

11261
lej
E

PARTICIPACION DE LOS ESTEROIDES GONADALES
EN EL CONTROL DE LA CONTRACTILIDAD UTERINA

TESIS

QUE PRESENTA EL MEDICO CIRUJANO
CARLOS KUBLI GARFIAS, PARA OBTENER EL
GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS BIOMEDICAS
ESPECIALIDAD FISILOGIA.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA

1982

FALLA DE ORIGEN



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

INTRODUCCION.....	1
Estereoquímica de Esteroides.....	1
Hormonas Ováricas y Contractilidad Uterina.....	4
Características Anatómo-Fisiológicas del Miometrio....	6
I. Potencial de Membrana.....	7
II. Iones y Excitabilidad.....	8
III. Potencial de Acción.....	10
IV. Actividad Mecánica.....	11
V. Efectos de Estrógenos y Progesterona.....	13
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	14
MATERIAL Y METODOS.....	24
RESULTADOS.....	30
Efecto de los Andrógenos.....	30
Efecto de las Progestinas.....	34
Efecto de la Interacción Esteroide-Ca ²⁺	38
DISCUSION.....	41
RESUMEN.....	56
REFERENCIAS.....	57
APENDICE.....	69

INTRODUCCION

Las hormonas esteroides producidas por los ovarios, se clasifican en estrógenos, andrógenos y progestinas. Químicamente, todas ellas se derivan del ciclo-pentano-perhidro-fenantreno y tienen pesos moleculares que van de 290 a 315.

Estas hormonas secretadas por las gónadas, juegan el papel de moduladores en diferentes aspectos de la función reproductora, e.g. los ciclos sexuales (Short, 1972), el embarazo (Heap, 1972) y la lactancia (Cowie, 1972).

Esteroequímica de Esteroides.

En el siglo XIX se descubrió un conjunto de alcoholes cristalinos a los que se les llamó esteroleos (alcoholes sólidos).

En 1936 el término esteroide fué introducido para definir a los esteroleos formados por una molécula formada de un fenantreno saturada de hidrógenos (per-hidro) unida a un ciclo-pentano. (Templeton, 1969).

La nomenclatura de estos compuestos ha sido establecida por la IUPAC (International Union of Pure

and Applied Chemistry) y la numeración de los carbonos es de acuerdo a la Figura 1 a. Las principales familias de esteroides son las del estrano, androstano, pregnano, colano y colestano. Estas moléculas poseen una configuración estereoquímica definida en todos sus centros nucleares de asimetría excepto en el carbono 5. Debido a esta variación la posición espacial de los hidrógenos con el carbono 5 cambian su relación configuracional, la cual presenta dos modalidades, una hacia abajo del plano de la molécula llamada configuración " α " y otra hacia arriba llamada " β ".

Por otro lado, dependiendo de la configuración del hidrógeno del carbono 5, se obtienen dos conformaciones con respecto a los anillos A y B. A/B trans cuando éste se encuentra en posición 5α y una conformación A/B cis cuando se encuentra en posición 5β . Es interesante observar que la configuración 5β produce una angulación del anillo A con respecto al B la cual hace al compuesto 5β diferente al 5α en su posición espacial. (Fig 1 b y c).

Desde el punto de vista estereoquímico los anillos que forman la molécula del fenantreno solo pueden tener dos conformaciones, la de "silla" y la de "bote". De estas conformaciones la de silla es la más

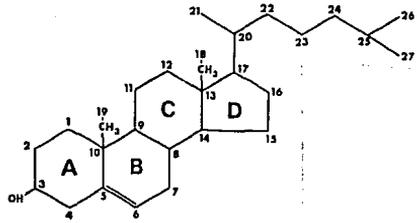


Fig. 1. a) Estructura básica de un esteroide de la familia del colestano. b) estructura estereoquímica de un esteroide en configuración trans (5α). c) estructura estereoquímica de un esteroide en configuración cis (5β). Tomado de Templeton, 1969.

estable debido a las fuerzas interatómicas de la molécula.

Hormonas Ováricas y Contractilidad Uterina.

El efecto de los esteroides ováricos sobre la actividad muscular uterina ha sido estudiada casi desde principios de siglo. Así, la evidencia de que los extractos de cuerpos lúteos son esenciales para mantener el embarazo en la coneja se debe a Fraenkel (1905). Athias en 1919 y Blair en 1922 mostraron experimentalmente que las secreciones del ovario son importantes reguladores de la actividad miometrial.

Después de la identificación química de las hormonas ováricas i.e. estrógenos y progesterona, estudios *in vitro* (Frank y cols., 1929) mostraron la importancia de los estrógenos para aumentar la actividad uterina. El efecto relajante de la progesterona sobre el músculo uterino fué mostrado por Allen y Corner (1929).

Un paso importante fué dado por Reynolds quien en 1930 desarrolló una técnica para registrar las contracciones uterinas que le permitió mostrar *in vivo* el efecto relajante de la progesterona sobre la actividad espontánea del útero de la coneja.

En 1932, Reynolds y Allen, con extractos ováricos que contenían progestinas, produjeron una marcada reducción de la contractilidad uterina de la coneja en estro. Con respecto a la testosterona, fué Robson quien, en 1937, mostró que esta hormona produce un efecto relajante sobre el útero in vitro de la coneja. Por otra parte, estudios realizados por Csapo y Corner (1952) con registros en condiciones isométricas, mostraron que tiras de músculo uterino, obtenidos de conejas castradas y pretratadas con estrógenos, aumentan su tensión cuando son estimuladas eléctricamente; sin embargo, si los animales son pretratados con progesterona, se observa una disminución de la tensión.

Posteriormente Marshall y Csapo (1961), con la administración de progesterona tanto in vivo como in vitro, observaron la depresión de las actividades mecánica y eléctrica del útero de la rata preñada.

Actualmente se acepta que la función primaria del miometrio es contraerse y efectuar con ello un trabajo. Sin embargo para que este trabajo sea efectivo se necesita del influjo tónico de las hormonas. Esto ha sido apoyado por la atrofia uterina que se observa después de la ovariectomía bilateral (Csapo 1973).

Características Anatómo-fisiológicas del Miometrio.

En el útero de la rata existen dos capas musculares, una externa longitudinal y una interna ó concéntrica (Ludwig, 1952). Sin embargo, en la mujer se han observado hasta cuatro capas musculares (Herbut, 1953).

Desde el punto de vista ultraestructural, las células miometriales son de 20 a 600 μ de largo por 2 a 10 μ de ancho y están agrupadas en forma de husos. En estas células el núcleo es central y las mitocondrias y el retículo endoplásmico rugoso se localizan hacia los polos. Aunque se sabe que en las células miometriales existen actina y miosina (Csapo, 1971), las cuales forman filamentos (Daniel y Lodge, 1973), estas proteínas no tienen un arreglo similar al del músculo esquelético. Un complejo proteico de tropomiosina y troponina también ha sido identificado en el útero (Carsten, 1971), así como cantidades apreciables de calmodulina (Perry y Grand, 1979).

De acuerdo con Csapo (1962), la célula miometrial es un sistema contráctil rodeado de una membrana excitable. En ese aspecto el útero se comporta como un sincicio y la contracción se propaga

coordinadamente sugiriendo una conducción de la excitación entre las células miométriales.

I. Potencial de Membrana

En general, en los tejidos excitables el potencial de membrana se observa ya sea como una diferencia de potencial a través de una membrana, la cual separa dos compartimentos fluidos que contienen iones (teoría membranar), ó como una fase rodeada de un potencial que se genera en el contorno entre una fase intercambiadora de iones (la célula) y el fluido extracelular (teoría de asociación-inducción).

Experimentos en músculo liso han mostrado que ninguno de los iones importantes (Na^+ , K^+ , Cl^- , HCO_3^- , Mg^{2+} , Ca^{2+}) está en equilibrio con el potencial de reposo. Más aún, estas células poseen mecanismos bien desarrollados para transportar iones y mantener un ambiente intracelular adecuado (Brading, 1979).

Los valores del potencial de membrana en el útero varían y dependen del estado hormonal y de la especie estudiada. El rango de variación va de -23 a -80 mV (Woodbury y McIntyre, 1954). Los valores calculados a partir de la concentración intracelular de potasio son de 70 y 80 mV (Cole, 1950; Casteels y

Kuriyama, 1965; Daniel y Sing, 1965; Kao y Nishiyama, 1964), mientras que los valores teóricos basados en la estimación de iones da rangos entre 93 y 97 mV (Carsten, 1968).

El bajo potencial de membrana ha sido explicado en base de la relativamente alta permeabilidad de la membrana celular al sodio, aunque es posible una baja permeabilidad al potasio (Abe, 1970).

II. Iones y Excitabilidad

La membrana del músculo liso tiene una alta resistencia eléctrica calculada entre 50-80 k ohms/cm². (Tomita, 1970). Esto apoya la hipótesis de que existe una bomba de sodio que genera una corriente que podría contribuir significativamente al potencial de membrana en reposo y reducir la permeabilidad pasiva a los iones. Una clara evidencia de la electrogenicidad de la bomba de sodio ha sido mostrada por Bolton (1973).

Por otra parte, existen en general en el interior de las células del músculo liso altas concentraciones de potasio. Esto se debe aparentemente a la existencia de una bomba Na-K. Van Breemen y cols. (1975) han postulado que los niveles altos de K⁺

intracelular son mantenidos gracias a la energía proporcionada por el adenosin-trifosfato (ATP).

Con respecto al calcio fué quizá Ringer (1883) el primero en describir el efecto del calcio sobre los tejidos contráctiles. Actualmente se sabe que el calcio es esencial para la contracción del músculo liso en dos procesos: a) manteniendo la excitabilidad eléctrica y b) permitiendo el acoplamiento electromecánico. Este ión se localiza tanto intracelular como extracelularmente. Dentro de la célula se ha encontrado en las mitocondrias, retículo-endoplásmico, núcleo y membrana plasmática.

Cuando el tejido uterino es puesto en una solución libre de Ca^{2+} , se despolariza volviéndose inexcitable aunque susceptible de contraerse (Kuriyama y Csapo, 1959; Marshall y Csapo, 1961). En soluciones calcio-deficientes el potencial de membrana uterino disminuye de -50 mV a -30 mV (Marshall y Csapo, 1961; Marshall, 1965).

Aunque existen evidencias de que el sodio juega un papel importante en la regulación intracelular del Ca^{2+} , se ha postulado que las células del músculo liso pueden poseer además una bomba de calcio dependiente de ATP, la cual puede sacar Ca^{2+} a través de la membrana celular (Schatzmann, 1973). Por otra parte

existen evidencias de que el Ca^{2+} participa en la regulación del K^+ y se le denomina sistema Ca-K el cual fué mostrado por primera vez por Gardós (1958) en el eritrocito humano.

III. Potencial de Acción

Los potenciales de acción del miometrio tienen una forma relativamente simple y se les llama "espigas". La fase de elevación puede ser hasta de 20 mV y también son lentos (5-20 V/s); la duración de la espiga en el útero es de 20 ms aproximadamente y su velocidad de propagación es de 2 cm/s a 10 cm/s (Holman y Neild, 1979).

Existen datos que apoyan la hipótesis de generación de corriente a través de canales membranales. La frecuencia de los potenciales de acción decrecen conforme disminuye el sodio externo (Goto y Woodbury, 1958). Sin embargo, la estimulación eléctrica aumenta la producción de espigas a pesar del sodio bajo (Marshall, 1967, Kao, 1967). Este hecho sugiere que el sodio no es importante para generar las espigas excepto para las células marcapaso (Csapo, 1973). Es importante señalar que el potencial de acción no es bloqueado por tetrodoxina (un inhibidor

del sodio) pero si es reducido por Mn^{2+} , lo cual sugiere que la corriente de entrada es producida por el ingreso de Ca^{2+} al interior de la célula. Además la actividad eléctrica desaparece en ausencia de calcio (Kuriyama y Csapo, 1959; Marshall y Csapo, 1965).

IV. Actividad Mecánica

El acoplamiento electromecánico, es decir, el mecanismo por medio del cual el potencial de acción dispara una respuesta mecánica, depende en parte del proceso energético que promueve la interacción entre actina y miosina. Se sabe que la miosina del músculo liso tiene actividad de ATPasa (Csapo, 1973) y que esta enzima es activada por la propia miosina y el ión calcio (Carsten, 1968). Actualmente se piensa que la contracción uterina ocurre cuando existe un flujo de calcio al interior de la célula (Mironneau, 1976).

De acuerdo con las evidencias actuales, se puede decir que la actividad mecánica del útero es regulada por los cambios del calcio libre en el mioplasma. El sistema contráctil del miometrio al igual que el del músculo estriado es activado a través de un proceso de excitación, generado por la membrana celular.

Los cambios de flujo en las concentraciones del Ca^{2+} intracelular durante la contracción miométrial han sido establecidos con estudios de células aisladas y sistemas subcelulares. Aparentemente la contracción miométrial es proporcional a la concentración del Ca^{2+} mioplásmico (Daniel y cols., 1962).

Hay cálculos (Chang y Triggle, 1973) que indican que en estado de reposo membranar la poza de calcio es 1000 veces más grande que la de calcio mioplásmico y que la translocación de 1/300 de calcio, situado en la membrana, hacia el interior de la célula, es suficiente para producir una contracción completa.

La relajación, por otro lado, se ha pensado es producida por la incorporación de Ca^{2+} en sitios de unión intracelulares y por la expulsión de este ión a través de la membrana plasmática. Ambos procesos son dependientes de energía (Carsten, 1965; Casteels y van Breemen, 1975; Janis y cols., 1977; Hurwitz y cols., 1977).

Más de una posibilidad puede ser considerada en la remoción de Ca^{2+} del citoplasma para inducir relajación. Por ejemplo, hay evidencias de que el retículo sarcoplásmico regula el calcio mioplásmico

(Carsten, 1969; Batra y Daniel, 1971). La mitocondria posiblemente también juega un papel importante en la regulación del calcio para la relajación (Batra, 1973).

V. Efectos de Estrógenos y Progesterona

El miometrio es un músculo de los llamados unitarios (Bozler, 1948) y tiene autorritmicidad, la cual es afectada por la temperatura, concentraciones de iones, elongación, inhibidores metabólicos y una gran variedad de hormonas (Finn y Porter, 1975).

Los estrógenos restituyen el sistema contráctil del útero atrofiado en el animal ovariectomizado así como su capacidad de trabajo restaurando la actividad basal y la reactividad farmacológica (Csapo, 1969). El efecto más conspicuo de la progesterona es el "bloqueo" de la actividad miometrial (Csapo 1956), es decir, impide la conducción (Csapo, 1969; Csapo y Takeda, 1965). Aparentemente el efecto es a través de un aumento de la resistencia del tejido y una disminución del acoplamiento eléctrico entre las células miometriales (Ichikawa y Bartoff, 1970).

Se ha observado que el tratamiento con

estrógenos incrementa el potencial de reposo de la célula miometrial en varias especies animales. Aunque Kao y Nishiyama (1969) no pudieron confirmar esta observación, Daniel y Lodge (1973) establecieron que la progesterona incrementa más aún este potencial. De cualquier forma parece ser que existe un efecto neto de estas hormonas sobre la excitabilidad miometrial. Sin embargo, un potencial de membrana alto no necesariamente implica una disminución de la excitabilidad sino más bien al contrario, podría implicar una gran habilidad de la membrana para incrementar la permeabilidad y despolarizarse generando potenciales de acción (Daniel y Lodge, 1973).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La testosterona (T) y la progesterona (P), durante su metabolismo, dan origen en el organismo a diversos metabolitos cuya composición química es muy parecida (Fig. 2), pero que tienen propiedades biológicas que pueden llegar a ser diferentes.

Las moléculas de T y P son modificadas por enzimas, principalmente oxido-reductasas. La acción enzimática en el carbono 5 origina los isómeros 5 α y

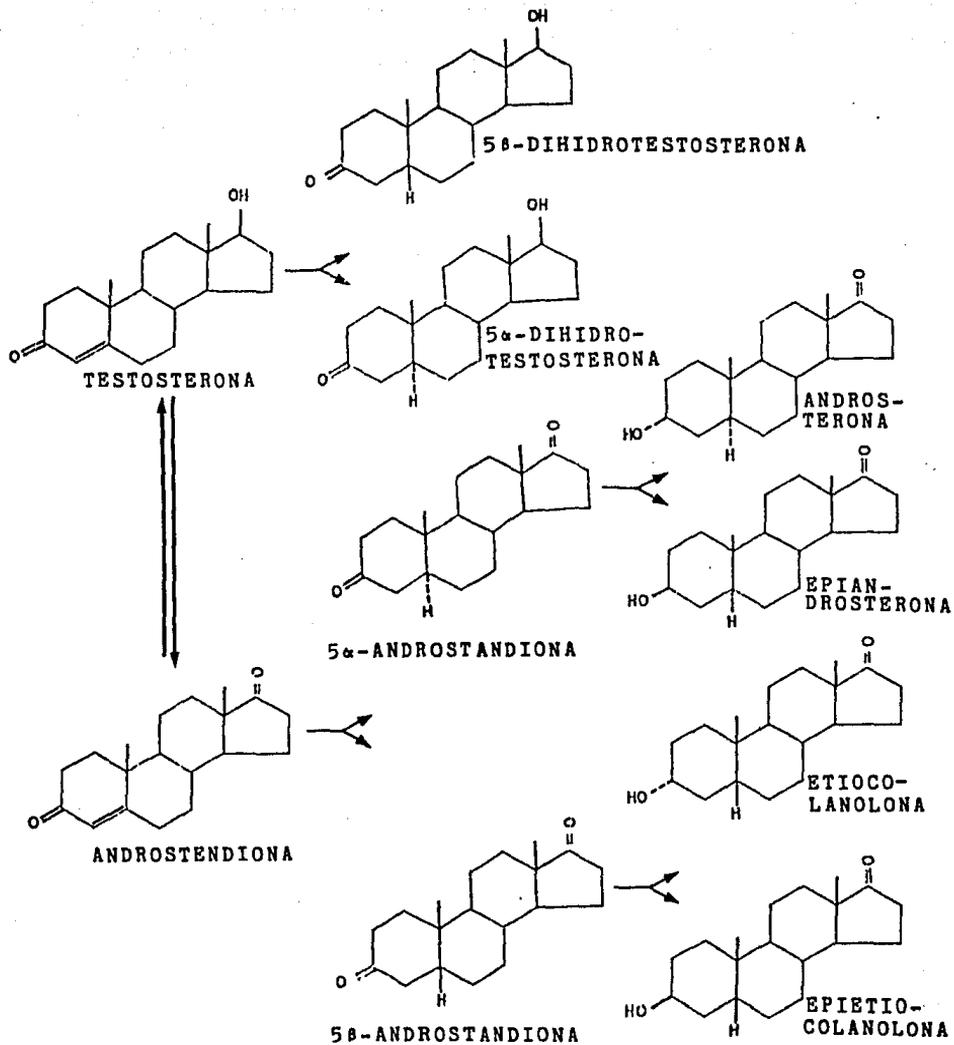


Fig. 2. Principales vías de conversión metabólica de la testosterona hacia metabolitos 5α y 5β reducidos. (Modificada de Briggs y Brotherton, 1970).

5 β reducidos (trans y cis). Asimismo se producen hidroxilaciones en los carbonos 3, 17 y 20 que toman configuraciones α y β . Existe además otra posibilidad con la unión de un grupo cetona en el carbono 3. De ésta manera se forman alrededor de 20 compuestos derivados directamente de las moléculas con doble ligadura en posición 4 (Dorfman y Ungar, 1965).

La testosterona se metaboliza en órganos periféricos como el hígado (Dorfman y Ungar, 1965), el sistema nervioso central (Whalen y Rezek, 1972) o bien en los órganos objetivos en donde ejerce directamente su acción. En la rata hembra parecen dominar básicamente vías metabólicas hacia la 5 α reducción. Por ejemplo, Hoffmann y cols. (1975) han encontrado que la actividad de las enzimas 17 β -3 α , 17 β -3 β hidroxisteroide-oxidoreductasa y la 5 α reductasa, están involucradas en el metabolismo *in vitro* de la testosterona. En este caso particular estos autores encontraron que la androsterona y el androstandiol son productos del metabolismo de la testosterona en el tejido uterino.

Por otra parte, Matsui y Kinuyama (1977) y Matsui y Hakozaiki (1977), estudiando el metabolismo hepático de la testosterona *in vivo*, determinaron la presencia de metabolitos 5 α reducidos como la androsterona y el

androstandiol. Asimismo Inaba y cols. (1978) encontraron que el ovario de ratas prepúberes produce andrógenos 5 α reducidos a partir de la progesterona, sin pasar por compuestos intermedios 4-en-3-ceto de 19 carbonos, como la testosterona y la androstendiona.

Sobre la formación de andrógenos 5 β reducidos hay muy pocas evidencias. Mancuso y cols. (1968), estudiando la unidad fetoplacentaria humana, encontraron que la testosterona es producida por la placenta, secretada al feto y metabolizada por éste en el hígado a andrógenos 5 β reducidos, mientras que en otros tejidos fetales estudiados la conversión es hacia metabolitos 5 α reducidos.

Con respecto a la progesterona es bien conocida la capacidad del tejido uterino de la rata para metabolizar esta hormona (Wiest, 1963; Wichmann, 1967; Armstrong y King 1971; Saffran y cols., 1974; Egert y cols., 1975). En todos estos estudios la 20 α -hidroxi-4-pregnen-20-ona y compuestos 5 α -reducidos fueron los más comunes (alopregnanolona y 3 α -hidroxi-5 α -pregnan-20-ona). Estos hallazgos han sido confirmados por estudios del metabolismo de la P hechos a nivel subcelular (Wichmann, 1967; Saffran y cols., 1974). De los metabolitos reducidos en posición 5 (Fig. 3), la 5 α -pregnandiona parece ser el compuesto

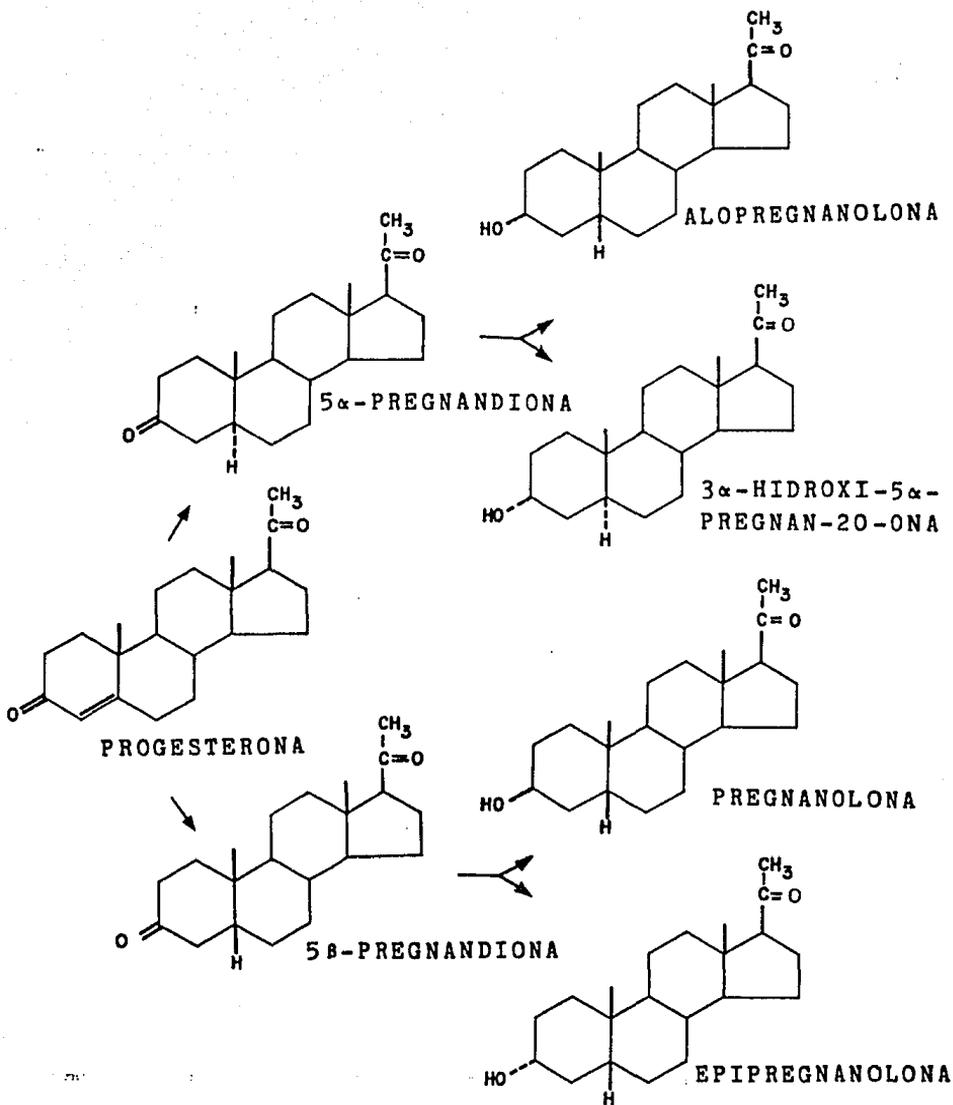


Fig. 3. Vías metabólicas de la progesterona hacia la conversión de metabolitos 5α y 5β reducidos. (Modificada de Briggs y Brotherton, 1970),

más abundante en el tejido uterino.

La reducción de la P en posición 5 β es una vía metabólica en el humano, ya que compuestos como la 5 β -pregnandiona se producen en el endometrio (Bryson y Sweat, 1967). Es también conocido que durante el embarazo se excreta pregnandiól (5 β -pregnan-3 α -20 α -diól) en la orina. Este compuesto es un metabolito de la P, derivado directamente de la epipregnanolona (Arcos y cols., 1964). Más aún, se han encontrado epipregnanolona y pregnandiól en el plasma de la mujer embarazada (Sjovall y cols., 1968). En humanos también se han identificado otros pregnandioles así como pregnantrioles en hígado, riñón y orina (Ungar y cols., 1951; Dorfman, 1954; Klopper, 1962).

La formación de andrógenos por la hembra ha sido enfatizada por Dorfman y Shipley (1956) quienes dejaron claramente establecidos los patrones de producción y secreción de dichos compuestos.

La producción de andrógenos de origen ovárico fué reportada por Zander (1958), quien encontró en el cuerpo lúteo, además de estrógenos y progesterona, compuestos como la 17 α -hidroxi-progesterona y la androstendiona, esteroides necesarios en la vía biosintética de andrógenos y estrógenos.

Recientemente, Johnson (1978) mostró que la secreción ovárica de andrógenos tiene cambios definidos que corren paralelos al ciclo estral y es dependiente de la secreción de gonadotrofinas, las cuales aumentan y activan las enzimas ováricas relacionadas con la producción de andrógenos.

La testosterona y algunos de sus metabolitos tienen funciones tales como estimular la espermatogénesis, inhibir la secreción de la hormona luteinizante, estimular el crecimiento de la próstata, del clítoris y de ciertos músculos, participan en la diferenciación sexual, aumentan la libido, promueven la síntesis protéica y la producción de feromonas (Mainwaring, 1979). La testosterona también influye sobre la actividad espontánea del útero (Robson, 1937; Barnafi y Croxatto, 1963).

La testosterona sigue cuando menos tres vías metabólicas diferentes: una hacia estrógenos, otra hacia compuestos 5 α reducidos y una más hacia derivados 5 β reducidos (Dorfman y Ungar, 1965; Briggs y Brotherton, 1970). Así, los cambios metabólicos de la testosterona en los tejidos, a través de la reducción en posición 5, la hidroxilación en posición 3 y la oxidación en el carbono 17, dan origen a múltiples metabolitos con actividad biológica, aunque

muchos de ellos habían sido considerados como inertes (Selye, 1948).

El hallazgo de que la T produce un efecto relajante sobre el músculo uterino (Robson, 1937) fué confirmado por Stucki y Glenn en 1961. En la rata se ha observado una disminución de la actividad contráctil del útero provocada por la testosterona aún bajo la influencia excitadora de la oxitocina (Barnafi y Croxatto, 1963). Más aún, otros andrógenos como la dehidroepiandrosterona y la androsterona también deprimen la actividad contráctil del útero aislado de la rata (Ishida y cols., 1972).

El efecto relajante de la progesterona sobre la actividad contráctil del miometrio fué mostrada *in vitro* por Klein y Klein (1933) y Robson (1938), quienes observaron un efecto relajante de la P sobre la respuesta excitadora de la oxitocina en dicho músculo. Posteriormente, con la técnica de la fístula uterina y a través de un balón, Reynolds y Allen (1932) mostraron que extractos de cuerpos lúteos que contenían progesterona relajaban *in vivo* la actividad uterina de la coneja. Estos estudios fueron corroborados por Csapo y Corner (1952) lo cual dió como resultado el concepto clínico de "bloqueo por progesterona" (Csapo, 1956, 1963). Con el método de

registro intrauterino en la coneja quedó establecido el efecto inhibitor de la progesterona sobre las contracciones uterinas (Csapo, Takeda y Wood, 1963; Csapo y Takeda, 1965). Sin embargo poco interés ha sido mostrado hacia el efecto de sus metabolitos. El trabajo de Stucki y Gleen (1961) mostró un efecto relajante de la pregnandiona y la pregnanolona sobre la actividad mecánica del músculo uterino estimulado eléctricamente.

El mecanismo por el cual las hormonas ováricas deprimen la actividad contráctil del miometrio se desconoce. Sin embargo, se ha postulado que en el mecanismo de acción se encuentran involucrados algunos iones. Así, Reynolds (1933) mostró que las sales de calcio incrementan las contracciones uterinas en la coneja. Además se ha reportado que la P modifica los flujos de potasio en las células miometriales (Wagatsuma y cols., 1967) y se ha sugerido, por datos indirectos, que el calcio estabiliza la membrana por la acción de los esteroides. Por otra parte, es posible que los esteroides ejerzan su efecto relajante a través de un mecanismo de acción común, bloqueando el paso de Ca^{2+} por los canales membranales.

Dados los antecedentes mencionados se plantea la siguiente hipótesis de trabajo: se postula que el

músculo uterino está influenciado y controlado en gran medida por la testosterona y sus metabolitos, así como por la progesterona y sus metabolitos y que la estructura química de los compuestos estudiados guarda una relación estrecha con la actividad biológica. Esta hipótesis se pretende corroborar cubriendo los siguientes objetivos:

1.- Comparar la potencia relajante de la testosterona y la progesterona con sus respectivos metabolitos 5 α y 5 β reducidos sobre la contractilidad basal in vitro del útero de la rata.

2.- Estudiar la relación entre la estructura química de los metabolitos 5 α y 5 β reducidos de la testosterona y la progesterona y su actividad útero-relajante.

3.- Postular un posible mecanismo de acción de estos esteroides sobre el músculo uterino y sus acciones fisiológicas.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron ratas hembras vírgenes, albinas adultas de la cepa Sprague Dawley de noventa días de edad, con un peso entre 180 y 200 gramos. En un cuarto especial, los animales fueron mantenidos en cajas de poliuretano en grupos de cinco. La temperatura ambiente fué regulada entre 21 y 22°C y con periodos de 14 horas de luz (5 a 19 horas) y 10 de obscuridad. El alimento consistió en comida especial para roedores marca Purina y agua filtrada para beber ad libitum.

Después de un período de adaptación de dos semanas, se determinó el ciclo estral a todos los animales. Se tomaron frotis vaginales diariamente con solución salina al 0.9%. Las muestras fueron colocadas en portaobjetos numerados y observados en un microscopio de contraste de fases. En base a las características histológicas del frotis, se hizo la clasificación de la fase del ciclo estral de acuerdo con el método descrito por Long y Evans (1922). Solo se utilizaron ratas que tuvieran ciclos normales. Todos los experimentos fueron hechos en la fase de diestro.

Bajo anestesia superficial con eter se sacrificaron los animales por decapitación y se

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron ratas hembras vírgenes, albinas adultas de la cepa Sprague Dawley de noventa días de edad, con un peso entre 180 y 200 gramos. En un cuarto especial, los animales fueron mantenidos en cajas de poliuretano en grupos de cinco. La temperatura ambiente fué regulada entre 21 y 22°C y con períodos de 14 horas de luz (5 a 19 horas) y 10 de obscuridad. El alimento consistió en comida especial para roedores marca Purina y agua filtrada para beber ad libitum.

Después de un período de adaptación de dos semanas, se determinó el ciclo estral a todos los animales. Se tomaron frotis vaginales diariamente con solución salina al 0.9%. Las muestras fueron colocadas en portaobjetos numerados y observados en un microscopio de contraste de fases. En base a las características histológicas del frotis, se hizo la clasificación de la fase del ciclo estral de acuerdo con el método descrito por Long y Evans (1922). Solo se utilizaron ratas que tuvieran ciclos normales. Todos los experimentos fueron hechos en la fase de diestro.

Bajo anestesia superficial con eter se sacrificaron los animales por decapitación y se

extrajeran ambos cuernos uterinos, colocándolos en una caja de Petri con solución de tris buffer (vide infra) a temperatura ambiente (20°C durante 20 min.). Los úteros se separaron y dividieron en anillos de aproximadamente un centímetro de largo.

Los tejidos fueron atados con un hilo en cada extremo y colocados en camisas de jeringas de vidrio de 10 ml las cuales se colocaron en cámaras de vidrio de pared doble por las que circula agua a 37°C. El hilo que emerge de la boca de la jeringa se amarró a un transductor Grass FT .03 el cual transmite la señal eléctrica al polígrafo. Por otro lado el hilo que sale del pivote de la jeringa se amarró de tal manera que tejido queda suspendido a la mitad de la cámara. Los transductores se conectan directamente a un polígrafo Grass Modelo 7B de 8 canales.

Una vez que los tejidos se colocaron en las cámaras, se agregaron 5 ml de tris buffer que contiene: NaCl 115 mM, KCl 4.7 mM, CaCl₂ 1.5 mM, MgSO₄ 1 mM, glucosa 50 mM, tris (hidroximetil) aminometano 50 mM y tiene un pH de 7.4. A lo largo del experimento (3 horas) el tejido se burbujeó con carbógeno (98% O₂ y 2% CO₂).

Antes de iniciarse cualquier maniobra experimental se esperó un lapso de 15 minutos para la

estabilización de la contractilidad del tejido, y después se inició el proceso de calibración: se aplicó una carga de 1 gr por 2 cms de desplazamiento de la pajilla del polígrafo y se hizo una "escalera" con un incremento de pesos de 1 gramo. De esta manera se obtuvo una curva de tensión respuesta, que nos permitió conocer la tensión en gramos desarrollada por el músculo. La calibración del amplificador fué de 1 milivolt por cm. Una vez calibrado el sistema se esperó una segunda estabilización de la contractilidad por 30 minutos, después de lo cual se inició el experimento. En los experimentos con calcio y esteroides la adquisición y procesamiento de los datos se hizo por medio de una microcomputadora utilizando la técnica de conversión analógica digital y un conjunto de programas en lenguaje BASIC (Fig. 4).

Los esteroides utilizados, que se obtuvieron de Sigma Chemical y Steraloids USA, fueron los siguientes (12) andrógenos: 17 β -hidroxi-4-androsten-3-ona (testosterona), 3 β -hidroxi-5-androsten-17-ona (dehidroepiandrosterona, DHEA), 4-androsten-3,17-diona (androstendiona), 17 β -hidroxi-5 α -androstan-3-ona (5 α -dihidrotestosterona, 5 α -DHT), 5 α -androstan-3,17-diona (5 α -androstandiona), 3 α -hidroxi-5 α -androstan-17-ona (androsterona),

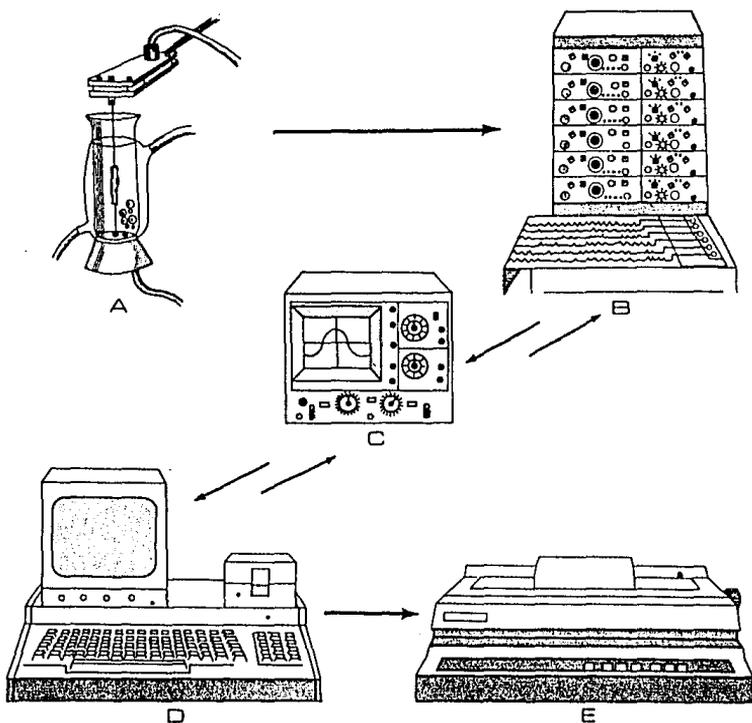


Fig. 4. Gráfica que presenta el sistema de registro y procesamiento de datos de las contracciones uterinas in vitro. A) Preparación biológica y transductor, B) polígrafo, C) Osciloscopio, D) Microcomputadora y E) Impresor. Las flechas indican el sentido del flujo de la información.

5 α -androstan-3 α -17 β -diol (androstandiol), 3 β -hidroxi-5 α -androstan-17-ona (epiandrosterona), 5 α -androstan-3 β -17 β -diol, 5 β -androstan-3,17-diona (5 β -androstandiona), 3 α -hidroxi-5 β -androstan-17-ona (etiocolanolona), 17 β -hidroxi-5 β -androstan-3-ona (5 β -dihidrotosterona, 5 β -DHT) y 3 β -hidroxi-5 β -androstan-17-ona (epietiocolanolona). Las progestinas utilizadas (10) fueron las siguientes: 4-pregnen-3,20-diona (progesterona, P), 20 α -hidroxi-4-pregnen-3,20-diona (20 α -hidroxi-pregnenona, 20 α -OH-P), 5 α -pregnan-3,20-diona (5 α -pregnandiona), 3 α -hidroxi-5 α -pregnan-20-ona, 3 β -hidroxi-5 α -pregnan-20-ona (alopregnanolona), 5 α -pregnan-3 β ,20 β -diol, 5 β -pregnan-3,20-diona (5 β -pregnandiona), 3 α -hidroxi-5 β -pregnan-20-ona (epipregnanolona), 3 β -hidroxi-5 β -pregnan-20-ona (pregnanolona) y 5 β -pregnan-3 α ,20 β -diol.

Con los esteroides mencionados se hicieron dos tipos de experimentos, de acuerdo al siguiente esquema:

- 1.- Curvas dosis-respuesta.
- 2.- Interacción entre las dosis efectivas 50 (DE₅₀) de los compuestos más potentes y concentraciones altas de calcio iónico (3 mM).

En los experimentos de curva dosis-respuesta,

los compuestos fueron aplicados en dosis crecientes, administrándose un sólo esteroide por experimento. Cada dosis fué administrada en propilen glicol como solvente y ajustada a un volumen de 0.05 ml. Después de un registro de 10 minutos y de un control con propilen glicol se registró el efecto de cada dosis de esteroide también durante 10 minutos. Antes de aplicar cada nueva dosis el tejido fué lavado 3 veces con tris buffer a 37.5°C, después de lo cual se dejó recuperar el tejido hasta que las contracciones alcanzaran su nivel basal.

En los experimentos con Ca^{2+} , se aplicaron ED_{50} de los compuestos más potentes y se agregó Ca^{2+} (3 mM) para revertir el efecto relajante del esteroide. Asimismo se observó el efecto de las DE_{50} sobre el músculo expuesto previamente a una concentración 3 mM de Ca^{2+} .

De los registros obtenidos de los experimentos de curvas dosis-respuesta se obtuvieron fotocopias para pesar las áreas bajo la curva y sacar los promedios de los efectos para cada dosis.

Los datos así obtenidos se procesaron por el método de Litchfield y Wilcoxon (1949). Por medio de este método se obtienen las dosis efectivas 14, 50 y 84 graficando los porcentajes de efecto en un papel

logaritmo-probabilidad. Se pueden obtener también los límites de confianza, las pendientes y la contribución a la X^2 . Aunque el método original usa nomogramas para los cálculos, en nuestro laboratorio desarrollamos un programa en BASIC para analizar los datos con una microcomputadora (Kubli Garfias y cols., 1979a). Para cada compuesto fueron calculadas las DE_{50} y sus límites de confianza (0.05), la pendiente de la curva y sus límites de confianza así como su potencia farmacológica.

En los experimentos con Ca^{2+} se calcularon los porcentajes de inhibición antes y después de la adición del ión.

RESULTADOS

Efecto de los andrógenos

La administración in vitro de la testosterona y algunos de sus más importantes metabolitos 5α y 5β reducidos produjeron una clara inhibición de la actividad espontánea del miometrio de la rata, lo que se manifestó por una disminución de la amplitud y la frecuencia de las contracciones uterinas (Fig. 5).

Los compuestos con estructura 3α -hidroxi- 5α ,

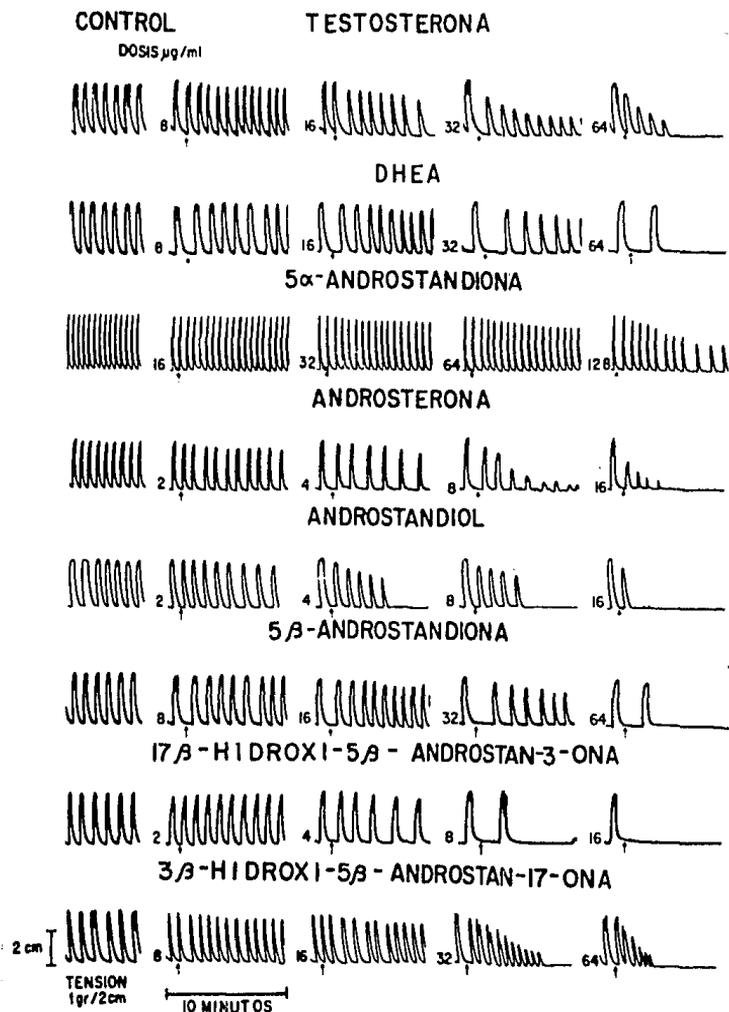


Fig. 5. Registros que muestran el efecto inhibitorio in vitro sobre la actividad espontánea del útero producido por algunos andrógenos. Los números a la izquierda de cada registro indican la dosis empleada. Las flechas indican el momento de administración del esteroide. (Tomada de Kubli-Garfias y cols., 1980).

T A B L A 1

EFFECTO INHIBITORIO DE LOS ANDROGENOS SOBRE LA CONTRACTILIDAD UTERINA

Dosis µg/ml	Testos- terona	DHEA	5α-DHT	Androste- rona	5α-andros- tan-3α, 17β-diol	5α-andros- tan-3β, 17β-diol	5β-andros- tandiona	Etiocola- nolona	Epi-etio- lanolona	5β-DHT *
2	-	-	-	71.5±11.3	78.8±14.2	-	-	-	-	79.5±10.4
4	-	-	-	44.2±14.8	57.1±12.3	-	-	98.3±17.4	91.9±14.5	60.9±14.8
8	84.1±14.8	88.3±10.0	78.3±15.0	31.0±9.3	47.9±11.9	-	66.4±14.1	87.9±13.2	71.1±15.3	46.5±13.9
10	-	-	-	-	-	74.4±11.1	-	-	-	-
16	64.0±12.5	55.9±8.7	56.0±8.7	24.3±6.7	38.9±9.7	-	60.4±15.2	68.0±14.9	42.7±12.0	31.1±10.3
20	-	-	-	-	-	68.5±13.2	-	-	-	-
32	33.1±6.9	59.3±14.9	51.0±12.5	-	-	-	45.5±11.7	36.1±10.4	37.5±11.1	-
40	-	-	-	-	-	64.0±11.9	-	-	-	-
64	28.4±6.8	43.2±9.6	43.8±9.7	-	-	-	27.3±9.4	-	-	-
80	-	-	-	-	-	59.7±12.9	-	-	-	-

* Los valores de la androstendiona, la 5α-androstandiona y la epi-androsterona no se muestran debido a que su efecto fué muy bajo o nulo.

** Los valores (promedios y desviaciones estándar) representan porcentajes con respecto al control (100%). Los promedios fueron obtenidos de por lo menos seis experimentos.

TABLA 2

POTENCIA INHIBITORIA DE LOS ANDROGENOS SOBRE LA
CONTRACTILIDAD UTERINA DE LA RATA

COMPUESTO	DE ₅₀ *	LIMITES	PENDIENTE	POTENCIA
Testosterona	24.5	16.1-32.7	2.7	1.00
DHEA	31.0	12.4-76.9	3.4	0.79
Androstendiona	100.0**			
5 α -androstandiona	250.0**			
5 α -DHT	25.0	9.6-64.8	6.6	0.98
Androsterona	4.3	2.1-8.8	4.5	5.69
Androstandiol	8.2	2.5-26.6	8.4	2.93
Epi-androsterona	25.0	12.9-48.2	3.2	0.98
5 β -androstandiona	21.5	8.6-51.8	4.5	1.14
5 β -DHT	7.4	3.7-14.5	4.3	3.32
Etiocolanolona	29.0	15.3-54.8	2.2	0.84
Epi-etiolanolona	17.8	8.7-36.5	3.3	1.40

* Dosis efectiva 50

** Valores teóricos.

Valores obtenidos a través del método de Litchfield y Wilcoxon. Los andrógenos utilizados fueron comparados con la testosterona por medio de la fórmula DE₅₀/DE₅₀. (Tomada de Kubli-Garfias y cols., 1980).

tales como la androsterona y el androstandiol, produjeron un marcado efecto relajante a dosis relativamente bajas. Lo mismo aconteció con la 5 β -dihidrotestosterona que fué el único andrógeno 5 β -reducido con un efecto importante. Se necesitaron dosis mayores de testosterona, dehidroepiandrosterona y algunos compuestos 5 β -reducidos (5 β -androstandiona, etiocolanolona y epi-etiolanolona) para obtener una inhibición (Tabla 1). Por otra parte, la androstendiona, 5 α -androstandiona, 5 α -dihidrotestosterona y la epi-androsterona fueron casi ineficaces para producir el efecto. El análisis de las potencias relativas demostró que la androsterona y el androstandiol son los compuestos más eficaces (Tabla 2).

Efecto de las progestinas.

El análisis de los datos demostró que las progestinas 5 β -reducidas, tales como la pregnandiona, la pregnanolona y la epipregnanolona son más efectivas que la progesterona para producir un efecto inhibitorio (Fig. 6). Sin embargo, los compuestos 5 α -reducidos, como la alopregnanandiona, son casi ineficaces y solo la 3 α -hidroxi-5 α -pregnan-20-ona es

PROGESTERONA

DOSIS $\mu\text{g/ml}$



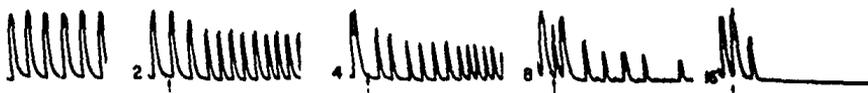
20 α -HIDROXI PREGNENONA



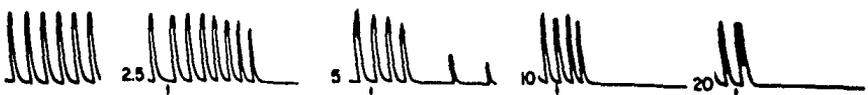
3 β -HIDROXI-5 β -PREGNAN-20-ONA



5 β -PREGNAN-3,20-DIONA



3 α -HIDROXI-5 β -PREGNAN-20-ONA



3 α -HIDROXI-5 α -PREGNAN-20-ONA



5 α -PREGNAN-3,20-DIONA



TENSION
1 gr/2 cm

10 MINUTOS

Fig. 6. Registros que muestran el efecto inhibitorio in vitro sobre la actividad espontánea del útero producido por algunas progestinas. Los números a la izquierda de cada registro indican la dosis empleada. Las flechas indican el momento de la administración del esteroide. (Tomada de Kubli-Garfias y cols., 1979).

T A B L A 3

EPECIO INHIBITORIO DE LAS PROGESTINAS SOBRE LA CONTRACTILIDAD UTERINA

Dosis µg/ml	Progesterona	20α-OH-P	Alopregnan- diona	3β-hidroxi- 5β-pregnan- 20-ona	Alopregna- nolona	Pregnan- diona	Epipregna- nolona	Pregnano- lona
1.0	*	-	-	-	-	-	-	87.6±9.3
2.0	-	-	-	-	-	66.8±16.7	-	58.4±7.4
2.5	-	-	-	-	-	-	69.1±12.4	-
3.0	-	-	-	93.8±14.2	-	-	-	-
4.0	92.7±15.6	87.3±7.4	-	-	-	45.9±10.1	-	36.7±6.3
5.0	-	-	-	-	-	-	45.2±9.6	-
6.0	-	-	-	55.8±15.4	-	-	-	-
8.0	46.9±15.7	67.1±7.7	-	-	-	24.8±6.9	-	22.4±5.5
10.0	-	-	84.6±11.5	-	-	-	30.8±6.2	-
12.0	-	-	-	50.9±10.4	-	-	-	-
16.0	33.2±14.7	46.7±16.2	-	-	-	11.5±7.4	-	-
20.0	-	-	70.2±6.4	-	97.8±14.4	-	22.4±7.3	-
24.0	-	-	-	40.8±9.7	-	-	-	-
32.0	17.4±7.8	39.0±17.2	-	-	-	-	-	-
40.0	-	-	69.9±7.9	-	94.7±22.4	-	-	-
80.0	-	-	60.2±10.3	-	84.9±21.3	-	-	-
160.0	-	-	-	-	72.9±17.2	-	-	-

* Los valores (promedios y desviación estándar) representan porcentajes con respecto al control (100%). Los promedios fueron obtenidos de por lo menos 6 experimentos. (Tomada de Kubli-Garfias y cols. 1979).

TABLA 4

POTENCIA INHIBITORIA DE LAS PROGESTINAS SOBRE LA
CONTRACTILIDAD UTERINA DE LA RATA

COMPUESTO	DE ₅₀ *	LIMITES	PENDIENTE	POTENCIA
Progesterona	8.0	3.8-16.6	5.3	1.00
20 α -OHP	16.0	4.9-52.1	4.3	0.50
Alopregnandiona	200.0**			
5 α -androstandiona	250.0**			
3 α -hidroxi-5 α - pregnan-20-ona	10.5	3.5-31.1	5.7	0.76
Alopregnanolona	400.0**			
Pregnanolona	2.3	1.3-3.4	3.4	3.47
Pregnandiona	3.8	2.3-6.3	3.6	2.10
Epi-pregnanolona	5.2	2.1-13.0	3.7	1.53

* Dosis Efectiva 50

** Valores teóricos.

Valores obtenidos a través del método de Litchfield y Wilcoxon. Las progestinas utilizadas fueron comparadas con la progesterona por medio de la fórmula DE_{50}/DE_{50} . (Tomada de Kubli-Garfias y cols., 1979).

similar en su efecto a la progesterona (Tabla 3). Es de hacer notar que la 20α -hidroxil-pregnenona (el metabolito más importante de la P) solo tuvo la mitad de la potencia de su precursor (Tabla 4).

Efectos de la Interacción Esteroide- Ca^{2+} .

En los experimentos con Ca^{2+} se observó un antagonismo calcio-esteroide y esteroide-calcio en úteros in vitro y tratados con los siguientes esquemas: a) Ca^{2+} 3mM, DE_{50} de esteroide y b) DE_{50} de esteroide, Ca^{2+} 3mM (Figs. 7 y 8).

Solo fueron utilizados en este experimento los esteroides con probada acción inhibidora.

En el primer esquema experimental se observó que el efecto relajante de los esteroides fué revertido por la administración de calcio, observándose no solo la recuperación en la intensidad de las contracciones sino también un incremento en la frecuencia de las contracciones. En el esquema experimental número dos se observó que el Ca^{2+} incrementa la amplitud de las contracciones y en ocasiones aumenta también la frecuencia. En estas condiciones se observó el efecto de los esteroides sobre las contracciones los cuales antagonizaron el

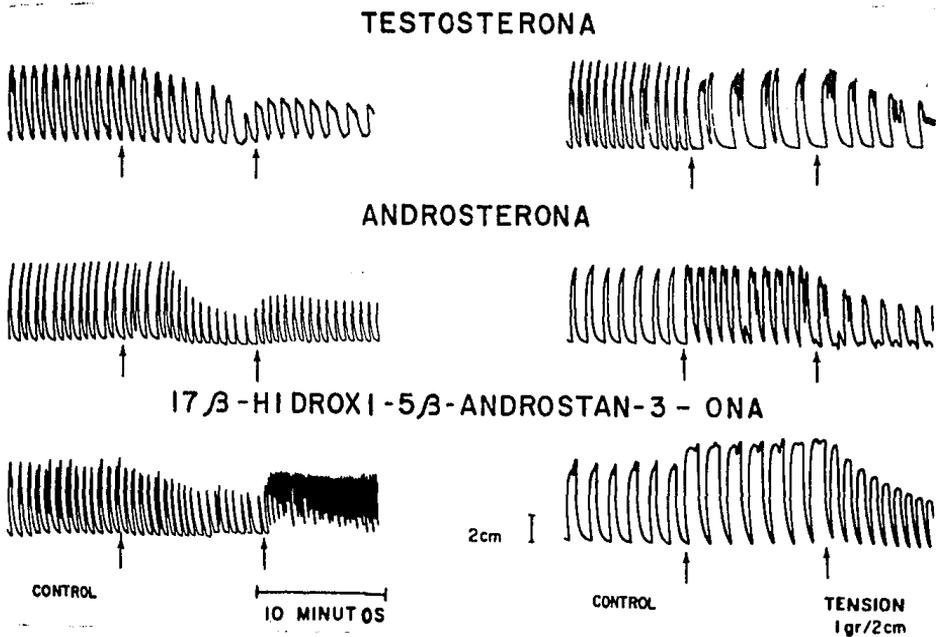


Fig. 7. Respuesta del tejido uterino a la acción de los andrógenos y su antagonismo por el calcio. Note el efecto del calcio sobre la inhibición producida por los andrógenos. Asimismo nótese el efecto menor del esteroide en el tejido estimulado previamente por el calcio.

PROGESTERONA

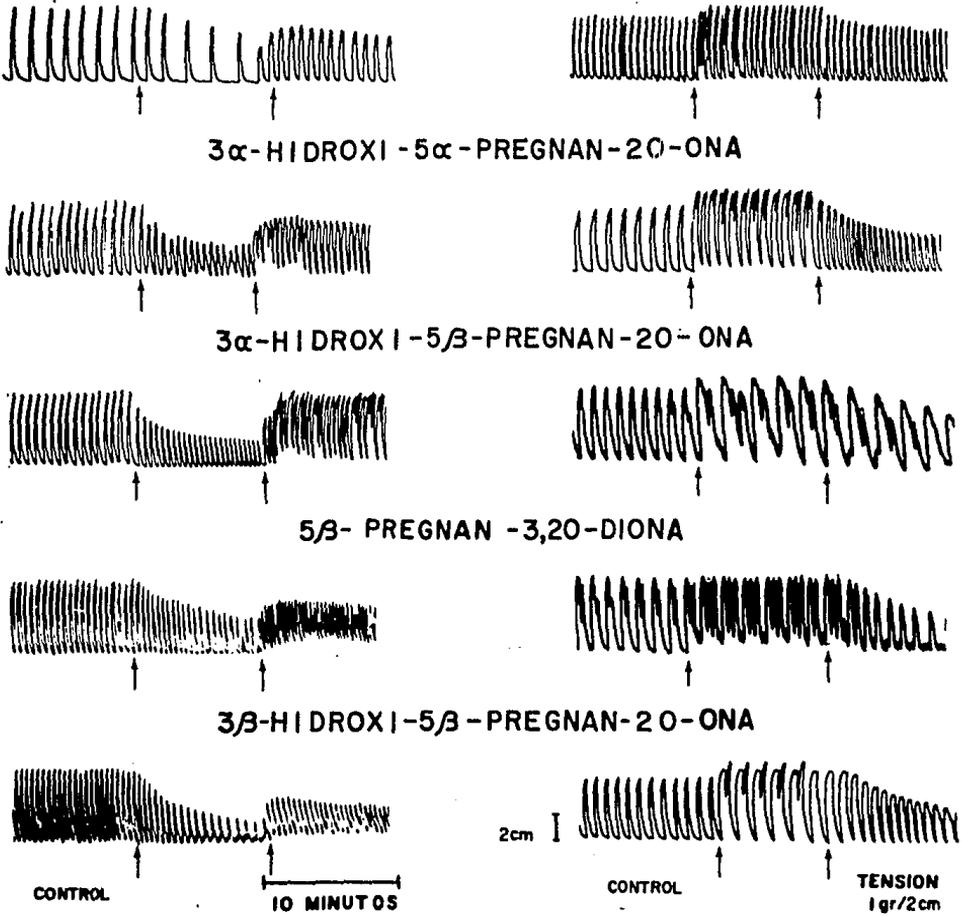


Fig. 8. Respuesta del tejido uterino a la acción de las progestinas y su antagonismo por el calcio. Note el efecto del calcio sobre la inhibición producida por las progestinas. Asimismo nótese el efecto menor del esteroide en el tejido estimulado previamente por el calcio.

efecto del calcio, produciendo una relajación marcada en el tejido.

En el caso de la pregnanolona (el esteroide más potente) el efecto del calcio fué poco importante a pesar de que la concentración de esteroide es la menor.

DISCUSION

El hecho de que la reducción del anillo A de la T y la P aumente la potencia depresora sobre la actividad uterina hace posible examinar los características estructurales que contribuyen a la actividad.

El análisis de correlación entre la estructura del esteroide con el efecto relajante producido, muestra que los andrógenos 5α -reducidos producen relajación uterina solo si poseen la configuración 3α -hidroxi- 5α en el anillo A, e.g. androsterona y androstandiol. Es interesante subrayar que importantes derivados 5α de la T, como la 5α -androstándiona y la 5α -DHT, son poco efectivos. Por otra parte, la reducción 5β generalmente produce un efecto relajante importante, como es el caso de la 5β -DHT, la epi-eticolanolona y la 5β -androstándiona.

La comparación entre la potencia de los andrógenos y las progestinas que poseen similar configuración del anillo A, revela que compuestos que tienen el sistema 4-en-3-ona, como la testosterona, la androstendiona, la progesterona y la 20 α -hidroxi-4-pregnen-3-ona, son relajantes débiles. La dehidroepiandrosterona que tiene una doble ligadura en la posición 5, también es un depresor uterino débil.

Si la conformación del anillo A es trans (5 α) con un grupo 3-ceto, como en la 5 α -androstandiona, al 5 α -DHT y la 5 α -pregnan-3,20-diona, el efecto relajante desaparece casi por completo. Asimismo, si existe un grupo 3 β -hidroxilo ocurre un importante descenso en la potencia, como en el caso de la epiandrosterona, el 5 α -androstan-3 β -17 β -diol y la alopregnanolona (3 β -hidroxi-5 α -pregnan-20-ona). Sin embargo, un radical 3 α -hidroxi produce un incremento marcado en la potencia, por ejemplo la androsterona, el androstandiol y la 3 α -hidroxi-5 α -pregnan-20-ona.

Generalmente las progestinas son relajantes más potentes que los andrógenos, siendo esto más evidente cuando se comparan compuestos 5 β . Así, la epi-pregnanolona (3 α -hidroxi-5 β -pregnan-20-ona) es varias veces más potente que la etiocolanolona. De

igual manera la 3 β -hidroxi-5 β -pregnan-20-ona (pregnanolona) es mejor que la epi-etiocolanolona y la 5 β -pregnan-3,20-diona es más potente que la 5 β -androstandiona o la 5 β -dihidrotestosterona. Esta notable diferencia en cuanto a la capacidad depresora entre compuestos que tienen la misma estructura en el anillo A, parece depender de la cadena lateral del C-17. Además, para que la potencia sea importante debe haber en el C-20 un grupo cetónico, como lo demuestra la falta de potencia de la 20 α -hidroxi-4-pregnen-3-ona y el 5 β -pregnan-3 α -20 β -diol (Kubli-Garfias y cols., 1979b).

La diferencia de potencia entre los compuestos con y sin cadena lateral en el carbono 17 concuerda con la hipótesis propuesta por Willmer (1961), quien enfatizó la importancia de los grupos de los carbonos 3 y 17 para la acción fisiológica de los esteroides. Sin embargo, de acuerdo con los resultados expuestos, es factible postular que la conformación del anillo A es importante para la acción biológica, ya que los esteroides con la conformación trans A/B son relajantes más débiles que los compuestos con la conformación cis A/B. Este incremento en la potencia puede deberse a la posición angular del anillo A, resultado de la fusión cis de los anillos A/B. Este

Este cambio probablemente permite al anillo A interactuar con la membrana celular de una manera más versátil que su epímero trans (Figs. 9, 10 y 11).

Estudiando los precursores de andrógenos, Emmens en 1941 postuló el concepto de "prohormona", definiéndola como una sustancia que ejerce su efecto biológico por su conversión a un compuesto más activo en un órgano distante.

La testosterona presenta características de prohormona en algunos órganos, como por ejemplo la próstata, donde su derivado, la 5 α -dihidrotestosterona, es el compuesto más activo. Baulieu (1970), quien retomó el concepto de prohormona, encontró que los metabolitos recuperados después de la inyección de testosterona a ratas castradas son más activos que su precursor, la T, en órganos sexuales secundarios del macho, como la próstata. Por otra parte, se ha visto que en la próstata, la 5 α dihidrotestosterona es más afín a receptores androgénicos que la testosterona, lo que ha confirmado que dicho compuesto es el andrógeno activo.

Sin embargo, el concepto de prohormona es deficiente, ya que no toma en cuenta la conversión de la hormona en el órgano blanco y además porque en él quedan incluidas algunas drogas.

I

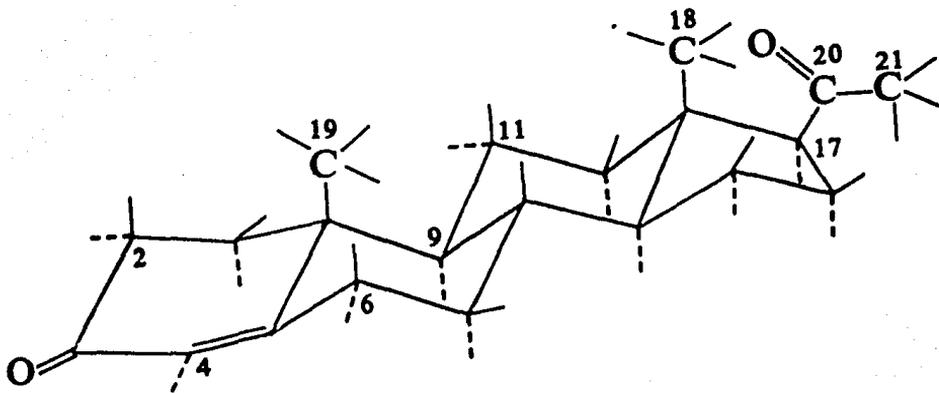


Fig. 9. Estructura estereoquímica de la progesterona. Nótese la conformación adoptada por el anillo A como consecuencia de la doble ligadura entre los carbonos 4 y 5. (Tomada de Briggs y Brotherton, 1970).

II

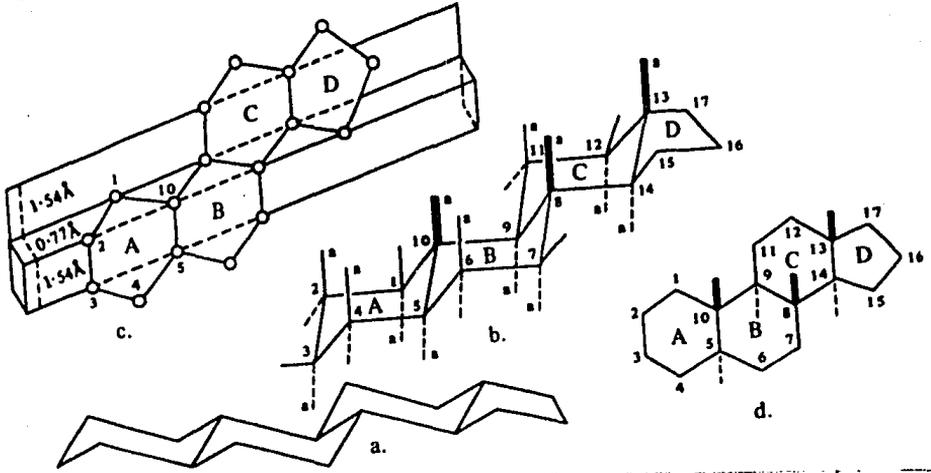


Fig. 10. Estructura estereoquímica de una molécula del 5α -androstano, también llamada "alo" por la unión trans de los anillos A y B. Nótese la conformación en silla de todos los anillos A B y C así como la planaridad de la molécula.

- a) Representa una vista lateral de los 4 anillos sin hidrógenos
 - b) Representa la misma vista con los hidrógenos en su posición natural
 - c) Muestra una figura tridimensional del esqueleto de los carbonos
 - d) Muestra la forma convencional de la estructura básica.
- (Tomada de Briggs y Brotherton, 1970).

III

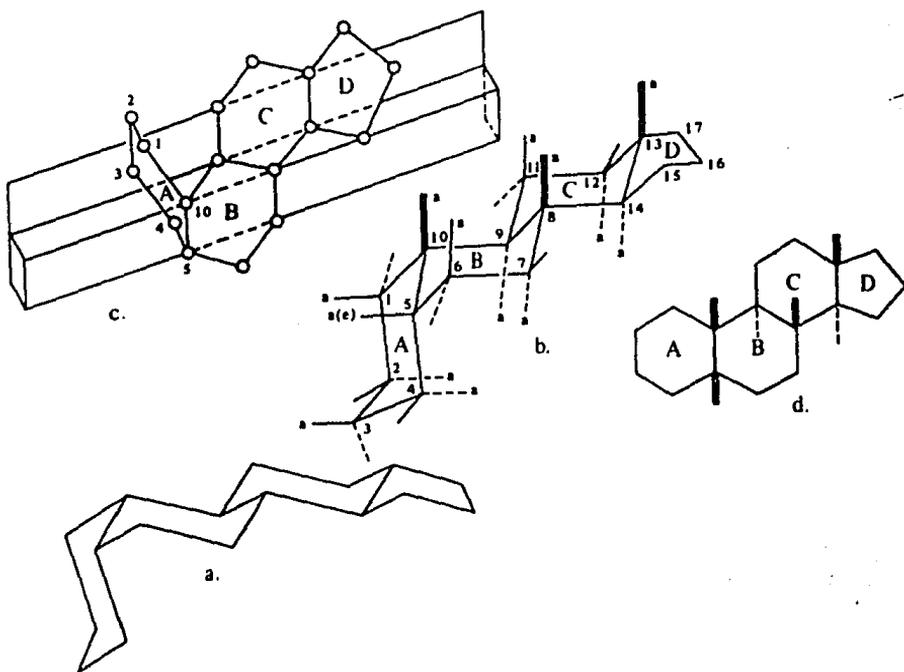


Fig. 11. Estructura estereoquímica de una molécula del 5 β -androstano. En este caso la unión de los anillos A y B es de tipo cis.

Nótese la conformación en silla de todos los anillos A B y C así como la la angulación del anillo A con respecto al resto de la molécula.

a) Representa una vista lateral de los 4 anillos sin hidrogenos. Obsérvese el marcado ángulo de la unión A/B

b) Representa la misma vista con los hidrógenos en su posición natural

c) Muestra una figura tridimensional del esqueleto de los carbonos

d) Muestra la forma convencional de la estructura básica (Tomado de Briggs y Brotherton, 1970).

Baird y colaboradores, en 1968, propusieron el concepto de "prehormona", que es más amplio y que se define como sigue: una prehormona es una substancia normalmente presente en el organismo y usualmente secretada por glándulas endócrinas, la cual tiene poca o ninguna potencia biológica por sí misma, pero que es convertida local ó periféricamente a compuestos más activos que contribuyen significativamente al efecto biológico total.

La T y la P son metabolizadas rápidamente en el organismo y dan origen a múltiples derivados, lo que abre la posibilidad de que ambos compuestos sean en realidad hormonas precursoras o prehormonas. Este postulado se refuerza por el hecho de que compuestos tales como la androsterona, el androstendiol y la 5 β -DHT, para el caso de andrógenos, y la pregnanolona, pregnandiona y la epi-pregnanolona, en el caso de las progestinas, producen un efecto relajante sobre la actividad uterina. A este respecto existen algunos ejemplos en los que los metabolitos son más eficaces que sus precursores. Así, la androsterona y el androstandiol son más eficaces que la T para deprimir la actividad eléctrica cerebral del gato (Kubli-Garfias y cols., enviado a publicación); lo mismo acontece con algunos derivados de la P como la

pregnandiona, pregnanolona y epi-pregnanolona (Kubli-Garfias y cols., 1976). Más aún, la inyección intravenosa de 20α -hidroxi-pregnenona en ratas ovariectomizadas y estrogenizadas es mejor que la P para producir el despliegue de conducta sexual en la rata (Kubli-Garfias y Whalen, 1977).

Con respecto al efecto de los metabolitos de la T y la P sobre la contractilidad uterina es evidente que se cumple el concepto de prohormona ya que los compuestos más activos (cf Tabla 2 y 4) son derivados directos de la T y la P.

Desde los trabajos de Karlson (1963) quedó establecido que las hormonas esteroides pueden actuar intracelularmente. En la actualidad se acepta que el mecanismo básico de acción de los esteroides en el útero es por su paso a través de la membrana, por un proceso de difusión pasiva dada la gran solubilidad de los esteroides en los lípidos. Una vez que la molécula entra en la célula, ésta es unida inmediatamente a una molécula del citoplasma y transportada hacia el núcleo, donde el complejo hormona-receptor provoca un cambio en la expresión genética, posiblemente a través de una interacción directa con la cromatina. Esta interacción da como resultado una síntesis de proteínas. En el estudio de la acción de los

andrógenos dentro de la célula uterina se ha mostrado que éstos compuestos inducen la producción de una proteína específica (Ruh y Ruh, 1975).

Los andrógenos son esteroides cuya afinidad de unión con el receptor específico y cuya potencia biológica es afectada importantemente por su conversión metabólica (Mainwaring, 1975). Así, se puede pensar que los receptores de los andrógenos en el útero representan un complemento biológico de la acción uterotrópica de la testosterona y sus derivados. Adicionalmente se sabe que los andrógenos se unen a los receptores de estrógenos de una manera competitiva (Rochefort y García, 1976), por lo que la acción uterotrópica de los andrógenos ha sido atribuida a la transferencia del complejo receptor de estrógenos-andrógeno del citosol al núcleo celular (Rochefort y cols., 1972; Schmidt y cols., 1976).

Un hallazgo importante es el hecho de que a pesar de que la 5 α -dihidrotestosterona tiene acciones intracelulares muy importantes, fué casi inefectiva para deprimir la actividad miométrial. Esto tal vez sea debido a que posiblemente existen varios sitios o formas de acción de las hormonas, ya que la acción puede ejercerse en la membrana citoplasmática y dentro de la célula. Al parecer, el efecto sobre la

musculatura uterina es membranal ya que básicamente la contracción y el sistema relajante del músculo uterino son procesos dependientes de los cambios excitables.

Las evidencias de que los esteroides con efecto "anestésico" pueden tener efecto sobre la membrana han sido aportadas por Seeman (1966), quien ha mostrado un efecto de estabilización membranal en el eritrocito con la presencia de androsterona, etiocolanolona y pregnanolona.

Al tratar de explicar el efecto bloqueador de la progesterona sobre el tejido uterino, Carsten (1974) estudió el transporte de calcio dependiente de ATP en microsomas de útero bovino en presencia del esteroide, y encontró que la P incrementa significativamente la captación de calcio.

El hecho de que el útero responda rápidamente a los cambios en la concentración de calcio extracelular, revela una posible dependencia de este órgano del calcio externo. Por otra parte, las características intrínsecas de la célula miometrial, es decir, gran espacio extracelular, tamaño celular pequeño y presencia de numerosas vesículas pinocíticas en la membrana plasmática, favorecen el fácil intercambio iónico entre la célula y el medio interno. Por lo anterior, resulta atractivo considerar a la

membrana plasmática como un sitio importante para la interacción esteroide-calcio.

La hipótesis de que los esteroides estudiados producen su efecto relajante actuando como bloqueadores del paso del Ca^{2+} extracelular, está basada en el hecho de que el acoplamiento excitación-contracción depende fundamentalmente del Ca^{2+} extracelular, ya que en experimentos con útero aislado no se ha podido mostrar una fuente de Ca^{2+} intracelular para la contracción (Daniel y cols., 1979). Adicionalmente, Evans y cols., (1958) mostraron que el útero despolarizado con K^+ es capaz de contraerse, respuesta que depende de la concentración de Ca^{2+} en el medio (Edman y Schild, 1963). La importancia del Ca^{2+} extracelular se ha puesto también de manifiesto en las observaciones de Marshall y Csapo (1961) del efecto de la oxitocina y los experimentos de Paton (1969) del efecto de la 5-hidroxitriptamina y la noradrenalina sobre la contracción uterina.

Asimismo, existen evidencias electrofisiológicas que han mostrado que en la excitación del músculo uterino existe una corriente de entrada que corresponde al ingreso de Ca^{2+} al interior de la célula (Anderson y cols., 1971; Mironneau y Lonfant, 1971; Vassort, 1975).

Sin embargo, para consolidar la hipótesis del mecanismo de acción de los esteroides, son necesarios experimentos en los que se cuantifiquen los cambios eléctricos producidos por estas hormonas útero-relajantes.

La importancia fisiológica del efecto relajante de la T y sus metabolitos sobre la contractilidad uterina, puede reforzarse por el hecho de que los niveles plasmáticos de la T están incrementados a la mitad del embarazo en el ratón (Barkley y Cols., 1977) y en el último tercio del mismo en la rata (Weizenbaum y cols., 1978). En la mujer la T aumenta solo durante el primer tercio del embarazo (Saez y Cols., 1972); sin embargo, en las últimas etapas de la gestación, la placenta produce T a partir de la dehidroepiandrosterona fetal. Parte de la T placentaria, al llegar al feto, es transformada posteriormente a derivados 5α y 5β reducidos (Lamb y cols., 1967). Estos metabolitos de origen fetal son entonces transferidos al tejido placentario (Mancuso y cols., 1968).

Por estudios realizados en el miometrio de la rata y la coneja embarazadas, Kuriyama y Csapo (1961) y Marshall (1962) apoyan la idea de que a lo largo del embarazo el útero está dominado por la progesterona.

Runnebaum y Zander (1971) han medido y localizado las concentraciones de P y 20 α -OHP en el miometrio humano durante la gestación y han encontrado que la concentración de ambas progestinas es mayor en al área de la placenta. Sin embargo a lo largo del embarazo la distribución se va haciendo homogénea.

A pesar de que la 20 α -OH-P es el metabolito más abundante de la P en el miometrio humano, éste solo tiene la mitad de la potencia de la P para deprimir las contracciones uterinas. Sin embargo, la reducción de la P a progestinas 5 β ha sido reportada en la mujer (Arcos y cols., 1964; Bryson y Sweat, 1967; Sjovall y cols., 1968), lo cual podría ser importante para el control uterino.

El incremento de sustancias conocidas que disminuyen el tono uterino enriquece las posibilidades de explicarse el control del útero, donde sustancias excitadoras e inhibidoras mantienen el tono como en un balancín (Csapo, 1977) y da nuevas perspectivas a la posible aplicación terapéutica de los metabolitos de la T y la P.

Sin embargo, es importante recalcar que a pesar de la importante relajación producida por las progestinas in vitro, no necesariamente debe suceder esto in vivo, ya que ha sido mostrado que sustancias

que tienen un efecto *in vitro* no lo producen *in vivo*. La acción de la progesterona misma ha sido debatida en su acción *in vivo* (Saldívar y Melton, 1966). Esto puede ser debido a que numerosos factores diferencian ambos sistemas: *in vivo* el efecto de la hormona dependería principalmente de la "sensibilización" del tejido por otras hormonas, de la formación de receptores celulares específicos, de los sistemas enzimáticos implicados en el metabolismo de la hormona en cuestión, del efecto antagonista de otras hormonas o sustancias y de la integridad fisiológica del órgano efector. En los sistemas *in vitro* se reduce el número de variables asociadas al efecto hormonal, observándose prácticamente un efecto único. Otra condición es que generalmente se administra una cantidad supra-fisiológica de un compuesto y en una forma aguda, lo que resulta a veces en un efecto dramático.

Sin embargo, es necesario decir que los experimentos *in vitro* representan un método valioso para estudiar con detalle los procesos biológicos y que complementa a los estudios *in vivo* en el conocimiento fisiológico.

RESUMEN

Se evaluó el efecto relajante de la progesterona (P) y de la testosterona (T), así como algunos de sus metabolitos 5α y 5β reducidos, sobre la actividad basal del útero aislado de rata.

Los resultados mostraron que las progestinas reducidas en 5β (pregnandiona, pregnanolona y epipregnanolona) fueron los esteroides más potentes para deprimir la actividad miometrial. Con respecto a los andrógenos, aquellos que presentan una estructura química 3α -hidroxi- 5α i.e. androsterona y androstandiol fueron los más efectivos. El efecto relajante de los esteroides sobre la actividad uterina fué antagonizada con la adición de Ca^{2+} ó prevenida por una concentración previa de este ión. Finalmente, se concluye que tanto la P como la T podrían actuar como prehormonas en la regulación de la actividad del miometrio.

REFERENCIAS

Abe, Y. (1970) The hormonal control and the effects of drugs and ions on the electrical and mechanical activity of the uterus. En: *Smooth Muscle*. Bulbring, E., Brading, A.F., Jones, A.W. and Tomita, T. (Eds.). Edward Arnold (London). pp. 396-417.

Allen, W.M. and Corner, G.M. (1929) Physiology of corpus luteum: III Normal growth and implantation of embryos after early ablation of the ovaries under the influence of extracts of the corpus luteum. *Amer. J. of Physiol.* 88: 340-346

Anderson, N. C., Ramón, F. and Snyder, A (1971) Studies on calcium and sodium in uterine smooth muscle excitation under current-clamp and voltage-clamp conditions. *J. Gen. Physiol.* 58: 322-339.

Arcos, M., Gurpide, E., Vande Wiele, R.L. and Lieberman, S. (1964) Precursors of urinary pregnanediol and their influence on the determination of the secretory rate of progesterone. *J. Clin. Endocr.* 24:237-245.

Armstrong, D.T. and King, E.R. (1971) Uterine progesterone metabolism and progestational response: Effects of estrogens and prolactin. 89: 191-197.

Athias, M. (1919) Effets de la castration sur les mouvements automatiques de l'uterus chez la cobaye. *J. Physiol. Path. Gen.* 18: 731.

Baird, D., Horton, R., Longcope, C. and Tait, J.F. (1968) Steroid Prehormones. *Perspect. Biol. Med.* 11: 384-410.

Barkley, M.S., Michael, S.D., Geshwind, I.I. and Bradford, G.E. (1977) Plasma Testosterone during pregnancy in the mouse. *Endocrinology* 100: 1472-1475.

Barnafi, L. and Croxatto, H. (1963) The in vitro effect of progesterone and estrogens on the oxytocin response of rat uterus. *Acta Physiol. Lat. Amer.* 13: 26-29.

Batra, S.C. (1973) the role of mitochondrial calcium uptake in contraction and relaxation of the human myometrium. *Biochim. Biophys. Acta* 305: 428-432.

Batra, S. C. and Daniel, E.E. (1971) ATP-dependent Ca

uptake by subcellular fractions of uterine smooth muscle. *Comp. Biochem. Physiol.* 38A: 369-385.

Baulieu, E.E. (1970) The action of hormone metabolites: A New Concept in Endocrinology. *Annals. of Clin. Res.* 2: 246-250.

Blair, E.W. (1922) Contraction rate of the uterine musculature of the rat with reference to the oestrus cycle. *Anat. Rec.* 23: 9-10.

Bolton, T.B. (1973) The role of electrogenic sodium pumping in the response of smooth muscle to acetylcholine. *J. Physiol. (London)* 228: 713-731.

Bozler, E. (1948) Conduction, automaticity and tonus of visceral muscles. *Experientia* 4: 213-218.

Brading, A.F. (1979) Smooth Muscle. Maintenance of ionic composition. *Br. Med. Bull.* 35 227-233.

Briggs, M.H. and Brotherton, J. (1970) *Steroid Biochemistry and Pharmacology.* Academic Press, London and New York. pp 424.

Bryson, M.J. and Sweat, M.L. (1967) Metabolism of progesterone in human proliferative endometrium. *Endocrinology* 81: 729-734.

Carsten, M.F. (1965) A study of uterine actin. *Biochemistry N.Y.* 4: 1049-1054.

Carsten, M.F. (1968) Regulation of myometrial composition growth and activity. *En: Biology of Gestation Vol. 1.* Assali, N.S. (Ed.). Academic Press, London. pp. 355-455.

Carsten, M.F. (1969) Role of calcium binding by sarcoplasmic reticulum in the contraction and relaxation of uterine smooth muscle *J. Gen. Physiol.* 53: 414-426.

Carsten, M.F. (1971) Uterine smooth muscle: troponin. *Arch. Biochem. and Biophys.* 147 353-357.

Carsten, M.F. (1974) Prostaglandins and oxytocin: their effect on uterine smooth muscle. *Prostaglandins* 5: 33-40.

Casteels, R. and Kuriyama, H. (1965) Membrane potential and ionic content in pregnant and non-pregnant myometrium. *J. Physiol.* 177: 263-287.

Casteels, R. and Van Breemen, C. (1975) Active and passive Ca^{2+} fluxes across cell membranes of the guinea-pig taenia coli. *Pflugers Arch.* 359: 197-207.

Chang, K.J. and Triggle, D.J. (1973) Quantitative aspects of drug-receptor interactions I. Ca^{2+} and cholinergic receptor activation in smooth muscle: a basic model for drug-receptor interactions. *Theoret. Biol.* 40 125-154, 155-172.

Cole, D.F. (1950) The effects of oestradiol on the rat uterus. *J. Endocr.* 7: 12-23.

Cowie, A.T. (1978) Lactation and its hormonal control. En: *Reproduction in Mammals Book 3*. Austin, C.R. and Short, R.V. (Eds.). Cambridge University Press. pp. 106-143.

Csapo, A.I. (1956) Progesterone block. *Am. J. Anat.* 98: 273-291.

Csapo, A.I. (1962) Smooth muscle as a contractile unit. *Physiol. Rev.* 42: (Suppl. 5) 7-23.

Csapo, A.I. (1963) Model experiments and clinical trials in the control of pregnancy and parturition. *Amer. J. Obst. Gynec.* 85: 359-379.

Csapo, A.I. (1969) The four direct regulatory factors of myometrial function. En: *Progesterone: its Regulatory Effect on the Myometrium*. Ciba Fnd. Study Group No 34. Wolstenholme, G.E.W. and Knight, J. (Eds.). Little Brown and Co. Boston. pp. 13-42.

Csapo, A.I. (1971) The uterus: a model for medical considerations. En: *Contractile Proteins and Muscles*. Laki, K. (Ed.). Dekker. New York. pp. 413-482.

Csapo, A.I. (1973) The uterus-model experiments and clinical trials. En: *The Structure and Function of Muscle*. Vol II. Bourne, G.H. (Ed.). Academic Press. New York. pp. 1-90.

Csapo, A.I. (1977) The "see-saw" theory of parturition. En: *The Fetus and Birth*. Knight, J. and O'Connor, M. Eds. Elsevier Amsterdam.

Csapo, A.I. and Corner, G.W. (1952) The antagonistic effects of estrogen and progesterone on the staircase phenomenon in uterine muscle. *Endocr.* 51: 378-385.

Csapo, A.I. and Takeda, H. (1965). Effect of progesterone on the electric activity and intra-uterine pressure of pregnant and parturient rabbits. Amer. J. Obst. Gynec 91: 221-231.

Csapo, A.I., Takeda, H. and Wood, C. (1963) Volume and activity of the parturient rabbit uterus. Amer. J. Obst. Gynec. 85: 813-818.

Daniel, E.E., Crankshaw, D.J. and Kwan, C.Y. (1979) Intracellular sources of calcium for activation of smooth muscle. En: Trends in Autonomic Pharmacology Vol. 1. Kalsner, S. (Ed.). Urban and Schwarzenberg. Baltimore-Munich. pp. 443-484.

Daniel, E.E. and Lodge, S. (1973) Electrophysiology of myometrium. En: Uterine Contraction-Side effects of steroidal contraceptives. Josimovich, J.B. (Ed.). John Wiley and Sons. New York. pp. 19-64.

Daniel, E.E., Sehdev, H. and Robinson, K. (1962) Mechanisms for activation of smooth muscle. Physiol. Rev. 42 (Suppl. 5) 228-264.

Daniel, E.E. and Singh, H. (1958) The electrical properties of the smooth muscle membrane. Can. J. Biochem. Physiol. 36: 959-975.

Dorfman, R.I. (1954) Neutral Steroid Hormone Metabolites. En: Recent Progress in Hormone Research vol IX. Pincus, G., Ed. Academic Press, New York. pp. 318-325.

Dorfman, R.I. and Shipley, R.A. (1956) Androgens. John Wiley and Sons, Inc., New York.

Dorfman, R.I. and Ungar, F. (1965) Metabolism of steroids hormones. Academic Press, London and New York.

Edman, K.A.P. and Schild, H.O. (1963) Calcium and the stimulant and inhibitory effect of adrenaline in depolarized smooth muscle. J. Physiol. (Lond) 169: 404-411.

Egert, D., Jonat, W. and Maas, H. (1975). Progesterone in the uterus. IV. Dependence of the in vitro progesterone metabolism in the rat uterus on the progesterone concentration. Steroids 26: 193-214.

Emmens, C.W. (1941) Precursors of oestrogens. J.

Endocrinol 2: 444-456.

Evans, D.H.L., Schild, H.O. and Thesleff, S. (1958) Effects of drugs on depolarized plain muscle. *J. Physiol. (Lond)* 143: 474-485.

Finn, C.A. and Porter, D.G. (1975) *The Uterus*. Publishing Sciences Group. Acton Mass. pp. 180-216.

Frank, R.T., Bonham, C. and Gustavson, R.G. (1929) A new method of assaying the potency of female sex hormone based upon the effect upon spontaneous contraction of the uterus of the white rat. *Amer. J. Physiol.* 74: 395-399.

Fraenkel, L. (1905) Die Funktion des corpus luteum. *Arch. Gynaek.* 68: 438-535.

Gardós, G. (1958) The function of calcium in the potassium permeability of human erythrocytes. *Biochim. Biophys. Acta* 30: 653-654.

Goto, M. and Woodbury, J.W. (1958) Effects of stretch and NaCl on transmembrane potentials and tension of pregnant rat uterus. *Fedn. Proc.* 17: 58-63.

Heap, R.B. (1978) Role of hormones in pregnancy. En: *Reproduction in Mammals Book 3*. Austin, C.R. and Short, R.V. (Eds.). Cambridge University Press. pp. 73-105.

Herbut, P.A. (1953) *Gynecology and Obstetrical Pathology*. Lea and Febiger. Philadelphia.

Hoffmann, U., Mass, H. and Lisboa, B.P. (1975) Metabolism of 4-H C Testosterone in the rat uterus in vitro. *Eur. J. Biochem.* 39: 305-309.

Holman, M.E. and Neild, T.O. (1979) Smooth Muscle; membrane properties. *Br. Med. Bull.* 35: 235-241. uterine muscle.

Hurwitz, L., Fitzpatrick, D.F., Debbas, G. and Landon, E.S. (1973) Localizations of calcium pump activity in smooth muscle. *Science* 179: 384-386.

Ichikawa, S.L. and Bartoff, A. (1970) Tissue resistance of the progesterone dominated rabbit myometrium. *J. Physiol.* 219: 1763-1767.

Inaba, T., Imori, T. and Matsumoto, K. (1978) Formation of

5α -reduced C-19 steroids from progesterone in vivo by 5α -reduced pathway in immature rat ovaries. J. Steroid Biochem. 9: 1105-1109.

Ishida, Y., Oshima, H., Aibara, S. and Ohmoto, M. (1972) Inhibitory actions of steroids hormones on isolated smooth muscles. J. of Pharm. Soc. of Jap. 92: 1175-1179.

Janis, R.A., Crankshaw, D.J. and Daniel, E.E. (1977) Control of intracellular Ca^{2+} activity in rat myometrium. Am. J. Physiol. 232: C50-C58.

Johnson, D.C. (1978) Temporal changes in ovarian steroid- 17α -hydroxylase in immature rats treated with pregnant mare's serum gonadotropin. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 159: 484-497.

Kao, C.Y. (1967) Ionic basis of electrical activity in uterine smooth muscle. En: Cellular Biology of the Uterus. Wynn, R.M. (Ed.). North Holland, Amsterdam. pp 386. 448.

Kao, C.Y. and Nishiyama, A. (1964) Ovarian hormones and resting potential of rabbit uterine smooth muscle. Am. J. Physiol. 207: 793-799.

Kao, C.Y. and Nishiyama, A. (1969) Ion concentrations and membrane potentials during recovery from cold. Amer. J. Physiol. 217: 523-553.

Karlson, P. (1963) New concepts on the mode of action of hormones. Perspect. Biol. Med. 6: 203-214

Klein, M. and Klein, L. (1933) Sur la sensibilité du muscle utérin à l'hormone posthypophysaire chez la lapine. Ses variations au cours de la grossesse. C.R. Soc. Biol. 112: 821-825.

Klopper, A.I. (1962) Pregnanediol and pregnanetriol. En: Methods in Hormone Research vol I. Dorfman R.I. Ed. Academic Press New York. pp. 139-171

Kubli-Garfias, C., Canchola, E., Arauz-Contreras, J. and Feria-Velasco, A.: Depressory effect of androgens on the cat brain electrical activity and its antagonism by ruthenium red. Enviado a publicación.

Kubli-Garfias, C., Cervantes, M. and Beyer, C. (1976): Changes in multiunit activity and EEG induced by the administration of natural progestins to flaxedil

immobilized cats. Brain Research, 114: 71-81.

Kubli-Garfias, C., López-Fiesco, A., Pacheco-Cano, M.T., Ponce-Monter, H. and Bondani A. (1980): In vitro effects of androgens upon the spontaneous rat uterine contractility. Steroids, 35: 633-641.

Kubli-Garfias, C., Medrano-Conde, L., Beyer, C. and Bondani, A. (1979a): In vitro inhibition of rat uterine contractility induced by 5 α and 5 β progestins. Steroids, 34: 609-617.

Kubli Garfias, C., Pacheco Cano M.T., Ortega Suárez P. y gio Santiago Rivera, S.A (1979b) Un programa sencillo en lenguaje "BASIC" del método de Litchfield y Wilcoxon para evaluar experimentos dosis-efecto con mini o micro-computadoras. III Congreso Mexicano de Farmacología Morelia Mich. México.

Kubli-Garfias, C. and Whalen, R.E. (1977): Induction of lordosis behavior in female rats by intravenous administration of progestins. Horm. Behav., 9: 380-386.

Kuriyama, H. and Csapo, A.I. (1959) The "evolution" of membrane and myoplasmic activity of uterine muscle. Biol. Bull. 117: 417-424.

Kuriyama, H. and Csapo A.I. (1961) A study of the parturient uterus with the microelectrode technique. Endocr. 68: 1010-1025.

Lamb, E., Mancuso, S., Dell'Acqua S., Wiqvist N. and Diczfalusy E. (1967) Studies on the metabolism of C-19 steroids in the human foetoplacental unit. Acta Endocrin. (Kbh). 55: 263-275.

Litchfield, J.T. jr. and Wilcoxon, F.A. (1949) Simplified method of evaluating dose-effect experiments. J. Pharmacol. Exp. Ther. 96: 99-113.

Long, J.A. and Evans, H.M. (1922) The oestrous cycle in the rat and its associated phenomena. Mem. Univ. California 6 1-148.

Ludwig, K.S. (1952) The structure of the muscle wall in the uterus of the rat. Acta Anat. 15: 23-41.

Mainwaring, W.I.P. (1975) A review of the formation and binding of 5 α dihydrotestosterone in the mechanism of

action of androgens in the prostate of the rat and other species. *J. Reprod. Fert.* 44:377-394.

Mainwaring, W.I.P. (1979) The androgens. En: *Reproduction in Mammals Book 7*. Austin, C.R. and Short, R.V. (Eds.). Cambridge University Press. pp. 117-156.

Mancuso, S., Benagiano, O., Dell'Acqua, S. and Diczfalusy, E. (1968) Androgen metabolism in the foeto-placental unit. *Excerpta Medica International Congress Series No. 184*. Progress in Endocrinology. Proceedings of the third International Congress of Endocrinology. México D.F., 30 June-5 July.

Marshall, J.M. (1962) Regulation of activity in uterine smooth muscle. *Physiol. Rev.* 42: 213-227.

Marshall, J.M. (1963) Behaviour of uterine muscle in Na-deficient solutions; effects of oxytocin. *Am. J. Physiol.* 204: 732-738.

Marshall, J.M. (1965) Calcium and uterine smooth muscle membrane potentials. En: *Muscle*. Paul W.M., Daniel E.E., Kay C.M. and Monckton G. Pergamon Press Oxford pp. 229-238.

Marshall, J.M. and Csapo, A.I. (1961) Hormonal and ionic influences on the membrane activity of uterine smooth muscle cells. *Endocrinology.* 68: 1026-1035.

Matsui, M. and Hakosaki, M. (1977) Variations in biliary metabolites of androsterone in female rats. *J. Steroid Biochem.* 8: 319-322.

Matsui, M. and Kinuyama, Y. (1977) Comparative fate of testosterone and testosterone sulphate in female rats: C-19 O₂ and C-19 O₃ steroid metabolites in the bile. *J. Steroid Biochem.* 8: 323-327

Mironneau, J. (1976) Relationship between contractions and transmembrane ionic currents in voltage-clamped uterine smooth muscle. En: *Physiology of Smooth Muscle*. Bulbring, E. and Shuba, M.F. (Eds.). Raven Press, New York 1976.

Mironneau, J. and Lenfant, J. (1971) Analyse des réponses électriques de la fibre musculaire lisse d'uterus de ratte: Mise en évidence d'un courant lentcalciosodique. *CR Acad. Sci. Paris* 272 436-439.

Paton, D.M. (1969) The contractile response of the isolated rat uterus to noradrenaline and 5-hydroxytryptamine. *Eur. J. Pharmacol* 3: 310-315.

Perry, S.V. and Grand, R.J.A. (1979) Smooth Muscle; Mechanisms of contraction and the specialized protein components of smooth muscle. *Br. Med. Bull.* 35: 219-226.

Reynolds, S.R.M. (1930) Studies on the uterus . I.A. Method for recording uterine activity in chronic experiments on unanaesthetized animals. *Amer. J. Physiol.* 92: 420-429..

Reynolds, S.M.R. (1933) The effect of certain calcium salts on the rhythmically contracting and quiescent uterine fistula, with observations on the action of posterior pituitary extracts. *Am. J. Physiol.* 105: 358-384.

Reynolds, S.R.M., and Allen, W.M. (1932) The Effect of progestin containing extracts of corpora lutea on uterine motility in the unanaesthetized rabbit with observations on pseudopregnancy. *Amer. J. Physiol.* 102: 39-55.

Ringer, S.J. (1883) A further contribution regarding the influence of the different constituents of the blood on the contraction of the heart. *J. Physiol.* 4: 29. Referido en: *The Uterus*. Finn, C.A. y Porter D.G. Publishing Sciences Group. Mass. 1975.

Robson, J.M. (1937) Reactions of the uterine muscle and endometrium of the rabbit to testosterone. *Quart. J. of Exp. Physiol.* 26: 355-363.

Robson, J.M. (1938) Quantitative data on the inhibition of oestrus by testosterone, progesterone and certain other compounds. *J. Physiol.* 92: 371-382.

Rochefort, H., Vignon, F. and Capony, F. (1972) Formation of estrogen nuclear receptor in uterus. Effect of androgens, estrone and nafoxidine. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 47: 662-670.

Rochefort, H. and Garcia, M. (1976) Androgen on the estrogen receptor. I Binding and in vivo nuclear translocation. *Steroids* 28: 549-560.

Ruh, T.S. and Ruh, M.F. (1975) Androgen induction of a specific uterine protein. *Endocrinology* 97: 1144-1150.

Runnebaum, B. and Zander, J. (1971) Progesterone and 20 α -Dihydroprogesterone in human myometrium during pregnancy. *Acta Endocrin. (Kbh) Sup.* 150.

Saez, J.M., Forest, M.G., Morera A.M. and Bertrand, J.J. (1972) *J. Clin. Invest.* 51: 1226-1230.

Saffran, J., Loeser, B.K., Haas, B.M., and Stavely, H.E. (1974) Metabolism of progesterone in subcellular fractions of rat uterus. *Steroids* 24: 839-848.

Saldívar, J.T., jr. and Melton, C.E., jr. (1966) Effects in vivo and in vitro of sex steroids on rat myometrium. *Am. J. Physiol.* 211: 835-843.

Schatzmann, H.J. (1975) Active calcium transport across the plasma membrane of erythrocytes. En: *Calcium Transport in Contraction and Secretion*. Carafoli, E., Clementi, F., Drabikowski, W. and Margreth, A. (Eds.). North-Holland. Amsterdam. pp. 45-49.

Schmidt, W.N., Sadler, M.A. and Katzenellenbogen, B.S. (1976) Androgen uterine interaction: Nuclear translocation of the estrogen receptor and induction of the synthesis of the uterine induced protein (IP) by high concentration of androgens in vitro but not in vivo. *Endocrinology* 98: 702-716.

Seeman, P. (1966) Erythrocyte membrane stabilization by sterols and alcohols; a possible model for anesthesia. *Biochem. Pharmacol.* 15: 1632-1657.

Selye, H. (1948) *Textbook of Endocrinology*. Acta Endocrinológica. Université de Montréal, Canada pp. 914.

Sjovall, J., Sjovall, K. and Vicko, R. (1968) Steroid sulfates in human pregnancy plasma. *Steroids* 11: 703-715.

Short, R.V. (1978) Role of hormones in sex cycles. En: *Reproduction in Mammals Book 3*. Austin, C.R. and Short, R.V. (Eds.). Cambridge University Press. pp. 42-72.

Stucki, J.C. and Gleen, E.M. (1961) Endometrial proliferation, pregnancy maintenance, parturition, inhibition and myometrial block production with various steroids. In Barnes, A.C., Ed. *Brook Lodge Symposium, Progesterone*. pp 25-36 Augusta Michigan, Brook Lodge Press.

Templeton, W. (1969) An Introduction to the Chemistry of Terpenoids and Steroids. Butterworths. London. pp. 1-31.

Tomita, T. (1970) Electrical properties of mammalian smooth muscle. En: Smooth Muscle. Bulbring, E., Brading, A.F., Jones, A.W. and Tomita, T. The Williams and Wilkings, Baltimore pp 197-244.

Ungar, F., Dorfman, R.I., Strecker, R.M. and Vignos P.J. Jr. (1951) Metabolism of the steroid hormones, metabolism of progesterone and related steroids. Endocrinology 49: 440.

Van Breemen, C., Wuytack, F. and Casteels, R. (1975) Stimulation of ^{45}Ca efflux from smooth muscle by metabolic inhibition and high K depolarization. Pflugers Arch. 359: 183-196.

Vassort, G. (1975) Voltage-clamp analysis of transmembrane ionic currents in guinea-pig myometrium: evidence for an initial potassium activation triggered by calcium influx. J. Physiol. (Lond). 252: 713-734.

Wagatsuma, T., Sullivan, W.J. and Kumar, D. (1967) The mechanisms of action potassium flux in human myometrium. Amer. J. Obstet. Gynecol. 98: 1050-1056.

Weizenbaum, F.A., Adler, N.T. and Ganjam, V.K. (1978) Serum testosterone concentration in the pregnant rats. J. of Steroid Biochem. 10: 71-74.

Wichmann, K. (1967) On the metabolism and subcellular distribution of progesterone in the myometrium of the pregnant rat. Acta Endocrin. (Kbh) Sup. 116.

Whalen, R.E. and Rezek, D.L. (1972) Localization of androgenic metabolites in the brain of the rats administered testosterone or dihydrotestosterone. Steroids 20: 717.

Wiest, W.G. (1963) In vitro metabolism of progesterone and 20α -hydroxypregn-4-en-one by tissues of the female rat. Endocrinology 73: 310.

Willmer, E.N. (1961) Steroids and cell surfaces. Biol. Rev. Cambridge Phil. Soc. 36: 368-371.

Woodbury, J.W. and McIntire, D.M. (1954) Electrical

activity of single muscle cells of pregnant uteri studied with intracellular ultra microelectrodes. Am. J. Physiol. 177: 355-360.

Zander, J. (1958) Steroids in the human ovary. J. Biol. Chem. 232: 117-127.

APENDICE

NOMBRES DE LOS ESTEROIDES MENCIONADOS

NOMBRE TRIVIAL

NOMBRE SISTEMICO (IUPAC 1968)

ANDROGENOS:

Testosterona	17 β -hidroxi-4-androsten-3-ona
DHEA, dehidroepiandrosterona	3 β -hidroxi-5-androsten-17-ona
Androstenediona	4-androsten-3,17-diona
5 α -DHT, 5 α -dihidrotestosterona	17 β -hidroxi-5 α -androstan-3-ona
5 α -androstandiona	5 α -androstan-3,17-diona
Androsterona	3 α -hidroxi-5 α -androstan-17-ona
Androstandiol	5 α -androstan-3 α ,17 β -diol
Epi-androsterona	3 β -hidroxi-5 α -androstan-17-ona
S/N	5 α -androstan-3 β ,17 β -diol
5 β -androstandiona	5 β -androstan-3,17-diona
Etiocolanolona	3 α -hidroxi-5 β -androstan-17-ona
5 β -DHT, 5 β -dihidrotestosterona	17 β -hidroxi-5 β -androstan-3-ona
Epi-eticolanolona	3 β -hidroxi-5 β -androstan-17-ona

PROGESTINAS

Progesterona, P	4-pregnen-3,20-diona
20 α -hidroxipregnenona, 20 α -OH-P	20 α -hidroxi-4-pregnen-3-ona
Alopregnandiona	5 α -pregnan-3,20-diona
S/N	3 α -hidroxi-5 α -pregnan-20-ona
Alopregnanolona	3 β -hidroxi-5 α -pregnan-20-ona
S/N	5 α -pregnan-3 β ,20 β -diol
Pregnandiona	5 β -pregnan-3,20-diona
Epipregnanolona	3 α -hidroxi-5 β -pregnan-20-ona
Pregnanolona	3 β -hidroxi-5 β -pregnan-20-ona
Pregnandiol	5 β -pregnan-3 α ,20 β -diol