INTERRUPCIÓN PROGRESIVA DE LA FOLICULOGÉNESIS EN OVARIO DE RATA CON SÍNDROME DIABÉTICO INDUCIDO CON ESTREPTOZOTOCINA

Galindo Solano Rosa N.[1], *Díaz Espinosa de los Monteros Daniel[1], Nambo Venegas Rafael[2], Jiménez Medina José A.[3] Fiordelisio Coll Tatiana[3], Gutiérrez Ospina Gabriel[1].

[1]Departamento de Biología Celular y Fisiología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. [2]Instituto Nacional de Medicina Genómica, Tlalpan, México, D.F. [3]Departamento de Ecología y Recursos Naturales, Facultad de Ciencias, UNAM, Av. Universidad 3000, Col. Copilco, Deleg. Coyoacán 05200, México, D.F., Tel 5622-9195.

E-mail: nuria.gs@ciencias.unam.mx; *ddiaz@ciencias.unam.mx

INTRODUCCIÓN

El síndrome diabético es un desorden metabólico caracterizado por la triada sintomática polidipsia, poliuria y polifagia; la cual es causada por la hiperglucemia y la intolerancia a la glucosa que surgen en respuesta a una deficiencia insulínica, resistencia a la insulina o ambas. En consecuencia, se desarrollan diversas patologías, dentro de las cuales destacan la disfunción vascular [1], nefropatías, retinopatías, alteraciones cardiovasculares y neuropatías [2]. Además, tanto en hombres como mujeres se ha observado que los sistemas reproductores también son afectados [3]; manifestándose en disfunción sexual, así como múltiples alteraciones neuroendocrinas que desencadenan un decaimiento gradual en su capacidad reproductiva [4,5]. Actualmente, esta serie de alteraciones reproductivas se han asociado al malfuncionamiento del eje hipotálamo-hipófisis-ovario [6,7]. Específicamente se ha documentado disfunción del ovario que se caracteriza por anovulaciones e irregularidad en los ciclos menstruales [9,10], además de incrementos en la frecuencia de ovario poliquístico [11] y alteraciones en la esteroidogénesis y en la foliculogénesis [12-14]. Sin embargo, a pesar de la existencia de dicha evidencia, la búsqueda de mecanismos que ayuden a aclarar el origen de la patofisiología ovárica en la mujer diabética se ha limitado a los estudios clínicos, resultado con ello, en una visión fragmentada e incompleta de la disfunción ovárica que surge en la condición diabética. Es por ello que el uso de modelos murinos de diabetes experimental se ha vuelto una herramienta fundamental [15]. En virtud de este escenario y para abordar este problema reproductivo con un enfoque integral, nosotros usamos un modelo experimental de síndrome diabético con el fin de evaluar los cambios en la foliculogénesis durante el curso temporal de la patología.

OBJETIVO GENERAL

Demostrar que en ratas hembra que padecen síndrome diabético se presenta una interrupción progresiva de la foliculogénesis, la cual se asocia a una serie de cambios morfológicos y funcionales del ovario.

METODOLOGÍA

Se utilizaron dos grupos de ratas hembra (n = 24 animales por grupo, subdivididos en 8 animales por cada dia evaluado). A cada grupo de hembras se les administró 0 ó 75 mg/Kg p.v. de estreptozotocina (STZ) para establecer un modelo de síndrome diabético (SD), el cual se mantuvo hasta 21 días post-tratamiento. Durante el tiempo de evaluación se registró el peso de los animales y la concentración de glucosa en sangre después de ayuno por 12 horas en el día 0 (antes de la administración del tratamiento) y en los días 7, 14 y 21 (posteriores al tratamiento). La actividad cíclica fue evaluada desde 12 días previos a la inducción del modelo y a lo largo del período experimental, mientras que el consumo de agua y alimento fue evaluado 7 días previos a la inducción y posteriormente durante el establecimiento del modelo. A los 7, 14 y 21 días post-tratamiento, los ovarios de ambos grupos fueron extraidos, fotografiados, embedidos en parafina y cortados a 5 µm para posteriroemtne ser teñidos (H&E) y microfotografiados en microscopía de campo claro. Las imágenes digitales obtenidas se utilizaron para contar y comparar las poblaciones foliculares para cada uno de los grupos, así como sus características histolológicas, para luego realizar el análisis estadístico comparando ambos grupos en los días señalados. Los grupos se compararon mediante t de Student para dos medias independientes y se utilizaron ajustes tipo gaussianos para los histogramas de las distribuciones de frecuencias del diamétro folicular.

1 La administración de STZ induce síndrome diabético

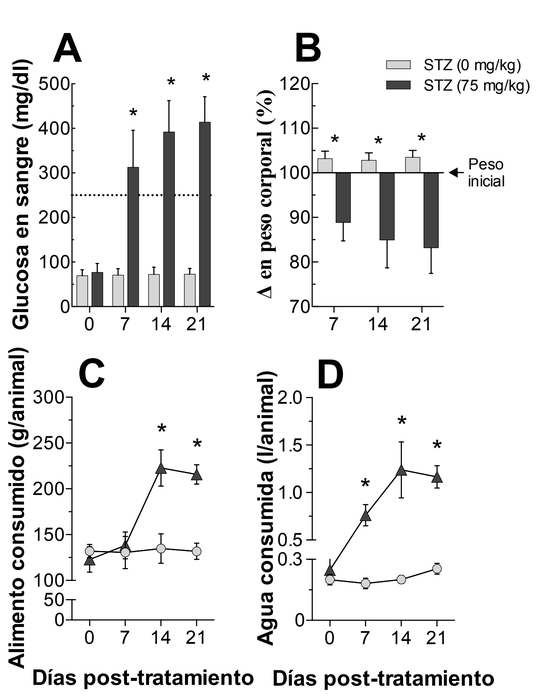

Figura 1. Evolución temporal de los cambios en (A) la concentración de glucosa en sangre, (B) peso corporal, (C) consumo de alimento y (D) consumo de agua en ratas tratadas con 0 o 75 mg/kg de STZ. * Indica diferencia significativa entre los grupos $p<0.001$.

2 El síndrome diabético modifica el ciclo estral

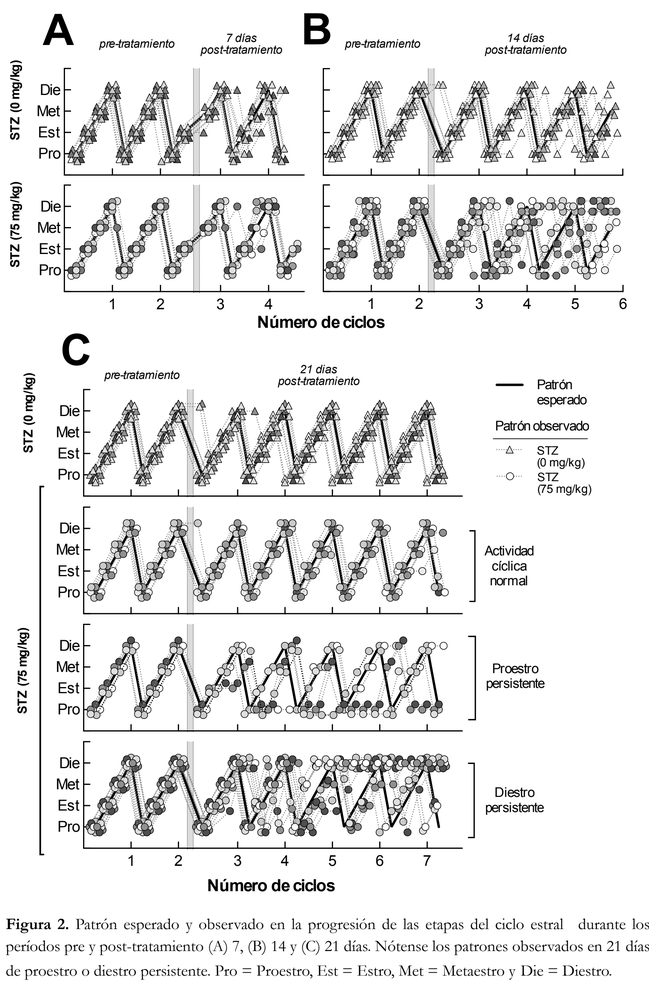

Figura 2. Patrón esperado y observado en la progresión de las etapas del ciclo estral durante los períodos pre y post-tratamiento (A) 7, (B) 14 y (C) 21 días. Nótense los patrones observados en 21 días de proestro o diestro persistente. Pro = Proestro, Est = Estro, Met = Metaestro y Die = Diestro.

3 El síndrome diabético altera la morfología del ovario

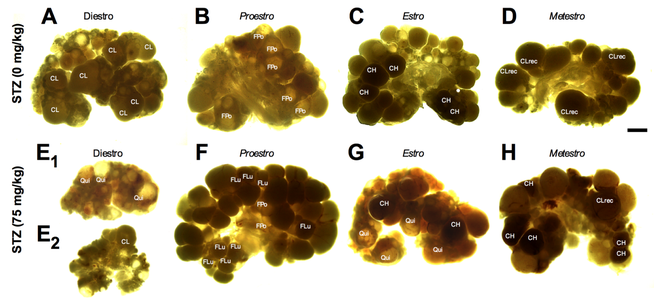

Figura 3. Fotomicrografías representativas de los cambios en la morfología del ovario asociadas a la progresión del ciclo estral en ratas de 21 días post-tratamiento pertenecientes a (A-D) el grupo control y (E-H) el grupo expereimental. En el grupo control, nótese la cantidad de folículos de diferentes tamaños en comparación con el grupo SD. Barra de escala = 1000 µm. CL = cuerpo lúteo, POF = folículo preovulatorio, CH = cuerpo hemorragico, CLrec = cuerpo lúteo recién formado, Qui = quiste.

4 El síndrome diabético induce cambios en las características histológicas del ovario

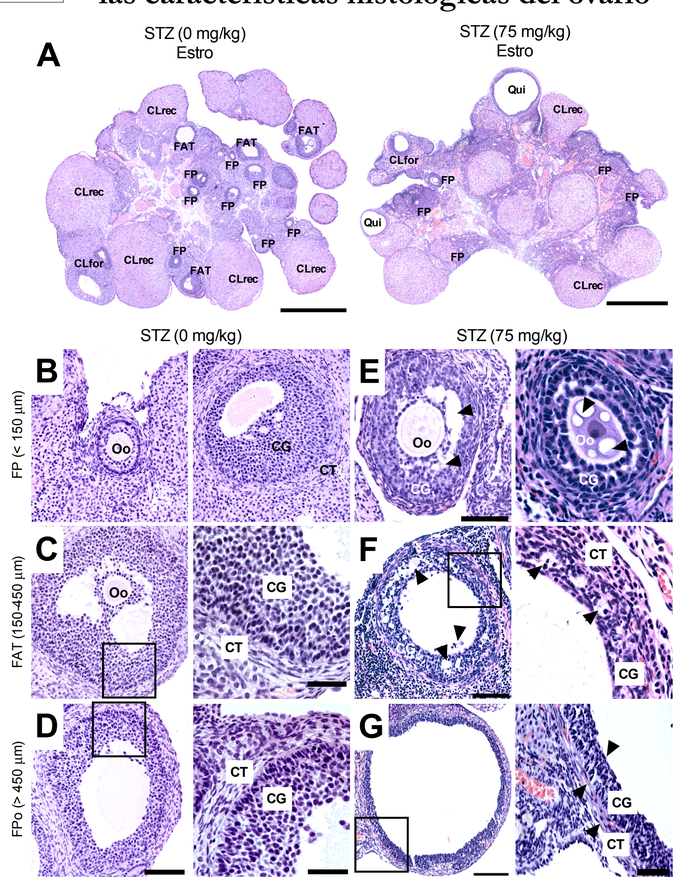

Figura 4. Imágenes representativas de (A) secciones de ovario de ratas evaluadas a los 21 días post-tratamiento con 0 ó 75 mg/kg de STZ (*panel* izquierdo y derecho, respectivamente) y acercamientos de secciones de ovario de ratas (B-D) no tratadas y (E-G) tratadas con STZ. FP = folículo preantral, FAT = folículo antral temprano, Fpo = folículo preovulatorio, Clfor = cuerpo lúteo en formación, Clrec = cuerpo lúteo de reciente formación, Qui = quiste, Oo = oocito, CG = células de la granulosa, CT = células de la teca. Las puntas de flecha indican signos de atresia. Barras de escala: A = 1000 mm, B, FP = 50 mm; FAT = 100 mm; FPo bajo aumento = 200 mm y mayor aumento = 25 mm.

5 Bajo la condición diabética se interrumpe la foliculogénesis y se incrementa la atresia

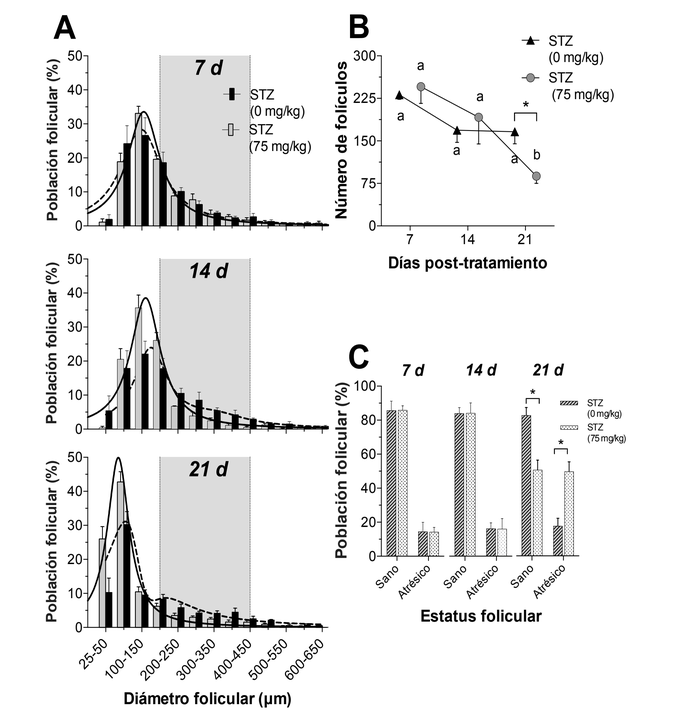

Figura 5. (A) Histogramas de la distribución de frecuencias del diámetro folicular en ratas control y tratadas con 75 mg/kg de STZ, (B) porcentaje de tamaño folicular por categoría y (C) proporción de folículos sanos y atrésicos en cortes de ovarios de ratas evaluadas a los 7, 14 y 21 días post-tratamiento. Los histogramas se ajustaron mediante curvas tipo gaussinas. Nótese en A el corrimiento hacia diámetros menores en las curvas del grupo de 75 mg/kg de STZ.

6

CUADRO 1. Concentración de hormonas esteroides en suero de sangre de ratas tratadas con estreptozotocina

Hormona	STZ	Días post-tratamiento 7	14	21
Progesterona	0 mg/kg	17.9 ± 0.9 [a]	19.7 ± 2.9 [a]	21.0 ± 3.3 [a]
	75 mg/kg	23.6 ± 3.5 [a]	13.1 ± 1.8 [b]	14.2 ± 2.0 [b, *]
Estradiol	0 mg/kg	40.2 ± 15.0 [a]	64.3 ± 22.5 [a]	47.8 ± 6.3 [a]
	75 mg/kg	25.4 ± 5.1 [a]	39.9 ± 21.4 [a]	32.5 ± 3.7 [a, *]
Testosterona	0 mg/kg	34.3 ± 17.3 [a]	45.4 ± 4.2 [a]	31.9 ± 14.9 [a]
	75 mg/kg	41.4 ± 19.6 [a]	6.2 ± 0.3 [b, *]	14.6 ± 5.1 [b]

[a,b] Para cada hormona y grupo, literales diferentes entre los días evaluados indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

[*] Para cada día y hormona, el aterisco indica diferencias significativas entre grupos ($p < 0.05$).

CONCLUSIONES

- Las ratas tratadas con 75 mg/kg de STZ desarrollaron de forma consistente y gradual un SD caracterizado por hiperglucemia, reducción progresiva del peso corporal, polidipsia y polifagia.
- El SD genera alteraciones graduales en ciclo estral, teniendo un mayor impacto en 21 días donde se observa proestro o diestro persistente.
- El tratamiento también genera alteraciones progresivas en las características morfológicas e histológicas de los ovarios, observándose la formación de quistes, atrofia gonadal y luitenización prematura.
- La condición diabética genera una reducción progresiva en el crecimiento y desarrollo de los folículos, evitando con ello el incremento paulatino del diámetro folicular, resultando en la ausencia de folículos antrales; además incrementa gradualmente la atresia folicular.
- Finalmente, el tratamiento se reduce la producción de progesterona y testosterona por parte del ovario.

LITERATURA CITADA

1. Hadi HA & Suwaidi JA. Vascular health and risk management. 2007;3:853-76.
2. Forbes JM & Cooper ME. Physiological reviews. 2013;93:137-88.
3. Amaral S et al., Curr Diabetes Rev. 2008;4:46-54.
4. Maneesh M, *et al.* Indian journal of clinical biochemistry : IJCB. 2006;21:165-8.
5. Salonia A, *et al.* Diabetes Care. 2006;29:312-6.
6. Arrais RF & Dib SA. Hum Reprod. 2006;21:327-37.
7. Codner E & Cassorla F. Horm Res. 2009;71:12-21.
8. Steel JM, *et al.* Lancet 1984;2:975-6.
9. Codner E, *et al.* J Clin Endocrinol Metab. 2005;90:3939-45.
10. la Marca A, *et al.* Hum Reprod. 1999;14:298-302.
11. Adcock CJ, *et al.* Diabet Med. 1994;11:465-70.
12. Djursing H, *et al.* Am J Obstet Gynecol. 1982;143:876-82.
13. Zumoff B, *et al.* Steroids. 1990;55:560-4.
14. Kim NN. Se. J Sex Med. 2009;6 Suppl 3:239-46.
15. Jawerbaum A & White V. Endocr Rev. 2010;31:680-701.
16. Hirshfield AN & Midgley AR, Jr. Biol Reprod. 1978;19:597-605.