

El óxido nítrico como principal efector del sistema de la Interleucina-1 en la ovulación

Margarita Díaz Flores,* Clara Ortega-Camarillo,* Ana María Rosales-Torres,**
Luis Arturo Baiza-Gutman,*** Juan José Hicks****

Recepción versión modificada: 14 de septiembre de 2000

aceptación: 15 noviembre de 2000

Resumen

La ovulación es un complejo proceso que además de gonadotropinas y esteroides requiere mediadores locales como las citocinas, que también participan en la respuesta inflamatorio. De interés particular es el sistema de la interleucina-1 (IL-1), que al parecer es un intermediario de las gonadotropinas en el proceso ovulatorio. El ovario cuenta con el sistema completo de IL-1 que incluye: ligandos, receptores y el antagonista del receptor. A la IL-1 se le atribuye la inducción de diversos eventos asociados con la ovulación como son: la producción de prostaglandinas, de progesterona, del activador del plasminógeno, glicosaminoglicanos y del aumento preovulatorio de la permeabilidad vascular. El principal efector de la interleucina-1 es el óxido nítrico. El interés de esta revisión es valorar la localización tisular y la acción de la IL-1 en el folículo preovulatorio y su dinámica vascular; así como analizar los mecanismos propuestos para la acción de la IL-1 como modulador de los eventos que llevan a la ruptura folicular.

Palabras clave: *Ovulación, Interleucina-1, óxido nítrico, ruptura folicular*

Summary

Ovulation is a complex process involving not only gonadotropins and steroid hormones, but also many local mediators common to inflammatory reactions, such as cytokines. Of particular interest is the ovarian interleukin-1 (IL-1) system, which may be an intermediary of gonado-tropins in the ovulatory process. The preovulatory follicles have a complete and highly compartmentalized intraovarian IL-1 system including ligands, receptor, and receptor antagonist. IL-1 has been considered as the inductor of several ovulation-associated events such as prostaglandin and progesterone biosynthesis, plasminogen activator production, glycosaminoglycan generation, and enhancement of vascular permeability. The principal effector of the IL-1 system is nitric oxide. This paper analyzes the sites of synthesis and action of the IL-1 system in preovulatory follicle and its vascular dynamics as well as IL-1's mechanism of action in triggering follicular rupture.

*Unidad de Investigación Médica en Bioquímica. Hospital de Especialidades. Centro Médico Nacional Siglo XXI.

**Departamento de Producción Agrícola y Animal. UAM-Xochimilco.

***Unidad de Morfología ENEP-IZTACALA UNAM.

****Departamento de Investigación. Hospital Juárez de México.

Key words: *Ovulation, Interleukin- 1, Nitricoxide, Follicular rupture*

Introducción

El proceso de ovulación de los mamíferos es un fenómeno biológico diferente en cada especie, que requiere de la ruptura de la pared de los folículos dominantes. El primer informe relacionado con este proceso fue escrito en 1932 por Carl Hartman, quien propuso la separación del ciclo sexual femenino en dos fases (folicular y lútea) con base en la ovulación, que concluye a la primera.

Las evidencias tempranas señalaron a la hormona luteinizante (LH) como único estímulo que inicia la cascada de eventos del proceso ovulatorio, en los folículos maduros, que culmina con la ruptura del folículo y la liberación de un ovocito maduro susceptible de ser fecundado.

Existen otras hormonas¹ que pueden sustituir a la LH, como es el caso de la gonadotropina coriónica humana (hCG), o la hormona folículo estimulante (FSH), que cuenta con la capacidad de iniciar los cambios bioquímicos que conducen a la ovulación.²

Además de la hCG y la FSH, se ha informado que también la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) induce la ovulación en animales con hipofisectomía;³ sin embargo, existe controversia al respecto, ya que la GnRH inhibe la ovulación inducida por la LH. Al respecto, la teoría más aceptada es que la LH y la FSH actúan en forma complementaria como inductores de la ovulación, debido a que las dos hormonas son liberadas en el mismo lapso en respuesta a la GnRH, además de que la FSH es requerida para sensibilizar al folículo para la acción de la LH.

El término de *ruptura folicular* se aplica a los cambios asociados con la formación del estigma, la degradación y fisura de la pared folicular que permiten la liberación del ovocito. En los últimos años se ha demostrado la participación de citocinas como mediadores locales de las hormonas antes mencionadas.⁴

Las citocinas comprenden una variedad de péptidos y glicoproteínas que regulan funciones de proliferación, diferenciación y muerte celular programada (apoptosis).

Las citocinas son producidas por varios tejidos y células como las del endometrio⁵ y del ovario,⁶ además de las ya conocidas, células inmunocompetentes.

La citocina más estudiada durante la ovulación

es la interleucina-1 (IL-1), la cual está integrada por la IL-1 α y la IL-1 β ambas identificadas en el ovario⁷ y en el líquido folicular.⁸ Se ha demostrado la presencia de un sistema completo de la IL-1 en el humano. La posibilidad de que la citocina participe como uno de los principales reguladores locales en la cascada ovulatoria y en la ruptura folicular es muy alta, debido a que la interleucina es un modulador de la respuesta inflamatoria y ésta presenta gran similitud con la ovulación.^{9,10}

Una de las funciones de la IL-1 es la regulación de la producción de especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno como el óxido nítrico.¹¹ La relevancia de la IL-1 en la fisiología ovárica permanece incierta, a pesar de la vasta información disponible que la respalda, situación que motivó la presente investigación. También se analizan de forma sencilla y práctica los hallazgos publicados en la literatura reciente de las funciones del sistema de la interleucina-1 en el proceso de ovulación. Se presentarán al inicio, los cambios estructurales que conducen a la ruptura del folículo, se revisará la localización tisular y la acción de la IL-1, además de su participación en la dinámica vascular en el folículo preovulatorio, y se finalizará evaluando los mecanismos propuestos de la acción de la IL-1 como modulador de los eventos que llevan a la ruptura folicular.

Cambios estructurales en la pared del folículo asociados a la ovulación

En la región anatómica del ovario, donde se forma el estigma y ocurre la ruptura folicular, se distinguen las siguientes capas:

- 1) El epitelio ovárico, constituido por una capa de células cuboidales con núcleo polimorfo y numerosos gránulos en su citoplasma. Se ha sugerido que los gránulos pudieran ser la fuente de enzimas proteolíticas requeridas para degradar la pared folicular y permitir su ruptura.¹² Sin embargo, se considera que el epitelio no participa en la ovulación, por lo que su composición y función permanecen inciertas.
- 2) La túnica albugínea delinea y da integridad al ovario.
- 3) La teca externa que constituye al folículo y lo encapsula.

- 4) La teca interna que es una de las capas más vascularizadas y activas, así como el sitio principal de la síntesis de esteroides al final de la maduración folicular.¹³
- 5) El estrato de la granulosa con un grosor de cinco o siete capas celulares, excepto en el sitio donde se forma el pedestal que sostiene al ovocito llamado *Cumulus oophorus*. Las células de la granulosa tienen menor capacidad esteroidogénica y emplean los andrógenos secretados por las células de la teca para producir estrógenos. Una característica de la granulosa es la formación de redes comunicantes¹⁴ que unen a las células entre sí, y con el ovocito en un sincicio funcional. Esto permite a la granulosa influir en el metabolismo del ovocito o viceversa, además de actuar de manera integrada en la formación del líquido folicular.

Los cambios estructurales más importantes que dan paso a la ovulación, ocurren a nivel del tejido conectivo de la túnica albugínea y de la teca externa. Cuando se aproxima la ovulación, se observa la disolución de la matriz extracelular incluyendo a las abundantes fibras de colágena de la teca. Estos cambios son acompañados de un aumento en la permeabilidad de los vasos sanguíneos, lo que provoca la salida de células sanguíneas y edema del tejido folicular. Por otra parte, las uniones comunicantes entre las células de la granulosa y el ovocito se pierden previo a la ovulación.

Localización tisular del sistema de la IL-1

Se han detectado, mediante técnicas inmunohistoquímicas, los dos ligandos del sistema IL-1, la α y la β , en el compartimiento de la teca¹⁵ del ovario de mamíferos, incluyendo al humano. Asimismo, en el *Cumulus oophorus*, en el ovocito y en la capa de la granulosa; justo antes de que ocurra la ruptura del folículo, se ha identificado el receptor tipo 1¹⁶ (IL-1 tRI), responsable de transmitir la acción intracelular de la IL-1. Esto ha llevado a suponer que estos dos últimos compartimientos son afectados por las IL-1 α y β . La presencia del receptor en el ovocito indica una posible acción fisiológica de IL-1 en su maduración, ya que se ha demostrado que los ovocitos anormales carecen del receptor.

Un componente central del sistema de la IL-1 es el antagonista del receptor (IL-1 RA) que evita la unión de la IL-1 a su receptor; inhibiendo su acción en el momento de la ovulación, su localización es a nivel de la granulosa.¹⁷ También los macrófagos,¹⁸ presentes en la capa intersticial de la teca y el estroma, producen esta citocina. Lo anterior permite explicar en parte, como estos tejidos promueven varios fenómenos asociados con la ruptura folicular, tales como: la biosíntesis de prostaglandinas, la producción del activador del plasminógeno y el aumento en la permeabilidad vascular entre otros. De la distribución de estos péptidos, se deduce que

Cuadro I. Acciones del sistema interlucina-1 durante la ovulación

IL-1 α y β :

- Aumentan la producción de progesterona y andrógenos

IL-1 β :

- Estimula la síntesis de PGE₂ y PGF₂ α
- Estimula a síntesis de proteoglicanos
- Aumenta la producción del inhibidor del activador del plasminógeno (API-1)
- Estimula la síntesis de metaloproteasas
- Aumenta la producción del inhibidor de metaloproteasas (TIMP-1)

tienen funciones autocrinas y paracrinas en el proceso ovulatorio (Cuadro I).

Dinámica vascular

A los pocos minutos del estímulo hormonal ovulatorio, se presentan cambios en la microvasculatura folicular que provocan aumento en el flujo sanguíneo, acompañado de hiperemia, vasodilatación, edema y extravasación de componentes del suero. Estos cambios son regulados en su inicio por la histamina y, posteriormente, por la bradisinina y las prostaglandinas.

La histamina en tejido ovárico se almacena preferentemente en las células cebadas, en los basófilos y en las plaquetas localizadas en el hilio ovárico. La relación del sistema de la IL-1 con las sustancias vasoactivas permanece abierta a la investigación; pero se sugiere que la IL-1 β estimula la producción

de IL-4, necesaria en la transformación de los linfocitos B a células plasmáticas productoras de la inmunoglobulina E (Ig-E).¹⁹ Esta biomolécula es una de las señales que inician la degranulación de las células cebadas, dando como resultando la liberación de sustancias vasoactivas que a su vez favorecen los cambios en la permeabilidad.

Otro de los posibles efectos biológicos de la IL-1 β asociado con los cambios vasculares, es el de inducir la síntesis del óxido nítrico (NO) al estimular

la expresión de la enzima que lo sintetiza, la óxido nítrico sintasa (NOS). El ovario cuenta con dos isoformas de la NOS la constitutiva y la inducible, siendo esta última estimulada por citocinas.²⁰ En el humano la NOS se localiza en las células de la granulosa, por ello se especula que la producción del NO sea en esta capa celular, la que además cuenta con los receptores para la IL-1.

Cuando la producción del NO en el ovario se inhibe, *in vivo* e *in vitro*, se suprime la ovulación al

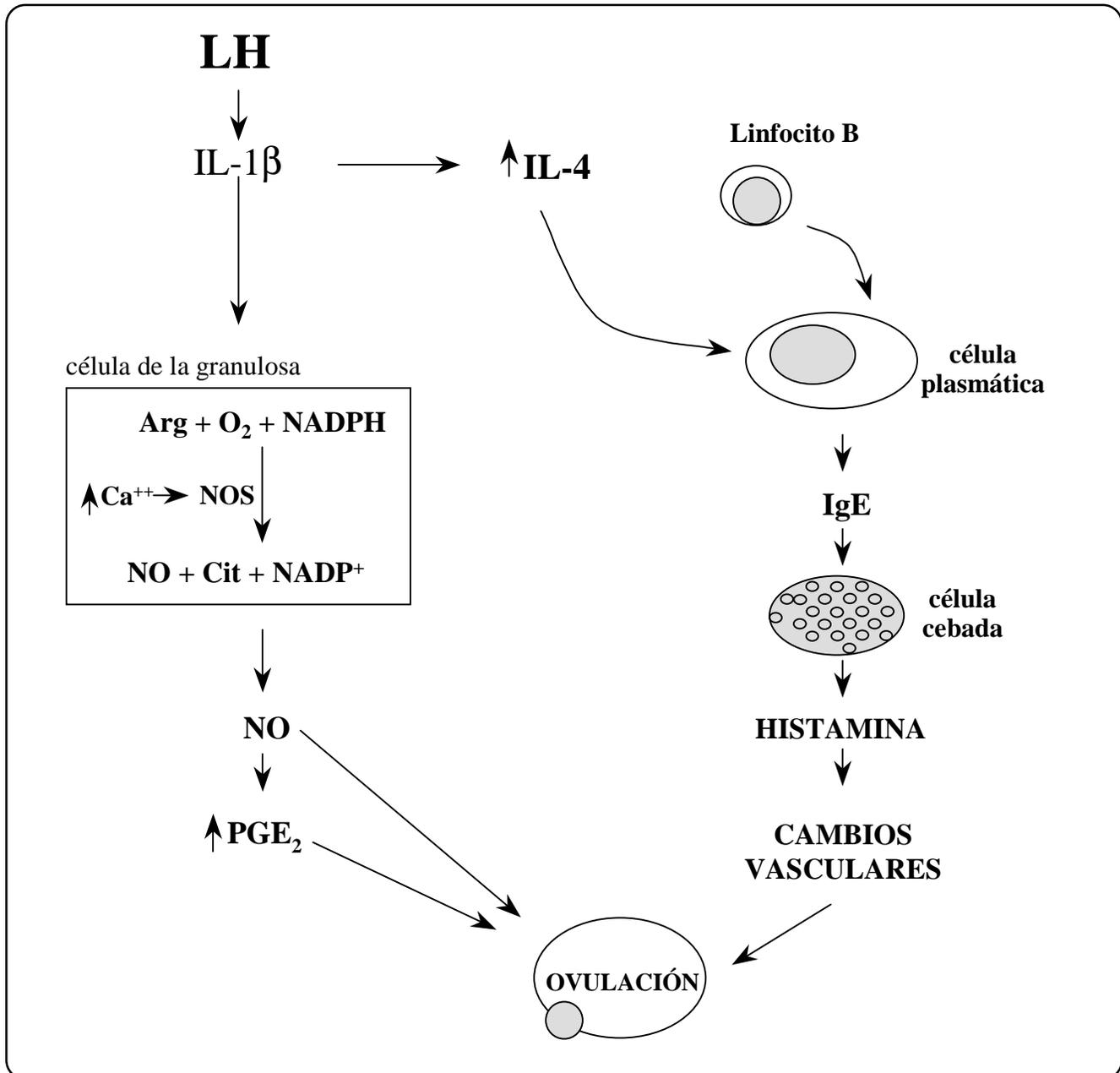


Figura 1. Participación de la IL-1 β en la inducción de los cambios vasculares que conducen a la ovulación. Óxido nítrico (NO), Arginina (Arg), Citrulina (Cit); (detalles en el texto).

impedir los cambios vasculares.¹¹ Este efecto puede revertirse si se administra simultáneamente un generador del NO como el nitroprusiato. Sustentando de esta forma la importancia del sistema NO/NOS en la ruptura folicular.

Las funciones del NO en el ovario son muy variadas, y van desde controlar la relajación de los vasos y el volumen sanguíneo circulante hasta la exudación del plasma que acompaña a la ruptura del folículo. El mecanismo mediante el cual el NO ejerce su acción en la relajación de los vasos sanguíneos es el siguiente: el NO al unirse al hierro del grupo hemo, sitio activo de la guanilil ciclasa, la activa y como consecuencia se genera GMPc. Este a su vez estimula a las proteínas cinasas dependientes de él, dando como resultado la relajación del músculo liso de los vasos sanguíneos (Figura 1). Además de las funciones antes mencionadas, el NO también contribuye a la liberación de PGE₂ y de las prostaciclina al activar a la ciclooxigenasas que regulan su vía de síntesis²¹ por medio de un mecanismo similar al descrito para la guanilil ciclasa, ya que el sitio activo de las ciclooxigenasas también contiene un grupo hemo.

Proteólisis y ruptura folicular

La fragmentación y disociación de la matriz del tejido conectivo, y de las fibras de colágena en la túnica albugínea y la teca externa previas a la ruptura folicular, se han correlacionado con un aumento en la actividad de las proteasas presentes en los tejidos y en el líquido folicular.²² Las investigaciones relacionadas con este evento, enfocan su atención principalmente a dos sistemas enzimáticos: el del activador del plasminógeno/plasmina y al de las metaloproteasas. Los dos sistemas funcionan en forma concertada y son piezas claves en las actividades proteolíticas y antiproteolíticas que regulan la ruptura folicular.

El sistema del activador del plasminógeno/plasmina son enzimas del grupo de las serina-proteasas, y el activador del plasminógeno está integrado por dos activadores y dos inhibidores: el activador de tipo tisular (AP-t), el activador tipo urocinasa (AP-u), el inhibidor tipo 1 (API-1) y el inhibidor tipo 2 (API-2). Los activadores son pro-

ducto de diferentes genes, identificados ambos en los folículos de mamíferos, incluyendo al humano.

En la rata, ambos APs están presentes en los compartimientos de la teca y de la granulosa, en esta última se concentra un 80 o 90% de la actividad total de esta enzima. De los dos activadores, sólo el tisular eleva su concentración antes de la ovulación, al ser estimulado por las gonadotropinas, de aquí se deduce que el tipo urocinasa no participa en la ruptura folicular. La importancia de los APs se ha puesto de manifiesto al bloquear la ovulación en la rata con inhibidores de serina-proteasas o anticuerpos contra el AP-t *in vivo* e *in vitro*, siempre y cuando no sea cuatro horas después del pulso hormonal, indicando que el AP y la plasmina participan al inicio de la ruptura principalmente en la activación de las colagenasas. A pesar de lo antes mencionado, existen un par de estudios que le restan importancia al sistema del AP, debido a que sólo se encuentra una ligera disminución en la tasa ovulatoria en ratones carentes del gen de AP.^{23,24} Lo que indica que otros mecanismos de activación de colagenasas ocurren en estas condiciones.

La IL-1 induce el aumento de los inhibidores de los activadores del plasminógeno (APIs) en aspirados de líquido folicular obtenidos de mujeres que participan en los programas de fecundación *in vitro*.²⁵ La función de la interleucina en este caso es limitar la proteólisis de la pared folicular, al inhibir la actividad del AP. En el caso de la rata, la IL-1 β también estimula la actividad del API-1 en las células de la granulosa *in vitro*. Si bien los APIs se unen y neutralizan a los APs, la actividad neta del activador durante la ovulación depende de la presencia de la interleucina-1, que de esta manera controla la ruptura del folículo al evitar la distensión potencial de la pared folicular, antes del momento de la ruptura.

El mecanismo molecular propuesto para el aumento preovulatorio del AP inicia después del pulso gonadotrópico, con la síntesis del activador tipo tisular y la supresión de sus inhibidores en el compartimiento de la granulosa,²⁶ esto mantiene alta la concentración y la actividad del AP, que a su vez activa a la plasmina. Por su parte, la plasmina actúa sobre las procolagenasas para formar colagenasas activas en el tejido conectivo, que alteran la integridad estructural de la pared del folículo y facilitan su ruptura durante la ovulación. Las colagenasas re-

queridas son principalmente metaloproteasas, que autorregulan su actividad (Figura 2).

Similar a los Aps, las metaloproteasas de matriz extracelular (MMP) y sus inhibidores (TIMPs) tienen una participación obligada en degradar la matriz extracelular del ápice de los folículos maduros, previo a la ruptura. Se conocen 19 miembros de las metaloproteasas que juntos forman una familia de endopeptidasas dependientes de calcio y zinc, secretadas y sintetizadas por células del tejido conectivo y algunas células hematopoyéticas. Cada una es liberada como proenzima, y requiere la remoción del dominio amino terminal para adquirir su forma activa.²⁷

En el curso de la ovulación inducida por gonadotropinas se han evaluado diferentes ARNm de las MMPs y sus TIMPs incluyendo: la gelatinosa A o MMP2, la estromelisinina o MM3, el MT1-MMP, la MMP19 y los TIMP-1, 2 y 3, todos se expresan de

forma constante y en diferentes compartimientos, los niveles máximos al momento de la ovulación corresponden a la MMP19, y el TIMP-1.²⁸ Por su parte, los niveles de la gelatinosa A (MMP-2) y su activador (MTI-MMP) son bajos en el ovario de ratas inmaduras; sus ARNm se localizan en la teca intersticial y en la teca/granulosa respectivamente. Después del estímulo hormonal, la expresión de MTI-MMP disminuye marcadamente en la granulosa, pero permanece y aumenta junto con la MMP2 en la teca intersticial.²⁹ La expresión y distribución tisular de la MTI-MMP apoya la noción de que tiene una función dual en el ovario. Al inicio degrada la matriz de los folículos en desarrollo y más tarde, justo antes de la ovulación, activa a la proMMP2 en células de la teca facilitando la ruptura del folículo ovulatorio.

La MMP19 es un miembro único de un subgrupo de las MMPs por tener características estructurales diferentes. Se conoce poco acerca de la espe-

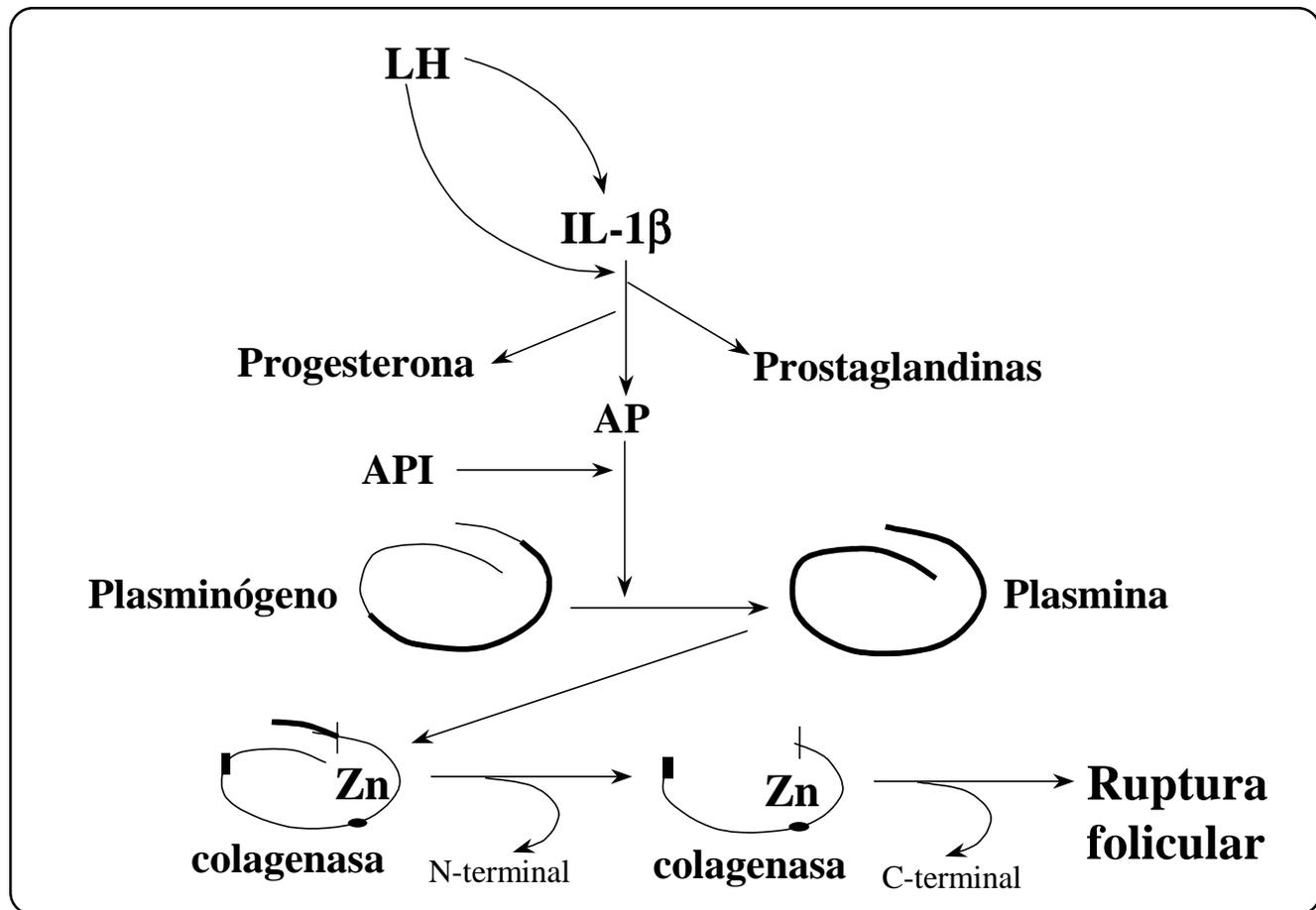


Figura 2. Participación del sistema IL-1 en la cascada proteolítica que conduce a la ruptura de la pared folicular (detalles en el texto).

cificidad a su sustrato, los informes preliminares indican que tiene actividad semejante a la estromelisinina.³⁰ Si bien la expresión de su ARNm es de las más bajas, su variación temporal indica que puede estar involucrada en la degradación del tejido en el momento de la ruptura folicular. La estromelisinina es otra de las MMPs presentes en el folículo; durante la ovulación se localiza en las células de la granulosa de los folículos pequeños no maduros, por ello se especula que no participa en la ruptura. El ARNm para la estromelisinina se ubica en áreas donde ocurre apoptosis,³¹ por lo que es factible que esté presente en folículos que experimentan apoptosis. Por lo tanto, esta enzima podría intervenir en la atresia folicular.

Se ha cuestionado si existe una correlación entre la actividad colagenolítica y la síntesis de prostanooides; algunos autores demuestran que el uso de inhibidores de prostaglandinas suprime la expresión del ARNm de la colagenasa intersticial, por una disminución de la estabilidad del mensajero.³² Por otra parte, Curry y colaboradores no observan efecto alguno sobre la actividad de la colagenasa estimulada por gonadotropinas al administrar indometacina³³. La discrepancia de los resultados continúa sin ser aclarada, pero es posible que pueda deberse al modelo experimental empleado, a la técnica de recuperación celular o a que el mismo tejido tenga alguna colagenasa insensible a inhibidores de prostaglandinas.

Una vez que inicia la proteólisis, es regulada por diferentes inhibidores bien caracterizados de origen sérico y tisular. El ovario cuenta con tres inhibidores de origen sérico (α_1 -macroglobulina, α_2 -macroglobulina y el inhibidor α_1 -3). La macroglobulina α_2 se asocia con la remodelación del ovario y la α_1 -3 aumenta su concentración en la ovulación. Los inhibidores tisulares al parecer son más importantes como reguladores de la actividad de enzimas que degradan la matriz extracelular. La acción de los inhibidores del activador del plasminógeno fue descrita con anterioridad, a continuación se hará mención con más detalle de los inhibidores tisulares de las metaloproteasas (TIMTs).

Los TIMPs son una familia de tres proteínas (TIMP-1, 2 y 3), que regulan la actividad de las metaloproteasas. De las tres la más importante durante la ovulación es el TIMP-1, por tener el ARNm más abundante en las células de la

granulosa³⁴ y ser el responsable de regular la expresión de los dos restantes. A pesar de conocer las variaciones de estas proteínas en la ovulación, la señal fisiológica que modula su expresión y actividad no es del todo entendida. No obstante, al ser reguladas tanto *in vivo* como *in vitro* por la LH, el paso intermedio del evento permanece sin ser aclarado. La IL-1 β modula la expresión de los TIMPs en la granulosa de la misma forma que en otros sistemas celulares.³⁵ Sin embargo, esta citocina tiene efectos divergentes en presencia de LH.³⁶

El mecanismo molecular propuesto para activar o inhibir a las MMP y los TIMP es a través de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno como el NO y el anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$), que forman parte del sistema de señalamiento que regula los efectos biológicos del sistema de la IL-1.³⁷ En la ovulación se ha comprobado la producción del $O_2^{\cdot-}$ y se ha propuesto como elemento indispensable del proceso,³⁸ al igual que el NO.

En cultivos celulares se ha observado que la producción simultánea de NO y $O_2^{\cdot-}$ conduce a la formación de un oxidante potente como es el peroxinitrito y/o el ácido hiponitroso (ONOO \cdot y ONOOH), provocando la inhibición de la actividad de la gelatinosa A.³⁹ En contraste, un aumento significativo del $O_2^{\cdot-}$ lleva a la activación de la enzima, demostrado *in vitro* en cultivos de condrocitos. Al parecer el NO tiene un efecto bifásico al regular la actividad de la gelatinosa, concentraciones bajas la estimulan y concentraciones altas la inhiben. La inhibición de las MMPs, por ONOO \cdot puede deberse a que ocasiona la liberación del átomo de zinc de los grupos tioles. La activación ocurre a través de la conversión del zinc unido a cuatro residuos de aminoácidos (tetradenato), a uno que está solo enlazado a tres residuos (tridenato), debido a que se remueve una cisteína que es desplazada por agua. La sustitución de la cisteína es inducida por la ruptura proteolítica y conduce a cambios conformacionales que activan el propéptido⁴⁰.

Este mecanismo se puede extrapolar al proceso ovulatorio ya que se generan las dos especies reactivas, por lo que se puede formar el ONOO \cdot responsable de activar e inactivar a las MMPs. Por lo tanto, el efecto final del ONOO \cdot *in vivo* dependerá de la cantidad presente del mismo y del ambiente local donde se genere el radical. De lo anterior, se puede suponer que la formación del ONOO \cdot generado por el $O_2^{\cdot-}$ y el NO durante la ovulación puede proveer un mecanismo, mediante el cual se regule

la actividad de los MMPs y los TIMPs.

Desprendimiento del *Cumulus oophorus*

Como parte del proceso de ovulación, el *Cumulus oophorus* se expande y se desprende de la capa mural de las células de la granulosa, la expansión obedece a la producción y liberación de glicosaminoglicanos. Hoy en día se cuenta con evidencias que indican que la IL-1 regula este proceso: si se administra el antagonista de la IL-1 (IL-IRA) en la bursa ovárica de la rata, los ovocitos permanecen recluidos en el folículo maduro y se impide que el *Cumulus* se expanda y desprenda de la pared del folículo.⁴¹ Por otra parte, la IL-1 β estimula la síntesis de proteoglicanos, de ácido hialurónico y de heparán sulfato en células ováricas en cultivo; y la síntesis de estos compuestos es regulada por el ovocito,

que expresa marcadamente el receptor para IL-1.⁴² Por lo tanto, es posible que esta citocina afecte la síntesis requerida de glicosaminoglicanos que conduce al desprendimiento del *Cumulus* y que ello sea mediado por el ovocito (Figura 3).

Prostaglandinas

Las prostaglandinas, los tromboxanos y las prostaciclina en conjunto se conocen como prostanoides. Todos ellos son metabolitos del ácido araquidónico, sintetizados y secretados por la mayoría de células en los animales. Al igual que las hormonas, estas moléculas ejercen su acción específica sobre células blanco. Sin embargo, se diferencian en que actúan cerca de su lugar de síntesis y se catabolizan rápidamente. Las prostaglandinas del tipo E₂ y F_{2 α} se consideran mediado-

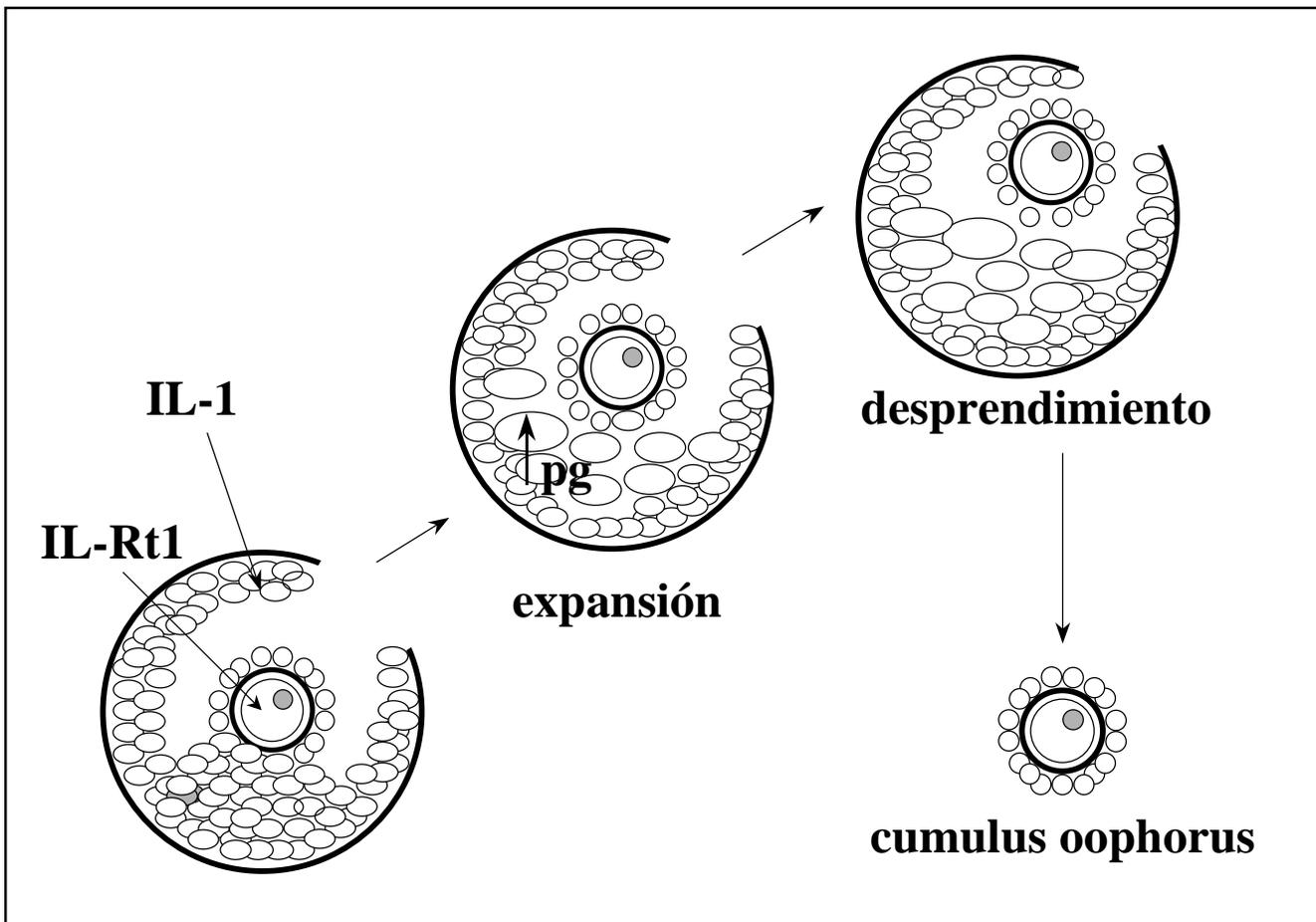


Figura 3. La IL-1 y la expansión del cumulus oophorus. La IL-1 podría inducir la síntesis de proteoglicanos (pg), la expansión y desprendimiento del cumulus oophorus mediante su acción sobre el ovocito.

res de la ovulación, debido a que en las primeras horas del proceso sus niveles aumentan, alcanzando el nivel más alto en el momento de la ruptura del folículo, la concentración de la PGE_2 es dos veces mayor que la de $PGF_{2\alpha}$. La función de estos prostanooides no es clara en la ovulación, todavía se especula si el alto nivel ovulatorio de las prostaglandinas es el que promueve los eventos degradativos del folículo o si otros metabolitos del ácido araquidónico son los responsables de los cambios que asemejan una respuesta inflamatoria en él.

De los efectos preovulatorios de la $IL-1\beta$ destaca su capacidad de sobreestimar la síntesis de $PGF_{2\alpha}$, PGE_2 y de la prostaciclina PGI_2 cuando el ovario se cultiva en presencia de la citocina, la respuesta depende de la dosis.⁴³ La producción de PGE_2 es menor cuando se cultivan por separado las células de la granulosa o de la teca en presencia de la citocina, sugiriendo que la síntesis del prostanoides requiere la interacción heteróloga de célula-célula para un mejor rendimiento.⁴⁴

Los estudios dirigidos a explicar la participación del sistema interleucina en la síntesis de $PGF_{2\alpha}$, PGE_2 y PGI_2 giran en torno a la expresión y actividad de enzimas claves, como la fosfolipasa A_2 y la prostaglandina endoperoxido sintasa o ciclooxigenasa; ya que la velocidad de síntesis de los prostanooides es determinada por ellas. La fosfolipasa A_2 cataliza la liberación del ácido araquidónico de los fosfolípidos de la membrana. La enzima se ha estudiado en el ovario y en las células de la granulosa *in vitro* en presencia de la $IL-1\beta$. La mayor concentración y actividad se encuentran en la granulosa, por ello se propone a la $IL-1\beta$ como modulador de la fosfolipasa en el ovario y como sitio principal de síntesis de prostaglandinas a las células de la granulosa.⁴⁵

Una vez liberado el ácido araquidónico, se requiere la participación de la prostaglandina endoperoxido sintasa que cuenta con dos actividades catalíticas; al inicio tiene actividad de ciclooxigenasa, oxidando al ácido araquidónico para formar a la PGG_2 , seguida de una actividad de peroxidasa, incorporando un protón a la PGG_2 para formar PGH_2 , precursor de la $PGF_{2\alpha}$, la PGE_2 y la PGI_2 .

Existen dos isoformas de las ciclooxigenasa: la 1 (Cox 1) y la 2 (Cox 2). La primera se expresa constitutivamente y se piensa que es la responsable de funciones fisiológicas. En contraste, la Cox-2 tiene bajos niveles en condiciones basales, pero es

inducible por factores de crecimiento, promotores de tumores, gonadotropinas e $IL-1\beta$. Se expresa en células de la granulosa,⁴⁶ y se propone como responsable de la síntesis de los prostanooides, permitiendo aumentar el flujo sanguíneo y la permeabilidad vascular. El mecanismo molecular de la activación de las ciclooxigenasas puede ser vía óxido nítrico-guanilil ciclasa analizada con anterioridad.

Hormonas esteroideas

Al parecer, los esteroides sexuales no tienen una participación directa en el proceso de ovulación. Sin embargo, cuando se inhibe su actividad en sistemas *in vivo* la ovulación no ocurre, pero en el ovario perfundido en un sistema de cultivo de órganos este efecto no se observa. Lo que indica que la acción de los esteroides en este proceso es indirecto por promover el pulso ovulatorio de las gonadotropinas y sensibilizar a la hipófisis a la acción de la GnRH.⁴⁷

Los folículos maduros de la rata secretan grandes cantidades de estradiol y de algunos andrógenos, cuya producción aumenta durante las primeras horas, al inicio del proceso que conduce a la ovulación. Conforme avanza el proceso, la síntesis de progesterona se incrementa de manera significativa y los niveles de estradiol disminuyen casi totalmente, este aumento preovulatorio de la progesterona⁴⁸ en la rata, se asocia con el incremento en la tasa de ovulación *in vivo*, por lo cual la participación de la progesterona ha recibido mayor atención. La función de la progesterona en los folículos preovulatorios, puede ser de importancia en el progreso de la ruptura de la pared folicular al regular los niveles de calicreína y el activador del plasminógeno.⁴⁹

En los inicios de los años noventa, se comprobó que la $IL-1\alpha$ y 1β amplifican la producción de progesterona y testosterona inducida por gonadotropinas en los folículos preovulatorios,⁵⁰ cuya síntesis se realiza en el compartimiento de la teca y es dependiente del estado de desarrollo folicular.⁵¹ Se han propuesto varios mecanismos a través de los cuales la $IL-1$ ejerce su acción para aumentar la producción de progesterona en los folículos preovulatorios. Uno de ellos es que la citocina aumenta los receptores para LH en las células de la teca, con el subsecuente aumento de progesterona. Otra posibilidad es que al incluir la síntesis de la

PGE₂ conduce a la formación de AMPc requerido para estimular la producción de progesterona. Una nueva e interesante propuesta es que actúa a través del NO (Cuadro II). El que además de tener un efecto vascular primario, estimula o inhibe la secreción de esteroides. Con la administración de L-NAME (N^G-nitro-L-arginina metil ester), inhibidor de la NOS (óxido nítrico sintasa) se interrumpe la ovulación; debido a una reducción del flujo sanguíneo como consecuencia de impedir los efectos vasodilatadores. Por otra parte, la disminución de NO trae consigo la reducción de la concentración del estradiol mientras la progesterona permanece sin ser afectada.⁵² Este comportamiento obedece a que la interacción del NO con enzimas que participan en la síntesis de esteroides puede alterar su funcionalidad, al reaccionar el NO con grupos sulfhidrilos de los residuos de cisteínas, componentes del sitio catalítico de las enzimas que requieren del citocromo P450 como la aromatasas,⁵³ y otras enzimas involucradas en la síntesis y catabolismo de los esteroides. Adams y colaboradores sugieren que el NO generado endogenamente puede regular la síntesis de la testosterona.⁵⁴ En contraste con la guanilil ciclasa que es activada por el NO, algunas isoformas del citocromo P450 pueden ser desactivadas, con ello se explicaría la disminución de las concentraciones de los estrógenos en el proceso ovulatorio y la importancia de IL-1 para inhibir su síntesis.

Conclusiones y perspectivas

No obstante la importancia de las gonadotropinas como inductores primarios de la ovulación, es evidente, por la información presentada en este trabajo, la preponderante participación del sistema de la interleucina-1 como regulador de los eventos

Cuadro II. Efectos del L-Name (inhibidor de la NOS) en el proceso de ovulación

1. Evita la vasodilatación
2. Reduce el flujo sanguíneo
3. Disminuye la concentración de estradiol
4. No altera la concentración de progesterona
5. Inhibe la ovulación

bioquímicos de la cascada ovulatoria desencadenada por las gonadotropinas. En especial la participación de la interleucina 1-β.

El sistema de la IL-1 desempeña funciones muy variadas durante la ovulación, como: contribuir al aumento del flujo sanguíneo, hiperemia, vasodilatación, y aumento en la permeabilidad vascular, al estimular la síntesis de prostaglandinas y óxido nítrico, además de favorecer la liberación de histamina de las células cebadas.

Promueve el desprendimiento del *Cumulus oophorus* de la pared del folículo al estimular la síntesis y secreción de glicosaminoglicanos.

Regula el sistema de enzimas proteolíticas responsable de la ruptura de la pared del folículo, de tal manera que evita que ésta ocurra a destiempo al controlar la actividad proteolítica y la síntesis de péptidos antiproteolíticos (APIs y TIMPs). También promueve un aumento en la relación progesterona/estrógenos. Muchas de estas acciones son dependientes de la capacidad de la IL-1β de inducir la síntesis y liberación de óxido nítrico en las células de la granulosa, este compuesto a su vez actúa sobre diversas enzimas que participan en vías metabólicas importantes para el proceso ovulatorio. Como mediador de la IL-1, el óxido nítrico tiene las siguientes acciones:

Activa a la guanilato ciclasa estimulando la producción de GMPc, compuesto que induce la relajación del músculo liso de los vasos sanguíneos, con la subsecuente vasodilatación.

Estimula a la prostaglandina endoperóxido sintasa y con ello favorece la síntesis de prostaglandinas.

Tiene un efecto bifásico sobre algunas metaloproteinasas que degradan a la matriz extracelular, como la gelatinosa A, a baja concentración estimula su actividad y a alta concentración la inhibe, esto último es debido a la acción del peroxinitrito que se forma cuando el óxido nítrico reacciona con el anión superóxido.

Inhibe la actividad de algunas enzimas esteroideogénicas que requieren del citocromo P450, por lo que la síntesis de estrógenos disminuye y aumenta la relación progesterona/estrógenos.

Para finalizar, a criterio de los autores se propone al sistema de la interleucina-1 como un mediador de las gonadotropinas capaz de coordinar y amplificar los eventos moleculares que conducen a la ovulación; y al óxido nítrico como el principal

efector de las acciones de la IL-1. Por otra parte, a medida que avance la comprensión de las diversas funciones de la IL-1 en el proceso ovulatorio y se identifiquen los mecanismos a través de los cuales ejerce su acción, se podrán en un futuro diseñar estrategias farmacológicas, basadas en ello, para el control de las funciones ováricas.

Es evidente por la información antes mencionada, la participación vital que tiene el sistema interleucina-1 como modulador de los eventos bioquímicos de la cascada ovulatoria. Destacando como principal promotor del sistema interleucina, el ligando IL-1 β ; que ejerce la mayoría de sus acciones a través del óxido nítrico. Por lo tanto, se propone al óxido nítrico en la ovulación, como un mensajero intra e intercelular que regula enzimas específicas, todas ellas comprometidas en la producción de biomoléculas requeridas para regular el flujo sanguíneo, la permeabilidad vascular, y la síntesis de proteínas eventos indispensables en el proceso. Así mismo, el óxido nítrico como inductor o supresor del activador del plasminógeno y de las metaloproteasas y sus inhibidores asociados, le confieren una función de coordinador de los eventos degradativos de la matriz extracelular al evitar que la ruptura ocurra a destiempo. Finalmente el efecto inhibitorio de la vía de la NOS puede proveer otro recurso terapéutico en el tratamiento de los desórdenes de ovario.

Agradecimientos

A la C. Trinidad Martínez Matías el apoyo recibido en la preparación del manuscrito.

Referencias

1. **Ishikawa J.** Luteinizing hormone requirements for ovulation in rat. *Biol Reprod* 1992;46:1144-1150.
2. **Armstrong DT, Opavsky MA.** Superovulation of immature rats by continuous infusion of follicle-stimulating hormone. *Biol Reprod* 1988;41:629-634.
3. **Dekel N, Sherizly A, Tsafiri A, et al.** A comparative study of the mechanism of action of luteinizing hormone and a gonadotropin releasing hormone analog on the ovary. *Biol Reprod* 1983;28:161-166.
4. **Loret de Mola JR, Goldfarb JM, Friedlander MA, et al.** Gonadotropins induce the release of interleukin-1 beta, interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha from the human preovulatory follicle. *Am J Reprod Immunol* 1998; 39(6):387-390.
5. **Díaz-Flores M, Baiza-Gutman LA, Hicks JJ.** Los nuevos moduladores endometriales en el embarazo temprano. *Gac Med Mex* 1996;132(5):519-528.
6. **Terranova PF, Montgomery R.** Review: cytokine involvement in ovarian processes. *Am J Reprod Immunol* 1997;37:50-63.
7. **Brännström M, Norman RJ, Robertson SA, et al.** Rat ovary produces cytokines during ovulation. *Biol Reprod* 1994;50:88-94.
8. **Wang LJ, Norman RJ.** Concentrations of immunoreactive interleukin-1 and interleukin-2 in human preovulatory follicular fluid. *Hum Reprod* 1992;7(2):147-150.
9. **Espey LL.** Current status of the hypothesis that mammalian ovulation is comparable to an inflammatory reaction. *Biol Reprod* 1994;50:233-238.
10. **Espey LL.** Ovulation as an inflammatory reaction-a hypothesis. *Biol Reprod* 1980;22:73-106.
11. **Shukovski L, Tsafiri A.** The involvement of nitric oxide in the ovulatory process in the rat. *Endocrinology* 1994;135(5):2287-2290.
12. **Cajander S.** Structural alterations of rabbit ovarian follicles after mating with special reference to the overlying surface epithelium. *Cell Tissue Res* 1976;173:437-449.
13. **Schaar H.** Functional morphology of the theca interna of the vesicular follicle in the human ovary. *Acta Anal* 1976;94:283-298.
14. **Merk FB, Albright JT, Botticelli CR.** The fine structure of granulosa cell nexuses in rat ovarian follicles. *Anat Rec* 1973;175:107-126.
15. **Simón C, Frances A, Polan MA et al.** Immunohistochemical of the interleukin-1 system in the mouse ovary during follicular growth, ovulation, and luteinization. *Biol Reprod* 1994;50:449-457.
16. **Kol S, Ruutiainen-Altman K, Ashashi EY, et al.** The rat intraovarian interleukin (IL)-1 cellular localization, cyclic variation and hormonal regulation of IL-1 beta of the type 1 and type 11 IL-1 receptors. *Mol Cell Endocrinol* 1999;149(1-2):115-128.
17. **Kol S, Donesky BW, Adashi EY, et al.** Ovarian interleukin-1 receptor antagonist in rats: gene expression, cellular localization, cyclic variation, and hormonal regulation of a potential determinant of interleukin-1 action. *Biol Reprod* 1999;61(1):274-282.
18. **Machelon V, Nome F, Emitie D, et al.** Macrophage and granulosa interleukin-1 beta mRNA in human ovulatory follicles. *Hum Reprod* 1995;10(89):2198-2203.
19. **Barrett JT.** B Lymphocytes and immunoglobulin E-mediated hypersensitivity. En: *Medical immunology*. Philadelphia, PA, USA: Davis; 1991. p. 51-67, 268-271.
20. **Ben-Sholomo 1, Kokia E, Payne DW et al.** Interleukin-1 β stimulates nitrite production in the rat ovary: evidence for heterologous cell-cell interaction and for insulin mediated regulation of the inducible isoform of nitric oxide synthase. *Biol Reprod* 1994;51:310-318.
21. **Salvemini D.** Regulation of cyclooxygenase enzymes by nitric oxide. *Cell Mol Life Sci* 1997;53(7):576-582.
22. **Goetz FW, Berndtson AK, Ranjan M.** Ovulation: media-

- tors at the ovarian level. In: Pang MG, Scheribman, Jones R, editors. Vertebrate endocrinology: fundamentals and biomedical implications. San Diego, CA, USA: Academic Press; 1991;4:127-204.
23. **Leonardsson Ny A, Hagglund AC, Ny T, et al.** Ovulation in plasminogen-deficient mice. *Endocrinology* 1999;140(11):5030-5035.
 24. **Ny A, Nordstrom L, Ny T.** Studies of mice lacking plasminogen activator gene function suggest that plasmin production prior to ovulation exceeds the amount needed for optimal ovulation efficiency. *Eur J Biochem* 1997;244(2):487-493.
 25. **Piquette G, Simón C, Polan M, et al.** Gene regulation of interleukin-1 beta, interleukin-1 receptor type 1, and plasminogen activator inhibitor-1 and -2 in human granulosa-luteal cells. *Fertil Steril* 1994;62:760-770.
 26. **Shen X, Minoura H, Toyoda N.** Changes in ovarian expression of tissue-type plasminogen activator inhibitor type-1 messenger ribonucleic acids during ovulation in rat. *Endocr J* 1997;44(3):341-8.
 27. **Nagase H.** Activation mechanisms of matrix metalloproteinases. *Biol Chem* 1997;378:151-160.
 28. **Hagglund AC, Ny A, Ny T.** Regulation and localization of matrix metalloproteinases in the mouse ovary during gonadotropin-induced ovulation. *Endocrinology* 1999;140(9):4351-4358.
 29. **Liu K, Wahlberg P, Ny T.** Coordinated and cell-specific regulation of membrane type matrix metalloproteinase (MT1-MMP) and its substrate matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) by physiological signals during follicular development and ovulation. *Endocrinology* 1998;139(11):4735-4738.
 30. **Pendas AM, Knäuper V, Puente XS, et al.** Identification and characterization of a novel human matrix metalloproteinase with unique structural characteristics, chromosomal location, and tissue distribution. *J Biol Chem* 1997;272: 4281-4286.
 31. **Lefebvre O, Regnier C, Chenard MP, et al.** Developmental expression of mouse stromelysin-3 mRNA. *Development* 1995;121:947-955.
 32. **Reich R, Daphna-Iken D, Tsafirri A, et al.** Preovulatory changes in ovarian expression of collagenases and tissue metalloproteinase inhibitor messenger ribonucleic acid: role of eicosanoids. *Endocrinology* 1991;129:1869-1875.
 33. **Mann JS, Kindy MS, Curry TE Jr, et al.** Role of protein synthesis, prostaglandins, and estrogen in rat ovarian metalloproteinase inhibitor production. *Biol Reprod* 1993;48:1006-1013.
 34. **Nothnick WB, Soloway P, Curry TE Jr.** Assessment of the role of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIP-1) during the periovulatory period in female mice lacking a functional TIMP-1 gene. *Biol Reprod* 1997;56(5):1181-1188.
 35. **Tamura T, Nakanishi T, Kimura Y, et al.** Nitric oxide mediates interleukin-1 induced matrix degradation and basic fibroblast growth factor release in cultured rabbit articular chondrocytes: a possible mechanism of pathological neovascularization in arthritis. *Endocrinology* 1996;137:3729-3737.
 36. **Warren B, Nothnick WB, Curry TE Jr.** Divergent effects of interleukin-1 β on steroidogenesis and matrix metalloproteinase inhibitor expression and activity in cultured rat granulosa cells. *Endocrinology* 1996;137(9):3784-3790.
 37. **Yonne YC, Conquer JA, Grinstein S, et al.** Interleukin-p induction of c-fos and collagenase expression in articular chondrocytes: involvement of reactive oxygen species. *J Cell Biochem* 1998;69:19-29.
 38. **Miyazaki T, Sueoka AM, Wallach EE, et al.** Effect of inhibition of oxygen free radical on ovulation and progesterone production by the *in-vitro* perfused rabbit ovary. *J Reprod Fertil* 1991;91:207-212.
 39. **Owens MW, Milligan SA, Jourd'Heuid D, et al.** Effects of reactive metabolites of oxygen and nitrogen on gelatinase A activity. *Am J Physiol* 1997;273:L445-L450.
 40. **Valle BL, Auld DS.** Zinc coordination, function, and structure of zinc enzymes and other proteins. *Biochemistry* 1990;29:5647-5659.
 41. **Tsafirri A.** Ovulation as a tissue remodeling process. Proteolysis and cumulus expansion. *Adv Exp Med Biol* 1995;377:121-140.
 42. **Kokia E, Hurwitz A, Adashi EY, et al.** Receptor-mediated stimulatory effect of IL-1 beta on hyaluronic acid and proteoglycan biosynthesis by cultured rat ovarian cell: role for heterologous cell-cell interactions. *Endocrinology* 1993;133(5):2391-2394.
 43. **Brannstrom M, Wang L, Norman RJ.** Effects of cytokines on prostaglandin production and steroidogenesis of incubated preovulatory follicles of the rat. *Biol Reprod* 1993;48(1):165-171.
 44. **Kokia E, Hurwitz A, Adashi EY, et al.** Interleukin-1 stimulates ovarian prostaglandin biosynthesis: evidence for heterologous contact-independent cell-cell interaction. *Endocrinology* 1992;130(5):3095-3097.
 45. **Ben-Sholomo, Kol S, Adashi EY, et al.** Ovarian expression, cellular localization, and hormonal regulation of rat secretory phospholipase A2: increased expression by interleukin-1 and by gonadotropins. *Biol Reprod* 1997;57(2):217-225.
 46. **Ando M, Kol S, Adashi EY, et al.** Rat ovarian prostaglandin endoperoxide synthase-1 and -2: periovulatory expression of granulosa cell-base interleukin-1 dependent enzymes. *Endocrinology* 1998;139(5):2501-2508.
 47. **Rosales AM, Rosado A.** Bioquímica de la maduración folicular en el mamífero: III. Ovulación. *Ciencia* 1993;44:487-498.
 48. **Milo R, Stouffer RL, Wolf PD, et al.** Midcycle administration of a progesterone synthesis inhibitor prevents ovulation in primates. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:1897-901.
 49. **Tanaka N, Espey LL, Okamura H, et al.** Epostano and indomethacin, actions on ovarian kallikrein and plasminogen activator activities during ovulation in the gonadotropin-primed immature rat. *Biol Reprod* 1992;46:665-670.
 50. **Nakamura Y, Kato H, Terranova PF.** Interleukin-1 increases thecal progesterone production of preovulatory follicles in cyclic hamsters. *Biol Reprod* 1990;43:169-173.
 51. **Yoshimura Y, Wallach EE.** Studies of the mechanism(s) of mammalian ovulation. *Fertil Steril* 1987;27:310-318.
 52. **Bonello N, McKie K, Norman RJ, et al.** Inhibition of nitric oxide: effects of interleukin-1 β -enhanced ovulation rate, steroid hormones, and ovarian leukocyte distribution at ovulation in the rat. *Biol Reprod* 1996;54:436-445.
 53. **Snyder GD, Holmes RW, Van Voorhis BJ.** Nitric oxide inhibits aromatase activity in theca interna cells. *J Steroids Biochem Mol Biol* 1996;58(1):63-69.
 54. **Adams ML, Mock B, Cicero TJ.** Nitric oxide control of steroidogenesis: endocrine effects of NG-nitro-L-arginine and comparisons to alcohol. *Life Sci* 1992;50:35-40.