

# UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

## FACULTAD DE OBSTETRICIA Y PUERICULTURA



### **“EFECTO DEL FOENICULUM VULGARE (HINOJO) EN LA FOLICULOGENESIS Y MADURACIÓN FOLICULAR EN RATAS NORVEGICUS EN COMPARACIÓN CON CITRATO DE CLOMIFENO. ENERO - FEBRERO. AREQUIPA 2016”**

**Tesis presentada por:**

BACH. MILAGROS AMELIA FUENTES VARGAS

BACH. MARIA TERESA JOSEFA ZAPANA TITO

**Para optar el título de Licenciadas En Obstetricia**

Arequipa – Perú

2016



### **DEDICATORIA**

*Agradecemos principalmente a Dios y en segundo lugar a nuestros padres quienes siempre nos apoyaron para seguir adelante en estos años de estudios*

*A nuestros docentes que son nuestro ejemplo ya que no solo nos formaron como profesionales sino también como mejores personas.*



*“Nunca consideres el estudio como una obligación,  
sino como una oportunidad para penetrar en el bello  
y maravilloso mundo del saber”.*

*Albert Einstein*

## ÍNDICE

<b>RESUMEN.....</b>	<b>6</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>8</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>9</b>
<b>I.- PLANTEAMIENTO TEÓRICO .....</b>	<b>11</b>
1.- PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN .....	12
1.1 ENUNCIADO .....	12
1.2 DESCRIPCIÓN .....	12
1.3 JUSTIFICACIÓN.....	14
2.- OBJETIVOS.....	15
3.- MARCO TEÓRICO .....	15
3.1 MARCO CONCEPTUAL.....	15
3.1.1 FOENICULUM VULGARE.....	15
3.1.2 RATAS NORVEGICUS TIPO WISTAR.....	23
3.1.3 FOLICULOGÉNESIS.....	27
3.1.4 OVOGÉNESIS.....	29
3.1.5 INFERTILIDAD .....	39
3.1.6 CITRATO DE CLOMIFENO.....	46
3.1.7 ÉTICA EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.....	56
3.2 ANÁLISIS DE ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS .....	56
4.- HIPÓTESIS.....	64
<b>II.- PLANTEAMIENTO OPERACIONAL .....</b>	<b>65</b>
1.- TÉCNICAS INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN .....	65
2.- CAMPO DE VERIFICACIÓN.....	66
3.-ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	67
4.- ESTRATEGIA PARA MANEJAR LOS RESULTADOS.....	69

<b>III. RESULTADOS.....</b>	<b>70</b>
<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>78</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>82</b>
<b>IV. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>82</b>
<b>V. HEMEROGRAFÍA.....</b>	<b>83</b>
<b>VI. INFORMATOGRAFÍA.....</b>	<b>91</b>
<b>VII. ANEXOS .....</b>	<b>93</b>
1.- LISTA DE COTEJO.....	93
2.- LISTA DE FOLÍCULOS ENCONTRADOS.....	97
3.- MATERIALES .....	99
4.- MÉTODOS .....	100
5.- IDENTIFICACIÓN DEL CICLO DE LA RATA.....	106
6.- CROMATOGRFÍA: .....	112
7.- CROQUIS.....	114

## RESUMEN

La infertilidad es una condición que afecta al 15- 20% de las parejas en edad reproductiva. Se ha descrito en la literatura efectos fisiológicos de las plantas que pudieran favorecer la fertilidad de la mujer.

**Objetivo:** Determinar el efecto del *Foeniculum Vulgare* (Hinojo) en la foliculogenesis y maduración folicular en ratas *Rattus norvegicus* en comparación con Citrato de Clomifeno.

**Material y métodos:** Estudio de diseño experimental, observacional, de campo, prospectivo, longitudinal, realizado en el Bioterio de la Universidad Católica de Santa María s/n número Umacollo. Enero – Febrero. Arequipa en el año 2016.

**Unidades de Estudio:** Grupos de ratas Albinas *Rattus norvegicus* tipo Wistar : en número de 40, de 4 - 5 meses entre 250 a 300 gr de peso distribuidas al azar en 4 grupos a quienes se administró a un grupo de 10 ratas 400 mg / kg por día del extracto etanólico de *Foeniculum Vulgare* (Hinojo) durante 5 días, un grupo de 10 ratas : 800 mg / kg por día del *Foeniculum Vulgare* durante 5 días, un grupo de 10 ratas: Citrato de Clomifeno 1 ml x dosis por día durante 2 días y un grupo de comparación de 10 ratas agua destilada 1 ml por día durante 5 días. Se respetó el Código de Ética de la Investigación en animales de experimentación. Se sacrificó a las ratas para hacer los cortes histológicos y verificar la presencia o ausencia de folículos en los ovarios. Para el análisis de la variable presencia de folículos en los diferentes grupos de estudio y para la comparación estadística se realizó la prueba de X<sup>2</sup> con un nivel de significancia de 5%. Así mismo para la comparación del número de folículos se realizó la prueba de análisis de varianza(ANOVA) y la prueba de Tukey para discriminar las medias, con un nivel de significancia de 5%. El proceso de la información se realizó mediante el software estadístico SPSS Versión 21.

**Resultados:** Se pudo demostrar diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.05$ ) en la presencia de folículos primarios, secundarios y folículos maduros cuando se aplica las concentraciones de Hinojo, Citrato de Clomifeno y el agua destilada.

El 100% del grupo de ratas que recibieron Citrato de Clomifeno, presentaron folículos primarios. Así mismo el 90 % del grupo de ratas que recibieron Hinojo a dosis de 800 mg/kg presentaron folículos secundarios y el 80% presentaron folículos maduros. Se evidenció también que el 80% del grupo de ratas que recibieron Hinojo a dosis de 400 mg/kg presentaron folículos secundarios y el 70% de este mismo grupo presentaron folículos maduros, no teniendo diferencias significativas.

La prueba de Tukey nos indica que el mayor número de folículos primarios se encontraron cuando se aplicó Citrato de Clomifeno y el mayor número de folículos secundarios y maduros se encontraron cuando se aplicó la concentración de Hinojo 800 mg/kg

**Conclusión:** El Hinojo a concentraciones de 800mg/kg tuvo diferencias significativas a comparación del Hinojo a concentraciones de 400 mg/kg en referencia a la presencia de folículos secundarios y maduros.

**Palabras claves:** folículogénesis, maduración folicular, foeniculum vulgare, hinojo, rata.

## SUMMARY

Infertility is a condition that affects 15 to 20% of couples of reproductive age. It is described in the literature physiological effects of plants that may promote fertility of women.

**Objective:** To determine the effect of *Foeniculum vulgare* (fennel) in folliculogenesis and follicular maturation in *Rattus norvegicus* rats compared with clomiphene citrate.

**Material and Methods:** Study of experimental, observational field, prospective, longitudinal design, made in the Vivarium of the Catholic University of Santa María s / n number Umacollo - Arequipa in 2016.

**Units of Study:** Groups of Albino *Rattus norvegicus* type Wistar: number 40, from 4 to 5 months between 250-300 g weight randomly distributed in 4 groups to a group of 10 rats was administered 400 mg / kg per day of ethanolic extract of *Foeniculum vulgare* (fennel) for 5 days, a group of 10 rats: 800 mg / kg per day *Foeniculum vulgare* for 5 days, a group of 10 rats: clomiphene citrate 1ml x dose per day for 2 days and a comparison group of 10 rats 1 ml distilled water per day for 5 days. The code of ethics of research in experimental animals was respected. He sacrificed the rats to make tissue sections and verify the presence or absence of follicles in the ovaries. For the analysis of the variable presence of follicles in the different study groups and for statistical comparison X<sup>2</sup> test was performed with a significance level of 5%. Also for comparison of the number of follicles test analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test was performed to discriminate the middle, with a significance level of 5%. The information processing was performed using SPSS statistical software version 21.

**Results:** It was possible to demonstrate statistically significant differences ( $P < 0.05$ ) in the presence of primary, secondary and mature follicles when concentrations of fennel, clomiphene citrate and distilled water is applied.

100% of the group of rats receiving clomiphene citrate, presented primary follicles. Also 90% of the group of rats receiving fennel dose of 800 mg / kg showed secondary follicles and 80% had mature follicles. It also showed that 80% of the

group of rats receiving fennel at doses of 400 mg / kg showed secondary follicles and 70% of this same group had mature follicles, having no significant differences. The deTukey test indicates that the largest number of primary follicles were found when clomiphene citrate and the largest number of secondary and mature follicles was applied were found when the concentration was applied fennel 800 mg / kg

**Conclusion:** Fennel at concentrations of 800 mg / kg had significant differences compared Fennel at concentrations of 400 mg / kg in reference to the presence of secondary and mature follicles.

**Keywords:** folliculogenesis, follicular maturation, foeniculum vulgare, fennel, rat.



## INTRODUCCIÓN

La infertilidad es una condición que afecta al 15- 20% de las parejas en edad reproductiva. Puede ser definida como la incapacidad de completar un embarazo luego de un tiempo razonable de relaciones sexuales sin usar métodos anticonceptivos. El estudio de la pareja infértil siempre se ha enfocado considerando diferentes factores: el ovulatorio (presente en alrededor de 20% de las parejas), el útero-tubárico-peritoneal (se observa en ~30% de las parejas), el de migración del semen (10% de los casos) y el masculino (30% de las parejas). Cerca de 40% de todas las parejas infértiles presentan una combinación de factores y aproximadamente el 15% no evidencia ninguna alteración objetiva que lleve a un diagnóstico definido. La anovulación es definida como la condición en la cual el desarrollo y la ruptura folicular están alterados y por lo tanto el ovocito no es liberado del folículo; se han identificado varias causas (Franks, 1991). (1)

El 80% de la población mundial, (más de cuatro mil millones de personas), utilizan las plantas como principal remedio medicinal, según nos señala la Organización Mundial de la Salud. (11)

Actualmente, la medicina popular juega un papel importante en el cuidado de la salud individual y primaria de la comunidad, el uso de productos a base de hierbas está aumentando en muchos países. (2,5).

Este tema es muy importante ya que con el uso del Hinojo se disminuiría costos en tratamiento fallidos de ovulación y así habría mayores posibilidades de tener embarazos planificados con menores complicaciones y como fin la llegada de un nuevo ser.

Motivadas por ello, buscamos una planta de uso medicinal tal como es el Hinojo (*Foeniculum Vulgare*) que tiene muchas propiedades tales como galactogogo, antiinflamatorio y antiflatulento; y que es de fácil acceso en el mercado, para comparar los efectos en la foliculogénesis y maduración folicular en ratas tipo *norvegicus* con un medicamento con efectos científicamente comprobados como es el Citrato de Clomifeno.



# I.- PLANTEAMIENTO TEÓRICO

## 1.- PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

### 1.1 ENUNCIADO

Efecto del *Foeniculum Vulgare* (Hinojo) en la foliculogénesis y maduración folicular en ratas norvegicus en comparación con Citrato de Clomifeno. Enero – Febrero. Arequipa 2016.

### 1.2 DESCRIPCIÓN

#### A. Área de Conocimiento

Área General: Ciencias de la Salud

Área Específica: Obstetricia

Especialidad: Salud Pública

Línea: Efecto del *Foeniculum Vulgare* (Hinojo) en la foliculogénesis y maduración folicular en ratas Norvegicus en comparación con Citrato de Clomifeno

#### B.- Análisis u Operacionalización de Variables:

VARIABLE	INDICADORES	SUB INDICADORES	ITEMS
(VARIABLES INDEPENDIENTES)		Concentración	400 mg/kg 800 mg/kg
Administración de <i>Foeniculum Vulgare</i> (Hinojo)	SI	Dosis n° de tomas	Cantidad ml/kg 1 por día durante 5 días
Administración de Citrato de Clomifeno	SI	Concentración Dosis n° de tomas	50mg/kg Cantidad ml/kg 1 por día durante 2 días

Administración de Agua Destilada	SI	Dosis  n° de tomas	Cantidad ml/kg  1 por día durante 5 días
(VARIABLE DEPENDIENTE)  Foliculogénesis  Maduración Folicular	Cantidad de folículos  Tipos de Folículos	Primario Secundario Maduro	

### C.- Interrogantes Básicas

- 1.- ¿Cuál es el efecto del Foeniculum Vulgare (Hinojo) en dosis de 400/kg y 800 mg/kg en la foliculogénesis y maduración folicular en ratas norvegicus?
- 2.- ¿Cuál es el efecto del Citrato de Clomifeno en la foliculogénesis y maduración folicular en ratas norvegicus?
- 3.- ¿Existe diferencia en los efectos de foliculogénesis y maduración folicular entre las ratas que consumieron Hinojo en dosis de 400/kg y 800 mg/kg en comparación con las que consumieron Citrato de Clomifeno?

### D. Tipo de Investigación

- Longitudinal, prospectivo y de laboratorio

### E. Nivel de Investigación

- Experimental Comparativo

### 1.3 JUSTIFICACIÓN

**Relevancia social:** Se sabe que la infertilidad es una condición que afecta al 15-20% de las parejas en edad reproductiva. Dentro del campo de la salud reproductiva, la infertilidad implica una deficiencia que no compromete la integridad física del individuo ni amenaza su vida. Sin embargo, dicha deficiencia puede tener un impacto negativo sobre el desarrollo del individuo, produciendo frustración y debilitando la personalidad, ya que la mayoría de las parejas consideran tener hijos como un objetivo de vida. (9)

**Relevancia científica:** La medicina tradicional complementaria se utiliza ampliamente en todo el mundo y se la aprecia por diversos motivos. En la Conferencia Internacional sobre Medicina Tradicional para los Países de Asia Sudoriental, celebrada en febrero de 2013, la Directora General de la Organización Mundial de la Salud, Dra. Margaret Chan, declaró que “las medicinas tradicionales de calidad, seguridad y eficacia comprobada contribuyen a asegurar el acceso de todas las personas a la atención de salud. Para muchos millones de personas, los tratamientos tradicionales y los prácticos de las medicinas tradicionales representan la principal fuente de atención sanitaria, y a veces la única. Esta forma de atención está próxima a los hogares, es accesible y asequible. Además, es culturalmente aceptada y en ella confían muchísimas personas”. (11)

**Factibilidad:** Es factible por la disponibilidad de las unidades de estudios, el Hinojo y el medicamento. El Hinojo es una hierba tradicional y popular con una larga historia de uso medicinal (69). El Citrato de Clomifeno es un fármaco no esteroideo, inductor de la fertilidad en mujeres que no ovulan u ovulan infrecuentemente, éste puede producir la ovulación hasta en el 80% de las mujeres (29)

**Motivación personal:** Con el presente estudio queremos determinar los efectos del *Foeniculum Vulgare* (Hinojo) en la foliculogénesis y maduración folicular en ratas norvegicus en comparación con Citrato de Clomifeno, con el fin de que las nuevas evidencias ayuden a incorporar nuevos conocimientos en salud.

## 2.- OBJETIVOS

- 1.- Determinar el efecto del *Foeniculum Vulgare* (Hinojo) en dosis de 400mg/kg y 800 mg/kg en la foliculogénesis y maduración folicular en ratas norvegicus
- 2.- Identificar el efecto del Citrato de Clomifeno en la foliculogénesis y maduración folicular en ratas norvegicus
- 3.- Establecer la diferencia en los efectos de foliculogénesis y maduración folicular entre las ratas que consumieron Hinojo en dosis de 400mg/kg y 800 mg/kg en comparación con las que consumieron Citrato de Clomifeno.

## 3.- MARCO TEÓRICO

### 3.1 MARCO CONCEPTUAL

#### 3.1.1 FOENICULUM VULGARE

Es una planta medicinal que pertenece a la familia (Apiaceae) umbelíferas, conocida y utilizada por los seres humanos desde la antigüedad, debido a su sabor. Se cultiva en casi todos los países (19)

Es conocida universalmente como Hinojo u otros nombres en más de 100 países. (Tabla 1).

Tabla n° 1 Nombres vernaculares del <i>Foeniculum Vulgare</i>	
<i>Pais</i>	<i>Nombre local</i>
Bolivia	Hinojo
Aymara, quechua	Inuju
Turquía	Arapsaci, rezene, malatura, hullebe

Brasil	Endro, erva-doce, funcho
Catalan	Fenoll, fonoll
China	Hui xiang, xiao hui xiang
English	Bitter fennel, sweet fennel, wild fennel
France	Fenouille
Alemania	Fenchel, fenchle, bitterfenchel, wilder fenchel.
México	Hinojo
Latin	Foeniculum, maratrum
Ecuador	Hinojo

Fuente: BioMed Research International

El Hinojo es una planta herbácea, de porte erecto que puede alcanzar los 2 metros de altura. Las hojas, de color verde intenso, son largas y delgadas, acabando en segmentos en forma de aguja, que se endurecen exteriormente en el verano para evitar la pérdida de agua. Hay variedades de Hinojo con color bronceado (púrpura). Las flores de color amarillo aparecen en ramilletes de 20 a 50 florecillas sobre pedúnculos cortos, llamados umbelas (inflorescencia en la que los pedicelos de todas las flores se insertan en un mismo punto de su eje, de modo semejante a las varillas de un paraguas). Florecen en verano. Los frutos son ovoides y oblongos. (69)

Es una hierba tradicional y popular con una larga historia de uso como una medicina. Una serie de estudios demostró que el *Foeniculum Vulgare* efectivamente controla numerosos trastornos infecciosos de origen bacteriano, hongos, virus, micobacterias y protozoos, hipoglucémico, y las actividades estrogénicas. Algunas

de las publicaciones declararon que el *Foeniculum Vulgare* tiene un tipo especial de efecto potenciador de la memoria y puede reducir el estrés. Los experimentos en animales y ensayos clínicos limitados sugieren que el uso crónico de *Foeniculum Vulgare* no es perjudicial. El Hinojo se puede consumir a diario, en forma cruda como ensaladas y bocadillos, estofado, hervido, a la plancha o al horno en varios platos e incluso utilizado en la preparación de infusiones. Una dieta con la cantidad deseada de Hinojo podría traer potencial beneficios debido a su valiosa composición nutricional con respecto a la presencia de ácidos grasos esenciales. (69)

En años recientes, hay aumento de los intereses en la mejora del rendimiento agrícola de Hinojo, debido a sus propiedades medicinales y contenido de aceite esencial ha fomentado el cultivo de la planta a gran escala. (6)

#### **3.1.1.1.-TAXONOMÍA.**

Reino: Plantae

División: Tracheophyta

Subdivisión: Spermatophytina

Clase: Magnoliopsida,

Orden: Apiales,

Familia: Apiaceae,

Género: *Foeniculum*

Las especies: *vulgare*

Nombre botánico: *Foeniculum Vulgare* Mill.

Descripción botánica: El Hinojo es una hierba antigua estacional. La planta de Hinojo se originó en la región sur del Mediterráneo y el cultivo crece en todo el Norte, Este y Oeste, especialmente en Asia, América del Norte y Europa. (21)

Se cultiva en campos y también crece en forma silvestre. La hierba era bien conocida por los antiguos egipcios, romanos, indios y chinos. Los romanos utilizaron sus semillas aromáticas y los brotes carnosos comestibles siguen siendo un vegetal muy común en el sur de Italia (21)

### 3.1.1.2 COMPOSICIÓN QUÍMICA Y VALOR NUTRICIONAL DE HINOJO

Foeniculum Vulgare es ampliamente cultivada por su fruto comestible o semillas. Estos son dulces y secos; es una fruta exquisita. La fruta se seca a menudo para su uso posterior y esta fruta seca llamada Hinojo es un elemento importante del comercio. (51)

Composición de nutrientes de Hinojo (Tabla 2) (20)

<b>Tabla 2: NUTRIENTES ENCONTRADOS EN EL FOENICULUM VULGARE SECO</b>	
<b>COMPOSICIÓN</b>	<b>CANTIDAD</b>
Humedad	90.21 g
Energía	31 Kcal
Proteínas	1.24 g
Lípidos totales	0.2 g
Carbohidratos	7.3 g
Fibra dietética total	3.1 g
Azúcar	3.93 g
<b>Minerales</b>	
Calcio	49 mg
Hierro	0.73 mg
Magnesio	17 mg
Fosforo	50 mg
Potasio	414 mg
Sodio	52 mg
Zinc	0.2 mg
<b>Vitaminas</b>	
Vitamina C	12 mg
Tiamina B-1	0.01 mg
Riboflavina B-2	0.032 mg

Niacina B-3	0.64 mg
Vitamina B-6	0.047 mg
Folato	27 ug
Vitamina A	48 ug

Fuente: BioMed Research International

### 3.1.1.3 ACTIVIDADES FARMACOLÓGICAS

Se han llevado a cabo estudios de biología -farmacológicos para evaluar los usos indígenas de *Foeniculum Vulgare*. Extractos de *Foeniculum Vulgare* y compuestos aislados han sido evaluadas para varias actividades tales como antialérgico, antitusígeno, anti-inflamatorio, antimicrobiano y antiviral, antimutagénico, anticonceptivo, antipirético, antiespasmódico, anti estrés, antitrombótico, ansiolítico, cardiovascular, antitumoral, diurético, propiedades estrogénicas, expectorante, galactogénico, efectos gastrointestinales, y hepatoprotector.. (10) (26) (52) (53) (54)

#### A) Actividad antimicrobiana y antiviral

*Foeniculum Vulgare* se ha utilizado como un remedio para la cura de numerosos trastornos infecciosos de origen bacteriano, fúngico y viral.

Un extracto acuoso de la parte aérea de *Foeniculum Vulgare* inhibió el crecimiento de *Agrobacterium radiobacter* pv. *tumefaciens*, *Erwinia carotovora*, *Pseudomonas fluorescens* y *Pseudomonas glycinea*. (55) (56)

Un extracto acuoso de muestra de semilla inhibió el crecimiento de *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*, y *Bacillus cereus*. (22)

#### B) Actividad antiinflamatoria.

La administración oral de extracto de metanol de *Foeniculum Vulgare* para rata y ratones presentó efectos inhibidores contra la inflamación aguda. La actividad anti-inflamatoria de extracto de metanol se evaluó mediante el uso de tres protocolos de

cribado, a saber, edema de la pata de rata inducido por carragenina, inducida por ácido araquidónico edema de la oreja, y la artritis inducida por formaldehído. Estos son ampliamente utilizados para el ensayo antiinflamatorio no esteroideo. Para inflamación aguda, extracto de metanol (200 mg / kg) exhibe una inhibición significativa de edema de la pata de rata (69%) inducida por la inyección de carragenina, en comparación con el grupo de control de animales. (23)

Los resultados generales parecen sugerir que *Foeniculum Vulgare* puede actuar en tanto la ciclooxigenasa y las vías de la lipoxigenasa. (24)

### **C) Actividad antialérgica.**

Extracto metanólico de *Foeniculum Vulgare* mostró efecto inhibitorio significativo sobre DNFB- (2,4- dinitrofluorobenzene-) inducida por hipersensibilidad de tipo retardado después de la administración oral de 200 mg / kg una vez al día durante 7 días. (24)

### **D) Actividad hepatoprotectora.**

El aceite esencial de *Foeniculum Vulgare* semillas revelaron un efecto hepatoprotector potente contra la hepatotoxicidad aguda producida por tetracloruro de carbono en ratas.

La administración oral de *Foeniculum Vulgare* (aceite esencial) disminuye los niveles de aspartato aminotransferasa , alanina aminotransferasa , fosfatasa alcalina , y bilirrubina.(25)

### **E) Actividad ansiolítica.**

La ansiedad es la sensación desagradable del miedo y la preocupación. Cuando la ansiedad se vuelve excesiva, puede ser considerado como un trastorno de ansiedad. Hinojo ansiolítico es un fármaco utilizado para el tratamiento de la ansiedad y síntomas psicológicos

Naga Kishore et al. Investigaron la actividad ansiolítica del extracto etanólico de las semillas de *Foeniculum Vulgare*, fue una prueba de campo abierto. Los 100 a 200 mg de dosis de extracto por kg de peso corporal en los animales revelaron

actividad significativa cuando se compara con el medicamento diazepam. Por lo tanto, el extracto de Hinojo puede poseer actividad ansiolítica. (26)

#### **F) Actividad Antiestrés.**

Medicamentos y alimentos de origen natural juegan un papel importante en los sistemas de salud públicos y siguen siendo investigados como remedios para disminuir los trastornos. (27)

#### **G) Mejora la memoria**

Hay una serie de plantas, cuyo consumo se crea para mejorar la memoria y la inteligencia. Estas por lo general se les dieron a los niños como parte de sus alimentos. Foeniculum Vulgare. Rasayana ayurvédica (mezcla) que posee múltiples actividades neurofarmacológicas. La actividad antidepresiva de Hinojo ha sido bien documentada en etnomedicina. El extracto de plantas enteras (50, 100 y 200 mg / kg) de Foeniculum Vulgare exhibió efecto potenciador de la memoria contra las ratas amnésicas inducidas por Escopolamina.

La amnesia fue mayor en el grupo control que en los grupos tratados con el extracto. Foeniculum Vulgare produce mejoría en la retención y la recuperación de una manera dependiente de la dosis. (28)

#### **H) Actividad nootrópica**

La enfermedad de Alzheimer es una enfermedad neurodegenerativa asociada con una disminución cognitiva. La demencia es uno de los problemas mentales relacionados con la edad y un síntoma característico de la enfermedad de Alzheimer. Ya están algunas pruebas a favor del uso de Foeniculum Vulgare para el tratamiento de los trastornos cognitivos como la demencia y el Alzheimer. El extracto de etanol de la planta entera de Foeniculum Vulgare administrada durante ocho días sucesivos mejora el efecto amnésico de la escopolamina y la memoria inducida por el envejecimiento.

Foeniculum Vulgare también es galactagoga, carminativo, diurético y propiedades estimulantes de la lactancia. Contiene 1% - 3% de un aceite volátil, que se compone de 50% - 85% de anetol y aproximadamente 20% de d-fenchona. (29)

#### **3.1.1.4 FOENICULUM VULGARE EN AMÉRICA**

Los españoles cultivaron el Hinojo. Arraigó bien y se extendió por todo el continente. Sus usos en América fueron muy parecidos a los Europeos. Su uso es muy común y tradicional en la pampa Argentina, donde los gauchos lo usaban y siguen usando para problemas oculares. Las madres masticaban Hinojo y alentaban los ojitos de los bebés para prevenir las infecciones oculares. También se usaba con este fin en compresas tibias de infusión de frutos. Como en Europa, se ha utilizado ampliamente para prevenir las flatulencias, calmar el dolor de estómago y para disolver los cálculos renales. (10)

#### **3.1.1.5 CURIOSIDADES, DICHOS, LEYENDAS Y USOS MÁGICOS**

En el Recetario de principios del Siglo XVI editado por Olindo Guerrini, se encuentra una anotación de su uso macerado con vino y otras especies para “hacer bellos los cabellos”, uso que vuelve a dársele hoy en día. (10)

El aroma del Hinojo es característico y sobresale por encima de los otros sabores, por eso se usó para enmascarar el sabor de la carne o el pescado. Un dicho de la escuela salernitana: “La semilla de Hinojo en vino reanima, excita el ánimo preso de amor; del viejo rejuvenece y desata el ardor; del hígado y los pulmones expulsa el dolor, el uso saludable de la semilla expulsa del vientre el viento que lo devasta.” (10)

En ciertas regiones españolas de tradición celta, se asoció a la brujería, así en Galicia (en la provincia de Orense), se recomendaba para curar el mal de aire asperger un hisopo hecho con Hinojo mojado en vino tinto; y en Foncarei golpeaban suavemente la parte del cuerpo dañada con tres ramitas de Hinojo, mientras se recitaba: “Te bendigo, te disciplino, con tres ramitas de Hinojo y vino tinto del Ribeiro, por la gracia de Dios”. En Cambados (Pontevedra), se usaba para curar el

mal de ojo, la prédica era: “sal de la marina, agua de la fuente, Hinojo del monte y aceite de oliva”. (10)

En Asturias, los vaqueros colgaban del cuello de las reses una pequeña bolsa cuadrada conteniendo añil, Hinojo y sándalo, a modo de amuleto, para proteger a las reses del mal de ojo. Asimismo, fue creencia bastante generalizada que el Hinojo que nace cerca de los cementerios “alberga” el alma de los muertos, por lo que no se recomendaba recogerlo. (10)

### **3.1.2 RATAS NORVEGICUS TIPO WISTAR**

- REINO: Animal
- PHYLUM: SUBPHYLUM: Vertebrata
- CLASE: Mammalia
- ORDEN: Rodentia
- FAMILIA: Muridae
- GENERO: Mus Rattus
- ESPECIE: Rattus norvegicus (Berkenhout, 1769). (70)

Más del 90% de los mamíferos utilizados en investigación científica pertenecen al orden Rodentia. Es la orden más abundante de los mamíferos vivientes, representada por más de 2000 especies (40% de los mamíferos), agrupadas en 30 familias. (70)

La principal característica de la orden es su dentición: Especializados en la función de roer. Incisivos de crecimiento continuo, sin raíz, con esmalte anterior. No presentan caninos, generando un espacio sin dientes, denominado diastema, entre incisivos y molares. (70)

#### **3.1.2.1 ESPECIE: RATTUS NORVEGICUS CARACTERÍSTICAS GENERALES**

**Origen:** Zonas más frías de Asia Central

- ✓ Actualmente distribución mundial

- ✓ Peso de adulto 250-500 gr.
- ✓ Hábitos nocturnos
- ✓ Visión pobre, olfato muy desarrollado, agudo sentido de la audición y tacto
- ✓ Sin reflejo de vómito
- ✓ Sin vesícula biliar
- ✓ Glándula Harderiana – en la órbita de los ojos que secreta porfirina como respuesta al estrés
- ✓ Cola con función de termorregulación y equilibrio (70)

### 3.1.2.2 CARACTERÍSTICAS REPRODUCTIVAS:

Diferencia entre sexos: distancia ano-genital, mayor en machos

#### □ Hembra:

- ✓ Poliéstrica continua
- ✓ Ciclo estral: 4 a 5 días
- ✓ Útero bicorne
- ✓ 6 pares de mamas
- ✓ Duración del celo: 12 horas
- ✓ Celo posparto (dentro de las 24 horas). (70)



#### □ Macho:

- ✓ Canal inguinal abierto aún en adulto ( testículos abdominales o escrotales). (70)

Otros datos:

- Pubertad: 6 semanas
- Gestación: 21-23 días
- Promedio de camada: 6-12 crías
- Lactancia: 21 días
- Presencia de tapón vaginal posparto. (70)

### 3.1.2.3 FISIOLÓGÍA REPRODUCTIVA EN RATAS

Muchos de los estudios que se han realizado sobre el control del ciclo ovárico de mamíferos estrales de ovulación espontánea y no estacionales, están basados en la información obtenida del ciclo estral de la rata, siendo las cepas de ratas Wistar y Sprague-Dawley las más utilizadas para la investigación sobre agentes contraceptivos. (14)

En cuanto al ciclo de vida reproductivo, las ratas de esta especie poseen una vida media de 2 años siendo sexualmente maduros entre 60 a 90 días de edad. La gestación de la hembra dura de 22 a 24 días, con 8 a 12 nidadas por año, y cada nidada posee de 8 a 12 individuos con una supervivencia de 12 a 20 individuos por hembra al año. (15)

Las hembras de esta especie son poliéstricas continuas, anatómicamente tienen similitudes con el aparato reproductor del ratón, el infundíbulo está envuelto por una bolsa formada por el mesosalpinx, este es llamado el saco ovárico. Tiene el útero bicornio con la peculiaridad que poseen 2 cuellos uterinos, una para cada cuerno, comunicados entre sí por una sola vagina. (15)

#### **La reproducción de las ratas o ciclo estral**

El ciclo reproductor de la rata tiene una duración de 4-6 días. Los factores ambientales pueden producir variaciones en el desarrollo hormonal de los ciclos. Estos factores (luz, temperatura, ruido y transportación) producen modificaciones en el ciclo estral. (74)

El ciclo estral se divide en 3 pasos:

- A) Proestro:** dura aproximadamente 12 horas. En esta etapa, el Ph vaginal es de 5.4. La vagina se torna seca, los ovarios están en plena producción folicular, el diámetro de la luz uterina es de 5mm. (74)
- B) Estro:** dura de 9 a 15 horas, la vagina se ve seca, el Ph vaginal es de 4.2 y aparece un flujo vaginal abundante y frecuente. Los estrógenos circulantes provocan cambios en el útero y aparece el deseo de apareamiento. Aumenta

la producción de la hormona Folículo Estimulante y de la hormona Luteinizante en los días siguientes. El estro se caracteriza por cambios conductuales en el animal. Se ve que la rata corre más que de costumbre, sacude las orejas y presenta un incremento en la curvatura de la columna vertebral, frotamiento de cabeza y espalda y nerviosismo. La ovulación ocurre de 8 – 11 horas después de la aparición del estro. (74)

- C) Diestro:** dura 57 horas, el Ph vaginal es de 6.1, el diámetro de la luz uterina es de 2.5mm, los cuerpos lúteos producen abundante progesterona que desbloquea la producción de hormona Folículo Estimulante y Luteinizante. Esto inicia nuevamente con el ciclo de desarrollo de nuevos folículos. (74)

Es por ello que se realizó un estudio con el objetivo de determinar el efecto del Foeniculum Vulgare (Hinojo) en la foliculogénesis y maduración folicular en ratas Norvegicus.

#### 3.1.2.4 SISTEMAS DE APAREAMIENTO

Monogámicos: Parejas que pueden permanecer siempre juntas.

- Ventajas: Se aprovecha el celo postparto, mayor rendimiento reproductivo de la hembra (mayor número de camadas).
- Desventajas: Desgaste temprano de las hembras, se utiliza un mayor número de machos reproductores. (70)

Poligámicos: Formados por dos o tres hembras y un macho. Generalmente se separan las hembras antes del parto.

- Ventajas: Menor desgaste de la hembra, mayor viabilidad y tamaño de las crías destetadas, menor número de machos reproductores
- Desventajas: No se aprovecha el celo posparto, se obtiene un menor número de camadas por hembra. (70)

#### 3.1.2.5 IDENTIFICACIÓN

Cualquiera sea el sistema de reproducción adoptado, se requiere la individualización de todos los animales, así como cada grupo reproductor (parejas o harenes). (70)

Identificación de los grupos reproductores:

- ✓ Libro de registros
- ✓ Tarjetas de identificación de las cajas de alojamiento. (70)

Los datos registrados deben permitir conocer la genealogía de cada individuo para seleccionar correctamente los reproductores para las próximas generaciones. (70)

Las tarjetas de las cajas de reproducción deben contener los siguientes datos: identificación de cada individuo, fecha de nacimiento, a que generación corresponden, identificación de los progenitores, fecha de cruzamiento, fecha de parto, número de crías nacidas, fecha de destete, número de animales destetados de cada sexo. (70)

Los datos de las tarjetas deben ser pasados al libro de registros. (70)

#### **IDENTIFICACIÓN INDIVIDUAL:**

- ✓ Métodos temporales: Tinciones de pelaje con colorantes no tóxicos, recomendables para experimentos de corta duración. El más frecuente es el ácido pícrico (amarillo). (70)
- ✓ Métodos permanentes de marcaje: Perforaciones en las orejas, Tatuajes, Microchip. (70)

#### **3.1.3 FOLICULOGÉNESIS**

Las células germinales primordiales se identifican por primera vez como un grupo de aproximadamente 100 células en la pared dorsal del endodermo de la vesícula vitelina en una semana 3-4 de gestación en el ser humano. Desde esta localización se producirá una migración al mesenterio dorsal durante la 4-5ª semana de gestación (32). En la semana 7 de la gestación las células germinales colonizan la gónada

definitiva y por tanto termina su proceso migratorio. (32) Estas células germinales primordiales son esenciales para el desarrollo del ovario definitivo, hasta el punto de que en su ausencia, el ovario degenerara a una estructura fibrosa de tipo anular. (33) Al alcanzar las células germinales primordiales su localización definitiva en la gónada, empezaran un proceso de proliferación alcanzando un número aproximado de 10.000 células en la semana 6ª de la gestación y 600.000 en la semana 8 de la gestación. Con su rápida proliferación a través de un proceso mitótico, las células germinales alcanzan un número de 6.000.000 en la semana 20 de la gestación. Tras la semana 20 de la gestación el proceso mitótico se enlentece progresivamente hasta la semana 28 de la gestación donde se iguala el proceso de mitosis con el de atresia celular. A partir de este momento se detienen las mitosis persistiendo el proceso de atresia celular (36). Al nacimiento el ovario presentará aproximadamente 1.000.000 de células germinales y de estas solo 3.000-4.000 permanecerán al alcanzar la pubertad. Por esto es fácil entender que la gran mayoría de las células germinales se atresiarán sin alcanzar la ovulación antes de la menopausia (se estima que solo 1% de las células germinales primordiales alcanzaran el proceso ovulatorio). Hay que destacar que al alcanzar la menopausia una mujer, sus ovarios presentan una población de células germinales que se sitúa en aproximadamente en unas 1.000 y por tanto tenemos que desterrar la idea de que la menopausia se alcanza con la ausencia de células germinales (35).

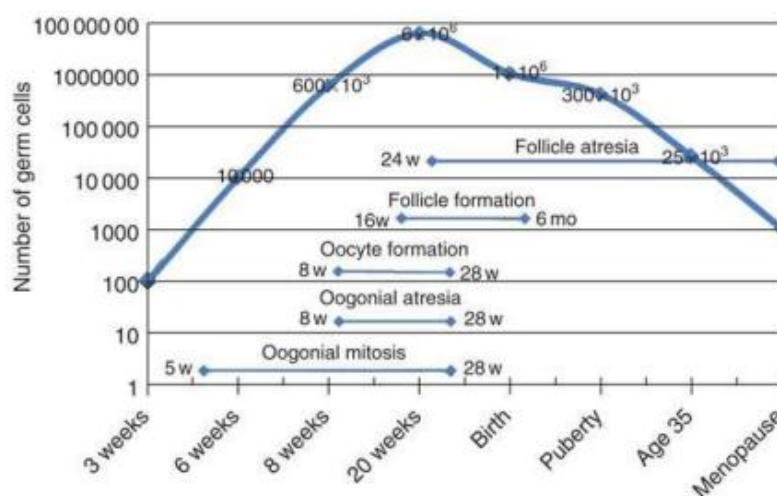


IMAGEN N° 01

### 3.1.4. OVOGÉNESIS

Es el proceso de maduración de la célula germinal femenina desde su diferenciación en ovogonia hasta su maduración en óvulo. En esencia, la mayor parte de las etapas por las que pasa el gameto femenino son resultado de divisiones celulares. Primero son las mitóticas que producen un número cada vez mayor de células diploides semejantes (ovogonias; 46,XX), reservándose las divisiones meióticas para el final del proceso en que se prepara a la célula, ahora haploide (ovocito secundario; 23, X dobles), para la unión con el gameto masculino (3).

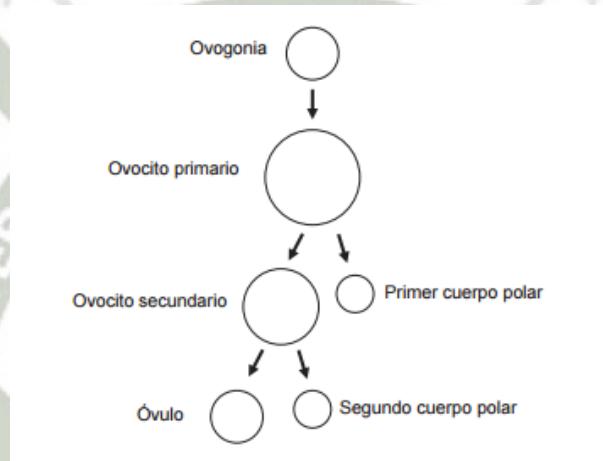


IMAGEN N° 2

Cuando se analizan las etapas de la ovogénesis se encuentra que el proceso es muy parecido a la espermatogénesis, de la que difiere en el tiempo en que se produce cada una de las fases y por la relación del gameto con otras células no germinales. Es un proceso que lleva años terminarlo. Aunque se inicia en la vida prenatal (periodo embrionario), puede terminar en cualquiera de los años de vida reproductiva de la mujer que se inician en la pubertad (12 a 15 años) o hasta la interrupción de la vida fértil (45 a 52 años) en la menopausia (36).

Puesto que el gameto femenino siempre manifiesta dos periodos largos de reposo, y para reanudarlos debe ocurrir la ovulación en el caso del primer reposo y la fertilización para el segundo (condicionantes para que la ovogénesis prosiga), si estos eventos no se manifiestan, la célula germinal degenera en la fase en que se encontraba (ovocito primario y ovocito secundario, respectivamente); en la espermatogénesis, una vez que se inicia el proceso, su finalización se completa aproximadamente a los 60 días siguientes. (3) ( 34) (36)

La célula germinal primordial tiene origen extragonadal en la pared del saco vitelino, en la tercera semana de vida embrionaria; de aquí migra mediante movimientos ameboides utilizando moléculas de reconocimiento en la matriz extracelular, hacia el pliegue gonadal (futuro ovario) al cual penetra. En promedio existen 1,700 células germinales antes de iniciar la migración hacia el borde genital, duplicando el número celular durante el proceso de migración. Al llegar a su destino, la célula germinal primordial se diferencia en ovogonia y experimenta nuevamente repetidas divisiones mitóticas. (4) (9)

3.1.4.1 Fase Prefolicular: breve periodo en la organogénesis ovárica antes del inicio de la foliculogénesis. Corresponde a la etapa indiferente del desarrollo gonadal en que son evidentes los cordones sexuales, los cuales se distinguen por estar constituidos por ovogonias y células epiteliales; y delimitadas por la membrana basal.

En el humano, la foliculogénesis empieza aproximadamente entre la semana 11 a 12 de la gestación, con la fragmentación de los cordones. En el ovario fetal inmaduro, las células germinales situadas en la periferia, aumentan de tamaño y entran en proceso de meiosis, denominándoseles ovocitos primarios.

El tiempo de desarrollo folicular depende de la capacidad del ovocito para alcanzar la etapa de diploteno (dictioteno), subfase de la primera profase meiótica. Una vez comprendida esta etapa, si el ovocito falla en permanecer encerrado en un folículo, invariablemente se degenera. (4)

El primero en formarse es el folículo primordial el cual se compone de un ovocito primario (célula esférica de 25 a 35  $\mu\text{m}$  de diámetro), rodeado por un círculo

completo de células epiteliales poco diferenciadas y una membrana basal que delimita a la unidad folicular del estroma ovárico vecino. Estos folículos aparecen, principalmente, en la corteza por debajo de la cápsula fibrosa del ovario. Durante la vida fetal, el número de ovocitos primarios se reduce de manera importante; al nacimiento (considerando ambos ovarios) hay de 700,000 a 2 millones de ellos. Sin embargo, durante la infancia la mayor parte de ellos sufre el proceso de apoptosis. (37)

La apoptosis o muerte celular programada es un proceso de destrucción celular activo, constituye un componente esencial del desarrollo y funcionamiento del ovario. Desde el punto de vista estructural muestra características como: compactación celular, alteraciones en el citoesqueleto y el metabolismo celular, condensación citoplasmática, condensación marginal de la cromatina, formación de cuerpos apoptóticos membranosos, fragmentación del ácido desoxirribonucleico, reubicación y compactación de los organelos (37).

Al iniciar la pubertad hay miles de ovocitos primarios como integrantes del folículo, sin embargo, cerca de 400 llegan a ovular y en promedio, menos del 1% finalizan la ovogénesis al ser fertilizados (3) (4) (38).

¿Cuál es la importancia de la relación ovocito-células foliculares (células de la granulosa)?

Diversos autores interpretan esta unión de diferentes maneras, entre ellas:

- Las células foliculares participan en la formación de la zona pelúcida, capa celular transparente y refringente, de composición variable, principalmente mucopolisacáridos, que se depositan en el ovocito (39).
- Las células foliculares son las encargadas de fagocitar a las células germinales cuando éstas degeneran (40).
- Ambas células (folículos y ovocitos) constituyen la “unidad anatómica funcional”, característica del ovario (41).

- Los ovocitos muestran una función importante en la diferenciación del tejido esteroideogénico del ovario.
- Las células foliculares ejercen un efecto inductivo para el crecimiento y la síntesis de ácido desoxirribonucleico del ovocito, eventos que son obligados antes de que éste inicie su división meiótica.
- Las células foliculares ejercen una función de masa (volumen), favoreciendo el transporte del ovocito a través de las trompas de Falopio.
- El ovocito participa en la proliferación, desarrollo y función de las células foliculares.
- Las células foliculares producen factores locales, inhibidores de la meiosis del ovocito, los cuales ejercen su efecto por difusión a través de los nexos que las conectan entre sí y con el ovocito.
- La integración de la ovogénesis con la foliculogénesis comprende las interacciones celulares entre ovocito y células de la granulosa (42).
- El ovocito y las células somáticas foliculares son interdependientes. El ovocito secreta factores que promueven la proliferación de las células de la granulosa, así como factores que permiten a estas últimas sintetizar ácido hialurónico y experimentar expansiones en relación con el estímulo hormonal.
- La comunicación bidireccional entre el ovocito y las células somáticas acompañantes es decisiva para el desarrollo de un ovocito competente para experimentar la fertilización y la embriogénesis (43).
- Las uniones en hendidura entre el ovocito y las células de la granulosa están implicadas en la regulación de la maduración meiótica tardía (44).
- Las células de la granulosa tienen influencia en la acción de la hormona luteinizante (LH) para inducir la maduración del ovocito.

Se desconoce el detalle de cómo los folículos primordiales pequeños salen de su reposo e inician su desarrollo; de hecho, los folículos pequeños que empiezan a

crecer son similares a otros folículos pequeños que no están en crecimiento. Sin embargo, se considera que en su desencadenamiento no participan las gonadotropinas hipofisiarias y si existe algún reloj interno debe ser influido por el medio ambiente local. (57) (58) (59)

El ovocito primario permanece en reposo meiótico por el resto de la vida intrauterina, incluso años después del nacimiento formando parte de un folículo. Su núcleo es grande, contiene un único nucléolo y la cromatina es fina. Al microscopio electrónico se observa escaso retículo endoplásmico rugoso, abundantes ribosomas libres, aparato de Golgi yuxtannuclear, abundantes mitocondrias y gotas de lípido. En la pubertad, 5 a 15 folículos primordiales comienzan a tener un crecimiento basal lento con cada ciclo ovárico bajo el control de factores de origen paracrino; entre ellos destacan factores de crecimiento, citocinas, esteroides y constituyentes de la matriz extracelular. En el ovocito destaca el aumento de tamaño, que al final es de 80 a 100  $\mu\text{m}$ . (40) (60) (61)

Durante el tiempo que acontece la maduración tardía del folículo, el ovocito experimenta una “capacitación” que le permite cumplir exitosamente su función reproductiva al duplicar y distribuir sus organelos citoplasmáticos, incluidos los cambios en la zona pelúcida. Los iones juegan un papel decisivo en la diferenciación del gameto (45).

En la actualidad pueden monitorearse, mediante procedimientos o marcadores de diferente naturaleza, su madurez y su capacidad para ser fertilizado y formar embriones viables (características que se adquieren gradualmente durante la foliculogénesis). Su detección es de gran importancia clínica, sobre todo en mujeres que llevan un programa de fertilización asistida. (62) (63)

Cuando alcanza su mayor crecimiento y madurez, por influencia hormonal de la glándula adenohipófisis, particularmente la hormona Folículo Estimulante y Luteinizante, el folículo que llega a tener un promedio de 25 mm de diámetro se le denomina folículo terciario, maduro o de von Graaf. Por lo general, sólo un folículo tiene aptitud gametogénica y, por ser dominante, posee mayor cantidad de receptores para la hormona Folículo Estimulante y Luteinizante, alcanza la madurez

completa; los demás folículos se degeneran y se tornan atrésicos, y con ello se pierde igual número de ovocitos primarios en cada ciclo (5).

En el folículo dominante, localizado en la superficie cortical del ovario, aumenta la producción de hormona Luteinizante y el ovocito de posición excéntrica reanuda la primera división meiótica, y se lleva a cabo la ovulación. En la fase final de la división, la partición del citoplasma ocurre en partes desiguales, resultando una célula afuncional de menor tamaño llamada cuerpo polar, y una célula de mayor tamaño, el ovocito secundario, que entra en meiosis II; ambas células son haploides y con cromosomas (en total 23) duplicados. Cuando el ovocito ha sido ovulado (liberado del ovario) se forma la placa metafásica, y nuevamente se detiene el proceso de meiosis II, la cual se induce por un complejo proteico sintetizado por el ovocito denominado factor citostático. Los ovocitos que primero entraron en meiosis son los primeros en ser ovulados (3).

El ovocito secundario liberado por el ovario se acompaña del cuerpo polar y permanece rodeado, además de la zona pelúcida, por un círculo irregular de células foliculares (corona radiada) que se mantienen unidas a él. Una vez fuera del ovario, el ovocito es captado por la porción fimbriada de la trompa de Falopio donde es transportado hacia la región ampular para ser fecundado por uno de los 200 a 300 espermatozoides ahí presentes. La capacitación del espermatozoide, que ocurre en el conducto reproductor femenino, es una característica fundamental para la fertilización porque le permite al gameto masculino reconocer al ovocito y responder a sus señales de manera apropiada. Si esta unión no se lleva a cabo por ausencia del gameto masculino, el ovocito secundario muestra signos de degeneración 12 a 24 horas después de su liberación. Los ovocitos no fertilizados no terminan la ovogénesis (46).

Si la fertilización tuvo una respuesta satisfactoria, el ovocito secundario reanudará la segunda división meiótica. Nuevamente, la célula se divide desproporcionadamente, resultando un nuevo cuerpo polar funcional, y un óvulo (ovocito fertilizado) que recibe la mayor parte del citoplasma.

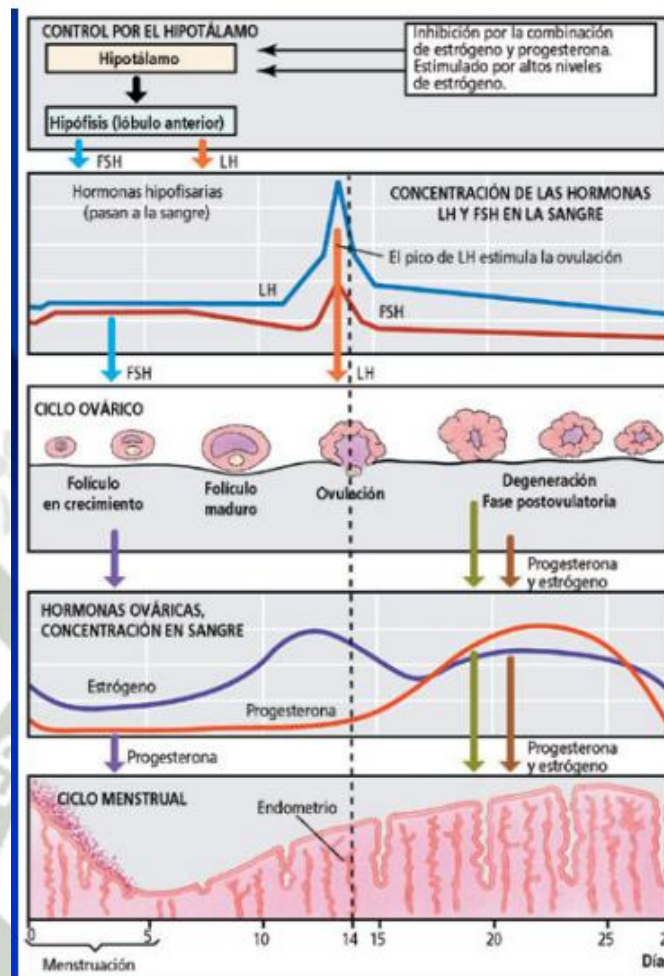


IMAGEN N°3

Ahora, cada una de estas células tiene 23 cromosomas sencillos y, en el caso del óvulo, éstos permanecen contenidos en el pronúcleo femenino, en tanto que en el pronúcleo masculino destacan, también, los 23 cromosomas del espermatozoide (23X o 23Y). Con este evento se completa la ovogénesis y la célula se prepara para la amfimixis (mezcla de cromosomas paternos y maternos), en la que destaca la formación del cigoto y, con ello, el inicio del desarrollo de un nuevo ser. Los cuerpos polares, que no superan 10  $\mu\text{m}$  de tamaño, desaparecen en los días siguientes. (5) (47)

#### 3.1.4.1 DESARROLLO FOLICULAR:

- Folículo Primordial: su diámetro es aproximadamente 40-50  $\mu\text{m}$ . El ovocito está rodeado por una capa de única de células. (73)
- Folículo Primario: Ovocito rodeado de células de la granulosa de forma cuboidal, de 18-24  $\mu\text{m}$  de diámetro. (73)
- Folículo Secundario: Alcanza su máximo tamaño con un ovocito de 90-130  $\mu\text{m}$  y un folículo de 300  $\mu\text{m}$ . Está rodeado por 3 a 4 capas de células de la granulosa. (73)
- Folículo Terciario: Presenta un antro en cuyo fluido están presentes hormonas esteroideas y peptídicas. Las células de la granulosa se ordenan en varias capas entre la membrana basal y el antro y las del cúmulo oóforo se disponen en 8 a 10 capas rodeando al ovocito. Dentro del cúmulo las células que rodean la zona pelúcida forman la corona radiada, el tejido conectivo circundante forma la teca interna y externa. (73)
- Folículo de Graff: 16-24 mms de diámetro, es el folículo maduro o preovulatorio. Dispuesto en la superficie ovárica. Contiene 18-20 capas de células de la granulosa, avasculares. Aún no se ha iniciado la meiosis, el ovocito se mantiene en profase I. (73)
- Atresia Folicular: La mayoría de los folículos va a la atresia, desde cualquier etapa del ciclo, sólo una proporción menor alcanza la etapa preovulatoria. (73)

El folículo humano demora 85 días en el proceso. Se distinguen 4 etapas en la evolución del folículo:

- Reclutamiento (día 1 al 4)
- Selección (día 5 al 7)
- Maduración (día 8 al 12)
- Ovulación (día 13 o 14). (73)

#### 3.1.4.2 OVULACIÓN:

Proceso estimulado por el aumento brusco de la hormona Luteinizante, consiste en la ruptura de la pared del folicular y la descarga del ovocito, el cual reinicia la división meiótica. Se produce además la diferenciación de las células de la teca y de la granulosa hacia células lúteas. (73)

#### 3.1.4.3 LUTEOGÉNESIS:

Implica un cambio morfológico de las células y una remodelación en los sistemas enzimáticos involucrados en la esteroidogénesis que permite la síntesis y secreción de progesterona. (73)

Existe un proceso local de angiogénesis debido a la gran demanda metabólica de estas células y a la desaparición de la membrana basal, que conduce a la invasión vascular de la granulosa. (73)

Salvo que aparezcan en la circulación materna señales embrionarias, entre el día 8 y 10 postovulación se inicia un proceso regresivo que lleva a disminución de la cantidad de células y hormonas circulantes, lo que finalmente produce la menstruación (73).

#### 3.1.4.4 HORMONAS OVÁRICAS:

El ovario sintetiza y secreta hormonas esteroidales y peptídicas. Esteroidales: progestinas, andrógenos y estrógenos. Peptídicas: inhibina, activina, oxitocina y relaxina. (73)

En el ovario existen 3 unidades que producen y Hormonas Ováricas secretan hormonas esteroidales, el folículo, el cuerpo lúteo y el estroma ovárico.

La producción hormonal varía en las diferentes etapas del ciclo, en respuesta a la acción de las gonadotrofinas hipofisiarias. (73)

#### 3.1.4.5 REGULACIÓN HORMONAL: GONADOTROFINA

Los primeros días del ciclo la hormona Folículo Estimulante y Luteinizante comienzan a aumentar, siendo la hormona Folículo Estimulante mayor los primeros

5 a 6 días del ciclo, donde alcanza su máximo (6 -8 mUI/mL) y luego comienza a descender. (73)

La hormona Luteinizante aumenta en pulsos bruscos y cortos, seguidos de un descenso exponencial. Son regulares en intervalo y cantidad (y 5-25 mUI/mL).

Durante la fase folicular inicial los pulsos de hormona Luteinizante se producen cada 94 min, a medida que el ciclo avanza el intervalo se acorta. (73)

El peak de gonadotrofinas se produce cuando se alcanzan los máximos niveles de estradiol plasmático. (73)

En las 48 horas antes del peak, los niveles de hormona Luteinizante comienzan a aumentar considerablemente, doblando su nivel. La hormona Folículo Estimulante disminuye y luego se produce un peak simultaneo de ambas hormonas. (73)

Durante el peak los niveles se duplican cada 2 horas, su duración es aproximadamente 48 horas. (73)

Durante la fase lútea los niveles de hormona Luteinizante se mantienen constantes por 10 días y disminuyen al final del ciclo. La hormona Folículo Estimulante disminuye postovulación y se mantiene constante hasta el final del ciclo, reiniciando una elevación 28 horas antes de la menstruación (73).

#### 3.1.4.6 ESTRÓGENOS:

En la primera etapa del ciclo los niveles de estrógeno se mantienen constantes.

En la mitad de la fase folicular el nivel de estradiol comienza a aumentar progresivamente. El número de días de aumento de estrógenos antes del peak preovulatorio es aproximadamente 5. (73)

Los niveles de estradiol alcanzan un máximo el día 12, doblando su nivel cada 58 horas antes del peak de Hormona Luteinizante, y luego disminuye bruscamente.

Los 2 primeros días de la fase lútea los niveles disminuyen, para aumentar progresivamente hasta el día 7-8 y luego declinar. (73)

### 3.1.4.7 PROGESTERONA:

Durante la fase folicular los niveles de Progesterona permanecen estables, 48 a 72 horas previo al peak de hormona Luteinizante se produce un aumento inicial, con un segundo incremento rápido en la fase de descenso del peak de hormona Luteinizante. (73)

La máxima producción se detecta el día 7-8 post-peak de hormona Luteinizante. Se secreta en forma episódica en relación a los pulsos de la hormona Luteinizante de la fase lútea. (73)

Durante la luteólisis se produce un descenso rápido de los niveles plasmáticos, el cual se inicia 60 horas antes de la menstruación (73).

### 3.1.5 INFERTILIDAD

La infertilidad es una condición que afecta al 15- 20% de las parejas en edad reproductiva. Dentro del campo de la salud reproductiva, la infertilidad implica una deficiencia que no compromete la integridad física del individuo ni amenaza su vida. Sin embargo, dicha deficiencia puede tener un impacto negativo sobre el desarrollo del individuo, produciendo frustración y debilitando la personalidad, ya que la mayoría de las parejas consideran tener hijos como un objetivo de vida. Comparado con otras especies, el ser humano es altamente ineficiente en términos de reproducción. La tasa de fertilidad por ciclo es de alrededor de 20% y la de embarazos acumulados en las parejas con fertilidad probada es aproximadamente del 90% después de doce meses y del 94% luego de dos años. En el área de la salud reproductiva, los problemas tienden a ser diferentes en cada país. De similar manera, los estudios de poblaciones sobre este tema varían según el área estudiada. Por lo tanto, resulta de considerable interés conocer la prevalencia de la infertilidad para establecer las necesidades potenciales de la población; además, es de crucial importancia adaptar la atención sanitaria a cada población en particular (8).

#### 3.1.5.1 Identificación de las causas de infertilidad

Se debe realizar un estudio metódico de todos los factores probables de fracaso para alcanzar un embarazo en todas las parejas que consultan por infertilidad. El factor ovulatorio, que resume el desarrollo, maduración y la ruptura adecuadas del folículo, está presente en alrededor del 20% de las parejas. El factor útero-tubárico-peritoneal incluye el estudio de la integridad tubárica, la cavidad uterina y la presencia de adherencias pélvicas que comprometan la anatomía del aparato genital femenino; se observa en ~30% de las parejas. El factor de migración espermática incluye el estudio de la relación entre el moco cervical y los espermatozoides. Las alteraciones en estas variables encierran una reducción en el número y la motilidad de los espermatozoides y su desplazamiento dentro del moco cervical, los cuales son prerequisites para llegar a las trompas y fertilizar el óvulo. Esta situación ocurre en ~10% de los casos con semen normal (Cohen, 1991). El factor masculino también corresponde al estudio del semen. Se sabe que varias afecciones provocan alteraciones en la calidad y cantidad en la muestra de espermatozoides; éstas incluyen varicocele, infecciones genitales, traumatismos, cirugías, disfunciones genéticas, sustancias tóxicas, etc., que ocurren en alrededor del 30% de las parejas. La endometriosis es una patología que coexiste con infertilidad o sin ella. Si lo hace puede estar afectada la calidad de la ovulación, junto con la estructura y permeabilidad de los oviductos debido a adherencias e implantes. En opinión de algunos autores, incluso la endometriosis puede ser la causa de pérdidas de embarazo (Metzger y col., 1986). Alrededor del 40% de todas las parejas que consultan por infertilidad habitualmente presentan una combinación de agentes; es decir, un factor femenino combinado con un trastorno masculino. Por lo tanto, el estudio de la infertilidad siempre se debe hacer considerando la pareja en conjunto: el hombre, la mujer y las interrelaciones entre ellos. Finalmente, existen descripciones de infertilidad inmunológica e infertilidad debida a factores genéticos. Si bien estas dos categorías no corresponden a ningún tipo particular de infertilidad, la presencia de algunas alteraciones de esta naturaleza puede provocar fracaso en la reproducción. Aproximadamente el 15% de las parejas, inclusive cuando se han considerado todos los factores antes mencionados, pueden no exhibir ninguna alteración objetiva que lleve a un diagnóstico definitivo. Entonces son

clasificados como pacientes con infertilidad inexplicada, por lo menos al momento del diagnóstico (8).

### 3.1.5.2 CAUSAS DE INFERTILIDAD FEMENINA

#### A) Infertilidad anovulatoria

La anovulación es definida como la condición en la cual el desarrollo y la ruptura folicular están alterados y por lo tanto el ovocito no es liberado del folículo. Se han identificado varias causas (Franks, 1991), las cuales encierran la insuficiencia ovárica intrínseca, que incluye factores genéticos autoinmunes, y otras como la quimioterapia. La disfunción ovárica, secundaria a la regulación gonadotrópica es otra causa. Puede subdividirse en causas específicas tales como la hiperprolactinemia y el síndrome de Kallmann, y funcionales que incluyen bajo peso corporal, exceso de ejercicio, uso de medicamentos e infertilidad idiopática. La deficiencia de gonadotropina se ve en casos de tumor hipofisario, necrosis de la hipófisis y trombosis. Pueden ocurrir alteraciones de la acción de las gonadotropinas como en el Síndrome de Ovario Poliquístico. En mujeres en quienes se sospecha una falla ovulatoria, las causas más frecuentes de la anovulación pueden derivar de una de las siguientes condiciones (8).

B) Hiperprolactinemia Se pueden esperar variaciones en la dosificación de prolactina, dependiendo de las concentraciones de estrógeno en la paciente; por lo tanto, bajo condiciones hipoestrogénicas se consideran normales valores entre 20 y 25 ng/ml, mientras que si la concentración estrogénica es superior, las concentraciones habituales son de 30-40 ng/ml (Lenton, 1982). La prolactina es una hormona con una sensibilidad de secreción considerable, debido a que concentraciones elevadas de prolactina pueden provenir de sustancias tales como medicaciones digestivas, antidepresivos, neurolépticos, antihipertensivos, así como condiciones de estrés, ejercicio excesivo, alta ingesta proteica, traumatismo torácico, cirugías, relaciones sexuales y otros factores. La hiperprolactinemia altera los pulsos de secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas y con base en las concentraciones de prolactina circulantes, pueden aparecer manifestaciones clínicas tales como una fase lútea inadecuada, anovulación y amenorrea. Es de rigor

el estudio de la función tiroidea en todas las mujeres con hiperprolactinemia, dado que habitualmente aparece hipotiroidismo con concentraciones elevadas de prolactina (Blackwell, 1992). (8)

#### C) Hipogonadismo hipogonadotrópico

Esta afección se expresa por concentraciones de estradiol  $<40$  pg/ml y una reducción de las concentraciones de la hormona Folículo Estimulante y de la hormona Luteinizante. Se observa en casos con trastornos del peso y ejercicio excesivo. Puede ser idiopático o provocado por una disfunción hipofisaria o hipotalámica. (8)

#### D) Hipogonadismo hipergonadotrópico

Las concentraciones plasmáticas de Hormona Folículo Estimulante pueden ser  $> 20$  mUI/ml en determinaciones repetidas. Esta es la situación habitual en las pacientes menores de 40 años de edad con insuficiencia ovárica prematura, mujeres con ovarios resistentes o con trastornos genéticos (8).

#### E) Ovarios poliquísticos

Se trata de la patología endocrina de mayor prevalencia y la causa más frecuente de anovulación. Las mujeres con ovarios poliquísticos pueden presentar una amplia gama de síntomas y signos clínicos; sin embargo, la anovulación y el hiperestrogenismo son considerados prerequisites en esta patología. En 1844, Chereau (1844) describió cambios escleróticos en el ovario humano. En 1935, Stein y Leventhal (1935) mostraron el cuadro clásico. La elevación de hormona luteinizante fue descrita en 1958 (McArthur y col., 1958), pero en 1976 (Rebar y col., 1976) la afección fue definida con una hormona Luteinizante normal. Más adelante, la presencia de este síndrome fue asociado con resistencia a la insulina y durante la década de 1980 se describieron hallazgos ecográficos en mujeres con ovarios poliquísticos. Esta cronología ilustra el amplio rango de presentaciones clínicas, la evolución de los criterios diagnósticos y otras fisiopatologías bastante oscuras (8).

#### F) Infertilidad tubárica-peritoneal

Los factores tubáricos-peritoneales son responsables de ~30% de las causas de infertilidad. Las funciones de las trompas de Falopio están íntimamente ligadas a la integridad del epitelio ciliado responsable de la captación de ovocitos. La fertilización tiene lugar en el extremo externo de la sección ampular. Las trompas también participan en el desarrollo temprano del embrión y en su transporte a la cavidad uterina. Por consiguiente, cualquier alteración anatómica o funcional de las trompas está asociada con infertilidad. En la sociedad contemporánea, los cambios culturales que incluyen, por ejemplo, el uso de los anticonceptivos, han anticipado el inicio de la actividad sexual varios años antes de alcanzar una estabilidad de pareja o de inclusive considerar la fertilidad. Por lo tanto, hay un mayor riesgo de desarrollar ciertas afecciones relacionadas con la génesis del factor tubárico-peritoneal (Westrom, 1994), las cuales incluyen adherencias pélvicas secundarias a infecciones, enfermedad inflamatoria pélvica, cirugías previas o endometriosis (8).

Las infecciones genitales figuran entre los principales culpables del daño tubárico-peritoneal. Muchas Infecciones de Transmisión Sexual pueden estar vinculadas indirectamente con la infertilidad, pero solo dos microorganismos han demostrado tener efectos directos sobre la fertilidad luego de la infección: Neisseria Gonorrhoea y Chlamydia Trachomatis (Organización Mundial de la Salud, 1995). Las infecciones genitales provocadas por Chlamydia son actualmente la causa más importante de Infecciones de Transmisión Sexual. Este microorganismo es responsable de ~60% de las salpingitis agudas en mujeres jóvenes. Se ha sugerido que las probabilidades de infertilidad por factor tubárico, así como el embarazo ectópico están considerablemente aumentadas con cada episodio infeccioso (Westrom, 1994); la aparición de infertilidad tubárico-peritoneal también está asociada con la severidad de la infección. En términos de prevención de las Infecciones de Transmisión Sexual asociadas con infertilidad, se deberían considerar dos líneas de acción. En primer lugar, la prevención primaria está dirigida a evitar la aparición de infecciones, y debería aconsejarse utilizar métodos anticonceptivos de barrera. En segundo lugar, la prevención secundaria requiere una evaluación y tratamiento tempranos en los casos en los que se sospecha

salpingitis, con tratamiento de la pareja y control posterior a fin de evitar la reinfección (8).

#### G) Endometriosis

Hace mucho tiempo se estableció la asociación entre endometriosis e infertilidad. Se ha demostrado una mayor incidencia de pacientes infértiles (48%) en comparación con individuos fértiles (5%). Se han sugerido varias situaciones para explicar la presencia de infertilidad en pacientes con endometriosis, entre las cuales hay alteraciones anatómicas, anovulación y de la fase lútea. No obstante ello, no ha sido posible describir un único mecanismo que sea totalmente responsable de las manifestaciones clínicas de la enfermedad. Es indudable que tanto la endometriosis como las adherencias producen distorsiones anatómicas, limitan la movilización de las fimbrias y obstruyen las trompas o causan fimosis. La obstrucción tubárica distal está generalmente asociada con adherencias, mientras que las oclusiones proximales habitualmente están relacionadas con focos de endometriosis intramurales o con crecimiento invasor de las lesiones peritoneales. Las principales opciones para evaluar la integridad tubárica-peritoneal son la histerosalpingografía y la laparoscopia. La primera es un procedimiento ambulatorio que calcula la permeabilidad tubárica y la cavidad uterina con complicaciones mínimas de infecciones y sangrado; es sumamente útil para evaluar la permeabilidad tubárica, el diámetro de las trompas y su mucosa. Sin embargo, no se puede utilizar como la única herramienta para el estudio del estado de las trompas, dado que su sensibilidad para evaluar las adherencias peritubáricas es baja. La laparoscopia realizada en la sala de operaciones bajo anestesia general permite una evaluación pélvica completa y un examen de las condiciones extraluminales y peritubáricas, así como la detección de otras afecciones, por ejemplo endometriosis. No se obtiene información sobre la luz de las trompas o el estado de la mucosa. La histerosonografía y la sonosalpingografía pueden ser efectivas, especialmente con el uso de soluciones salinas o materiales de contraste (Holz y col., 1997). Sin embargo, la primera evaluación morfológica del útero y de las trompas se debe realizar con histerosalpingografía; luego ir a la laparoscopia, dependiendo de cada caso particular. La histerosonografía y la salpingosonografía todavía no son

sustitutos de los dos primeros métodos, pero brindan una excelente aplicabilidad y su uso puede ser bastante promisorio. (8)

#### H) Infertilidad uterina

Hay un amplio espectro de anomalías uterinas, ya sean congénitas o adquiridas, asociadas con la presencia de infertilidad o abortos recurrentes. Entre los ejemplos se incluyen alteraciones congénitas, exposición intrauterina a medicamentos, miomas submucosos, pólipos y sinequias. Si bien efectivamente hay una asociación de ese tipo, estas afecciones también pueden darse en forma simultánea con la evolución del embarazo, lo que hace más difícil establecer una relación causa/efecto. Posiblemente esto sea debido a la falta de datos sobre la frecuencia de la aparición de estos hallazgos en pacientes infértiles. Estos tipos de alteraciones rara vez son detectados mediante el interrogatorio y el examen físico. El método de evaluación de primera línea es la histerosalpingografía. Habitualmente la laparoscopia complementa la información en caso de alteraciones congénitas. La histeroscopia permite la evaluación y la corrección de los defectos de la cavidad uterina en el mismo procedimiento quirúrgico. La ecografía, histerosonografía y resonancia magnética, contribuyen al diagnóstico de las alteraciones uterinas y brindan información sobre el aparato urinario, un blanco importante de investigación en casos de anomalías congénitas en el desarrollo del aparato genital. (8)

#### I) Migración alterada de los espermatozoides

En 1888, Marion Sims describió la interacción entre el moco preovulatorio cervical y la motilidad espermática. El estudio de la migración espermática lleva a la determinación de si es adecuada o no la relación sexual, la calidad del moco cervical y cualquier interacción entre ellos. Los constituyentes del moco son agua, electrólitos y proteínas que muestran cambios cualitativos a través del ciclo. Los estrógenos desempeñan un papel importante en la receptividad y migración de los espermatozoides dado que el moco de preovulación promueve esta actividad a un máximo. Una vez que los espermatozoides son depositados en el saco vaginal, se encuentran con el moco cervical en 180 segundos y el cérvix se convierte en un

reservorio de espermatozoides que siguen moviéndose hacia arriba (primero rápido y luego lentamente) en la porción restante del aparato genital. La manera de evaluar esta relación entre el moco y el semen en primera instancia es con la prueba postcoito o la prueba de Simms-Hubner. Es un método simple y permite la detección de alteraciones de la migración de los espermatozoides, presentes en alrededor de 10% de las parejas que consultan por infertilidad. El resultado normal es determinado por la observación de diez espermatozoides móviles en un campo microscópico o moco periovulatorio bajo un mayor aumento. Si el resultado es malo en presencia de moco cervical adecuado y un espermiograma normal, puede continuarse con una prueba in vitro de la relación moco-semen (prueba de Kremer) o se pueden utilizar pruebas cruzadas para determinar la presencia de causas masculinas o femeninas. La presencia de anticuerpos antiespermáticos, así como ciertos agentes patógenos en el moco cervical lleva a una reducción de la motilidad espermática in vivo. Estas son causas posibles de infertilidad. (8)

### **3.1.6 CITRATO DE CLOMIFENO**

#### **3.1.6.1 DESCRIPCIÓN.**

El Citrato de Clomifeno es un fármaco no esteroídico, inductor de la fertilidad en mujeres que no ovulan u ovulan infrecuentemente. El Citrato de Clomifeno puede producir la ovulación hasta en el 80% de las mujeres. Cuando se administra durante 6 meses, aproximadamente el 40% de las mujeres quedan embarazadas. Curiosamente, el Citrato de Clomifeno también es eficaz aumentando el recuento de espermatozoides en pacientes con oligospermia idiopática. (68)

A lo largo de más de 40 años de utilización del fármaco, la experiencia acumulada de los efectos del Citrato de Clomifeno es muy amplia, y cada vez podemos concretar de forma más precisa las indicaciones que aún hoy tiene, y las posibilidades que ofrece en monoterapia o en asociación con otros fármacos. El Citrato de Clomifeno fue sintetizado por primera vez en 1956, pero su uso clínico como tratamiento para la estimulación de la ovulación no se inició hasta 1967, revolucionando el tratamiento de la infertilidad, principalmente la debida a cuadros

de anovulación tipo Síndrome de Ovario Poliquístico. Su indicación principal es la anovulación del grupo II de la Organización Mundial de la Salud, con posibilidad de asociarlo a diferentes fármacos en caso de una respuesta deficiente al mismo. En este grupo de pacientes, el Citrato de Clomifeno sigue siendo el fármaco de primera elección para la inducción de la ovulación. (18)

Su administración se realiza por vía oral, con un pico de concentración plasmática a las 6 horas de su administración.

### **3.1.6.2. EL MECANISMO DE ACCIÓN DEL CITRATO DE CLOMIFENO**

El principal mecanismo de acción del Citrato de Clomifeno consiste en la unión a los receptores de estrógenos en varios sitios del sistema reproductor, incluido el hipotálamo, la hipófisis, el ovario, el endocérvix y el endometrio, actúa como un agonista o antagonista de estrógenos en los tejidos sensibles a esta hormona. (31)

Este mecanismo de interrupción de la retroalimentación, produce un incremento de secreción hipotalámica de la Hormona Liberadora de Gonadotropina, estimulando la liberación hipofisaria de la hormona Folículo Estimulante y Luteinizante. En mujeres normo ovuladoras, se produce un incremento en la frecuencia de los pulsos de la hormona liberadora de gonadotropina, pero en mujeres con Síndrome de Ovario Poliquístico, se produce un aumento en la amplitud de los mismos. (31)

Farmacocinética: El Citrato de Clomifeno se administra por vía oral y se absorbe bien en el tracto gastrointestinal. El Citrato de Clomifeno es una combinación de isómeros racémicas, enclomifeno y zuclomifeno, que pueden tener diferentes parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos que no han sido completamente dilucidados. Zuclomifeno se cree que es el isómero más estrogénico. El destino metabólico del Citrato de Clomifeno no ha sido completamente establecido, pero la droga parece sufrir metabolismo hepático. Tanto fármaco inalterado y sus metabolitos se excretan en las heces a través de la bilis. Sin embargo, incluso con ciclos continuos de uso, los niveles plasmáticos máximos combinados de enclomifeno y zuclomifeno no parecen exceder de 100 mmol / l. (68)

La vida media de Citrato de Clomifeno se informó a ser 5 días, pero los estudios con dosis radiomarcados han demostrado que el fármaco se puede encontrar en las heces durante un máximo de 6 semanas. (68)

La acción directa del Citrato de Clomifeno sobre el hipotálamo, especialmente en la eminencia mediana y el hipotálamo anterior, se demostró por el aumento de plasma y la hormona Luteinizante después de la implantación estereotáxica de Citrato de Clomifeno en el cerebro de rata. Cinco días de la inyección subcutánea de Citrato de Clomifeno también aumentó la liberación de hormona Luteinizante y la síntesis en ratas. La liberación de la hormona Folículo Estimulante desde la pituitaria aumentó transitoriamente, pero la síntesis de la hormona Folículo Estimulante no se simuló tanto como la inyección subcutánea y la implantación intrahipotalámica de Citrato de Clomifeno. Estos resultados indican el modo y sitio de acción de Citrato de Clomifeno en la inducción de la ovulación humana (48).

### **3.1.6.3. INDICACIONES Y POSOLOGÍA**

Su principal indicación está en mujeres con alteraciones funcionales de la ovulación, con gonadotrofinas normales y niveles estrogénicos adecuados. (Ejemplo: oligoovulación, fase lútea inadecuada, esterilidad sin causa aparente, estimulación ovárica mínima para inseminación intrauterina). No está indicado en alteraciones ovulatorias relacionadas con hiperprolactinemia. (71)

Administración oral:

Adultos mujeres premenopáusicas: Inicialmente, 50 mg una vez al día durante 5 días. Los pacientes con Síndrome de Ovario Poliquístico pueden necesitar dosis iniciales inferiores (es decir, 25 mg una vez al día durante 5 días). En las mujeres con sangrado menstrual reciente o hemorragia inducida por progestina, la terapia debe iniciarse alrededor del quinto día del ciclo siguiente del primer día de retirado el sangrado menstrual. La terapia se puede iniciar en cualquier momento a las mujeres que no han tenido sangrado uterino reciente. Si la ovulación no se produce con este régimen de dosificación, la dosis puede aumentarse a 100 mg una vez al día durante 5 días con el siguiente ciclo. Este segundo curso de la terapia puede

iniciarse tan pronto como 30 días después del curso inicial siempre se han tomado precauciones para excluir el embarazo. (68)

En general, la dosis no debe superar los 100 mg por vía oral al día durante 5 días. Aunque han sido empleados protocolos de tratamiento utilizando 150-200 mg / día por vía oral, éstos aumentan en gran medida el riesgo de efectos secundarios. Si la ovulación aún no se ha producido después de 3 ciclos de tratamiento, las pacientes deben ser reevaluadas. Si la ovulación está ocurriendo, pero el embarazo no se produce dentro de un total de 6 ciclos de uso, el Citrato de Clomifeno debe interrumpirse y otras opciones terapéuticas deben ser consideradas. No se recomienda la administración prolongada del fármaco para el tratamiento de la infertilidad debido a oligospermia idiopática en hombres. (68)

#### **3.1.6.4 PERFIL TERAPÉUTICO**

El perfil terapéutico estándar consiste en la administración inicial de una dosis de 50 mg/día de Citrato de Clomifeno por vía oral, durante 5 días consecutivos, comenzando del día tercero al quinto de ciclo. Con esta pauta, se producirá ovulación en más del 50% de las mujeres. Si no existe respuesta, se aumentará la dosis en 50 mg/día en cada ciclo sucesivo, no sobrepasando dosis de 150 mg/día. (64) (65)

Este límite viene determinado por la recomendación de la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) de no superar esas cantidades, y por la baja probabilidad de conseguir ovulación con dosis superiores. La tasa de ovulación con Citrato de Clomifeno conseguida con dosis hasta 150 mg/día, está en torno al 80% de los casos, con una tasa de gestación por ciclo 15- 20%, y acumulada durante 6 ciclos del 40%. La duración del tratamiento no debe superar los 6 ciclos ovulatorios, si bien, el mayor número de gestaciones se consiguen en los tres primeros meses de tratamiento (66), pudiendo ser éste el plazo más apropiado de duración del tratamiento con Citrato de Clomifeno. (67)

La aparición del pico endógeno de la hormona Luteinizante se produce habitualmente entre 5 y 12 días después de la última dosis, que suele coincidir con los días 16-17 de ciclo en mujeres que hayan iniciado el tratamiento en día 5 de

ciclo. Es recomendable realizar monitorización ecográfica de la respuesta al menos en el primer ciclo de tratamiento con dos finalidades: confirmar la presencia de ovulación y valorar la posible hiperestimulación con desarrollo multifolicular y el riesgo asociado de gestación múltiple. (16) (67)

### **3.1.6.5. RESISTENCIA AL CLOMIFENO**

Aproximadamente, el 20-25% de las mujeres van a presentar resistencia al tratamiento con Citrato de Clomifeno. Existen varios factores predictivos de una respuesta inadecuada al tratamiento. Valores elevados del producto de la glucosa por la insulina a los 120 minutos tras una sobre carga oral de glucosa de 75 gr, suponen una mayor probabilidad de no ovulación tras el tratamiento con Citrato de Clomifeno. (18)

En aquellas pacientes en las que no se consigue una respuesta adecuada, existen diferentes estrategias:

— El inicio precoz del tratamiento, en la fase lútea del ciclo previo reporta tasas de ovulación significativamente superiores, y una tendencia a mayor tasa de gestación por ciclo. (18)

— La asociación con anticonceptivos hormonales en el ciclo previo al tratamiento disminuye la producción androgénica y el estradiol basal, consiguiendo mayor tasa de ovulación y gestación evolutiva. (18)

— La adición de Dexametasona también consigue mejores tasas de gestación en mujeres con Síndrome de Ovario Poliquístico resistentes al Citrato de Clomifeno, demostrándose mejores resultados con dosis de 2 mg/día en fase folicular, que con dosis inferiores a lo largo de todo el ciclo. (18)

— La administración de Metformina en pacientes sin respuesta al tratamiento con Citrato de Clomifeno, consigue mayor tasa de ovulación. (18)

### **3.1.6 .6 REACCIONES ADVERSAS**

La terapia con Citrato de Clomifeno es generalmente bien tolerada y los efectos secundarios no interfieren comúnmente con la continuación del tratamiento. Muchos pacientes experimentan "sofocos" vasomotores ( $> 10\%$ ), que resultan de los efectos antiestrogénicos; éstos desaparecen al final de cada ciclo de dosificación de 5 días. (68)

Una incomodidad pélvica leve sin aumento del tamaño de los ovarios se produce en aproximadamente el 5,5%. Un poco más del 2% de los pacientes reportan náusea leve o sensibilidad de las mamas (mastalgia). Los efectos secundarios menos frecuentes ( $<1,5\%$ ) incluyen mareos, fatiga y dolor de cabeza. Pueden ocurrir en las mujeres, irregularidad menstrual, y un aumento en el dolor asociado con la ovulación ( $<1,5\%$ ). (68)

El adelgazamiento normal de la mucosa del cuello del útero en preparación para la ovulación y la concepción puede verse afectada por el tratamiento con Citrato de Clomifeno. Puede resultar un espesamiento del moco cervical en hasta un 25% de las pacientes tratadas Citrato de Clomifeno que potencialmente puede disminuir la capacidad de los espermatozoides para llegar al óvulo. También puede ocurrir la sequedad vaginal. (68)

Aunque de forma controvertida, se han administrado estrógenos en algunas pacientes en el día 10 del ciclo a la hora del pico de Hormona Luteinizante (ovulación) con el fin de luchar contra la desecación de moco y engrosamiento de la mucosa. Sin embargo, hay escasa documentación de la eficacia de los estrógenos en la mejora de las tasas de embarazo. (68)

En estudios se demostró que el esquema Citrato de Clomifeno + Prednisona es una buena alternativa terapéutica en pacientes con falla previa a inducción de ovulación con el esquema clásico con Citrato de Clomifeno, previamente al uso de gonadotrofinas. Ya que el esquema Citrato de clomifeno + Prednisona mejora las tasas de ovulación. (30)

Aproximadamente el 14% (1 de cada 7 mujeres) en tratamiento con Citrato de Clomifeno experimenta un agrandamiento ovárico no complicado. Se deben realizar exámenes pélvicos en las pacientes que se quejan de molestias abdominales

(dolor pélvico) durante la terapia. Si se observa un agrandamiento o la presencia de quistes, el ciclo del Citrato de Clomifeno actual debe interrumpirse y el tratamiento adicional debe ser retenido hasta la resolución de los signos y síntomas y hasta que el ovario ya no se agrande. Si un sustancial agrandamiento del ovario se produce después de la ovulación, deben ser prohibidas las relaciones sexuales debido al riesgo de hemoperitoneo secundario a quistes ováricos rotos. Los agentes adyuvantes (es decir, la Gonadotropina Coriónica Humana) deben ser evitados si el agrandamiento del ovario está presente con el fin de prevenir la progresión del Síndrome de Hiperestimulación Ovárica. La mayoría de los quistes ováricos o agrandamientos retornan a la normalidad en unos pocos días o semanas después de la interrupción del Citrato de Clomifeno. Raras veces es necesaria la laparoscopia. Una vez que se produce la recuperación, debe reducirse la dosis o la duración del próximo ciclo del Citrato de Clomifeno. El agrandamiento de los ovarios o la formación de quistes ováricos pueden ser más probable en pacientes con Síndrome de Ovario Poliquístico, o en aquellos pacientes tratados con dosis más altas, recibiendo el tratamiento más allá de 5 días en cada ciclo, o recibimiento más de seis ciclos totales. (68)

La terapia con Citrato de Clomifeno puede provocar el síndrome de Hiperestimulación Ovárica (SHO). La incidencia de Síndrome de Hiperestimulación Ovárica con Citrato de Clomifeno es menor que la que se produce con la administración de menotropinas o de la hormona Folículo Estimulante. El Síndrome de Hiperestimulación Ovárica es un cuadro clínico distinto del agrandamiento del tamaño ovárico no complicado y requiere de la atención hospitalaria el apoyo del paciente. Este síndrome puede ser grave. La patogénesis de este síndrome es aún desconocida, pero probablemente el resultado de la producción y secreción de varias sustancias (es decir, la prostaglandina, citoquinas, factores de crecimiento endotelial vascular y activación del ovario renina-angiotensina-sistema) en respuesta a la estimulación de la ovulación. (68)

La actividad plasmática de la enzima convertidora de angiotensina aumenta en asociación con este síndrome. Algunos de los signos de alerta incluyen dolor severo abdominal y distensión, dolor pélvico, náuseas / vómitos, diarrea y aumento de

peso. Los casos más graves producen signos clínicos tales como el aumento del ovario, síntomas gastrointestinales, ascitis, disnea, oliguria, y derrame pleural. Otros síntomas reportados del Síndrome de Hiperestimulación Ovárica incluyen derrame pericárdico, anasarca, hidrotórax, abdomen agudo, elevación de enzimas hepáticas, hipotensión, insuficiencia renal (sin especificar), edema pulmonar, hemorragia intraperitoneal y ovárica, trombosis venosa profunda, accidente cerebrovascular, la torsión del ovario, y angustia respiratoria aguda. (68)

También se pueden presentar niveles elevados de esteroides urinarios, desequilibrio electrolítico, hipovolemia, hemoconcentración, hipoalbuminemia. La hemoconcentración, el choque hipovolémico, o los eventos trombóticos pueden ser fatales. El examen pélvico y abdominal se debe hacer con cuidado en los casos de Síndrome de Hiperestimulación Ovárica grave, debido a la fragilidad de los ovarios agrandados. La concepción puede dar lugar a la progresión de la forma grave del Síndrome de Hiperestimulación Ovárica. El tratamiento con Citrato de Clomifeno no debe ser restaurado hasta que el tamaño del ovario haya vuelto a la normalidad (72).

El Citrato de Clomifeno puede causar problemas de visión asociada al tratamiento en aproximadamente el 1,5% de los pacientes. Aunque estos eventos son poco frecuentes, la incidencia puede aumentar con el aumento de la dosis. Cualquier cambio en la visión requiere que el paciente lo notifique a su médico. Los efectos adversos oftalmológicos incluyen visión borrosa, diplopía, escotoma centelleante (manchas y destellos), y fotofobia. Existen pocos reportes de una disminución de la agudeza visual temporal, pero grave (ceguera). Los síntomas visuales se acentúan con la exposición a la luz brillante. Estos efectos pueden afectar la capacidad de un paciente para operar maquinaria pesada o conducir un automóvil. Si se producen alteraciones visuales, la terapia del Citrato de Clomifeno debe interrumpirse, y se debe realizar una prueba oftalmológica completa. En la mayoría de los casos, cambios visuales inducidos por el Citrato de Clomifeno son reversibles a los pocos días de interrupción del fármaco. (72)

Las reacciones adversas dermatológicas a la terapia del Citrato de Clomifeno no son comunes (<1%). Estos efectos incluyen alopecia reversible, eritema multiforme, urticaria, rash (sin especificar), prurito y dermatitis alérgica. (68)

Los efectos adversos sobre el Sistema Nervioso Central (SNC) no ocurren con frecuencia (<1% de los pacientes). Estos efectos adversos incluyen ansiedad, depresión, migraña, insomnio, mareos, y la inquietud. Se han reportado casos aislados de inducción de la psicosis. (68)

Otros efectos secundarios que rara vez ocurren en <1% de los pacientes incluyen la estimulación del apetito, aumento de la frecuencia urinaria, o hepatitis.

Se han reportado eventos tromboembólicos raros, como la embolia pulmonar, oclusión arterial y flebitis en asociación con la terapia del Citrato de Clomifeno en mujeres que no han tenido una hiperestimulación ovárica concomitante. La asociación del Citrato de Clomifeno con el desarrollo de la enfermedad tromboembólica no está clara. Ciertos pacientes, con otros factores de riesgo de tromboembolismo, pueden estar en mayor riesgo. (68)

Algunos estudios observacionales y una serie de informes de casos dieron lugar a la especulación de que los tratamientos de infertilidad podrían aumentar el riesgo de cánceres secundarios en las mujeres (por ejemplo, cáncer de mama o cáncer de ovario). Sin embargo, la infertilidad por sí sola es un factor de riesgo independiente para el desarrollo de cáncer de mama u ovario. (68)

En un estudio de cohortes a largo plazo de 1.197 mujeres infértiles, la incidencia de cáncer de ovario o de mama no fue significativamente elevada en los grupos que recibieron tratamientos de fertilidad frente a los no tratados. La tasa de cáncer de mama, en particular, no fue significativamente diferente en los dos grupos respecto a la población femenina en general. Si bien se necesitan más estudios, los datos actuales no apoyan una asociación entre el uso de medicamentos para la fertilidad y el aumento de riesgo de cáncer. (68)

El Citrato de Clomifeno no parece aumentar el riesgo de anomalías congénitas o abortos espontáneos con su uso normal; la tasa acumulada de defectos de

nacimiento es de 2,5%, que es similar a la esperada en la población normal. Sin embargo, los datos sugieren que pueden producirse efectos teratogénicos durante la organogénesis si el Citrato de Clomifeno se administró sin darse cuenta al principio del embarazo. Los estudios en animales revelan una posible conexión del uso de clomifeno con síndromes congénitos oculares e intestinales u otras malformaciones estructurales. Es importante que la terapia con Citrato e Clomifeno se continúe en los ciclos de tratamiento de fertilidad posteriores sólo después que el embarazo haya sido descartado y se haya producido la retirada normal del sangrado (menstruación). (68)

La terapia con Citrato de Clomifeno se asocia con sólo ligeramente mayores tasas de nacimientos múltiples (3-5%) en comparación con la población general (1%). Más del 90% de las mujeres tratadas con Citrato de Clomifeno experimentan gestaciones únicas. Los embarazos múltiples, si se producen, suelen ser de gemelos. Menos del 1% entregan trillizos o más. La tasa de multiparidad con Citrato de Clomifeno como un agente único es típicamente mucho menor que la que se produce con otros agentes de fertilidad (por ejemplo, menotropinas u hormona Folículo Estimulante). (68)

### 3.1.7 ÉTICA EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Declaración Universal de los Derechos de los Animales

Artículo No. 3

- a) Ningún animal será sometido a malos tratos ni a actos crueles.
- b) Si es necesaria la muerte de un animal, ésta debe ser instantánea, indolora y no generadora de angustia. (56)

Artículo No. 8

- a) La experimentación animal que implique un sufrimiento físico o psicológico es incompatible con los derechos del animal, tanto si se trata de experimentos médicos, científicos, comerciales, como de otra forma de experimentación.
- b) Las técnicas alternativas deben ser utilizadas y desarrolladas. (56)

#### CUIDADOS BÁSICOS

La manutención de los animales en Bioterios implica en trabajar en ambientes controlados con animales estandarizados, que garantizan la reproductibilidad y, consecuentemente, la validez científica de la investigación experimental. (56)

Ambientes apropiados: temperatura:  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , humedad:  $50 \pm 15\%$ ; ventilación: 12 a 20 cambios de aire/hora; intensidad de luz: 350 a 400 lux, 1 m arriba del piso; ruido: abajo de 65 dB, dieta: Debe ser estandarizada; Componentes certificados; Evitar variaciones; cuidados con las condiciones de almacenaje; no debe haber incidencia de luz directa; buena ventilación. (56)

## 3.2 ANÁLISIS DE ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

**3.2.1 RAHIMI R., REZA SHAMS M. Medicinal properties of *Foeniculum vulgare* Mill. in traditional Iranian medicine and modern phytotherapy. Chinese Journal of Integrative Medicine. January 2013. Vol.19 Issue 1. Pp.73-79 CHINA**

Resumen:

Las propiedades farmacológicas, toxicidad, efectos adversos, las interacciones farmacológicas del *Foeniculum Vulgare* en ratas hembra y la administración oral del extracto durante 10 días dio lugar a cornificación vaginal y estimulación del ciclo estral. Mientras que dosis moderadas causó aumento en el peso de las glándulas mamarias y las dosis más altas aumentan el peso del oviducto, endometrio, miometrio, el cuello uterino y de la vagina.

*Foeniculum vulgare* Mill, comúnmente conocido como Hinojo, es una planta medicinal popular. Entre diversas actividades farmacológicas mencionadas en la medicina tradicional Iraní (TIM) y fitoterapia moderna contamos con antioxidante, citotóxicos, anti-inflamatorio, antimicrobiano, broncodilatadora, estrogénico, diurético, galactogogo, antitrombótico, hipotensor, gastroprotectora, hepatoprotector, mejora la memoria, y las actividades antimutagénicos. No hay eventos adversos que se registraron después de la ingestión de *Foeniculum Vulgare*, excepto algunos casos de reacciones alérgicas. La actividad estrogénica. *Foeniculum Vulgare* trae algunos efectos secundarios como disminución de la concentración de proteína y ácido y la fosfatasa alcalina en los órganos genitales masculinos, aumento en el peso de las glándulas mamarias y los órganos reproductivos de mujeres y telarca prematura en las niñas. Sin embargo, no hay evidencia de teratogenicidad.

Es mejor no usar *Foeniculum vulgare* durante el embarazo debido a una actividad estrogénica, por la inhibición del citocromo P450 3A4 (CYP3A4). El objetivo del presente trabajo es revisar las propiedades farmacológicas, toxicidad y Los efectos adversos e interacciones medicamentosas de *Foeniculum Vulgare* y aportar

resultados concluyentes sobre el uso de esta planta en los hombres, mujeres y durante el embarazo. (12)

**3.2.2. GARDNER Z.,MACGUFFIN M. AMERICAN HERBAL PRODUCTS ASSOCIATINS BOTANICAL SAFETY. HANDWBOOK. Second Edition. USA., Pág. 370 ESTADOS UNIDOS**

Resumen:

La administración por vía oral de un extracto de acetona de Hinojo a dosis de 0,5 a 2,5 mg kg al día durante 14 días, de acuerdo a la dosis produjo inducción del ciclo de estro y aumento del peso de las glándulas mamarias, endometrio, cuello del útero y de la vagina. (1)

**3.2.3 KHAZAEI M., MONTASERI A., RASOOL M. y col. Study of Foeniculum Vulgare Effect on Folliculogenesis in Female Mice , Royal Institute International Journal of Fertility and Sterility . Kermanshah, Iran . Vol 5, No 3, Oct-Dec 2011, Pages: 122-127. IRAN**

Resumen:

EL Foeniculum Vulgare se utiliza en la medicina tradicional por sus propiedades antisépticas, paliativas y sus efectos antiinflamatorios. Tradicionalmente, Foeniculum Vulgare se utiliza para el tratamiento de la infertilidad femenina. El presente estudio tuvo como objetivo investigar los efectos del extracto de Foeniculum Vulgare sobre la foliculogénesis en ratones albinos hembras. Materiales y métodos: En este estudio experimental, un total de 20 ratones albinos hembras se dividieron en cuatro grupos. Los grupos 1 y 2 (experimental) recibieron extracto alcohólico de Foeniculum Vulgare a dosis de 100 y 200 mg / kg corporal peso (BW) / día durante cinco días, grupo 3 (control negativo) recibió el etanol y el grupo 4 (control positivo) se administró solución salina normal, en las mismas dosis que los grupos experimentales. Animales en todos los grupos fueron sacrificados en el sexto día del estudio; sus ovarios fueron disecados y se prepararon para exámenes histológicos. Hematoxilina y eosina tiñeron las láminas microscópicas que fueron evaluados y los números de los folículos ováricos fueron comparados

entre los grupos. Los datos se analizaron por ANOVA. Resultados: el número total de folículos fueron  $26,5 \pm 5,24$  para el grupo 1 (100 mg / kg FVE),  $27,2 \pm 4,1$  para el grupo 2 (200 mg / kg FVE),  $10,1 \pm 2,53$  para el grupo 3 (control de etanol) y  $17,2 \pm 3,9$  para el grupo de control de solución salina (grupo 4). Los folículos de Graaf, antrales y folículos multilaminares aumentaron significativamente en ambos grupos experimentales en comparación con el grupo control ( $p < 0,05$ ), Sin embargo, no hubo diferencias significativas en el número de folículos entre los grupos experimentales. El número de folículos primarios unilaminares no cambiaron significativamente entre todos los grupos. La Cromatografía de gases acoplada a espectrometría del extracto de *Foeniculum Vulgare* identificó la presencia de diosgenina, un compuesto estrogénico. Conclusión: *Foeniculum Vulgare* induce la foliculogenesis en los ovarios de las ratas hembra y el aumento del número de crecimiento de los folículos ováricos. El componente estrogénico del *Foeniculum Vulgare*, diosgenina, puede ejercer este efecto. (13)

**3.2.4 FALLAH Huseini H., KIANBAKHT S. Estudio sobre los efectos de la achicoria (*Cichorium intybus* L.), hinojo (*Foeniculum Vulgare* Mill.) y eneldo (*anethum graveolens* l.) en la fertilidad y género neonatal en ratas,. Revista de plantas medicinales. Junio de 2012; 11 (SUPLEMENTO 9) :196-192. IRAN**

Resumen:

Se estudiaron los efectos de las raíces de achicoria, Hinojo y extractos acuosos de semillas de eneldo, sobre la tasa de fertilidad y el sexo del recién nacido en ratas que fueron alimentadas por sonda, a las dosis de 45, 100 y 100 mg / kg, respectivamente, a cada uno de los otros 3 grupos durante 5 semanas. Durante la quinta semana, cada rata macho se puso cerca de una rata hembra en una jaula separada para aparearse. Se aumentó muy significativamente el número de ratas parturientas y el número total de los recién nacidos en el grupo de Hinojo en comparación con el grupo de control y otros grupos ( $X^2 = 18,65$ ,  $p < 0,01$ ), pero el número de machos y hembras en todos los grupos no se diferenciaron significativamente del grupo control ( $p > 0,05$ ). El Hinojo aumenta la tasa de fecundidad y el número de recién nacidos en ratas, pero la achicoria y el eneldo no

tienen tales efectos. En nuestro estudio no se evaluó la tasa de fertilidad ya que sería necesario más tiempo para determinar los partos y número de recién nacidos de las ratas (16).

**3.2.5 DEGHANIA F., PANJEHSHAHINB M., MIRZAEEC Z. Effect of Foeniculum vulgare Organic Extract on Blood Sex Hormones and Reproductive Tissues of Male Rats. Journal of Applied Animal Research, Volume 27, Issue 1, 2005. IRAN**

Resumen:

Para determinar el efecto de Foeniculum Vulgare en el sistema reproductivo en ratas macho, cuarenta ratas macho Sprague-Drawly se colocaron al azar en 4 grupos iguales. El grupo control recibió agua y los grupos restantes recibieron 100, 250 y 500 mg / kg de extracto orgánico de Foeniculum Vulgare durante 30 días. Se les tomaron muestras sanguíneas antes y después de los medicamentos; el estrógeno y los niveles de testosterona fueron grabadas. El día 30, las ratas se sacrificaron y se disecaron para su estudio histopatológico. La dosis de Foeniculum Vulgare administrada a ratas macho aumento significativamente el estradiol y la disminución de los niveles séricos de testosterona. Hubo cambio en la forma de los espermatozoides que eran visibles en los tubos seminíferos. Muchos núcleos de estas células estuvieron en la etapa metafase. En dosis más altas de Foeniculum Vulgare, también se observaron hialinización de los túbulos. Parece que Foeniculum Vulgare puede inducir efectos inhibitorios sobre el linaje de la espermatogénesis en ratas macho. (17)

**3.2.6 COMMITTEE ON HERBAL MEDICINAL PRODUCTS . Evaluation of Medicines for Human Use. Reproduction is authorised provided the source is**

**acknowledged . Assessment Report On Foeniculum Vulgare Miller. European Medicines Agency, 2008 INGLATERRA LONDRES**

Resumen:

Se identificó los efectos estrogénicos que presenta el Foeniculum Vulgare en donde la administración oral de un extracto de acetona de Hinojo en ratas ovariectomizadas a 0,5-2,5 mg / kg peso corporal / día, causó efectos estrogénicos dependientes de la dosis: la inducción de la fase de estro (después de 10 días, en el 40% de las ratas a 0,5 mg / kg, en 100% a 2,5 mg / kg), aumento en el peso de la glándula mamaria (p <0,05 a 0,5 mg / kg, p <0,01 a 2,5 mg / kg), aumento en el peso de endometrio, cuello del útero y la vagina (p <0,01 a p <0,001 a 2,5 mg / kg) (9).

**3.2.7 KILIC-OKMAN T., KUCUK M., ALTANER S. COMPARISON OF THE EFFECTS OF LETROZOLE AND CLOMIPHENE CITRATE ON OVARIAN FOLLICLES, ENDOMETRIUM, AND HORMONE LEVELS IN THE RAT, FERTILITY AND STERILITY, EDIRNE, TURKEY, VOL. 80, NO 6, DECEMBER 2003, PAGES: 1330-1332. TURQUIA**

El estudio tuvo como objetivo comparar los efectos del Letrozol y el Citrato de Clomifeno en la rata en términos del número de folículos ováricos; el grosor del endometrio; y los niveles séricos de estradiol, hormona folículo estimulante, luteinizante y testosterona. **Materiales y métodos:** se realizó el estudio en treinta ratas sexualmente maduras Wistar-Albino hembra, que pesaban 250 g con 20 semanas de edad. Las 30 ratas se dividieron en tres grupos de 10 ratas cada uno. Se realizaron frotis vaginales a todas las ratas para determinar si tenían ciclos regulares durante tres ciclos antes de la administración del fármaco Letrozol. Se aplicó en la etapa de diestro Letrozol a dosis de 5 mg / kg de peso corporal al día en 2 ml de solución salina normal; Citrato de Clomifeno, 100 g / kg diarios en 2 ml de solución salina normal; o solución salina estéril, 2 ml. Las sustancias se administraron por lavado durante 2 días. Después de 2 días, las ratas se sacrificaron con éter. Se tomó muestra de sangre para la medición de suero de estradiol, hormona folículo estimulante, luteinizante y testosterona; el útero y los ovarios fueron

extraídos para los cortes histológicos. Los sueros se almacenaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta el ensayo. Los ovarios y el útero fueron fijados en formol al 10 %. Las secciones seriadas se prepararon en rodajas de 5-micras y se tiñeron con hematoxilina y eosina. Mediante la microscopia se determinaron el número de folículos maduros, el tamaño del ovario y el espesor del endometrio. Las muestras de sangre se analizaron mediante el uso de una fase sólida, mediante el ensayo inmunométrico enzimático quimioluminiscente de dos sitios. El análisis estadístico se realizó utilizando el software SPSS, versión 7.5 (SPSS, Inc., Chicago, IL). Se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis para detectar diferencias significativas entre los grupos de estudio, y la prueba de Mann-Whitney se utilizó para  $2 \times 2$  comparaciones si la prueba de Kruskal-Wallis arrojó una diferencia significativa.  $P < 0,05$  fue considerado significativo. **Resultados:** los niveles medios de estradiol, hormona folículo estimulante, luteinizante y testosterona; número de folículos maduros; y el tamaño del ovario difirió entre los grupos, mientras que el grosor endometrial media no difirió. **Conclusión:** se encontró que el efecto de Letrozol en la estimulación del crecimiento folicular fue similar a la del Citrato de Clomifeno. El Letrozol puede tener potencial para su uso como un agente de regulación de la fertilidad (49).

**3.2.8 Mousavi H, Kolibianakis E, Tournaye H y col. El Citrato de clomifeno frente Letrozol para la estimulación ovárica: un estudio piloto, Biomedicine Reproductive, Bruselas, Belgica, 2003 Volumen 7, número 5, páginas 543 a 546.**

El propósito de este estudio piloto fue comparar el medio ambiente endocrinológico de ciclos estimulados con Citrato de Clomifeno o Letrozol. Quince pacientes sometidos a inseminación intrauterina recibidas de los días 3 a 7 días del ciclo, ya sea Letrozol 2,5 mg / día ( $n = 7$ ) o Citrato de Clomifeno 100 mg / día ( $n = 8$ ). La inseminación intrauterina se realizó un día después de la detección de pico de hormona luteinizante. Significativamente las concentraciones de estradiol en suero eran inferiores en los días 9, 13 y 15 del ciclo y en la fase lútea en los días 3 y 6 post inseminación intrauterina en el grupo de Letrozol en comparación con aquellos en el grupo de Citrato de Clomifeno. Las concentraciones de progesterona y estradiol concentraciones fueron significativamente menores en el grupo de

Letrozol que en el grupo Citrato de Clomifeno en el día del pico de hormona luteinizante. Significativamente se evidenció más folículos desarrollados en los pacientes en el grupo de Citrato de Clomifeno en comparación con aquellos en el grupo de Letrozol. En conclusión, la dosis de Letrozol no tuvo diferencias significativas en la concentración de estradiol y folículos, en comparación con los ciclos estimulados con 100 mg de Citrato de Clomifeno días 3 a 7 días del ciclo. (50)

### **3.2.9 FUENTES M., ZAPANA M., Efecto del Foeniculum Vulgare (Hinojo) en la Foliculogénesis y Maduración Folicular en Rattus Norvegicus. Arequipa 2014**

**Objetivo:** Determinar el efecto del Foeniculum Vulgare (hinojo) en la foliculogénesis y maduración folicular en ratas Rattus norvegicus tipo Wistar

**Material y métodos:** Unidades de Estudio: Grupos de ratas Albinas Rattus norvegicus tipo Wistar : en número de 20, de 4 - 5 meses entre 250 a 300 g de peso. Distribuidas al azar en 4 grupos a quienes se administró por 6 días a un grupo de 5 ratas 400 mg / kg por día del extracto etanólico de foeniculum vulgare (hinojo) , un grupo de 5 ratas : 800 mg / kg por día del Foeniculum Vulgare , un grupo de 5 ratas: citrato de clomifeno 1.5 ml x dosis por día y un grupo de comparación de 5 ratas agua destilada 1 ml por día. **Resultados:** El 100% de las ratas que recibieron hinojo 800 mg/kg presentaron folículos primarios. Así mismo se observa que el 80.0% de las ratas que recibieron hinojo 800 mg/kg presentaron folículos secundarios. Y el 100% de las ratas que recibieron hinojo 800 mg/kg presentaron folículos maduros.

**Conclusión:** El extracto etanólico de foeniculum vulgare (hinojo) ha demostrado que tiene efecto en la foliculogénesis y maduración folicular en ratas.

#### 4.- HIPÓTESIS

Dado que la infertilidad es un problema social que afecta aproximadamente al 15-20% de las parejas en edad reproductiva y que gran parte de la población utiliza la medicina tradicional complementaria para tratar diversos problemas de salud,

Es probable que el *Foeniculum Vulgare* (Hinojo), con sus propiedades estrogénicas pueda estimular la foliculogénesis y la maduración folicular de igual manera que el Citrato de Clomifeno, un fármaco usado como inductor de la ovulación.



# II.- PLANTEAMIENTO OPERACIONAL



**Técnica:** La técnica que se empleará será la de Observación Experimental.

**Instrumento:** El instrumento utilizado fue lista de cotejo

**Materiales:**

- Jaulas
- Microscopio
- Laminas portaobjeto
- Tinciones
- Hisopos
- Fijador
- Hinojo
- Alcohol
- Citrato de Clomifeno
- Mortero

## 2.- CAMPO DE VERIFICACIÓN

### 2.1 UBICACIÓN ESPACIAL

**A. Ámbito General:** Universidad Católica de Santa María s/n número Umacollo  
- Arequipa

**B. Ámbito específico:** Bioterio Pabellón H-405

**C.- Caracterización del lugar:** Ámbito institucional

### 2.2 UBICACIÓN TEMPORAL

A.- Cronología: Enero – Febrero del año 2016

B.- Visión Temporal: Prospectivo

C.- Corte Temporal: Longitudinal

### 2.3 UNIDADES DE ESTUDIO

**UNIVERSO:**

## UNIVERSO CUALITATIVO:

- **Criterios de inclusión:**

Ratas albinas hembras 4 y 5 meses, con el rango de peso de 250 a 300 gr. Ratas en etapa Proestro para ser inoculadas con *Foeniculum Vulgare* y agua destilada, ratas en etapa diestro para ser inoculadas con Citrato de Clomifeno.

- **Criterios de exclusión:**

Rata albinas machos, ratas que no estaban en edad fértil, ratas que están grávidas.

**UNIVERSO CUANTITATIVO:** Grupos de ratas Albinas *Rattus norvegicus* tipo Wister en número de 40

## MUESTRA

a) Criterios estadísticos:

- Confiabilidad: 95,5%
- Margen de error: 5%
- Probabilidad: 50%

Tamaño de la muestra:

Desviación estándar: 0.8

Diferencias de media: 1

**Numero de muestra: 10 ratas por grupo.**

## 3.- ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN DE DATOS:

### 3.1 Organización:

Distribuidas al azar en 4 grupos: un primer grupo de 10 ratas en etapa proestro a quienes se administraron 400 mg / kg del extracto etanólico de *Foeniculum Vulgare* (Hinojo) por día durante 5 días , un segundo grupo de 10 ratas en etapa proestro a quienes se administraron 800 mg / kg del *Foeniculum Vulgare* (Hinojo) por día durante 5 días, un grupo de 10 ratas en etapa diestro a quienes se administraron Citrato de Clomifeno 50 mg/kg por día durante 2 días y un grupo de comparación de 10 ratas a quienes se administraron agua destilada 1 ml por día durante un periodo de 5 días.

En el presente trabajo se respetó el Código de Ética de la Investigación en Animales de Experimentación ya que las ratas no fueron sometidas a malos tratos ni a actos crueles. Fueron colocadas en grupos de 10, en jaulas de crianza de 50 x 25 x 25 cm con alimentación y agua disponible en forma homogénea y que cubría sus necesidades nutricionales y contaron con ambientes apropiados (Temperatura  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ , ventilación adecuada, intensidad de luz: 350 a 400 lux, 1 m arriba del piso; Ruido: abajo de 65 dB). Además la muerte de las ratas fue instantánea, indolora y no generadora de angustia. Las ratas en todo momento de la investigación estuvieron en el Bioterio de la Universidad Católica de Santa María cumpliendo las normas de cuidados y bioseguridad.

Se hizo un previo hisopado vaginal para determinar si las ratas se encontraban en etapa de proestro para la administración de *Foeniculum Vulgare* (Hinojo) o diestro en caso del Citrato de Clomifeno, antes de la administración de las soluciones indicadas. Se sacrificaron a las ratas para hacer los cortes histológicos y verificar la presencia o ausencia de folículos en los ovarios.

**3.1.1 Autorización:** Se realizó la coordinación con la jefa de laboratorios.

### **3.2 Recursos:**

**3.2.1 Humanos:** Autoras: Milagros Amelia Fuentes Vargas

María Teresa Josefa Zapana Tito

Asesora: Dra Jannet Escobedo Vargas

**3.2.2 Físicos:** jaulas, comida para ratas, microscopio, hisopos, laminas portaobjeto, tinciones.

**3.2.3 Institucionales:** Universidad Católica de Santa María s/n número Umacollo  
- Arequipa

### **3.2. RECURSOS FINANCIEROS:**

Rubros	Total
Pago de ratas wistar	600
Uso de Bioterio	50
Recursos humanos	300
Materiales	300
Total	1250

## **4.- ESTRATEGIA PARA MANEJAR LOS RESULTADOS**

Para el análisis de datos de la variable maduración folicular que mide la presencia de folículos ya sean primarios, secundarios o maduros en los diferentes grupos de estudio se realizó tablas de contingencias de frecuencias absolutas y relativas porcentuales, y para la comparación estadística se realizó la prueba de  $X^2$  con un nivel de significancia de 5%. Así mismo para la comparación del número de folículos en los diferentes grupos de estudio se realizó la prueba de análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey para discriminar las medias, ésta prueba estadística también se realizó con un nivel de significancia de 5%. Adicionalmente se presentó gráficas de barras para expresar los porcentajes y el promedio de cada uno de los grupos de estudio. El proceso de la información se realizo mediante el software estadístico SPSS Versión 21.



# III. RESULTADOS

## TABLA N° 1

## NÚMERO DE FOLÍCULOS PRIMARIOS EN RATAS SOMETIDAS A CONCENTRACIONES DE HINOJO Y CITRATO DE CLOMIFENO

Tratamientos	Media	Significancia
Agua destilada	1.70	A
Hinojo 400 mg/kg	3.40	A
Hinojo 800 mg/kg	4.00	A
Citrato de clomifeno	4.50	B
Fo=2.96      Ft= 2.88      P<0.05		

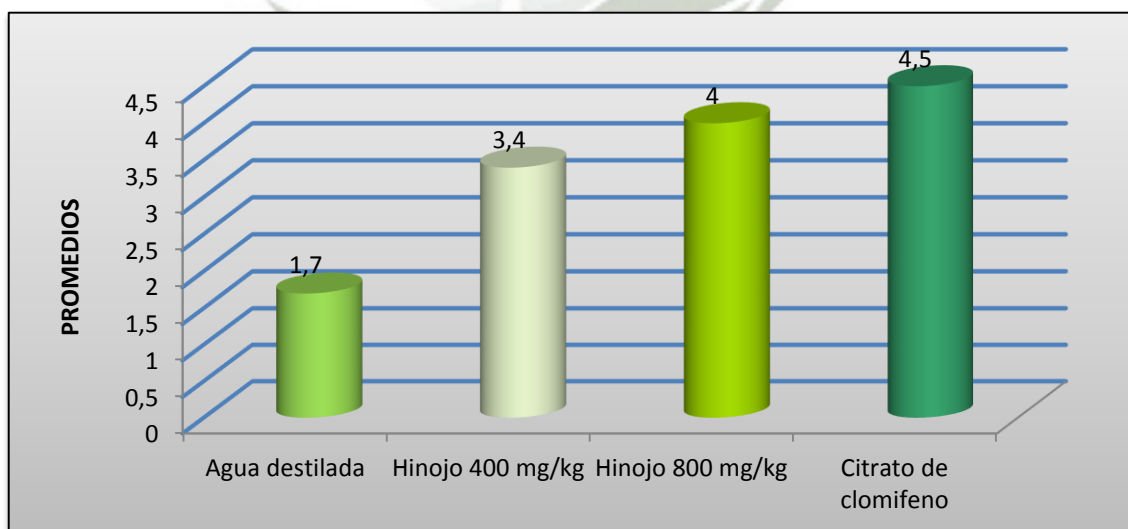
Fuente: Elaboración personal

La tabla N°. 1, según el análisis de varianza (Fo=2.96) se muestra que el número de folículos primarios en las concentraciones de Hinojo y el Citrato de Clomifeno presentó diferencias estadísticas significativas (P<0.05).

Asimismo según la prueba de Tukey se observa que el mayor número de folículos primarios se encontró cuando se aplicó Citrato de Clomifeno con un promedio de 4.50 y este difiere significativamente de los demás tratamientos.

### GRÁFICO N°1

## NÚMERO DE FOLÍCULOS PRIMARIOS EN RATAS SOMETIDAS A CONCENTRACIONES DE HINOJO Y CITRATO DE CLOMIFENO



**TABLA N°. 2**

**NÚMERO DE FOLÍCULOS SECUNDARIOS EN RATAS SOMETIDAS A  
CONCENTRACIONES DE HINOJO Y CITRATO DE CLOMIFENO**

Tratamiento	Media	Significancia
Agua destilada	1.00	a
Citrato de clomifeno	1.20	a
Hinojo 400 mg/kg	1.80	a
Hinojo 800 mg/kg	2.80	b
Fo=5.03      Ft=2.88		p<0.05

Fuente: Elaboración personal

La tabla N°. 2, según el análisis de varianza (Fo=5.03) se muestra que el número de folículos secundarios en las concentraciones de Hinojo y el Citrato de Clomifeno presentó diferencias estadísticas significativas (P<0.05).

Así mismo según la prueba de Tukey se observa que el mayor número de folículos secundarios se encontró cuando se aplicó la concentración de Hinojo 800 mg/kg con un promedio de 2.80 y este difiere significativamente de los demás tratamientos.

**GRÁFICO N° 2**

**NÚMERO DE FOLÍCULOS SECUNDARIOS EN RATAS SOMETIDAS A  
CONCENTRACIONES DE HINOJO Y CITRATO DE CLOMIFENO**

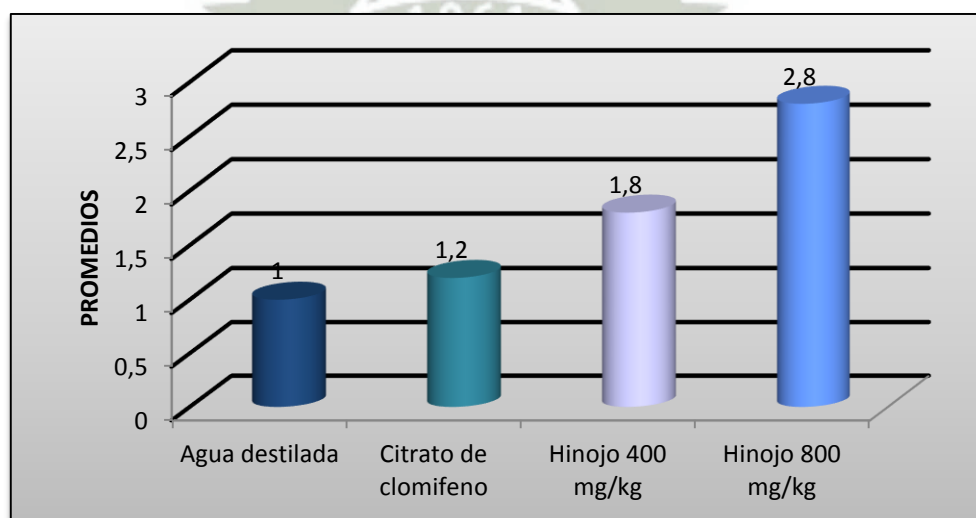


TABLA N° 3

**NÚMERO DE FOLÍCULOS MADUROS EN RATAS SOMETIDAS A  
CONCENTRACIONES DE HINOJO Y CITRATO DE CLOMIFENO**

Tratamiento	Media	Significancia
Agua destilada	0.40	A
Citrato de clomifeno	0.80	A
Hinojo 400 mg/kg	1.30	A
Hinojo 800 mg/kg	2.40	B
Fo= 4.46	Ft=2.88	P<0.05

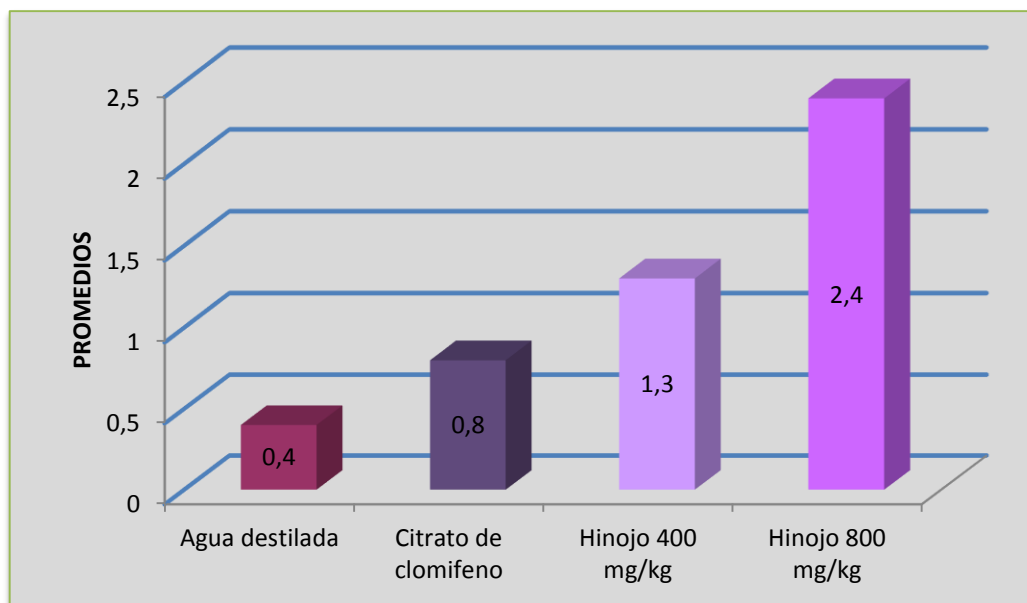
Fuente: Elaboración personal

La tabla N° 3, según el análisis de varianza (Fo= 4.46) se muestra que el número de folículos maduros en las concentraciones de Hinojo y el Citrato de Clomifeno presentó diferencias estadísticas significativas (P<0.05).

La prueba de Tukey nos indica que el mayor número de folículos maduros se encontró cuando se aplicó Hinojo 800 mg/kg con un promedio de 2.40 y este difiere significativamente de los demás tratamientos.

**GRÁFICO N° 3**

**NÚMERO DE FOLÍCULOS MADUROS EN RATAS SOMETIDAS A  
CONCENTRACIONES DE HINOJO Y CITRATO DE CLOMIFEN**



**TABLA N°. 4**

**PRESENCIA DE FOLÍCULOS PRIMARIOS EN CORTES  
HISTOLÓGICOS DE OVARIO DE RATTUS NORVERGICUS**

FOLÍCULO PRIMARIO	AGUA		CITRATO		HINOJO 400		HINOJO 800	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
SI	9	90.0	10	100.0	8	80.0	9	90.0
NO	1	10.0	0	0.0	2	20.0	1	10.0
<b>TOTAL</b>	<b>10</b>	<b>100.0</b>	<b>10</b>	<b>100.0</b>	<b>10</b>	<b>100.0</b>	<b>10</b>	<b>100.0</b>

$X^2=22.22$      $P<0.05$

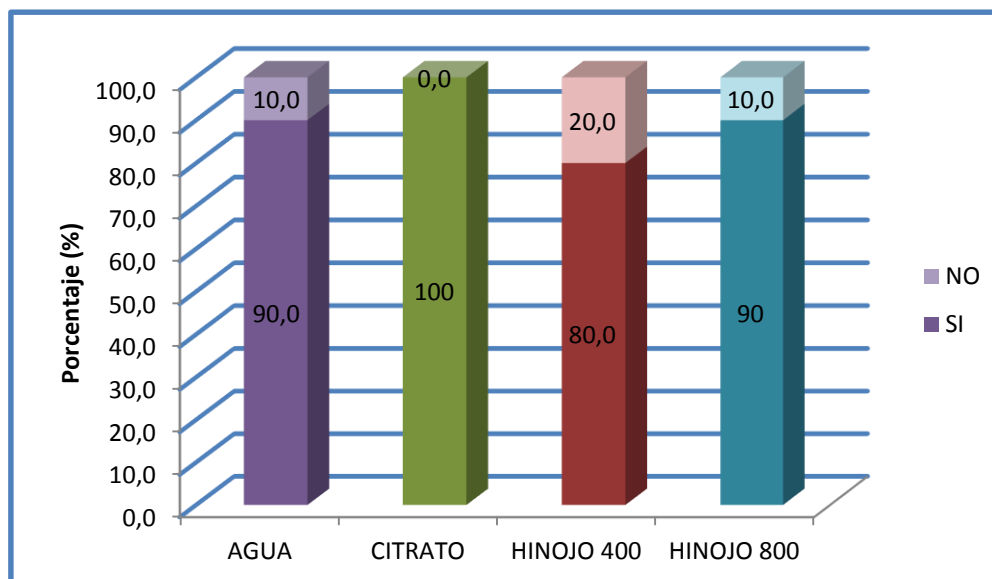
Fuente: Elaboración personal

La tabla N°. 4, según la prueba de Chi cuadrado ( $X^2=22.22$ ) muestra que la presencia de folículos primarios cuando se aplica las concentraciones de Hinojo, Citrato de Clomifeno y el agua destilada presento diferencias estadísticas significativas ( $P<0.05$ ).

Asimismo se observa que el 100% de las ratas que recibieron Citrato de Clomifeno presentaron folículos primarios.

**GRÁFICO N°4**

**PRESENCIA DE FOLÍCULOS PRIMARIOS EN CORTES  
HISTOLÓGICOS DE OVARIO DE RATTUS NORVERGICUS**



**TABLA N° 5**

**PRESENCIA DE FOLÍCULOS SECUNDARIOS EN CORTES  
HISTOLÓGICOS DE OVARIO DE RATTUS NORVERGICUS**

FOLÍCULO SECUNDARIO	AGUA		CITRATO		HINOJO 400		HINOJO 800	
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%

<b>SI</b>	7	70.0	8	80.0	8	80.0	9	90.0
<b>NO</b>	3	30.0	2	20.0	2	20.0	1	10.0
<b>TOTAL</b>	10	100	10	100	10	100	10	100

$X^2= 12.5$        $P<0.05$

Fuente: Elaboración personal

La tabla N°. 5, según la prueba de Chi cuadrado ( $X^2=12.5$ ) muestra que la presencia de folículos secundarios cuando se aplica las concentraciones de Hinojo, Citrato de Clomifeno y el agua destilada presentó diferencias estadísticas significativas ( $P<0.05$ ).

Asimismo se observa que el 90.0% de las ratas que recibieron Hinojo 800 mg/kg presentaron folículos secundarios.

### GRÁFICO N° 5

#### PRESENCIA DE FOLÍCULOS SECUNDARIOS EN CORTES HISTOLÓGICOS DE OVARIO DE RATTUS NORVERGICUS

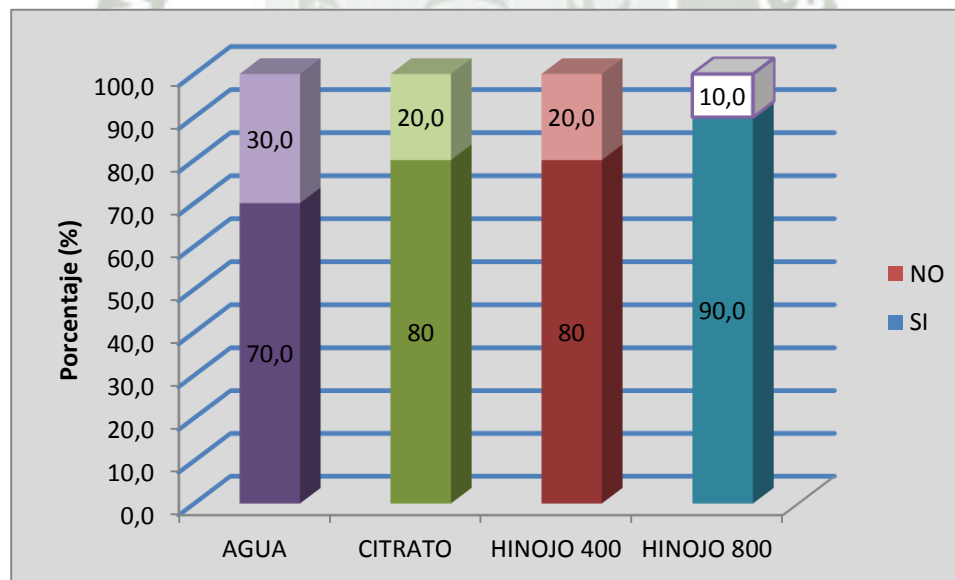


TABLA N°. 6

#### PRESENCIA DE FOLÍCULOS MADUROS EN CORTES HISTOLÓGICOS DE OVARIO DE RATTUS NORVERGICUS

<b>FOLÍCULO</b>	<b>AGUA</b>	<b>CITRATO</b>	<b>HINOJO 400</b>	<b>HINOJO 800</b>
-----------------	-------------	----------------	-------------------	-------------------

MADURO	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
SI	3	30.0	4	40.0	7	70.0	8	80.0
NO	7	70.0	6	60.0	3	30.0	2	20.0
TOTAL	10	100	10	100	10	100	10	100

$X^2=68.69$

$P<0.05$

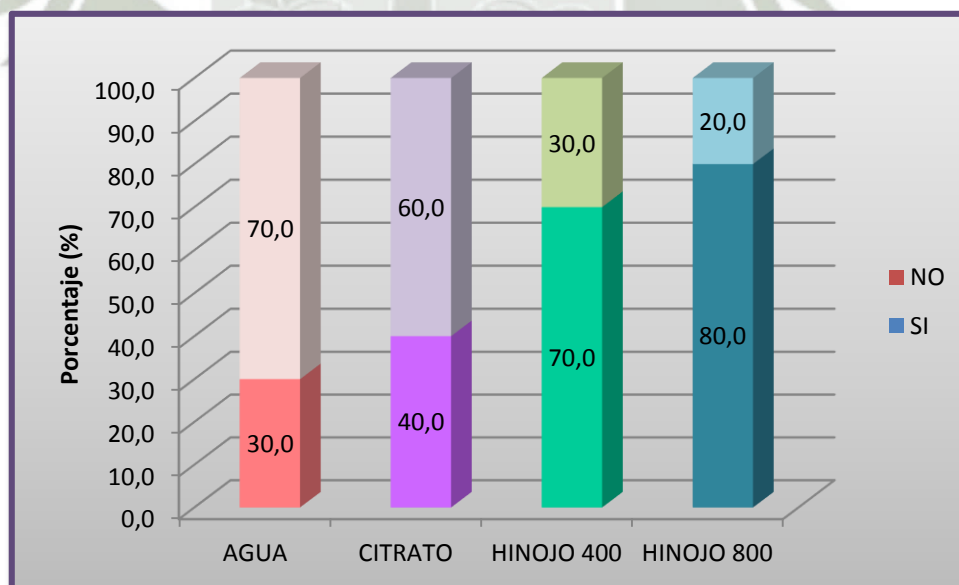
Fuentes: Elaboración personal

La tabla N°. 6, según la prueba de Chi cuadrado ( $X^2=68.69$ ) muestra que la presencia de folículos maduros cuando se aplica las concentraciones de Hinojo, Citrato de Clomifeno y el agua destilada presentó diferencias estadísticas significativas ( $P<0.05$ ).

Asimismo se observa que el 80% de las ratas experimentales que recibieron hinojo 800 mg/kg presentaron folículos maduros.

### GRÁFICA N° 6

#### PRESENCIA DE FOLÍCULOS MADUROS EN CORTES HISTOLOGICOS DE OVARIO DE RATTUS NORVERGICUS



## DISCUSIÓN

En el presente trabajo se determinó el efecto del *Foeniculum Vulgare* (Hinojo) en la foliculogénesis y maduración folicular en ratas Norvegicus. Se pudo demostrar diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.05$ ) en la presencia de folículos primarios, secundarios y folículos maduros cuando se aplica las concentraciones de Hinojo, Citrato de Clomifeno y el agua destilada.

El 100% del grupo de ratas que recibieron Citrato de Clomifeno, presentaron folículos primarios; sin embargo se observa también que el 90% del grupo de ratas que consumieron agua destilada presentaron folículos primarios al igual que el 90% del grupo de ratas que consumieron Hinojo a dosis de 800mg/kg..

Se observó que el 90 % del grupo de ratas que recibieron Hinojo a dosis de 800 mg/kg presentaron folículos secundarios y el 80% presentaron folículos maduros.

Se evidencio que el 80% del grupo de ratas que recibieron Hinojo a dosis de 400 mg/kg presentaron folículos secundarios, asimismo el 70% de este mismo grupo presentaron folículos maduros, no teniendo diferencias significativos.

Por consiguiente el Hinojo a concentraciones de 800mg/kg tuvo diferencias significativas a comparación del Hinojo a concentraciones de 400 mg/kg en referencia a la presencia de folículos secundarios y maduros.

Según el análisis de varianza (ANOVA) el número de folículos maduros en las concentraciones de Hinojo, agua destilada y el Citrato de Clomifeno presentó diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.05$ ). La prueba de Tukey nos indica que el mayor número de folículos primarios se encontraron cuando se aplicó Citrato de Clomifeno y el mayor número de folículos secundarios y maduros se encontraron cuando se aplicó la concentración de Hinojo 800 mg/kg.

RAHIMI y col. (12) revisó las propiedades farmacológicas, toxicidad y los efectos adversos y las interacciones farmacológicas del *Foeniculum Vulgare* en ratas

hembra, la administración oral del extracto durante 10 días dio lugar a cornificación vaginal y estimulación del ciclo menstrual. Mientras que dosis moderadas causadas aumento en el peso de las glándulas mamarias, las dosis más altas aumentan el peso del oviducto, endometrio, miometrio, el cuello uterino y de la vagina.

En el estudio de GARDNER y col. (1), en ratas la administración por vía oral de un extracto de acetona de Hinojo a dosis de 0,5 a 2,5 mg kg al día durante 14 días, de acuerdo a la dosis produjo inducción del ciclo de estro y aumento del peso de las glándulas mamarias, endometrio, cuello del útero y de la vagina.

El COMITÉ EUROPEO DE PRODUCTOS DE LA MEDICINA HERBOLARIA(9) identificó los efectos estrogénicos que presenta el *Foeniculum vulgare*, en donde la administración oral de un extracto de acetona de Hinojo en ratas ovariectomizadas a 0,5-2,5 mg / kg peso corporal / día; causó efectos estrogénicos dependientes de la dosis: la inducción de la fase de estro (después de 10 días, en el 40% de las ratas a 0,5 mg / kg, en 100% a 2,5 mg / kg), aumento el peso de la glándula mamaria ( $p < 0,05$  a 0,5 mg / kg,  $p < 0,01$  a 2,5 mg / kg) y aumento el peso del endometrio, cuello del útero y la vagina ( $p < 0,01$  a  $p < 0,001$  a 2,5 mg / kg).

En el estudio de KHAZAEI y col. (13) en donde 20 ratones albinos hembras se dividieron en cuatro grupos. Grupos 1 y 2 (experimentales) recibieron extracto alcohólico *Foeniculum Vulgare* a dosis de 100 y 200 mg / kg de peso corporal peso (BW) / día, durante cinco días. Grupo 3 (control negativo) recibió el etanol y el grupo 4 (control positivo) se administró solución salina normal, en las mismas dosis que los grupos experimentales. El número total de folículos fueron  $26,5 \pm 5,24$  para el grupo 1 (100 mg / kg de FVE),  $27,2 \pm 4,1$  para el grupo 2 (200 mg / kg de FVE),  $10,1 \pm 2,53$  para el grupo 3 (control de etanol) y  $17,2 \pm 3,9$  para el grupo de control de solución salina (grupo 4). El número de folículos Graaf, antrales y multilaminares aumentaron significativamente en ambos grupos experimentales en comparación con los grupos de control ( $p < 0,05$ ), Sin embargo, no hubo diferencias significativas en el número de folículos entre los grupos experimentales. Mientras

que en nuestro estudio el Hinojo, Citrato de Clomifeno y el agua destilada presentó diferencias estadísticas significativas, el mayor número de folículos primarios se encontró cuando se aplicó Citrato de Clomifeno y el mayor número de folículos secundarios y maduros se encontraron cuando se aplicó la concentración de Hinojo 800 mg/kg por día.

En el estudio de **FALLAH** y col. (16) en donde se estudiaron los efectos de las raíces de chicoria, Hinojo y extractos acuosos de semillas de Eneldo, sobre la tasa de fertilidad y el sexo del recién nacido en ratas que fueron alimentadas por sonda a las dosis de 45, 100 y 100 mg / kg, respectivamente, a cada uno de los otros 3 grupos durante 5 semanas. Durante la quinta semana, cada rata macho se puso cerca de una rata hembra en una jaula separada para aparearse. Se aumentó muy significativamente el número de ratas parturientas y el número total de los recién nacidos en el grupo de Hinojo en comparación con el grupo de control y otros grupos ( $X^2 = 18,65$ ,  $p < 0,01$ ), pero el número de machos y hembras en todos los grupos no se diferenciaron significativamente del grupo control ( $p > 0,05$ ). El Hinojo aumenta la tasa de fecundidad y el número de recién nacidos en ratas, pero la Achicoria y el Eneldo no tienen tales efectos. En nuestro estudio no se evaluó la tasa de fertilidad ya que sería necesario más tiempo para determinar los partos y número de recién nacidos de las ratas.

En el estudio de **DEGHANIA** y col. (17) se determinó el efecto de *Foeniculum Vulgare* en el sistema reproductivo de las ratas macho, cuarenta ratas macho Sprague-Drawly se colocaron al azar en 4 grupos iguales. El grupo de control recibió agua y los grupos restantes recibieron 100, 250 y 500 mg / kg de extracto orgánico de *Foeniculum Vulgare* durante 30 días. En el día 30, las ratas se sacrificaron y se disecaron para el estudio histopatológico. La dosis de *Foeniculum Vulgare* administrada a ratas macho aumentó significativamente el estradiol y la disminución de los niveles séricos de testosterona.

En el estudio de **KILIC-OKMAN** y col. (49) se comparó los efectos del Letrozol y el Citrato de Clomifeno en la rata; en términos del número de folículos ováricos,

el grosor del endometrio, y los niveles séricos de estradiol, hormona folículo estimulante, luteinizante y testosterona. Se realizó el estudio en treinta ratas sexualmente maduras Wistar-Albino hembra, que pesaban 250 g con 20 semanas de edad. Las 30 ratas se dividieron en tres grupos de 10 ratas cada uno. Se realizaron frotis vaginales a todas las ratas para determinar si tenían ciclos regulares durante tres ciclos antes de la administración del fármaco Letrozol. Se aplicó en la etapa de diestro del ciclo estral de 4 días, se administró 5 mg / kg de peso corporal al día en 2 ml de solución salina normal; Citrato de Clomifeno, 100 g / kg diarios en 2 ml de solución salina normal; o solución salina estéril, 2 mL. Las sustancias se administraron por lavado durante 2 días. Después de 2 días, las ratas se sacrificaron con éter. Se tomó muestra sangre para la medición de suero de estradiol, hormona folículo estimulante, luteinizante y testosterona; el útero y los ovarios fueron extraídos para los cortes histológicos. El número de folículos maduros de ovario, el tamaño de ovario, el espesor del endometrio y el diámetro del ovario se midió por microscopía. Se encontró que el efecto de letrozol en la estimulación del crecimiento folicular fue similar a la del Citrato de Clomifeno. El Letrozol puede tener potencial para su uso como un agente de regulación de la fertilidad.

En nuestro estudio se usó el Citrato de Clomifeno demostrando diferencias significativas en el número de folículos primarios.

## CONCLUSIONES

- El efecto del *Foeniculum Vulgare* a dosis de 400 mg no demostró alta efectividad en comparación con *Foeniculum Vulgare* de 800mg.
- Se concluyó que el Citrato de Clomifeno logró aumentar folículos primarios en la totalidad de las ratas.
- Se evidenció diferencia entre las ratas que consumieron Citrato de Clomifeno predominando la presencia de folículos primarios a comparación de las ratas que consumieron *Foeniculum Vulgare* (Hinojo) en donde predominaron folículos secundarios y maduros

## RECOMENDACIONES

- Realizar más investigaciones posteriores para identificar las dosis mínimas y máximas que se pueden utilizar para obtener los mismos efectos.
- Realizar futuras investigaciones comparando la efectividad de diferentes plantas medicinales utilizadas en la Región Arequipa, además del *Foeniculum Vulgare* (Hinojo).
- Realizar estudios pilotos para que se pueda llevar a cabo en seres humanos.

## IV. BIBLIOGRAFÍA

- (1) REVISTA COLOMBIANA DE OBSTETRICIA Y GINECOLOGÍA. Definición y causas de la infertilidad. VOL. 54 NO 4.2003
- (2) ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. Estrategia de la OMS sobre Medicina Tradicional 2014-2023. Ginebra 2013
- (3) MOORE KL. PERSAND TVN. Embriología Clínica. 7ª ed. México: McGraw-Hill-Interamericana, 2004;pp:15-42. 2. Stevens A, Lowe J. Histología humana. 2ª ed. Madrid: Harcourt Brace, 1998; pp: 327-54.
- (4) STEVENS A, LOWE J. Histología humana. 2ª ed. Madrid: Harcourt Brace, 1998; pp: 327-54.
- (5) FINN GENESER. Histología sobre bases biomoleculares. 3ª ed Editorial Médica Panamericana, 2000; pp:621-23.
- (6) BARROS L, CARVALHO A, FERREIRA I. “The nutritional composition of fennel (*Foeniculum vulgare*): shoots, leaves, stems and inflorescences,”. *Food Science and Technology*; 2010, Vol. 43. No. 5, pp. 814–818.
- (7) BYSKOV A., HOYER P. The Physiology of Reproduction. 2ª ed. Knobil E, Neil JD, editors. Georgia: Raven Press, 1994;pp:487- 540.

## V. HEMEROGRAFÍA

- (8) BRUGO-OLMEDO S, CHILLIK C, KOPELMAN S. Definición y causas de la infertilidad. CEGYR, Bogotá-Colombia. Centro de Estudios en Ginecología y Reproducción. Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología. 2003;54(4):227-248.
- (9) COMMITTEE ON HERBAL MEDICINAL PRODUCTS . Evaluation of Medicines for Human Use. Reproduction is authorised provided the source is acknowledged . Assessment Report On Foeniculum Vulgare Miller. European Medicines Agency, 2008.
- (10) ALONSO M. “Plantas Medicinales: del uso tradicional al criterio científico” Discurso Leído en el acto de ingreso a la Real Académica de Farmacia de Cataluña .Celebrado el día 15 de marzo de 2010.Barcelona.
- (11) BEYRA A, IGLESIAS E, FERRÁNDIZ D, HERRERA R,et al.Estudios etnobotánicos sobre plantas medicinales en la provincia de Camagüey (Cuba). Anales del Jardín Botánico de Madrid 2004;61(2):185-204.
- (12) RAHIMI R., REZA SHAMS M. Medicinal properties of *Foeniculum vulgare* Mill. in traditional Iranian medicine and modern phytotherapy.Chinese Journal of Integrative Medicine. Jan 2013;19(1):73-79.
- (13) KHAZAEI M., MONTASERI A., RASOOL M,et al. Study of Foeniculum vulgare Effect on Folliculogenesis in Female Mice. Royal Institute International Journal of Fertility and Sterility. Oct- Dic 2011;5(3):122-127.
- (14) RAMOS G, MOLINA C, FERREIRA P, CHÁVEZ O. Aislamiento e identificación de los metabolitos secundarios bioactivos de desmodium sp. Manayupa. Inv. UNICA. 2000.
- (15) NORRIS A. Exteroceptive factors, sexual maturation and reproduction in female rat. Laboratory animals. 1979;13: 283-286.

- (16) FALLAH H, KIANBAKHT S. Estudio sobre los efectos de la achicoria (*Cichorium intybus* L.), hinojo (*Foeniculum vulgare* Mill.) y eneldo (*Anethum graveolens* L.) en la fertilidad y género neonatal en ratas. *Revista de plantas medicinales*. Jun 2012; 11 Supl 9:196-192.
- (17) DEHGHANIA F, PANJEHSHAHINB M, MIRZAEEC Z. Effect of *Foeniculum vulgare* Organic Extract on Blood Sex Hormones and Reproductive Tissues of Male Rats. *Journal of Applied Animal Research*. 2005;27(1).
- (18) VARILLAS C, BLANCO S, et al. Citrato de clomifeno ¿Sigue teniendo indicación en reproducción asistida tras 40 años de uso y sigue teniendo indicación en reproducción asistida. *Fertilidad*. Sept-Oct 2008;25(5):309-315.
- (19) MUCKENSTURM B, FOECHTERLEN D, REDURON J, DANTON P, HILDENBRAND M. Phytochemical and chemotaxonomic studies of *Foeniculum vulgare*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 1997;25(4):353-358.
- (20) BARROS L, CARVALHO A, FERREIRA I. The nutritional composition of fennel (*Foeniculum vulgare*): shoots, leaves, stems and inflorescences. *Food Science and Technology*. 2010;43(5):814-818.
- (21) KRISHNAMURTHY K. Medicinal plants: Madhurikā, saunf or fennel (*Foeniculum vulgare*, Gaertn). *Journal of New Approaches to Medicine and Health*. 2011;19(1):1-4.
- (22) DUŠKO B, ČOMIĆ L, SOLUJIĆ-SUKDOLAK S. Antibacterial activity of some plants from family Apiaceae in relation to selected phytopathogenic bacteria. *Kragujevac Journal of Science*. 2006;28:65-72.

- (23) KATAOKA S, HORIYAMA M, YAMAKI, et al., Anti-inflammatory and anti-allergic activities of hydroxylamine and related compounds. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*. 2002;25(11):1436–1441.
- (24) CHOI E, HWANG J. Antiinflammatory, analgesic and antioxidant activities of the fruit of *Foeniculum vulgare*. *Fitoterapia*. 2004;75(6):557–565.
- (25) OZBEK, H, UĞRAŞ U, DÜLGER H, et al. Hepatoprotective effect of *Foeniculum vulgare* essential oil. *Fitoterapia*. 2003;74(3):317–319.
- (26) NAGA K, ANJANEYULU N, NAGA G, SRAVYA N. Evaluation of anxiolytic activity of ethanolic extract of *Foeniculum vulgare* in mice model. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2012;4(3):584–586.
- (27) PADMA P, KHOSA R. Anti-stress agents from natural origin. *Journal of Natural Remedies*. 2002;2(1):21–27.
- (28) KOPPULA S, KUMAR H. *Foeniculum vulgare* Mill (Umbelliferae) attenuates stress and improves memory in wister rats. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2013;12(4):553–558.
- (29) JOSHI H, PARLE M. Cholinergic basis of memory-strengthening effect of *Foeniculum vulgare* Linn. *Journal of Medicinal Food*. 2006;9(3):413–417.
- (30) VITAL V, TELLEZ S, HINOJOSA J, REYES A. Citrato de Clomifeno y Prednisona: Un esquema alternativo de manejo en pacientes con anovulación crónica y falla terapéutica al clomifeno. *Ginecol Obstet. Méx* 2000; 68(6):266-270
- (31) VALDEZ F, VITAL V, HINOJOSA J, CERBÓN M. Artículo de revisión Funcionalidad y cambios endometriales asociados con la inducción de ovulación

con Citrato de Clomifeno y FSH recombinante en mujeres con infertilidad. *Ginecol Obstet Mex.* 2014;82:143-153.

(32) MC KD, HERTIG AT, ADAMS EC, DANZIGER S. Histochemical observations on the germ cells of human embryos. *Anat Rec* 1953;2:201–219.

(33) MERCHANT-LARIOS H, CENTENO B. Morphogenesis of the ovary from the sterile W/W<sup>v</sup> mouse. *Prog Clin Biol Res* 1981;59B:383–392.

(34) OKTEM O, URMAN B. Understanding follicle growth in vivo. *Hum Reprod* 2010; 25(12):2944-54.

(35) OKTEM O, OKTAY K. The ovary: anatomy and function throughout human life. *Ann NY Acad Sci* 2008;1127:1–9.

(36) ZAPANTIS G, SANTORO N. Ovarian ageing and the menopausal transition. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2002;16:263-76.

(37) VASKIVUO TE, TAPANAINEN JS. Apoptosis in the human ovary. *Reprod Biomed Online* 2003;6:24-35.

(38) GOLDFIEN A, MONROE SE. *Endocrinología básica y clínica*. México: El Manual Moderno, 1988; pp:379-425.

(39) JEWGENOW K, RUDOLPH M. Timing and location of zona pellucida synthesis during oogenesis in domestic cats-an ultrastructural immunohistological investigation. *J Reprod Ferti Suppl* 2001;57:23-9.

(40) WARTENBERG H, IHMER A, MIETHING A, VIEBAHN C. Mitotic arrest of female germ cells during prenatal oogenesis. A colcemid-like, non-apoptotic cell death. *Anat Embryol (Berl)* 2001;204:421-35.

(41) GOSDEN RG. Oogenesis as a foundation for embryogenesis. *Mol Cell Endocrinol* 2002;186:149-53.

(42) ALBERTINI DF, BARRETT SL. Oocyte-somatic cell communication. *Reprod Suppl* 2003;61:49-54.

- (43) MATZUK MM, BURNS KH, VIVEIROS MM, EPPIG JJ. Intercellular communication in the mammalian ovary: oocytes carry the conversation. *Science* 2002;296:2178-80.
- (44) CARABATSOS MJ, SELBITTO C, GOODENOUGH DA, ALBERTINI DF. Oocyte-granulosa cell heterologous gap junctions are required for the coordination of nuclear and cytoplasmic meiotic competence. *Dev Biol* 2000;226:167-79.
- (45) YEH YJ, CHOO KB, CHENG WT, LI H. Ohx is a homeobox-encoding gene preferentially expressed in mature oocytes. *Mech Dev.* 2002;117:259-63.
- (46) NEAS JOHN F. *Development and Inheritance Embryology Atlas*. New York: Prentice Hall, 2003; pp:1-4.
- (47) FISSORE RA, KUROKAWA M, KNOTT J, ZHANG M, et al. Mechanisms underlying oocyte activation and postovulatory ageing. *Reproduction* 2002;124:745-54
- (48) IGARASHI M., IBUKI Y., M.D., KUBO H., et al. Mode and site of action of clomiphene. *American Journal Of Obstetrics Gynecology*. Jan 1967;97(1):120-123.
- (49) KILIC-OKMAN T., KUCUK M., ALTANER S. Comparison of the effects of Letrozole and Clomiphene Citrate on ovarian follicles, endometrium, and hormone levels in the rat, fertility and sterility, edirne, turkey, vol. 80, no 6, December 2003, pages: 1330-1332
- (50) MOUSAVI H, KOLIBIANAKIS E, TOURNAYE H Y COL. El citrato de clomifeno frente Letrozol para la estimulación ovárica: un estudio piloto, *Biomedicine Reproductive*, Bruselas, Belgica, 2003 Volumen 7, número 5, páginas 543 a 546.
- (51) SHAMKANT B, VAINAV V, ATMARAM H. *Foeniculum vulgare Mill: A Review of Its Botany, Phytochemistry, Pharmacology, Contemporary Application, and Toxicology*. Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International. Vol 2014.

- (52) PRADHAN M, SRIBHUWANESWARI S, KARTHIKEYAN D. et al., “In-vitro cytoprotection activity of *Foeniculum vulgare* and *Helicteres isora* in cultured human blood lymphocytes and antitumour activity against B16F10 melanoma cell line,”. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 2008, vol. 1, no. 4, pp. 450–452.
- (53) RASUL A, AKHTAR N, KHAN B. et al., “Formulation development of a cream containing fennel extract: in vivo evaluation for anti-aging effects,” *Pharmazie*, 2012, vol. 67, no. 1, pp. 54–58.
- (54) NASSAR M, ABOUTABL E, MAKLED Y, ELKHRISY E, et al. “Secondary metabolites and pharmacology of *Foeniculum vulgare* Mill. Subsp. *Piperitum*,”. *Revista Latinoamericana de Química*, 2010, vol. 38, no. 2, pp. 103–112.
- (55) KAUR G, ARORA D, “Antibacterial and phytochemical screening of *Anethum graveolens*, *Foeniculum vulgare* and *Trachyspermum ammi*,” *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2009, vol. 9, no 30.
- (56) MANONMANI, ABDUL KHADIR V, “Antibacterial screening on *Foeniculum vulgare* Mill,” *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2011, vol. 2, no. 4, pp:390–394.
- (57) EPIFANO O, DEAN J. Genetic control of early folliculogenesis in mice. *Endocrinol Metab* 2002; Vol 13, pp:169-73.
- (58) DISSEN G, ROMERO C, PAREDES A, OJEDA S. Neurotrophic control of ovarian development. *Microsc Res Tech* 2002; Vol 59, pp:509-15.
- (59) HREINSSON J, SCOTT J, RASMUSSEN C, et al. Growth differentiation factor-9 promotes the growth, development and survival of human ovarian follicles in organ culture. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; Vol 87, pp:316-21.
- (60) SCHUETZ A. Gametogenic processes and their relationship to normal and abnormal conceptus development. *J Anim Sci* 1979; Vol 49 Suppl 2, pp:1-25.

- (61) MATTSON B, ALBERTINI D. Oogenesis: chromatin and microtubule dynamics during meiotic prophase. *Mol Reprod Dev* 1990; Vol 25, pp:374-83
- (62) NG T, TAM P, LOONG E. Levels of insulin and cholesterol in human follicular fluid. *Int J Fertil Menopausal Stud* 1993; Vol 38, pp:316-9
- (63) GRIENSTED J, KJER J, BLENDSTRUP K, et al. Is low temperature of the follicular fluid prior to ovulation necessary for normal oocyte development? *Fertil Steril* 1985; Vol 43, pp:34-9.
- (64) THE PRACTICE COMMITTEE OF THE AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE. Use of clomiphene citrate in infertile women: a committee opinion. *Fertil Steril* 2013; Vol 100, pp:341-8
- (65) MAGENDZO A. Anovulación y disfunción ovulatoria e infertilidad. *Rev. Med. Clin. Condes* 2010; Vol 21, no 3, pp: 377-38
- (66) DOVEY, S., SNEERINGER, R., PENZIAS, A. Clomiphene citrate and intrauterine insemination: analysis of more than 4100 cycles. *Fertility and sterility*, 2008; Vol 90, no 6, pp: 2281-2286.
- (67) ASRM Use of clomiphene citrate in infertile women: a committee opinion. *Fertility and Sterility*®, 2013, Vol. 100, No. 2.

## VI. INFORMATOGRAFÍA

(68) EQUIPO DE REDACCIÓN DE IQB (Centro colaborador de La Administración Nacional de Medicamentos, alimentos y Tecnología Médica - ANMAT - Argentina). Vademecum Citrato de Clomifeno. Monografía creada el 12 de Octubre de 2014.

Disponible en: <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/c079.htm>  
Recuperado(12/01/2016).

(69) AYUNTAMIENTO DE MALAGA. AREA DE MEDIO AMBIENTE Y SOSTENIBILIDAD “HINOJO- FOENICULUM VULAGRE” Disponible en <http://www.lineaverdemalaga.com/pdfCatalogo/66.pdf> Recuperado(12/01/2016).

(70) SANTOS M. Curso: Animal de experimentación como reactivo biológico en investigación, diagnóstico y control de fármacos. Aspectos Generales de roedor de laboratorio (especies, cepas, líneas). Sistemas de producción para mantenimiento de condición genética.Unidad de Reactivos y Biomodelos de Experimentación Facultad de Medicina. Disponible en [http://www.urbe.fmed.edu.uy/cursos/animales\\_experimentacion/Roedores%20de%20laboratorio.pdf](http://www.urbe.fmed.edu.uy/cursos/animales_experimentacion/Roedores%20de%20laboratorio.pdf) Recuperado(12/01/2016).

(71) HUSULAK, A. Y OTROS: Estudio comparativo multicéntrico sobre el uso de acetato de leuprolide de depósito en dosis única en hiperestimulación ovárica controlada para fertilización asistida de alta complejidad. Reproducción, 1995, X; 1 pagina 179 Disponible en: [http://med.unne.edu.ar/sitio/multimedia/imagenes/ckfinder/files/files/18\\_reproduc.c.pdf](http://med.unne.edu.ar/sitio/multimedia/imagenes/ckfinder/files/files/18_reproduc.c.pdf) Recuperado el (12/01/2016).

(72) AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICIN. Medicamentos para inducir la ovulación. 2012 .rev 11-7-12 (8) Disponible en: [https://www.asrm.org/uploadedFiles/ASRM\\_Content/Resources/Patient\\_Resources/Fact\\_Sheets\\_and\\_Info\\_Booklets\\_en\\_Espanol/BOOKLET%20Medicamentos%2](https://www.asrm.org/uploadedFiles/ASRM_Content/Resources/Patient_Resources/Fact_Sheets_and_Info_Booklets_en_Espanol/BOOKLET%20Medicamentos%2)

0para%20inducir%20la%20ovulacion%20rev%2011-7-12.pdf Recuperado el (12/01/2016).

(73) LIZANA S., AGUILERA S., QUIROZ L., et al. Seminario 90: Ciclo Menstrual y Seguimiento Folicular. Centro de Referencia Perinatal Oriente Departamento de Obstetricia y Ginecología, Hospital “Dr. Luis Tisné Brousse” Campus Oriente, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Disponible en: [http://www.cerpo.cl/items/File\\_002\\_0056\\_005.pdf](http://www.cerpo.cl/items/File_002_0056_005.pdf) Recuperado el (29/01/2016).

(74) CABRERA P., RINCON U., ÁLVAREZ L., et al. Estrés: Factor Modificante del Ciclo Estral de la rata. Métodos de Investigación. Colego Marymount 18 mayo 2004. Disponible en: [http://acmor.org.mx/sites/default/files/Proyecto\\_Estres.pdf](http://acmor.org.mx/sites/default/files/Proyecto_Estres.pdf) Recuperado (12/01/2016)



## VII. ANEXOS

### 1.- LISTA DE COTEJO

GRUPO 1		HINOJO 400mcg		DOSIS	MUERTE
N°	IDENTIFICACION	Peso	Administración		
1	Cabeza y pata posterior izquierda	267 gr	PROESTRO	0.13 ml de hinojo hasta 1 mL	05/02/2016
2	2 patas derechas	272 gr	PROESTRO	0.13 ml de hinojo hasta 1 mL	15/02/2016
3	Cabeza y 2 patas traseras	239 gr	PROESTRO	0.12 ml de hinojo hasta 1 mL	10/02/2016
4	Cabeza y dos patas derechas	263 gr	PROESTRO	0.13 ml de hinojo hasta 1 mL	12/02/2016
5	Cabeza y 2 patas izquierdas	240 gr	PROESTRO	0.12 ml de hinojo hasta 1 mL	07/02/2016
6	Cabeza	237 gr	PROESTRO	0.11 ml de hinojo hasta 1 mL	15/02/2016
7	Dorso	248 gr	PROESTRO	0.12 ml de hinojo hasta 1 mL	12/02/2016
8	Cola	249 gr	PROESTRO	0.12 ml de hinojo hasta 1 mL	11/02/2016
9	Pata anterior derecha	253 gr	PROESTRO	0.12 ml de hinojo hasta 1 mL	07/02/2016
10	Pata posterior derecha	239 gr	PROESTRO	0.12 ml de hinojo hasta 1 mL	11/02/2016

GRUPO 2		HINOJO 800mcg		DOSIS	MUERTE
N°	IDENTIFICACION	Peso	Administración		
11	Cabeza y pata anterior derecha	252 gr	PROESTRO	0.24 ml de hinojo hasta 1 mL	12/02/2016
12	Pata anterior derecha	246 gr	PROESTRO	0.24 ml de hinojo hasta 1 mL	15/02/2016
13	Cabeza	255 gr	PROESTRO	0.25 ml de hinojo hasta 1 mL	10/02/2016
14	Cabeza y dorso	275 gr	PROESTRO	0.27 ml de hinojo hasta 1 mL	05/02/2016
15	Cabeza y dos patas derechas	260 gr	PROESTRO	0.25 ml de hinojo hasta 1 mL	18/02/2016
16	Pata anterior izquierda	260 gr	PROESTRO	0.25 ml de hinojo hasta 1 mL	12/02/2016
17	Pata posterior izquierda	268 gr	PROESTRO	0.26 ml de hinojo hasta 1 mL	18/02/2016
18	Patas del lado derecho	265 gr	PROESTRO	0.26 ml de hinojo hasta 1 mL	11/02/2016
19	Patas del lado izquierdo	254 gr	PROESTRO	0.24 ml de hinojo hasta 1 mL	13/02/2016
20	Patas delanteras	238 gr	PROESTRO	0.23 ml de hinojo hasta 1 mL	17/02/2016

GRUPO 3		CITRATO DE CLOMIENO		DOSIS	MUERTE
N°	IDENTIFICACION	Peso	Administración		
21	Cabeza	263 gr	DIESTRO	1 mL	13/02/2016
22	Dorso	252 gr	DIESTRO	1 mL	11/02/2016
23	Cola	250 gr	DIESTRO	1 mL	10/02/2016
24	Pata anterior derecha	243 gr	DIESTRO	1 mL	17/02/2016
25	Pata posterior derecha	262 gr	DIESTRO	1 mL	05/02/2016
26	Pata anterior izquierda	252 gr	DIESTRO	1 mL	19/02/2016
27	Pata posterior izquierda	267 gr	DIESTRO	1 mL	18/02/2016
28	Dos patas derechas	258 gr	DIESTRO	1 mL	20/02/2016
29	Dos patas izquierdas	263 gr	DIESTRO	1 mL	13/02/2016
30	Patas delanteras	266 gr	DIESTRO	1 mL	20/02/2016



GRUPO 4		AGUA DESTILADA		DOSIS	MUERTE
N°	IDENTIFICACION	Peso	Administración		
31	Cabeza	260 gr	PROESTRO	1 mL	11/02/2016
32	Dorso y pata anterior derecha	245 gr	PROESTRO	1 mL	20/02/2016
33	Cola	258 gr	PROESTRO	1 mL	17/02/2016
34	Dorso	254 gr	PROESTRO	1 mL	19/02/2016
35	2 patas derechas	257 gr	PROESTRO	1 mL	05/02/2016
36	Cabeza dorso cola	244 gr	PROESTRO	1 mL	13/02/2016
37	Cabeza pata anterior derecha	249 gr	PROESTRO	1 mL	20/02/2016
38	Cabeza pata posterior derecha	245 gr	PROESTRO	1 mL	18/02/2016
39	Cabeza pata anterior izquierda	248 gr	PROESTRO	1 mL	21/02/2016
40	Cabeza pata posterior izquierda	239 gr	PROESTRO	1 mL	24/02/2016



## 2.- LISTA DE FOLÍCULOS ENCONTRADOS

SUSTANCIA ADMINISTRADA	Nº GRUPO	ROTULO	FOLÍCULO PRIMARIO	FOLÍCULO SECUNDARIO	FOLÍCULO MADURO
AGUA DESTILADA	1	A	1	0	0
		B	2	0	0
		C	8	3	0
		D	1	2	0
		E	2	0	0
		F	2	1	2
		G	1	1	0
		H	0	2	0
		I	4	1	1
		J	4	2	1
CITRATO DE CLOMIFENO	2	K	6	1	5
		L	4	1	0
		M	0	0	1
		N	7	1	2
		O	4	1	0
		P	5	2	1
		Q	3	1	0
		R	12	5	0
		S	2	2	0
		T	2	0	0
HINOJO 400 mg	3	U	0	2	2
		V	3	1	2
		W	2	4	0
		X	5	4	1
		Y	2	3	3
		Z	4	0	0

		<b>AB</b>	0	1	0
		<b>CD</b>	5	2	1
		<b>EF</b>	6	1	2
		<b>GH</b>	7	0	0
<b>HINOJO 800 mg</b>	4	<b>IJ</b>	0	3	7
		<b>KL</b>	5	2	2
		<b>MN</b>	5	3	2
		<b>OP</b>	3	4	2
		<b>QR</b>	0	0	3
		<b>ST</b>	4	1	3
		<b>UV</b>	6	0	1
		<b>WX</b>	2	5	0
		<b>YZ</b>	5	0	0
		<b>ABC</b>	1	0	1



### 3.- MATERIALES

#### MATERIALES VEGETALES:

Las semillas de hinojo fueron obtenidas en el mercado de San Camilo de la ciudad de Arequipa provenientes de la ciudad de Huancayo

#### MATERIAL BIOLÓGICO:

Se utilizó 40 ratas como animales de experimentación, hembras entre 230-280gr de raza wistar, variedad albina todas ellas con alimentación semejante.

#### MATERIALES DE LABORATORIO

- Vaso precipitado
- Fiola de 10ml
- Gotero
- Viales

#### EQUIPOS Y APARATOS

- Equipo percolador
- Rota vapor
- Baño María
- Estufa
- Balanza analítica
- Bortex

#### OTROS

- Guantes quirúrgicos
- Equipo venoclisis
- jeringas tuberculina 1 ml
- canicas
- bebederos
- cánula

## **REACTIVO**

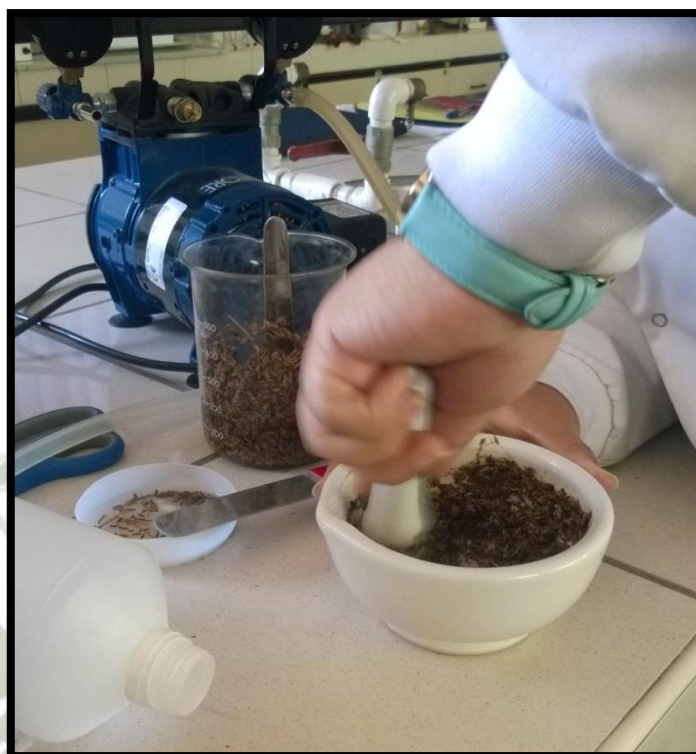
- Agua destilada
- Alcohol Etilico de 96°

## **4.- MÉTODOS**

### **Preparación del extracto etanólico de FOENICULUM VULGARE**

Para la preparación del extracto se tomó semillas de Foeniculum Vulgare que fueron llevadas a una cámara de secado con menos de 40°C durante un periodo de 72 horas, y luego fueron pulverizadas, obteniendo un polvo seco pulverizado de 100 gr , que fue empleado en la preparación del extracto alcohólico.

El polvo seco final fue mezclada con alcohol etílico (96°) el cual se dejó macerar por 5 días, para una adecuada extracción de sustancias polares y no polares. Al término de los 5 días se filtró en alcohol, obteniendo el extracto activo, el cual fue evaporado a 40°C durante 48 horas. El extracto se utilizó para las respectivas diluciones y administración en los animales de experimentación.

**MÉTODO****LA****OBTENCIÓN DEL EXTRACTO****PARA****A) PERCOLACIÓN**

La percolación consiste en hacer pasar el solvente a través de una planta, hasta su extracción, la percolación se realiza en aparatos denominados percoladores, de cuerpo cilíndrico o cónico, provisto de un grifo en la parte inferior para regular el flujo del solvente.

La percolación comprende una etapa preliminar de humedecimiento de la planta, fuera del cuerpo del percolador. Este procedimiento tiene como objetivo aumentar el contacto, facilitando el paso del solvente y no permitiendo la formación de falsas vías, que perjudican la eficiencia del proceso. El humedecimiento de la planta aumenta la porosidad de la pared celular y facilita la difusión de las sustancias extraíbles hacia el exterior de las células. El humedecimiento debe ser fuera del percolador, ya que la droga puede hincharse principalmente cuando el solvente es acuoso y comprimirse contra las paredes del percolador, no permitiendo el paso del solvente. La percolación simple presenta como desventaja el alto consumo del solvente.

En la percolación ocurren procesos de lavado celular y de difusión celular, además interfieren otros factores como son la relación de células machacadas y células enteras (dependiendo del grado de finura de la planta). La velocidad de difusión de la sustancia de la droga al disolvente y la velocidad de acción del disolvente. Renovando constantemente el líquido se consigue una extracción progresiva, pudiendo teóricamente lograr la extracción total (se obtiene hasta el 95% de sustancia extraíble) gracias al aporte constante del solvente nuevo y al continuo del descenso de concentración que ello implica.

Es decisivo el periodo de tiempo en el que la droga permanece en contacto con el líquido extractivo y la relación que existe entre la droga y el líquido extractivo (cantidad de disolvente). Regulando la velocidad de goteo se compensan las diferencias debidas a las formas de los percoladores.

Luego de llenar el percolador con la planta humedecida se abre la llave del recipiente que contiene el líquido extractivo, procediendo a cerrar la llave de salida del percolador, hasta que el líquido extractivo, alcance un centímetro por encima del borde superior de la droga, de forma que la unidad de tiempo se igualen los goteos de entrada y salida.



## **PROCEDIMIENTO**

Primero se instaló el equipo de percolador de la siguiente manera:

Se cortó la parte de la base de una botella de plástico, a la cual le colocamos una torunda de algodón en el pico para que filtre el polvo, segundo procedimos a humedecer la planta con el solvente (alcohol 96°) en un recipiente aparte, se colocó 100g de las semillas de *Foeniculum vulgare* con ligera presión en el equipo, luego colocamos papel filtro encima de la droga con canicas, que ejercían un ligero peso, en el recipiente superior se colocó una cantidad de solvente y se abrió la llave superior y se soltó la cantidad suficiente de solvente hasta un centímetro por encima de la planta y se dejó macerar durante 5 días, se soltó la llave inferior y se continuó con el goteo a 1 gota por segundo, renovando constantemente el disolvente. Finalmente se consiguió 1200ml del percolado de color verde claro, el cual se envasó en una botella oscura conservándose en un lugar seco y fresco.



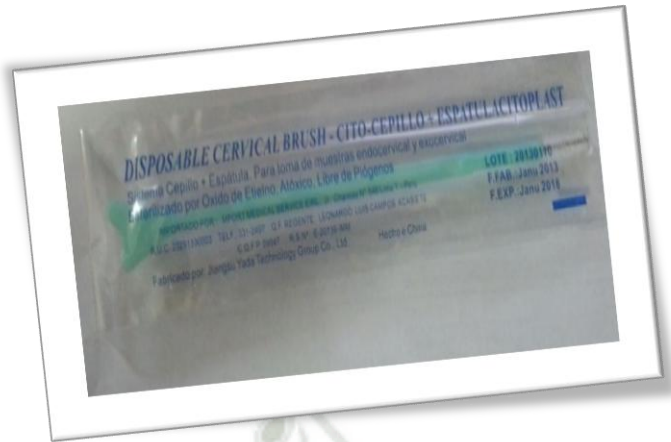


**EVAPORACIÓN:**

El disolvente se ha evaporado en el rotavapor hasta conseguir una concentración de principio activo similar a la concentración del principio activo de la droga original.

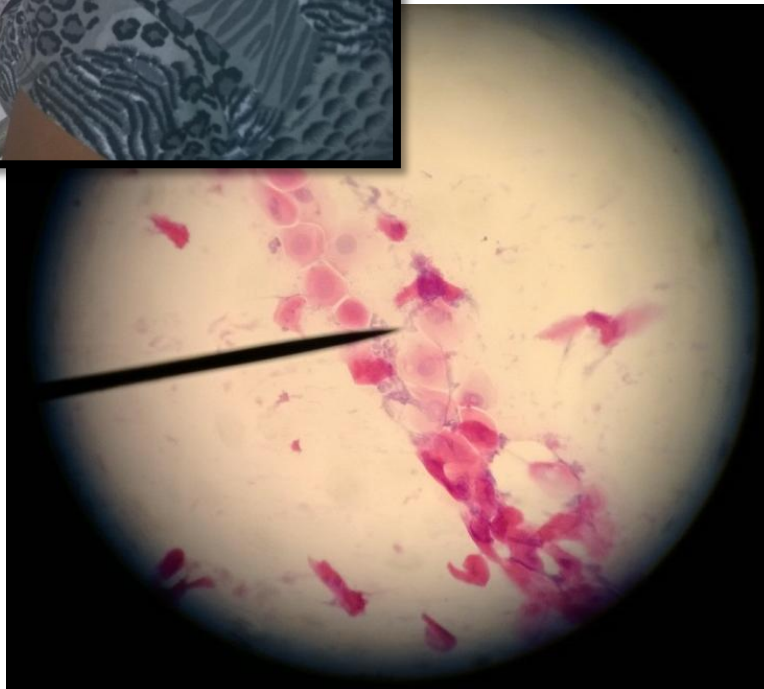


## 5.- IDENTIFICACION DEL CICLO DE LA RATA



Mediante hisopados vaginales se identificó el proestro o diestro del ciclo estral de las ratas según corresponda.





PROESTRO



PROESTRO

Se les dividió en cuatro grupos y se les administró agua destilada, Citrato de Clomífero, Hinojo (400 mg/Kg) e Hinojo (800mg/kg) respectivamente.



Los animales en todos los grupos fueron sacrificados después del sexto día de administración.

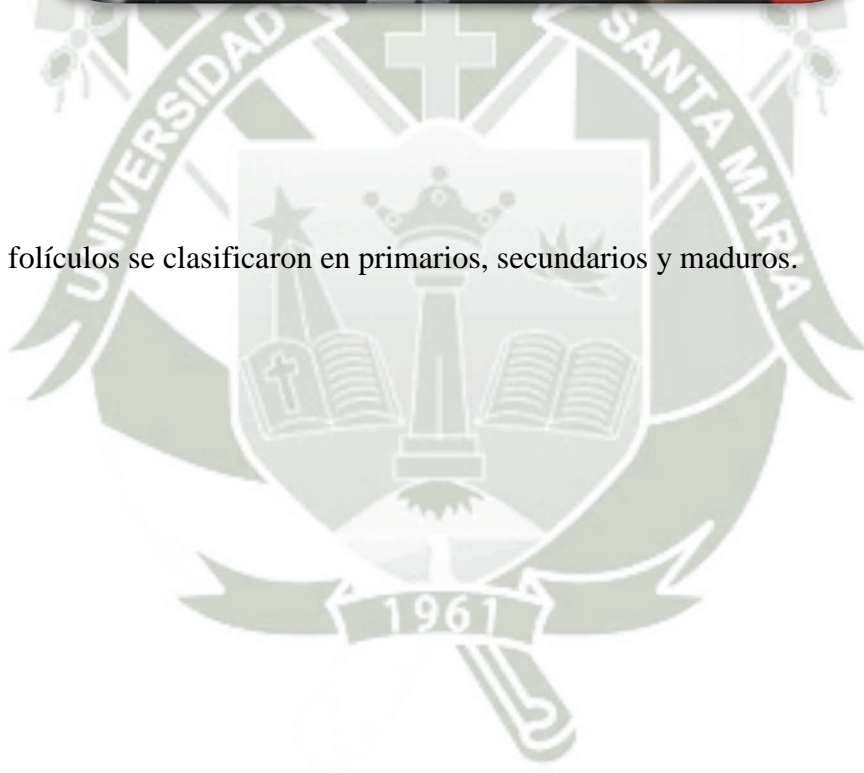
Los ovarios se limpiaron de grasa y se fijaron en formol al 10%. Ellos se deshidrataron en alcoholes graduados, despachada en xileno, embebidos en parafina y luego se tiñeron con hematoxilina y eosina (H & E).



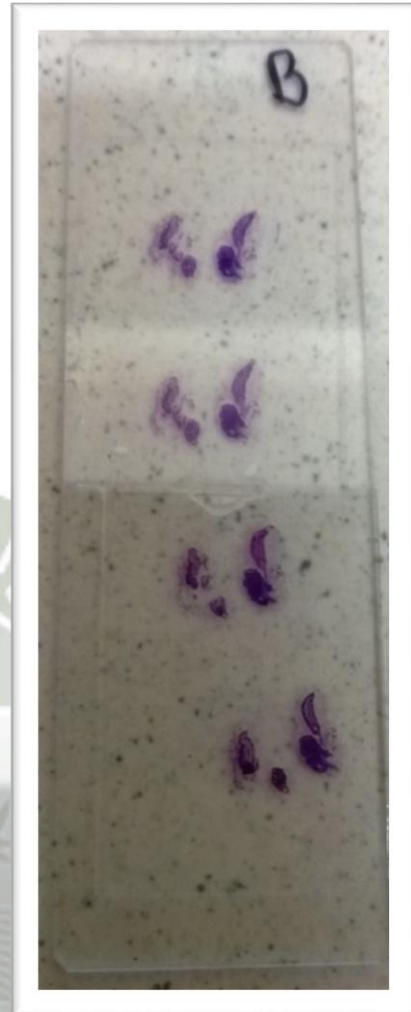
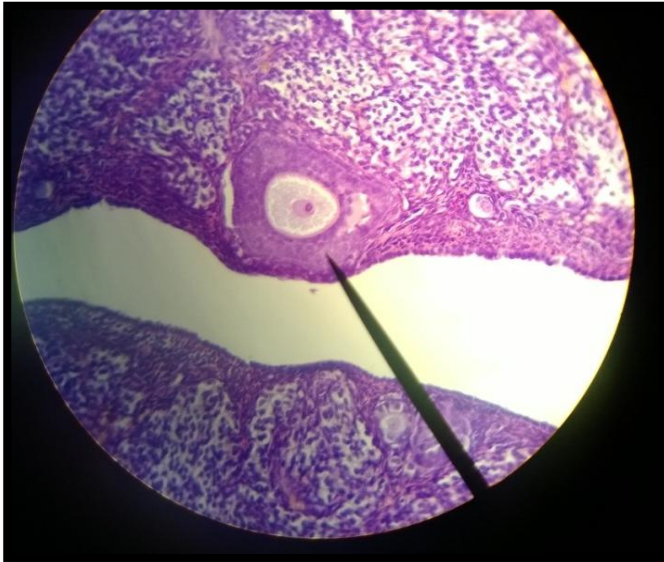
Posteriormente se realizaron los cortes histológicos en el micrótopo.



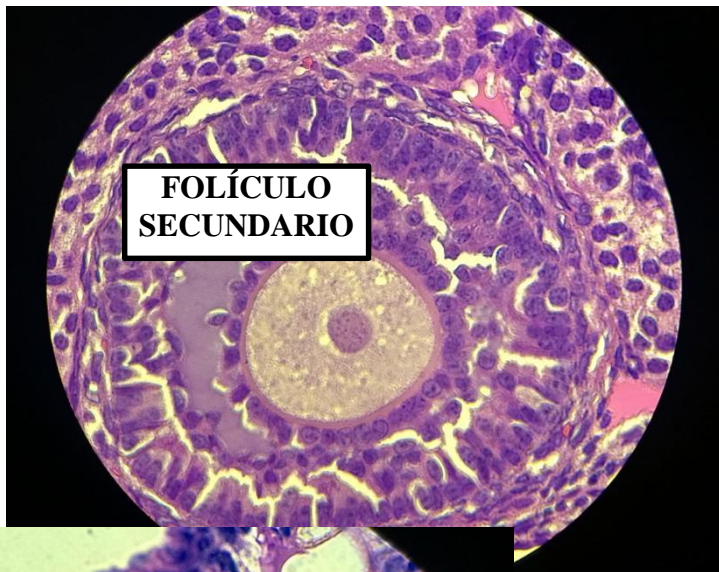
Los folículos se clasificaron en primarios, secundarios y maduros.



FOLICULO PRIMARIO



DARIO



## 6.- CROMATOGRAFÍA:

Es un sistema analítico que  
permite separar los

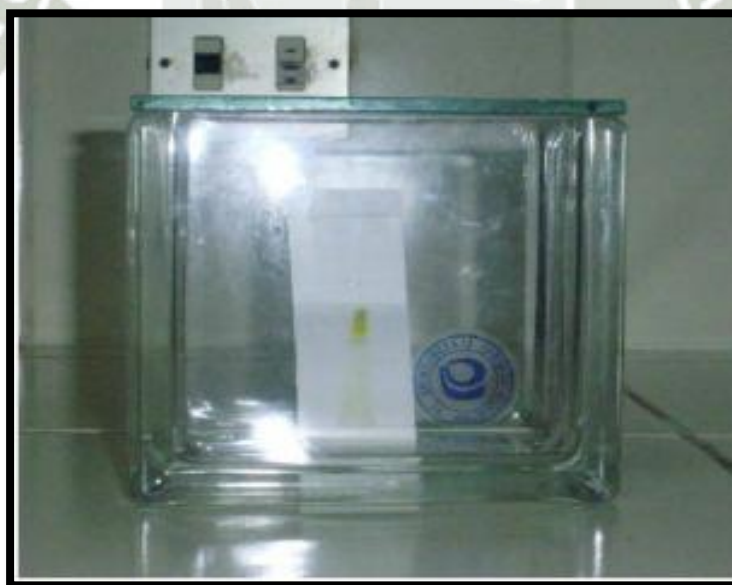
diferentes componentes de una muestra problema por distribución entre dos fases, una estacionaria y otra móvil, con el fin de identificarlos y/o cuantificarlos.

Principio del método.

Capa uniforme de un absorbente mantenido sobre una placa que puede ser de vidrio, aluminio u otro soporte, sobre la cual corren las sustancias a separar por medio de un solvente (fase móvil). La fase móvil es líquida y la estacionaria sólida y polar (sílica gel)

Técnica:

La mezcla a analizar se deposita a una pequeña distancia del borde inferior de la placa y se introduce en una cubeta que contiene la fase móvil. La fase móvil asciende a lo largo de la placa por capilaridad, desplazando los componentes de la mezcla a diferentes velocidades, provocando su separación. Cuando el frente del disolvente se encuentra próximo al extremo superior de la placa se saca y se visualiza en una lámpara de rayos UV visible de longitud de onda 366 nm.

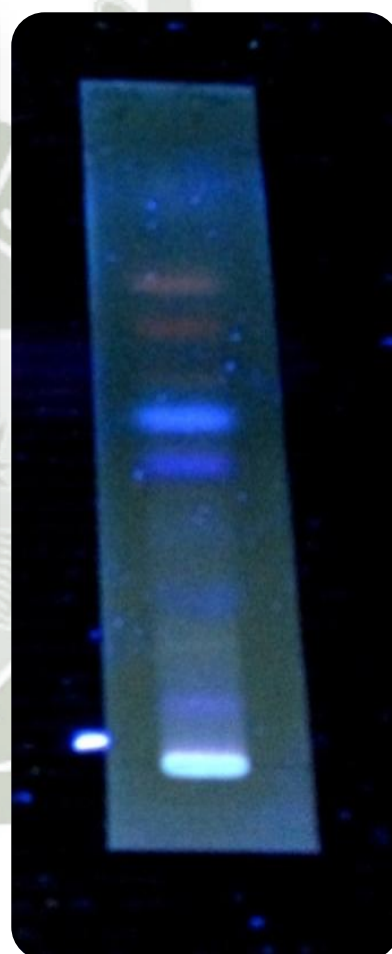
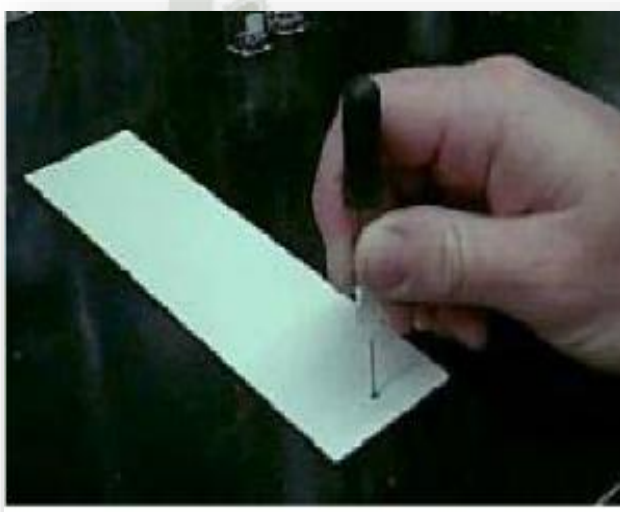


La

determinación de la denominada huella digital de la semilla de *Foeniculum Vulgare* se utilizó como fase móvil. Tolueno y acetato de etilo (50-50) respectivamente y se emplearon como reveladores. Ácido sulfúrico al 5% y vainillina al 1 % fueron

esparcidos por un atomizador, luego se procedió llevar a la estufa previamente acondicionada a una temperatura de  $110^{\circ}\text{C}$  poniendo la placa durante 5 minutos.

Visualmente el análisis Cromatográfico del Hinojo (FOENICULUM VULGARE) en la cual se observa sustancias con alta polaridad que vemos de colores que nos van a permitir caracterizar a nuestra droga y para que posteriormente puedan ser comparadas.



## 7.- CROQUIS

