

PRACTICA No. 5: CONTROL HORMONAL DEL CICLO ESTRAL EN EL HÁMSTER

INTRODUCCIÓN

La capacidad de los tejidos especializados de funcionar de forma integral en el organismo es posible en gran parte a la existencia de tres grandes sistemas de comunicación extracelular: 1-el sistema nervioso, el cual transmite señales electroquímicas bi-direccionales entre el cerebro y los tejidos periféricos o con los tejidos en circuito reflejo; 2-el sistema endocrino, el cual libera en la circulación sanguínea mediadores químicos llamados hormonas, las cuales pueden actuar en órganos blanco lejanos al lugar de síntesis de la hormona (endocrino), en células vecinas (paracrino) o en la misma célula de origen (autocrino); y 3-el sistema inmune, el cual protege al organismo contra la amenaza de agentes externos (bacterias, virus, hongos) o internos (células malignas).

Las funciones hormonales están involucradas en cuatro grandes campos: 1-reproducción; 2-crecimiento y desarrollo; 3- mantenimiento del ambiente interno; y 4-producción, utilización y almacenaje de energía. En la práctica 5 únicamente se evaluarán algunos aspectos relacionados con la función reproductiva. Las hormonas no solamente regulan la gametogénesis (producción de óvulos y espermatozoides) sino también controlan el dimorfismo anatómico sexual, funcional y el desarrollo del comportamiento de machos y hembras, el cual es esencial para la reproducción sexual.

La función ovárica es regulada por el eje hipotálamo-hipófisis-ovario. El hipotálamo es una región que se encuentra en la base del cerebro y que regula muchas funciones orgánicas y es allí donde se produce un pequeño péptido llamado Hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH) el cual va a actuar sobre la hipófisis para que libere dos hormonas glicoproteicas, la Hormona luteinizante (LH) y la Hormona estimulante del folículo (FSH), las cuales viajan por vía sanguínea para ejercer su acción sobre el ovario. El control de las secreciones de la hipófisis responde a estímulos internos como extremos al organismo. Por ejemplo, el ciclo sexual de muchos animales está asociado a los ciclos climáticos del ambiente, como son los ciclos de luz y oscuridad, temperatura etc.

La ovogénesis en la hembra de los mamíferos (meiosis) comienza durante la vida pre-natal, deteniéndose en la profase de la primera división meiótica, y reanudándose posteriormente durante la vida reproductiva. Este hecho determina que la hembra nazca con una cantidad determinada de ovocitos, los cuales se irán agotando progresivamente durante su vida. El ovocito se encuentra en el ovario dentro de una estructura conocida como folículo. Los folículos se clasifican sobre la base del tamaño, número de células que lo componen y presencia de líquido folicular (antro) en: pre-antrales, antrales y ovulatorios (folículo de Graaf). Los folículos a partir de cierta etapa de

su desarrollo presentan receptores para la LH y para la FSH y son estas hormonas las que provocan el crecimiento y maduración de los mismos durante el ciclo estral. Los folículos en crecimiento se encargan de producir los estrógenos, la principal hormona femenina. El ciclo estral está compuesto por varias fases: proestro, estro, metaestro y diestro. Durante el estro la hembra presenta un comportamiento de receptividad sexual y es durante este período que ocurre la ovulación. En la presente práctica se evaluará el efecto de la administración de gonatropinas exógenas sobre el número de folículos maduros en hembras de hámster en edad reproductiva.

OBJETIVOS

1. Identificar el ciclo estral del hámster por observación de la secreción vaginal.
2. Administrar gonadotropinas (Pregnant Mare Serum Gonadotropin, PMSG) en el primer día de la fase folicular, a hámsteres hembras en edad reproductiva.
3. Determinar el efecto de la aplicación de PMSG sobre el número de folículos maduros producidos en los ovarios y el peso de los órganos sexuales (ovarios, oviducto y útero).

PROCEDIMIENTO.

1. DETERMINACIÓN DEL CICLO ESTRAL.

El ciclo estral del Hámster tiene una duración de 4 días, siempre que la temperatura y el fotoperíodo se mantengan controlados. El día 1 corresponde al día del inicio de la fase folicular, mientras que el día 4 corresponde al día de la ovulación. El día 1 se puede determinar porque se observa una secreción blanquecina en la vagina al aplicar un suave masaje abdominal.

2 APLICACIÓN DE LA GONADOTROFINA PMSG.

Dado que el día 1 marca el inicio del ciclo, es el día indicado para sumar la acción de las hormonas exógenas a la acción de las endógenas. Esto se logrará mediante la inyección intraperitoneal de 30 U.I. de PMSG. Por otra parte a los animales control se les inyectará un volumen equivalente de PBS (Phosphate buffered saline, la cual es una solución fisiológica).

3. EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS DEL ESTÍMULO CON PMSG.

Al cabo de 60 a 70 horas de la inyección de PMSG, los animales inyectados serán sacrificados, pesados y se les practicará una laparotomía para reconocer el estado de los órganos reproductivos. Se contará el número de folículos en el ovario y se registrarán por separado los pesos de ovarios,

oviductos y útero. El mismo procedimiento se realizará sobre los individuos control, sacrificados el día 4 de su ciclo.

DISEÑO EXPERIMENTAL.

Cada equipo trabajará con dos hembras a las cuales se les inyectará PMSG (Estimuladas) y dos hembras que serán inyectadas con PBS (Controles). Posteriormente, se reunirán los resultados de todos los grupos, para analizarlos de manera conjunta.

ACTIVIDADES QUE DEBE INCLUIR EL INFORME.

1. Compare estadísticamente el número de folículos maduros producidos por los ovarios de las hembras estimuladas y las controles. Adicionalmente:
 - Realice una gráfica con el peso del ovario vs. el peso del animal y otra gráfica con el peso del útero vs. el peso del animal. Dibuje la recta de mejor ajuste para los puntos correspondientes a las hembras estimuladas y otra para las hembras controles. Compare las pendientes de ambas rectas en cada gráfica.
 - Si observa diferencias en las pendientes de las rectas anteriores, proceda a calcular las proporciones $p_1 = (\text{peso ovario} / \text{peso corporal})$ y $p_2 = (\text{peso útero} / \text{peso corporal})$ para las hembras inyectadas y para las controles. Compare estadísticamente los valores de p_1 obtenidos para las hembras inyectadas con los obtenidos para los controles. Realice una comparación similar para los valores de p_2 .
2. Explique mediante un esquema la regulación (feedback o retroalimentación) del eje hipotálamo-hipófisis-ovario
3. Investigue como se obtiene la PMSG, sus características hormonales y como ella puede actuar sobre el funcionamiento del ovario de hámster.
4. Explique que resultados esperarías encontrar (número de folículos maduros, efectos sobre el tracto reproductor) si en el experimento de esta práctica en lugar de usar PMSG usara GnRH
5. Explique los cambios cíclicos (estral o menstrual) observados en ovario, oviducto, útero y vagina por efecto de las hormonas sexuales.
6. Investigue algunas aplicaciones que tienen en producción animal y en reproducción asistida (en humanos) la inducción de super-ovulación en la hembra.

MATERIALES Y EQUIPOS SUMINISTRADOS POR EL PERSONAL DOCENTE.

- Lupa (1 por equipo)
- Cápsulas de Petri pequeñas (2 por equipo)
- Vidrio de reloj (1 por equipo)
- Pipetas pasteur cuello corto y punta redondeada
- Mechero
- Hormonas (PMSG)
- Hámsteres
- Cloroformo
- Microscopio (1 por equipo)
- Cápsulas de Petri grandes (2 por equipo)
- Porta y cubreobjetos
- Peritas para pipetas pasteur
- Inyectadotas de tuberculina (1cc)
- PBS
- Balanza analítica
- Tabla de disección (1 por equipo)