & Guevara, J. (2023). High-carbohydrate and fat diet consumption causes metabolic deterioration, neuronal damage, and loss of recognition memory in rats. *Journal of chemical neuroanatomy*, 129, 102237.
- Gallo-Payet, N., & Battista, M. C. (2014). Steroidogenesis-adrenal cell signal transduction. *Comprehensive Physiology*, 4(3). <https://doi.org/10.1002/cphy.c130050>

- García-Sáenz, M. R., Ferreira-Hermosillo, A., & Lobaton-Ginsberg, M. (2022). [Proinflammatory cytokines in polycystic ovarian syndrome]. *Revista medica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 60(5).
- Gerendai, I., Banczerowski, P., & Halász, B. (2005). Functional significance of the innervation of the gonads. *En Endocrine* (Vol. 28, Número 3). <https://doi.org/10.1385/ENDO:28:3:309>
- Gershon, E., & Dekel, N. (2020). Newly identified regulators of ovarian folliculogenesis and ovulation. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(12). <https://doi.org/10.3390/ijms21124565>
- Gilbert, E. W., Tay, C. T., Hiam, D. S., Teede, H. J., & Moran, L. J. (2018). Comorbidities and complications of polycystic ovary syndrome: An overview of systematic reviews. *En Clinical Endocrinology* (Vol. 89, Número 6). <https://doi.org/10.1111/cen.13828>
- Gutiérrez-Solis, A. L., Datta Banik, S., & Méndez-González, R. M. (2018). Prevalence of Metabolic Syndrome in Mexico: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*, 16(8). <https://doi.org/10.1089/met.2017.0157>
- He, F. F., & Li, Y. M. (2020). Role of gut microbiota in the development of insulin resistance and the mechanism underlying polycystic ovary syndrome: A review. *En Journal of Ovarian Research* (Vol. 13, Número 1). <https://doi.org/10.1186/s13048-020-00670-3>
- Hernández López, L. E., Mondragón Ceballos, R., Estrada Camarena, E. M., Mondragón Ceballos, R., & Barrios De Tomasi, J. (2023). Evaluación de las fases del ciclo estral de la rata mediante frotis vaginales y mediciones hormonales. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(2), 7482–7505. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i2.5877
- He, Y., Lu, Y., Zhu, Q., Wang, Y., Lindheim, S. R., Qi, J., Li, X., Ding, Y., Shi, Y., Wei, D., Chen, Z. jiang, & Sun, Y. (2019). Influence of metabolic syndrome on female fertility and in vitro fertilization outcomes in PCOS women. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 221(2). <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2019.03.011>
- Hoffman LK, Ehrmann DA. Cardiometabolic features of polycystic ovary syndrome. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*. 2008 Apr;4(4):215-22. doi: 10.1038/ncpendmet0755. Epub 2008 Feb 5. PMID: 18250636.
- Huang, P. L. (2009). A comprehensive definition for metabolic syndrome. *En DMM Disease Models and Mechanisms* (Vol. 2, Números 5–6). <https://doi.org/10.1242/dmm.001180>
- Ibáñez, L., Oberfield, S. E., Witchel, S., Auchus, R. J., Chang, R. J., Codner, E., Dabadghao, P., Darendeliler, F., Elbarbary, N. S., Gambineri, A., Garcia Rudaz, C., Hoeger, K. M., López-Bermejo, A., Ong, K., Peña, A. S., Reinehr, T., Santoro, N., Tena-Sempere, M., Tao, R., ... Lee, P. A. (2017). An International Consortium Update: Pathophysiology, Diagnosis,

and Treatment of Polycystic Ovarian Syndrome in Adolescence. En *Hormone Research in Paediatrics* (Vol. 88, Número 6). <https://doi.org/10.1159/000479371>

Jameson, J. L., Kasper, D. L., Longo, D. L., Fauci, A. S., Hasuer, S. L., & Loscalzo, J. (2021). *Harrison Principles of Internal Medicine 21st ed.* McGraw-Hill Education, 1.

Jones, B. C., Hahn, A. C., & DeBruine, L. M. (2019). Ovulation, Sex Hormones, and Women's Mating Psychology. En *Trends in Cognitive Sciences* (Vol. 23, Número 1). <https://doi.org/10.1016/j.tics.2018.10.008>

Klochov, D. V., & Gulevich, R. G. (1994). Potentsial'naia plodovitost', émbriónal'noe razvitie i gormonal'nyĩ status krysa, selektsionirovannykh po reaktsii éstral'nogo tsikla na postoiannoe osveshchenie. *Zhurnal obshchei biologii*, 55(4–5).

Kooistra, H., & Okkens, A. (2001). Secretion of Prolactin and Growth Hormone in Relation to Ovarian Activity in the Dog. *Reproduction in Domestic Animals*, 36(3–4). <https://doi.org/10.1046/j.1439-0531.2001.00311.x>

Krsmanovic, L. Z., Hu, L., Leung, P. K., Feng, H., & Catt, K. J. (2009). The hypothalamic GnRH pulse generator: multiple regulatory mechanisms. En *Trends in Endocrinology and Metabolism* (Vol. 20, Número 8). <https://doi.org/10.1016/j.tem.2009.05.002>

Leite, C. M., Kalil, B., Uchôa, E. T., Antunes-Rodrigues, J., Elias, L. K. L., Levine, J. E., & Anselmo-Franci, J. A. (2016). Progesterone-induced amplification and advancement of GnRH/LH surges are associated with changes in kisspeptin system in preoptic area of estradiol-primed female rats. *Brain Research*, 1650. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2016.08.021>

Leonardi BF, Gosmann G, Zimmer AR. Modeling Diet-Induced Metabolic Syndrome in Rodents. *Mol Nutr Food Res*. 2020 Nov;64(22):e2000249. doi: 10.1002/mnfr.202000249. Epub 2020 Oct 8. PMID: 32978870.

Leung, P. C. K., & Adashi, E. Y. (2003). *The Ovary: Second Edition*. En *The Ovary: Second Edition*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-444562-8.X5000-9>

Liu, Y. X., Gao, F., Wei, P., Chen, X. L., Gao, H. J., Zou, R. J., Siao, L. J., Xu, F. H., Feng, Q., Liu, K., & Hu, Z. Y. (2005). Involvement of molecules related to angiogenesis, proteolysis and apoptosis in implantation in rhesus monkey and mouse. *Contraception*, 71(4). <https://doi.org/10.1016/j.contraception.2004.12.008>

Li, Y., Chen, C., Ma, Y., Xiao, J., Luo, G., Li, Y., & Wu, D. (2019). Multi-system reproductive metabolic disorder: significance for the pathogenesis and therapy of polycystic ovary syndrome (PCOS). En *Life Sciences* (Vol. 228). <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.04.046>

- Matsuzaki, S. (2021). Mechanobiology of the female reproductive system. En *Reproductive Medicine and Biology* (Vol. 20, Número 4). <https://doi.org/10.1002/rmb2.12404>
- McGee, E. A., & Hsueh, A. J. W. (2000). Initial and Cyclic Recruitment of Ovarian Follicles*. *Endocrine Reviews*, 21(2). <https://doi.org/10.1210/edrv.21.2.0394>
- Medeiros, S. F. De, Barbosa, B. B., Medeiros, M. A. S. De, & Yamamoto, M. M. W. (2021). Morphology and Biochemistry of Ovulation. En *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetricia* (Vol. 43, Número 6). <https://doi.org/10.1055/s-0041-1731379>
- Meinel, S., Blohberger, J., Berg, D., Berg, U., Dissen, G. A., Ojeda, S. R., & Mayerhofer, A. (2015). Pro-nerve growth factor in the ovary and human granulosa cells. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, 24(2). <https://doi.org/10.1515/hmbci-2015-0028>
- Mendoza-Caamal, E. C., Barajas-Olmos, F., Garcíá-Ortiz, H., Cicerón-Arellano, I., Martínez-Hernández, A., Córdova, E. J., Esparza-Aguilar, M., Contreras-Cubas, C., Centeno-Cruz, F., Cid-Soto, M., Morales-Marín, M. E., Reséndiz-Rodríguez, A., Jiménez-Ruiz, J. L., Salas-Martínez, M. G., Saldanña-Alvarez, Y., Mirzaeicheshmeh, E., Rojas-Martínez, M. R., & Orozco, L. (2020). Metabolic syndrome in indigenous communities in Mexico: A descriptive and cross-sectional study. *BMC Public Health*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s12889-020-8378-5>
- Messinis, I. E., Messini, C. I., & Dafopoulos, K. (2010). The role of gonadotropins in the follicular phase. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1205. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05660.x>
- Miller, W. L., & Strauss, J. F. (1999). Molecular pathology and mechanism of action of the steroidogenic acute regulatory protein, STAR. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 69(1–6). [https://doi.org/10.1016/S0960-0760\(98\)00153-8](https://doi.org/10.1016/S0960-0760(98)00153-8)
- Moreno-Fernández, S., Garcés-Rimón, M., Vera, G., Astier, J., Landrier, J. F., & Miguel, M. (2018). High fat/high glucose diet induces metabolic syndrome in an experimental rat model. *Nutrients*, 10(10). <https://doi.org/10.3390/nu10101502>
- Nagy, B., Szekeres-Barthó, J., Kovács, G. L., Sulyok, E., Farkas, B., Várnagy, Á., Vértes, V., Kovács, K., & Bódis, J. (2021). Key to life: Physiological role and clinical implications of progesterone. En *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Número 20). <https://doi.org/10.3390/ijms222011039>
- Nestler, Powers, Matt, Steingold, Plymate, Rittmaster, Clore, Blackard. (1991). A Direct Effect of Hyperinsulinemia on Serum Sex Hormone-Binding Globulin Levels in Obese Women with the Polycystic Ovary Syndrome, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, Volume 72, Issue 1, 1 January 1991, Pages 83–89, <https://doi.org/10.1210/jcem-72-1-83>

- Nilsson, E., Dole, G., & Skinner, M. K. (2009). Neurotrophin NT3 promotes ovarian primordial to primary follicle transition. *Reproduction*, 138(4). <https://doi.org/10.1530/REP-09-0179>
- Niño, O. M. S., da Costa, C. S., Torres, K. M., Zanol, J. F., Freitas-Lima, L. C., Miranda-Alves, L., & Graceli, J. B. (2020). High-refined carbohydrate diet leads to polycystic ovary syndrome-like features and reduced ovarian reserve in female rats. *Toxicology Letters*, 332. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2020.07.002>
- Of journal "Morphologia", E. office. (2019). *Histology: A Text and Atlas: With Correlated Cell and Molecular Biology*. Eighth Edition, 2018 Authors: Wojciech Pawlina; Michael H. Ross. *Morphologia*, 13(4). <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2019.4.76-89>
- Ortiz-Rodríguez, M. A., Bautista-Ortiz, L. F., Villa, A. R., Antúnez-Bautista, P. K., Aldaz-Rodríguez, M. V., Estrada-Luna, D., Denova-Gutiérrez, E., Camacho-Díaz, B. H., & Martínez-Salazar, M. F. (2022). Prevalence of Metabolic Syndrome among Mexican Adults. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*, 20(5). <https://doi.org/10.1089/met.2021.0115>
- Patel, R., & Shah, G. (2018). High-fat diet exposure from pre-pubertal age induces polycystic ovary syndrome (PCOS) in rats. *Reproduction*, 155(2). <https://doi.org/10.1530/REP-17-0584>
- Plant, T. M. (2020). The neurobiological mechanism underlying hypothalamic GnRH pulse generation: the role of kisspeptin neurons in the arcuate nucleus. *F1000Research*, 8. <https://doi.org/10.12688/f1000research.18356.2>
- Plant, T. M., Zeleznik, A. J., Albertini, D. F., Goodman, R. L., Mccarthy, M. M., Muglia, L. J., & Richards, J. S. (2015). *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction Fourth Edition Volume 2. Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*, 2.
- Prashar, V., Arora, T., Singh, R., Sharma, A., & Parkash, J. (2023). Hypothalamic Kisspeptin Neurons: Integral Elements of the GnRH System. *En Reproductive Sciences (Vol. 30, Número 3)*. <https://doi.org/10.1007/s43032-022-01027-5>
- Rakic, D., Jaksimovic Jovic, J., Jakovljevic, V., Zivkovic, V., Nikolic, M., Sretenovic, J., Nikolic, M., Jovic, N., Bicanin Ilic, M., Arsenijevic, P., Dimitrijevic, A., Vulovic, T., Ristic, N., Bulatovic, K., Bolevich, S., Stijak, L., & Pantovic, S. (2023). High Fat Diet Exaggerate Metabolic and Reproductive PCOS Features by Promoting Oxidative Stress: An Improved EV Model in Rats. *Medicina (Lithuania)*, 59(6). <https://doi.org/10.3390/medicina59061104>
- Raptis, N., Mandell, H., Grimm, L., Radley, E., Oso, C., Pavlovic, Z. J., Anderson, J., Jeelani, R., & Beltsos, A. (2020). DO ANDROGENS MAKE STRAIGHT A STUDENTS?: EXPLORING THE

LINK BETWEEN HYPERANDROGENISM AND BLASTOCYST GRADE. *Fertility and Sterility*, 114(3). <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.08.869>

Richards, J. A. S. (2007). Genetics of ovulation. En *Seminars in Reproductive Medicine* (Vol. 25, Número 4). <https://doi.org/10.1055/s-2007-980217>

Richards, J. A. S. (2018). The Ovarian Cycle. En *Vitamins and Hormones* (Vol. 107). <https://doi.org/10.1016/bs.vh.2018.01.009>

Richards, J. A. S., Russell, D. L., Robker, R. L., Dajee, M., & Alliston, T. N. (1998). Molecular mechanisms of ovulation and luteinization. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 145(1–2). [https://doi.org/10.1016/S0303-7207\(98\)00168-3](https://doi.org/10.1016/S0303-7207(98)00168-3)

Riquelme, R., Ruz, F., Mayerhofer, A., & Lara, H. n. E. (2019). Role of ovarian sympathetic nerves and cholinergic local system during cold stress. *Journal of Endocrinology*, 242(2). <https://doi.org/10.1530/JOE-19-0125>

Sadeghi, H. M., Adeli, I., Calina, D., Docea, A. O., Mousavi, T., Daniali, M., Nikfar, S., Tsatsakis, A., & Abdollahi, M. (2022). Polycystic Ovary Syndrome: A Comprehensive Review of Pathogenesis, Management, and Drug Repurposing. En *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 23, Número 2). <https://doi.org/10.3390/ijms23020583>

Saklayen, M. G. (2018). The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. En *Current Hypertension Reports* (Vol. 20, Número 2). <https://doi.org/10.1007/s11906-018-0812-z>

Sanchez-Garrido, M. A., & Tena-Sempere, M. (2020). Metabolic dysfunction in polycystic ovary syndrome: Pathogenic role of androgen excess and potential therapeutic strategies. En *Molecular Metabolism* (Vol. 35). <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2020.01.001>

Seppä, S., Kuiri, T. H., Holopainen, E., & Voutilainen, R. (2021). Diagnosis and management of primary amenorrhea and female delayed puberty. En *European Journal of Endocrinology* (Vol. 184, Número 6). <https://doi.org/10.1530/EJE-20-1487>

Sheehan, M. T. (2004). Polycystic ovarian syndrome: diagnosis and management. *Clinical medicine and research*, 2(1), 13.

Shrivastava, S., & Conigliaro, R. L. (2023). Polycystic Ovarian Syndrome. En *Medical Clinics of North America* (Vol. 107, Número 2). <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2022.10.004>

Simpson, E. R., Clyne, C., Rubin, G., Wah, C. B., Robertson, K., Britt, K., Speed, C., & Jones, M. (2002). Aromatase - A brief overview. En *Annual Review of Physiology* (Vol. 64). <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.64.081601.142703>

- Starrett, J. R., & Moenter, S. M. (2023). Hypothalamic kisspeptin neurons as potential mediators of estradiol negative and positive feedback. *Peptides*, 163. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2023.170963>
- Suckow, M. A., Wilson, R. P., Hankenson, F. C., & Foley, P. L. (2019). The laboratory rat. *En The Laboratory Rat*. <https://doi.org/10.1016/C2017-0-01188-6>
- Sundström-Poromaa, I., Comasco, E., Sumner, R., & Luders, E. (2020). Progesterone – Friend or foe? *En Frontiers in Neuroendocrinology* (Vol. 59). <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2020.100856>
- Tamanini, C., & De Ambrogi, M. (2004). Angiogenesis in developing follicle and corpus luteum. *En Reproduction in Domestic Animals* (Vol. 39, Número 4). <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2004.00505.x>
- Tosi, F., Bonora, E., & Moghetti, P. (2017). Insulin resistance in a large cohort of women with polycystic ovary syndrome: A comparison between euglycaemic-hyperinsulinaemic clamp and surrogate indexes. *Human Reproduction*, 32(12). <https://doi.org/10.1093/humrep/dex308>
- Treviño S, Sánchez-Lara E, Sarmiento-Ortega VE, Sánchez-Lombardo I, Flores-Hernández JÁ, Pérez-Benítez A, Brambila-Colombres E, González-Vergara E. Hypoglycemic, lipid-lowering and metabolic regulation activities of metforminium decavanadate (H2Metf)3 [V10O28]·8H2O using hypercaloric-induced carbohydrate and lipid deregulation in Wistar rats as biological model. *J Inorg Biochem*. 2015 Jun;147:85-92. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2015.04.002. Epub 2015 Apr 10. PMID: 25920353.
- Tsutsumi, R., & Webster, N. J. G. (2009). GnRH pulsatility, the pituitary response and reproductive dysfunction. *En Endocrine Journal* (Vol. 56, Número 6). <https://doi.org/10.1507/endocrj.K09E-185>
- Valerino-Perea, S., Armstrong, M. E. G., & Papadaki, A. (2023). Adherence to a traditional Mexican diet and non-communicable disease-related outcomes: Secondary data analysis of the cross-sectional Mexican National Health and Nutrition Survey. *British Journal of Nutrition*, 129(7). <https://doi.org/10.1017/S0007114522002331>
- Valerino-Perea, S., Lara-Castor, L., Armstrong, M. E. G., & Papadaki, A. (2019). Definition of the traditional mexican diet and its role in health: A systematic review. *Nutrients*, 11(11). <https://doi.org/10.3390/nu11112803>
- Vigil, P., Lyon, C., Flores, B., Rioseco, H., & Serrano, F. (2017). Ovulation, a sign of health. *Linacre Quarterly*, 84(4). <https://doi.org/10.1080/00243639.2017.1394053>
- Vital-Reyes VS, Lopez-Alarcón MG, Inda-Icaza P, Márquez-Maldonado C. Alteraciones metabólicas sutiles en adolescentes con obesidad y síndrome de ovario poliquístico

[Subtle metabolic alterations in adolescents with obesity and polycystic ovarian syndrome]. *Gac Med Mex.* 2017;153(Supl. 2): S34-S41. Spanish. doi: 10.24875/GMM.M17000005. PMID: 29099111.

Xiao, C., Wang, J., & Zhang, C. (2023). Synthesis, Regulatory Factors, and Signaling Pathways of Estrogen in the Ovary. En *Reproductive Sciences* (Vol. 30, Número 2). <https://doi.org/10.1007/s43032-022-00932-z>

Yeo, S. H., & Colledge, W. H. (2018). The role of Kiss1 neurons as integrators of endocrine, metabolic, and environmental factors in the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. En *Frontiers in Endocrinology* (Vol. 9, Número APR). <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00188>

Zhao, H., Zhang, J., Cheng, X., Nie, X., & He, B. (2023). Insulin resistance in polycystic ovary syndrome across various tissues: an updated review of pathogenesis, evaluation, and treatment. En *Journal of Ovarian Research* (Vol. 16, Número 1). <https://doi.org/10.1186/s13048-022-01091-0>

Zhu, X., & Fu, Y. (2023). Extending letrozole treatment duration is effective in inducing ovulation in women with polycystic ovary syndrome and letrozole resistance. *Fertility and Sterility*, 119(1). <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2022.09.018>