

INDICE GENERAL

	Pág.
Abreviaturas utilizadas	i
Índice de Tablas	iv
Índice de Figuras	v
Resumen	x
Abstract	xvi
I.- INTRODUCCIÓN	1
1.- La oveja como modelo animal de investigación en reproducción	2
2.- Desarrollo ovárico prenatal	3
2.1.- Desarrollo embrionario del ovario en la oveja	4
2.1.1.- Origen de los ovocitos en la oveja	4
2.1.2.- Foliculogénesis: Generalidades	5
2.1.2.1.- Ensamblado folicular	6
2.1.2.2. - Activación folicular	7
2.1.2.3. - Formación de folículos preantrales y antrales	9
2.2.- Desarrollo ovárico postnatal: etapa prepuberal y pubertad	10
2.3.- Hormonas esteroides y receptores	12
2.3.1- Progesterona, andrógenos y estrógenos	13
2.4.- Ciclo celular	16
2.4.1.- Marcadores asociados al ciclo celular	17
3.- Perturbadores Endocrinos	17
3.1.- Generalidades	17
3.2.- Efecto de los Perturbadores Endocrinos sobre animales de interés zootécnico	19

3.3.- Importancia de Dietilestilbestrol y Bisfenol A en Reproducción	21
3.3.1.- Dietilestilbestrol (DES)	21
3.3.2.- Bisfenol A (BPA)	23
3.3.2.1.- La dosis de Bisfenol A	25
3.3.2.2.- La exposición a BPA y su importancia en la salud humana y de los animales	26
3.4.- Importancia de DES y BPA en el desarrollo del ovario	28
4.- Biotecnología de la reproducción en ovinos	29
4.1.- Superovulación y Transferencia de embriones	29
4.2.- Obtención de ovocitos a partir de hembras prepúberes	30
II.- OBJETIVOS	32
Objetivo General	33
Objetivos Específicos	33
III.- MATERIALES Y MÉTODOS	35
1.- Animales	36
2.- Experimento 1: Ontogenia de receptores hormonales esteroides en el ovario	38
2.1.- Obtención de muestras mediante ovariectomías bilaterales	38
2.2.- Procesamiento de las muestras de ovario	39
2.3.- Obtención de cortes histológicos	40
2.4.- Inmunohistoquímica	40
2.5.- Evaluación de la expresión de receptores para hormonas esteroides	42
3.- Experimento 2: Efecto de la exposición a bajas dosis de DES ó BPA sobre el desarrollo del ovario de la cordera.	42
3.1.- Diseño experimental	42

3.1.1.- Elección de la dosis de xenoestrógenos	43
3.1.1.1.- Dosis de BPA	43
3.1.1.2.- Dosis de DES	44
3.1.2.- Obtención de muestras de ovario	44
3.1.3.- Obtención de muestras de suero	44
3.1.4.- Estudio morfométrico de la dinámica folicular	45
3.1.5.- Evaluación de marcadores asociados al ciclo de división celular	47
3.1.5.1.- Cuantificación de los marcadores asociados a proliferación celular	48
3.1.5.2.- Evaluación de folículos atrésicos	48
3.1.6.- Determinación de receptores esteroides ováricos	48
3.1.7.- Niveles séricos de E2 y T	48
4.- Experimento 3: Respuesta ovárica a un estímulo gonadotrófico en corderas expuestas a DES ó BPA	49
4.1.- Diseño experimental	49
4.1.1.- Determinaciones	51
4.1.1.1.- Respuesta ovárica al estímulo gonadotrófico	51
4.1.1.2.- Número de folículos atrésicos	52
4.1.1.3.- Receptores de hormonas esteroides ováricos	52
4.1.1.4.- Niveles séricos de E2	52
5.- Análisis Estadísticos	52
IV.- RESULTADOS	53
1.- Experimento 1: Ontogenia de receptores de hormonas esteroides ováricas: Expresión de REα, REβ y RA durante el desarrollo neonatal del ovario de la oveja	54
1.1.- Receptor de Estrógeno alfa (RE α)	54
1.2.- Receptor de Estrógeno beta (RE β)	55
1.3.- Receptor de Andrógenos (RA)	56

2.- Experimento 2: Exposición neonatal a xenoestrógenos y su efecto en el ovario	56
2.1.- Peso ovárico en corderas expuesta a DES ó BPA	57
2.2.- Los ovarios de las corderas expuestas a xenoestrógenos mostraron alteraciones en la dinámica folicular	58
2.2.1.- Aumento en la incidencia de folículos multiovulares (FMOs)	59
2.3.- Proliferación celular, expresión de p27 y atresia folicular	61
2.3.1.- La expresión de Ki67 (marcador de proliferación celular)	61
2.3.2.- Expresión de p27	62
2.3.3.- Incidencia de folículos atrésicos	63
2.4.- Efectos sobre la expresión de receptores esteroides y la esteroidogénesis ovárica	64
2.4.1.- Expresión inmunohistoquímica de RE α , RE β y RA	64
2.4.2.- Niveles séricos de E2 (Estradiol) y T (Testosterona)	64
3.- Experimento 3: Respuesta ovárica a un estímulo gonadotrófico en corderas expuestas neonatalmente a xenoestrógenos	65
3.1.- Número de folículos ováricos en respuesta al estímulo gonadotrófico	65
3.2.- Número de folículos atrésicos	68
3.3.- Expresión de receptores esteroides	68
3.4.- Efecto sobre la esteroidogénesis ovárica	70
4.- Resumen de resultados	71
V.- DISCUSIÓN	73
1.- Experimento 1: Ontogenia de receptores de hormonas esteroides ováricas	74
2.- Experimento 2: Exposición neonatal a xenoestrógenos y su efecto en el ovario	76

3.- Experimento 3: Respuesta ovárica a un estímulo gonadotrófico	82
4.- Comentario General	85
VI.- CONCLUSIONES	88
VII.- BIBLIOGRAFÍA	91