

00573  
ley.  
3.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA ] DE MEXICO  
FACULTAD DE QUIMICA



ESTUDIO QUIMICO-BIOLÓGICO DE EXTRACTOS VEGETALES  
QUE ALTERAN EL PROCESO REPRODUCTIVO

T E S I S

Que para obtener el grado de  
MAESTRO EN CIENCIAS QUIMICAS  
(*Química Orgánica*)  
presenta

GEORGINA PONCE ROMERO

México, D. F.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

1986



## **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.

## RESUMEN

La Dioscorea composita es una de las fuentes para obtener diosgenina, la cual es utilizada como precursor en la síntesis de hormonas esteroidales, anabólicos y anticonceptivos. Informes obtenidos de los campesinos que laboran en las zonas de recolección de barbasco, indican que los extractos acuosos provocan el aborto del ganado y que en algunos casos también son utilizados en el humano.

Se analizaron los efectos de la diosgenina y del extracto etanólico de barbasco (extracto) sobre dos etapas del proceso reproductivo: la ovulación y la implantación. Tanto la administración del extracto como de la diosgenina alteraron el ciclo estral de la rata y el número de ovocitos liberados el día del estro fué menor que en los testigos ( $7 \pm 0.7$ ;  $5.87 \pm 0.76$ ; Vs  $9.82 \pm 0.6$  respectivamente); no se observaron diferencias en el peso del útero, de los ovarios, de las adrenales y de la hipófisis respecto al testigo en estro. La disminución en el número de ovocitos se acompañó de un incremento significativo en la concentración sérica de hormona folículo estimulante.

La administración oral de extracto en dosis de 600 mg /Kg de peso a partir del primer o quinto día de la preñez durante nueve días, provocó la disminución del número y del peso de los fetos presentes respecto al testigo tratado con vehículo ( $4.33 \pm 2.4$  Vs  $9.86 \pm 0.46$ ). Los efectos del extracto sobre la implantación fueron reversibles.

La administración de diosgenina no provocó cambios en la tasa de animales preñados ni en el número de fetos presentes, aunque se incrementó el de reabsorciones.

El extracto está compuesto por varias saponinas de las cuales se lograron aislar dos. Solamente una de ellas (compuesto F) provocó la disminución del número de fetos cuando se administró a partir del primer día de la preñez.

Los efectos del extracto como los de la diosgenina no parecen estar relacionados con una posible actividad estrogénica de los mismos, dado que ninguno de ellos indujeron efectos estrogénicos sobre el epitelio vaginal de la rata castrada.

En la rata macho adulta, la administración oral de extracto provocó alteraciones de la estructura del túbulo seminífero y disminución de la capacidad de fertilización.

## ABSTRACT

Dioscorea composita is one of the sources of diosgenin, which is used as precursor for the synthesis of steroid hormones and contraceptives. Information obtained from the peasants which work in areas where barbasco is recolected, suggest that the aqueous extracts induce abortion in cattle. In some cases, these extracts have been used in humans.

The effects of diosgenin and the ethanolic extract of barbasco over two steps of the female rat reproductive process were studied: ovulation and implantation. The two treatments modified the estrus cycle and reduced the number of oocytes released during estrus. They did not affect uterine ovarian, adrenal and hypophysial weight. Decrease of oocytes number was concomitant with a significant increase of serum follicle stimulating hormone concentration.

Oral administration of the extract (600 mg/Kg animal weight each day), starting from the first or fifth day of pregnancy during nine days, induced a decreased number and weight of the fetuses. The effects of the extract on implantation were reversible.

Diosgenin administration did not change the rate of pregnant animals nor the number of fetuses but did increase the number of reabsortions.

Two saponins present in the extract were isolated. When administered starting the first day of pregnancy, only one (compound F) induced a decreased number of fetuses.

Neither the extract nor the diosgenin induced an oestrogenic effect on the ovariectomized rat. This suggests that the effects is not related to a possible oestrogenic activity.

In the adult male rat the oral administration of the extract induced modifications of the structure of seminiferous tubules and diminished the fertilization aptitude.

## I N D I C E

I	Introducción
II	Sistema Reproductivo Masculino
III	Sistema Reproductivo Femenino
IV	Planteamiento del Problema
V	Objetivos
VI	Hipótesis
VII	Material y Métodos
	a) Metodología del estudio químico
	b) Metodología del estudio biológico
VIII	Resultados
	a) Resultados del estudio químico
	b) Resultados del estudio biológico
IX	Discusión
X	Conclusiones
XI	Bibliografía

## A B R E V I A T U R A S

FSH	Hormona folículo estimulante
LH	Hormona luteinizante
hCG	Gonadotropina coriónica humana
AMP <sub>c</sub>	Adenosin monofosfato cíclico
LHRH	Hormona liberadora de hormona luteinizante
DNA	Acido desoxiribonucleico
PGE	Prostaglandina E
E <sub>2</sub>	Estradiol
P	Progesterona
3 $\beta$ -HDS	Enzima hidroxisteroide deshidrogenasa
PGF <sub>2<math>\alpha</math></sub>	Prostaglandina F <sub>2<math>\alpha</math></sub>
D <sub>1</sub>	Diestro 1
D <sub>2</sub>	Diestro 2
P	Proestro
E	Estro

I INTRODUCCION

"La sexualidad, como los diferentes comportamientos del cuerpo está condicionada a la tradición cultural que impone las reglas de tipo social que rigen al individuo; dichas reglas varían según el grupo social y sexo al que pertenece".

El uso de extractos o infusiones de distintas plantas como reguladores de la sexualidad, fueron utilizados por los mexicas con dos fines definidos que están vinculados a la reproducción: el tlalpayotzin era utilizado para mejorar el proceso de fecundidad, mientras que el cozolmécatl sólo se utilizaba para estimular el impulso sexual.

Durante la conquista se produjo el intercambio tradicional de conocimiento entre conquistadores y conquistados, lo que dió origen a un nuevo conocimiento del uso de las distintas plantas para el tratamiento de los transtornos de la sexualidad.

El uso de plantas medicinales como fuente de recursos de sustancias útiles en la regulación de la sexualidad continúa hasta nuestros días. La mayoría de ellos se iniciaron siguiendo los usos tradicionales, en los cuales las bondades de una planta son transmitidas de padres a hijos por generaciones.

Existen evidencias que indican que desde la época prehispánica el hombre que habitaba el territorio Mexicano se preocupó por los aspectos de la sexualidad como son la reproducción, la esterilidad, la impotencia, así como la regulación de la fertilidad, ya sea por el bloqueo de la fecundación o por el aborto provocado mediante el uso de extractos, infusiones ó bálsamos de origen vegetal o animal. La práctica del aborto era fuertemente castigada por las autoridades de la población, sin embargo algunos curanderos y mujeres quienes sabían del manejo de las plantas, prestaban sus servicios de manera clandestina.

Existe una larga lista de plantas utilizadas por nuestros ancestros para provocar el aborto, entre las cuales se citan (54):

- a)- Tlapechmecatl
- b)- Mecaxōchitl
- c)- Tlilxōchitl
- d)- Miahoapatli
- e)- Pehuame
- f)- Tlaququétzal
- g)- Cihuapatli

Basadas en información procedente de códices antiguos hay una gran cantidad de clasificaciones de las plantas utilizadas para alterar el proceso reproductivo, Piñeiro (52) las divide en dos grupos:

- a)- Irritantes del músculo liso
  - Artemisa mexicana (estafiate)
  - Caesalpina pulcherrima (tabachin)
  - Chenopodium ambrosioides (epazote)
  - Hedeoma piperita (tabaquillo)
  - Mantha piperita (hierbabuena)
  - Organum vulgare (orégano)
  - Petroselinum sativum (perejil)
  - Pipinera anisium (anís)
  - Ruta graveolens (ruda)
- b)- Oxitócicos primarios
  - Comminun cyminum (comino)
  - Montanoa tomentosa (zoapatle)
  - Ustilago haydis (cuitlacoche)

Los habitantes de las zonas barbasqueras han observado que bovinos preñados que beben agua que ha arrastrado material hidrosoluble de las plantaciones de barbasco (Dioscorea composita) presentan aborto espontáneo. En algunos casos se señala que mujeres embarazadas que no desean mantener su preñez ingieren de esta misma agua, lo cual le provoca el aborto. En México, el barbasco es la principal fuente de diosgenina la que es utilizada como precursor de anticonceptivos orales, hormonas esteroideas sexuales y corticosteroides, anabólicos y glucósidos cardiotónicos.

Diferentes autores han estudiado la composición química de varias especies de Dioscoreas (41,66,67). De la especie Dioscorea composita se han aislado e identificado: diosgenina, yamogenina, penogenina y botogenina (41). La clase de sapogenina presente y sus concentraciones varían según la región, las condiciones climatológicas, etc.

En la actualidad, el uso de la medicina tradicional está restringido sólo a una parte de la población y éste parece estar determinado por:

a)- La falta de servicios de medicina institucionalizada en poblaciones de difícil acceso, donde los servicios médicos están a cargo de médicos curanderos.

b)- Preferencia por la medicina tradicional aún cuando se cuente con los servicios de medicina institucionalizada.

El problema de la medicina tradicional no institucionalizada es muy complejo y comprende desde la identificación adecuada de las plantas, la información acerca de las propiedades curativas reales, la dosificación y sus efectos secundarios, así como la capacitación adecuada del personal.

En especies inferiores al hombre, la regulación del proceso reproductivo está vinculada a requerimientos específicos en cuanto al espacio disponible, la calidad del alimento, etc., mecanismos que no son efectivos para controlar la reproducción humana.

En el desarrollo de nuevos métodos anticonceptivos, se debe contemplar qué etapa del proceso reproductivo puede regularse, con el menor riesgo para el organismo del usuario.

Según Diczfalusy (18), el proceso reproductivo en el sexo femenino como en el masculino puede ser regulado en alguna de las siguientes etapas:

- a)- el ciclo menstrual y la ovulación
- b)- la capacitación y la fertilización
- c)- el pasaje del huevo por la trompa hacia el útero y la formación del

cigoto

d)- la formación del blastocisto y la implantación

e)- el desarrollo embrionario

f)- la espermiogénesis

En el cuadro número 1 se enlistan los diferentes tipos de métodos anticonceptivos que se utilizan en la actualidad, los cuales son de tipo hormonal, físico o fármacos no hormonales.

El estudio sistemático de las propiedades curativas de las plantas ha sido abordado por muchos investigadores en el mundo entero. En México existen numerosos grupos dedicados a la identificación química de los compuestos presentes en las plantas. De las plantas que se utilizan en la regulación del proceso reproductivo se han realizado varios estudios químicos, biológicos, algunos de los cuales se mencionan a continuación:

#### Costus speciosus

En la India, el Costus speciosus es la fuente de obtención de diosgenina, con un contenido de aproximadamente 2.12% comparado con 3.35 y 2.1% en Dioscorea deltoidea y Dioscorea prazari respectivamente. En la medicina tradicional de la India, el Costus speciosus ha sido utilizado en el tratamiento de la placenta retenida, la inercia uterina funcional, la hemorragia post-parto y el aborto inevitable (61).

El estudio farmacológico indica que el jugo fresco de Costus speciosus incrementa el tono, la amplitud y la frecuencia de las contracciones rítmicas del útero aislado de rata, de cobaya, de coneja, de perra y del humano. Esta actividad no es bloqueada con sulfato de atropina.

En la primera etapa de purificación, por cromatografía en capa fina utilizando el sistema  $\text{CHCl}_3$ -EtOH 7:3 se lograron visualizar cinco saponinas. En la segunda etapa de purificación se lograron aislar tres saponinas:

	Propiedades	Actividad
Saponina Uno	Rf 0.71( $\text{CHCl}_3$ -EtOH 7:3)	No provoca una respuesta

I Cuadro Métodos anticonceptivos utilizados en la actualidad. (Preparado por el Population Crisis Committee)

<u>Método</u>	<u>Efectividad</u>	<u>Ventajas</u>	<u>Desventajas</u>	<u>Contraindicaciones</u>
<u>Quirúrgicos</u>				
Vasectomía	prevención de la <u>preñez</u> . % de <u>preñez</u> por año. Táctico práctico 0.15 0.2-0.5	Método altamente <u>efectivo</u> . No se han reportado <u>efectos secundarios</u> a largo <u>plazo</u> .	Requiere de <u>asistencia</u> médica. Se ha reportado <u>infección</u> y <u>epididimitis</u> en 1-2% de los <u>pacientes</u> . Este método <u>debe</u> ser considerado como un método <u>permanente</u> .	Es un método <u>definitivo</u> , <u>no</u> <u>debe</u> elegirse cuando se <u>desea</u> tener más <u>hijos</u> .
Salpingectomía	0.05 0.2-1.0	Método altamente <u>efectivo</u> . No se han reportado <u>efectos secundarios</u> a largo <u>plazo</u> .	Requiere de <u>asistencia</u> médica. En <u>raras</u> ocasiones hay <u>sangrado</u> , <u>infección</u> o <u>daño</u> a otros <u>órganos</u> . Es importante <u>considerar</u> las <u>anormalidades</u> <u>anatómicas</u> de algunas <u>mujeres</u> , lo que hace a este método <u>inapropiado</u> .	No debe elegirse cuando se <u>desea</u> tener más <u>hijos</u> .
<u>Hormonales</u>				
Implantes	0.3 0.3	Es el método <u>reversible</u> más <u>efectivo</u> . No se requiere de <u>administración</u> <u>frecuente</u> debido a la <u>duración</u> del <u>implante</u> .	El <u>implante</u> <u>frecuentemente</u> provoca <u>irregularidades</u> <u>menstruales</u> ; cerca del 10% de las <u>usuaris</u> <u>desechan</u> el <u>método</u> por <u>esta</u> <u>razón</u> . La <u>inserción</u> así <u>como</u>	No debe usarse si la <u>usuaris</u> <u>está</u> <u>embarazada</u> , o existe <u>sangrado</u> <u>genital</u> de <u>origen</u> <u>desconocido</u> . No <u>debe</u> usarse si <u>en</u> la <u>historia</u> <u>clínica</u>

Inyectables	0.25	1.0	Es uno de los métodos anticonceptivos reversibles más efectivos; sólo requiere de administración trimestral. La recuperación de la fertilidad ocurre en un lapso hasta de ocho meses, aunque no es frecuente que se retrase más tiempo.	mo el retiro del <u>implante</u> requiere <u>intervención quirúrgica</u> .	ca existen antecedentes de tumores malignos o enfermedades cardiovasculares.
Dispositivo intrauterino	1-3	1-5	Los DIU tienen alta efectividad. Después de ser colocados por un médico o paramédico entrenados, no se requiere mayor atención, excepto vigilar que el DIU permanezca en su sitio, es la usuaria quien puede hacerlo.	Más del 25% de usuarios discontinúa su uso debido a trastornos menstruales, puede presentarse sangrado intermenstrual. Existen estudios que los mantiene como agentes causales de cáncer uterino y de mama, aunque en el humano, no existen datos concluyentes.	El anticonceptivo no debe usarse si se sospecha de embarazo, o si se presenta un sangrado genital anormal. No debe usarse si se sospecha de alguna enfermedad cardiovascular.
				Requiere de una cuidadosa selección de los usuarios. De un 10-15% de usuarios discontinúan su uso debido al incremento en el sangrado manchado, lo cual es normal en los primeros meses de uso, la persistencia de irregularidades menstruales, puede ser signo de patologías uterinas, de infecciones o de un DIU mal colocado. La presencia de es-	El uso del DIU puede ser difícil para quienes tienen condiciones anormales del cervix, del útero u ovario y/o una infección activa o reciente en las trompas o en el ovario. Las usuarias que tienen más de un compañero sexual, tienen mayor riesgo de infección. El DIU no debe ser usado cuando: hay sangrado vaginal anormal, anemia, sospecha de embarazo,

Anticonceptivo  
oral  
(anticonceptivo  
oral combinado)

0.5 1-8

Los anticonceptivos orales son efectivos, cuando son utilizados de manera adecuada. Provocan un 50% de riesgo de inflamación pélvica y disminuye el riesgo de cáncer ovárico y de útero.

pasmos y dolor también son causas de discontinuación de DIU y puede ser provocado por la inadecuada colocación del DIU, infección, aborto espontáneo o embarazo ectópico (5%). La causa más común de muerte relacionada con el uso del DIU es el aborto séptico espontáneo. El riesgo de contraer la enfermedad pélvica inflamatoria es de 2-10 veces mayor entre las usuarias del DIU; esto es causa de infertilidad.

El riesgo de falla se incrementa cuando las píldoras no son tomadas regularmente. Efectos laterales comunes incluyen: sensibilidad en los senos, náusea, dolor de cabeza, vómito, ganancia o pérdida de peso, y sangrado entre períodos. Existe mayor posibilidad de contraer serias enferma-

antecedentes de embarazo ectópico. Los DIU de cobre no deben ser usados por mujeres sensibles al cobre.

El riesgo de ataque cardíaco o formación de coágulos, incrementa en usuarias de anticonceptivos orales mayores de 35 años y fumadoras. No deben usar anticonceptivos orales mujeres que han sufrido ataque al corazón, formación de coágulos, angina de pecho, cáncer de mama y/o útero, tumor hepático o función hepática disminuida. Debe

dades cardiovasculares especialmente las fumadoras, mayores de 35 años. Los usuarios de anticonceptivos orales, tienen mayor riesgo que las no usuarias de desarrollar enfermedad de la vesícula biliar. Hay evidencias no concluyentes de que el uso de anticonceptivos orales incrementa el riesgo de cáncer cervical y tumores benignos. El uso de anticonceptivos orales provoca disminución en la cantidad de leche materna.

considerarse el uso de otro método anticonceptivo cuando hay periodos irregulares, sangrado vaginal anormal, migraña, dolor de cabeza, enfermedad del corazón, renal, hipertensión, diabetes o epilepsia.

#### Minipíldora

1 3-10

La minipíldora no afecta la lactancia. Teóricamente tiene menor riesgo de provocar enfermedades cardiovasculares, disminuye el dolor y la pérdida de sangre menstruales.

Presenta un mayor índice de embarazo que los anticonceptivos orales, además presenta un alto grado de embarazo ectópico.

Puede ser considerada por mujeres a quienes los anticonceptivos orales están contraindicados. No deben ser usados en mujeres que experimentan sangrado anormal y en quienes han tenido embarazo ectópico.

Barrera física

Condón

1-2 3-15

Este método es efectivo, barato, de fácil uso y adquisición. Además, protege de algunas enfermedades transmitidas por contacto sexual.

Debe verificarse siempre el estado del condón, ya que éste depende de las condiciones en que haya sido almacenado. Las condiciones de colocación hace que sea incómodo para algunos usuarios, ya que requiere detener la actividad sexual por algunos momentos después de la erección.

Su uso no tiene ningún inconveniente a menos que el o la pareja sean sensibles al material del condón.

Diafragma

2 4-25

El diafragma no presenta efectos tóxicos y puede ser colocado al comienzo de la actividad sexual o antes del contacto. Protege de algunas enfermedades transmitidas por contacto sexual.

Algunas mujeres que usan diafragma son más propensas a infecciones en la vejiga. Puede provocar reacciones alérgicas al material del diafragma o moverse de su lugar por ser de tamaño inadecuado por lo que debe revisarse periódicamente que sea del tamaño adecuado.

No se recomienda a mujeres con tonicidad muscular pobre, útero hundido y obstrucciones vaginales.

Químico no hormonalAnticonceptivos  
vaginales

3-5 10-25

Pueden ser usados por cualquier mujer. Protegen de algunas enfermedades transmitidas por contacto sexual y pueden ser adquiridos sin prescripción médica.

Deben ser aplicados de 5 a 10 minutos antes de cada contacto sexual. No se conocen efectos laterales, aunque puede llegar a provocar irritación en el área genital del hombre y/o la mujer.

Pueden ser usados los productos a menos que se desarrolle una reacción alérgica.

## Esponja vaginal

11 15-30

La esponja es fácil de insertar y debe colocarse antes del contacto sexual, este puede repetirse en un período de 24 horas. El uso de la esponja, puede proteger contra algunas enfermedades transmitidas por contacto sexual.

La esponja puede provocar alguna reacción alérgica que debe desaparecer cuando esta sea retirada. Si la cuerda de la esponja no se alcanza o se rompe es necesaria la atención médica. La esponja no debe permanecer en la usaría por más de 24 horas ni durante la menstruación, después del nacimiento o de un aborto.

Son precisamente las mujeres que usan también las que podrían usar la esponja. Las mujeres con dedos cordos podrían tener dificultades para colocar la esponja o retirarla. El riesgo de embarazo es alto entre mujeres cuya tonicidad muscular vaginal es pobre o en el estado posterior al parto.

	pf. 289-290°C comp. glucosa, β-sitosterol	específica sobre el útero aislado
Saponina Dos	Rf 0.43 pf. 305-307°C comp. diosgenina, glucosa, ramnosa	Estimula la contracción del útero aislado
Saponina Tres del extracto alcohólico	Rf 0.72 pf. 232-233°C comp. diosgenina, glucosa, ramnosa	Estimula la contracción del útero aislado
Saponia Tres recristaliza- da de EtOH 80%	Rf 0.72 pf. 301-302°C comp. diosgenina, glucosa, ramnosa	Estimula la contracción del útero aislado

En la rata castrada la mezcla de saponinas extraída con alcohol de Cos-  
tus speciosus provoca incremento del peso uterino, así como de su contenido  
en glucógeno, efectos semejantes a los que produce etilbestrol (61).

En la rata, la mezcla de saponinas de C. speciosus muestran efecto an-  
tifertilidad sin provocar acciones teratogénicas. En dosis mayores la misma  
mezcla tuvo actividad antiovlutoria (64).

#### Gleditschia horrida

La fracción de saponinas aislada de la planta provoca el bloqueo de la  
preñez en el 100% de los ratones tratados, mientras que el extracto crudo  
provocó el bloqueo de la preñez en un porcentaje ligeramente menor 93%. Aun-  
que no se aisló la saponina responsable del efecto, parece ser una saponina  
triterpénica y su azúcar una hexosa (15).

Persea americana- (auñcatl)

En la medicina tradicional del Africa, del centro de México, y la Península de Yucatán, se ha utilizado como inductor del parto el cocimiento de las hojas y semillas del Auñcatl. Los estudios biológicos indican que posee efectos estimulantes de la contracción uterina. De los extractos se han aislado la serotonina y tiramina (47).

Ruta graveolens-Ruta chalepensis (Ruda)

La Ruda es utilizada ampliamente en China, India, Africa, Paraguay, Brasil y Chile. De sus extractos se han aislado sustancias tales como la skimianina, la rutina y la hesperidina (10).

En el humano posee actividad abortiva y ecbólica cuando se administra en forma de infusión. Durante mucho tiempo ha sido utilizada para favorecer el sangrado menstrual y disminuir las molestias que éste produce.

La administración de extractos etanólicos ( 8 mg/100g. peso corporal) a ratas en el primer día de la preñez, bloquea el desarrollo de la misma (31).

Chenopodium ambrosoides - (Epazote)

Al epazote se le atribuyen propiedades antihelmínticas y emenagogas. El estudio químico del epazote indica que existe gran cantidad de ascariol (vermífugo), p-cimeno, limoneno, terpineno y mentadieno. Todos los órganos de la planta tienen saponinas de carácter neutro cuyo contenido incrementa con el desarrollo de la misma. Su actividad como emenagogo no ha sido confirmada (47).

Cinnamomun zeilanicum- (Canela)

Es utilizada en la India, México y China. "In vitro" se ha demostrado

que posee acción estimulante de la contracción uterina. A la fecha se han aislado de la planta el eugenol (que es utilizado como antiséptico) y miristicina que es inhibidor de la monoamino oxidasa.

#### Citrus limon-(Limón)

Es utilizado en la India y en México. De C. limon se han aislado dos compuestos que poseen actividad estimulante de la contractilidad uterina tanto "in vivo" como "in vitro": la tiramina y la hesperidina.

#### Ananas comosum-(Piña)

Es ampliamente utilizado en Haití, India, Panamá y Surinam. De sus extractos se han aislado serotonina, la cual posee actividad estimulante del útero y el 5-estigmasten-3,7-diol que tiene efectos abortivos en el ratón y altera el proceso de implantación en la rata (10).

#### Artemisa ludoviciana sp mexicana-Iztauhyatl-(Estafiate)

Tradicionalmente se ha utilizado al estafiate para combatir trastornos digestivos y como antihelmíntico... En información más detallada se indica que el estafiate provoca sensación de "calor" en la región epigástrica, sed y sensación de vacuidad en el estómago, incrementa el apetito, facilita la digestión y tiene acción sobre el útero sin especificar cual es ésta.

El estudio de su composición química muestra en el aceite esencial la presencia de  $\alpha$  y  $\beta$  belandrenos, limoneno, alcanfor y borneol, así como la estafiatina una lactona sesquiterpénica.

De la A. absinthium, otra especie de estafiate, se ha aislado una cetona terpénica bicíclica llamada tuyona que posee cierta actividad antihelmíntica y emenagoga sin que existan otras evidencias experimentales que apoyen esta información.

Argemone mexicana L. (chicalotl)

En 1962 se realizó un estudio farmacológico del chicalotl que reveló su capacidad para disminuir la presión arterial, así como cierta actividad ocitócica sobre el útero de la rata. El estudio químico indicó que la protopina es la responsable del efecto sobre el útero, ya que incrementa la fuerza de contracción del músculo liso. La berberina, un alcaloide aislado de esta planta, también posee capacidad para estimular la contracción del músculo liso.

Montanoa tomentosa-Cihuapatli (Zoapatle)

Desde hace varios siglos se ha utilizado para el tratamiento de "problemas" vinculados a la reproducción. Ya Sahagún en 1570 se refiere al uso de esta planta para ayudar al trabajo de parto. En el códice Badiano se indica el uso de Cihuapatli como remedio para la parturienta, la menstruación, los tumores mamarios y la producción de leche (47).

En varias regiones de la República Mexicana el zoapatle fue y es utilizado para regularizar los períodos menstruales y en otras ocasiones se le utilizó como abortivo.

Del zoapatle se han aislado gran cantidad de compuestos como son: ácido kauradienólico, ácido kaurénico, ácido monogénico, la zoapatlina, el monoginol, la tomentosina, el montanol, y el zoapatanol. Sin embargo, las pruebas farmacológicas indican que sólo el ácido kauradienólico posee efectos útero-estimulantes siendo más potente la infusión de hojas de zoapatle que el compuesto puro aislado (46,47).

Cuando se administra por vía oral o intra venosa se ha demostrado en diferentes modelos animales que posee actividad antiimplantación. De los estudios con ácido kauradienólico se concluyó que su actividad depende de la especie animal usada, así como del estado hormonal del mismo (47).

En estudios clínicos no ha sido posible demostrar la actividad abortiva del extracto de hojas de zoapatle. La infusión de zoapatle administrada en dosis de 1.0-1.4 g. peso seco/Kg de peso corporal durante dos días, provocó dilatación del cuello uterino, dolor menstrual y sangrado dentro de

las cuatro-seis horas después de la administración oral, sin lograr el aborto. La falla del extracto se atribuyó a las condiciones de transportación adecuadas (México-Suiza) (45).

El Instituto Central de Investigación de Fármacos de ucknow de la India publicó una extensa revisión de los productos vegetales utilizados en el control del proceso reproductivo, de los cuales se ha realizado el ensayo biológico. A continuación se presentan sólo algunos casos en los que se reporta actividad superior al 80% (42).

#### REGULACION DE LA FERTILIDAD EN LA HEMBRA

##### I Antiovulatorios

<u>Nombre científico</u>	<u>Extracto</u>	<u>Actividad %</u>
<u>Aloe barbadensis</u> hoja	alcohólico 50%	80

II Interceptivos: actúan como bloqueadores de la implantación y estimulan la reabsorción fetal.

<u>Abroma augusta</u> Linn raíz	éter de petróleo	95
<u>Abrus precatorius</u> Linn raíz	éter de petróleo	80
semilla	"	100
<u>Achyranthes aspera</u> Linn corteza	bencénica	100
<u>Aloe barbadensis</u> Mill hoja	alcohólico 50%	100
<u>Aristolochia indica</u> Linn raíz	éter de petróleo clorofórmico alcohólico	100 100 100
<u>Butea monosperma</u> Lam semilla	alcohólico	100

<u>Nombre científico</u>	<u>Extracto</u>	<u>Actividad %</u>
<u>Carica papaya</u> pulpa de la fruta inmadura	-----	100
<u>Cominum cyminum</u> semilla	alcohólico	100
<u>Curcuma longa</u> Linn rizoma	éter de petróleo	100
<u>Daucus carota</u> semilla	alcohólico	100
<u>Embelia ribes</u> Burm raíz	-----	100
<u>Hibiscus rosa sinensis</u> flor	benceno	100
<u>Hyptis suaveolens</u> Poit hojas	alcohólico	100
<u>Lygodium flexosum</u> planta completa	alcohólico	100
<u>Mentha arvensis</u> Linn hojas	alcohólico	100
<u>Plumbago zeylanica</u> raíz o fruto	alcohólico 50%	100
<u>Pueraria tuberosa</u> raíz	alcohólico	100
<u>Sapindus trifoliatus</u> Linn semilla	alcohólico	100

<u>Nombre científico</u>	<u>Extracto</u>	<u>Actividad %</u>
<u>Woodforfia fruticosa</u>		
flor	alcohólico	100

### III Plantas con capacidad abortiva o estimulante del útero

<u>Carica papaya</u>		
fruto inmaduro	-----	100
<u>Cychoriun intybis</u>		
planta completa	alcohólico	80

De la planta Adhatoda vasica se aisló un compuesto del cual existen trabajos más detallados. El constituyente activo es la vasicina, un potente estimulante uterino tanto en el útero grávido como en el no gestante, con una fuerza equivalente a las contracciones producidas por 0.002 UI de ocitocina. Administrado por vía intraperitoneal a ratas pretratadas con estrógenos, provoca 100% de reabsorción. Carece de efecto cuando se administra por vía oral.

El compuesto no tiene efectos teratógenos, la LD<sub>50</sub> es de 78.5 mg/Kg en ratón y 250 mg/Kg en rata.

Se realizaron estudios de administración intraamniótica en humanos, en dosis de 10-250 mg en las semanas 14 y 20 de gestación; los resultados indican que en dosis superiores a 60 mg se tiene 100% de actividad. Los estudios realizados hasta la fecha indican que su mecanismo de acción involucra la secreción de prostaglandinas (42).

En la búsqueda de plantas que regulen el proceso reproductivo, los estudios también se han enfocado hacia la regulación de la fecundidad en el hombre y se han estudiado gran cantidad de productos vegetales. A continuación se mencionan algunos ejemplos clasificados por su acción particular( 24 ).

<u>Nombre científico</u>	<u>Compuesto</u>	<u>Mecanismo</u>
<u>Aristolochia indica</u>	ácido p-cumárico	Es un inhibidor de la secreción de prolactina; sin embargo después de la administración prolongada provoca pérdida de la libido(estudiado en ratón, fracción cloroformica).
<u>Azadirachta indica</u>	-----	Reduce en un 80% la fertilidad de los machos; no hay efecto antiespermatogénico y se recupera la capacidad para fertilizar a los 45 días después de la administración; sin embargo hay pérdida de la libido(estudiado en ratón, infusión de la planta completa).
<u>Balanites roxburghii</u>	-----	Provoca atrofia de los testículos y el epidídimo secundaria a la hiperglucemia(estudiada en perro, extracto etanólico).

Calotropis  
procera

cardenillos  
citotóxicos

Hay cambios degenerativos en espermatogonia, espermatocito y célula de Sertoli (extracto etanólico, estudiado en gerbil macho)

Carica papaya

-----

El extracto acuoso provoca disminución de la motilidad de los espermatozoides, sin cambios significativos en el peso de los órganos (estudiado en rata).

Catharanthus  
roseus

vinblastina  
vincristina

Provoca cambios degenerativos en los elementos espermatozoides de los testículos. La vinblastina produce oligospermia en el humano.

Ecballium  
elaterium

-----

Disminuye la motilidad de los espermatozoides, modifica el pH del semen y provoca reducción de la cantidad de espermatozoides. (estudiado en conejo)

Hibiscus rosa  
sinensis

-----

En la rata ejerce efecto antiespermatogénico con desorganización del tejido testicular, destrucción de las espermatozoides y las células de Leydig parecen afectadas.

<u>Hippophae</u> <u>salicifolia</u>	-----	Provoca cambios degenerativos en el epitelio seminífero y en los testículos (extracto metanólico estudiado en rata).
<u>Lupinus</u> <u>termis</u>	-----	Hay decremento de la producción de esperma; no se sabe si es por efecto de la disminución de testosterona.
<u>Momordica</u> <u>charantia</u>	-----	En el gerbil el extracto etanólico administrado por vía oral, bloquea la espermatogénesis y reduce el peso testicular.
<u>Gossypium</u> <u>spicica</u>	Gosipol	El gosipol inhibe la producción de esperma sin disminuir los niveles de testosterona ni LH en el hombre y el mono. Sin embargo, en la rata induce la reducción de los niveles de ambas hormonas así como del peso de las vesículas seminales, la próstata, el epidídimo y los testículos. La alteración de las células espermatogénicas, la disminución del nivel de testosterona y la disminución de la unión al receptor de andrógenos, sugiere que en la rata el gosipol ejerce efectos antiandrogénicos (50).

En la rata, el tratamiento con gosipol no induce alteraciones de la permeabilidad de la barrera hematotesticular ni tampoco de la hematopididimal pero sí se observaron alteraciones morfológicas en las mitocondrias de los espermatozoides.

Sin embargo, los efectos causados por el gosipol no se deben sólo a alteraciones hormonales, sino también a acciones propias como la de desacoplar la cadena respiratoria. El gosipol provoca el llamado síndrome flagelar (defectos en los flagelos de los espermatozoides) que no es reversible con la administración de testosterona, lo que indica que este efecto no es hormona-dependiente (37).

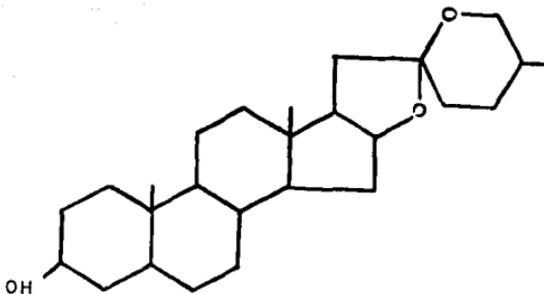
En la rata la administración de gosi<sup>o</sup>pol provoca la degeneración de células germinales, alteración de las células de Sertoli y atrofia testicular( 50 ).

En el hombre la administración de gosi<sup>o</sup>pol durante 35-42 días provoca azoospermia y en algunos casos necrospermia; también provoca efectos secundarios como cansancio, pérdida de la libido, mareo, sequedad de la boca y trastornos gástricos( 24 ).

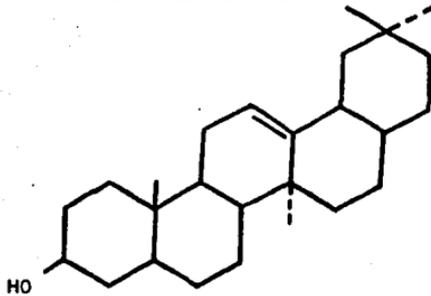
### Características químicas de las saponinas

Las saponinas son glucósidos vegetales que tienen la propiedad de formar espuma cuando se agitan en agua. Los glucósidos cardiacos poseen también esta propiedad, aunque son clasificados por separado debido a que poseen actividad biológica específica. Las saponinas son clasificadas como saponinas esteroidales y saponinas triterpenoides lo que depende de la naturaleza del residuo sin azúcares denominado aglucón . El aglucón de las saponinas esteroidales es comunmente un espirostanol o su modificación.

- a) Saponinas esteroidales- Son esteroides de 27 átomos de carbono y poseen una cadena lateral espirocetálica que muestra bandas de absorción en IR características en  $1350$  a  $875\text{ cm}^{-1}$

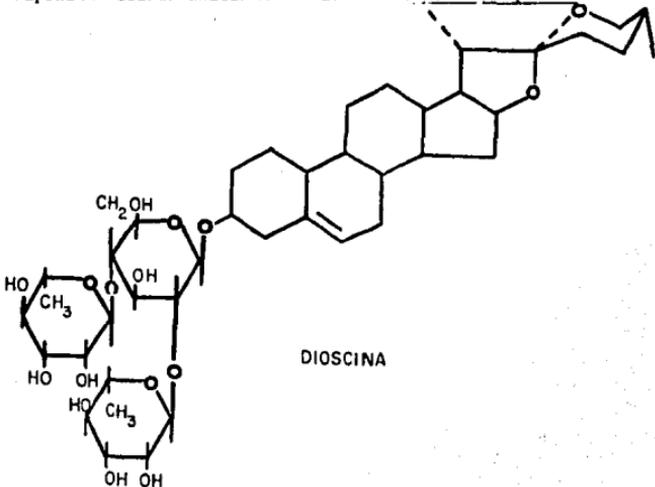


b) Saponinas triterpenoides- Las saponinas triterpenoides con pocas excepciones pertenecen al grupo de la  $\beta$ -amirina, usualmente son alcoholes o ácidos simples. En algunas ocasiones se han encontrado sapogeninas con funciones aldehído o lactona.



Las sapogeninas y sus geninas son detectadas por la coloración de sus productos de reacción con diferentes reactivos como el cloruro de tionilo, el ácido fosfomolibdico, el ácido silicotungstico y el reactivo de Liebermann-Buchard(48).

Las saponinas son compuestos difíciles de aislar en estado puro ya que su estructura es muy compleja; en la figura se muestra la estructura de la dioscina, la saponina aislada inicialmente de la *Dioscorea composita*.



En las saponinas estudiadas, se han encontrado formando la parte glúcida azúcares del tipo de la D-glucosa, D-galactosa, D-xilosa, L-ramnosa y L-arabinosa que generalmente están unidas al aglicón en el oxhidrilo de la posición tres.

Aunque en la actualidad se utilizan métodos de separación más sofisticados como la cromatografía de alta resolución, en el trabajo cotidiano, un primer intento es el uso de la cromatografía en columna utilizando como eluyente mezclas de disolventes generalmente polares(5,48).

## II SISTEMA REPRODUCTOR MASCULINO

El sistema reproductor masculino está formado por el testículo (dos), el epidídimo (dos), el conducto deferente (dos), la vesícula seminal (dos), la próstata, glándulas bulbouretrales y el pene. (Fig. 1 ).

### TESTICULO

El testículo es un órgano formado por varios túbulos tortuosos los túbulos seminíferos, que en el hombre miden de 30 a 70 centímetros y cuyo diámetro varía entre 150-300  $\mu\text{m}$ , agrupados en lobulillos piramidales, y por un compartimiento intersticial en el cual se localizan las células de Leydig. Están revestidas por una cápsula fibroelástica denominada túnica albugínea.

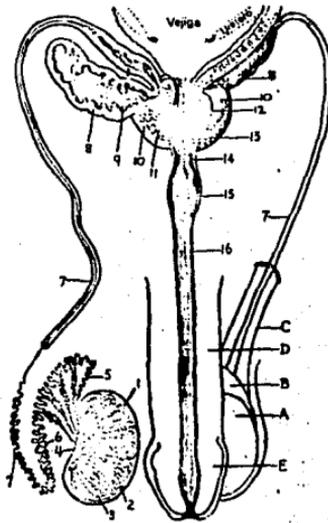
El túbulo seminífero está constituido por una membrana basal con células las mioides peritubulares y una cubierta interna epitelial estratificada constituida por dos tipos de células:

- a) Células de Sertoli
- b) Células de la serie espermatogénica, que comprende desde las espermatogonias hasta los espermatozoides.

Las uniones ocluyentes y los desmosomas entre las células de Sertoli cercanas a la base del epitelio y localizadas por encima de las espermatogonias dividen al epitelio seminífero en dos compartimentos ( Fig. 2 ):

- a) Compartimento basal- contiene espermatogonias (células con el número diploide de cromosomas, semejantes a las células somáticas).
- b) Compartimento adluminal- contiene espermatoцитos (células cuyos cromosomas se han duplicado y en los que se ha producido en intercambio de bloques genéticos) espermátides (células haploides) y espermatozoides (células haploides).

La disposición de las células de Sertoli y las células mioides forman dos compartimentos: el compartimento basal que es el soporte estructural que



**Fig. 1** Esquema de los órganos genitales masculinos. A, testículo; B, cabeza del epidídimo; C, cordón espermático, D, pene; E, glande; 1, túnica albugínea; 2, tabiques del testículo; 3, túbulo seminífero; 4, mediastino con rete testis; 5, conductillos eferentes; 6, conductos del epidídimo; 7, conducto deferente; 8, vesícula seminal; 9, ampolla del conducto deferente; 10, glándula prostática; 11, conducto eyaculador, 12, verum montanum con su abertura en el utrículo --- prostático; 13, 14 y 16 porciones prostáticas membranosa y peneana de la uretra; 15, bulbo de la uretra. (Copnhaver 1981)

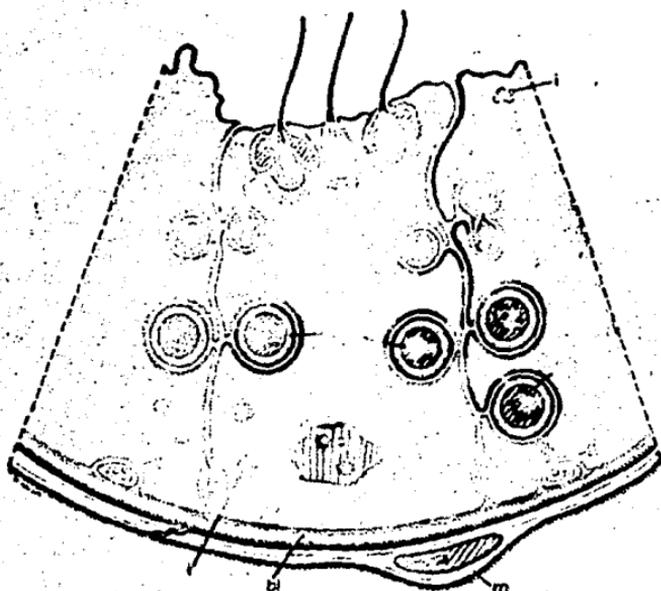


Fig. 2 Esquema de las relaciones celulares en el túbulo seminífero. Las células de Sertoli se extienden sobre la lámina basal -- hasta la luz del túbulo. Las invaginaciones de su membrana -- superficial rodean a las células germinales en desarrollo, -- a lo largo de su maduración. Las espermatogonias primarias -- están expuestas sobre la lámina basal, pero cuando ya se -- se han diferenciado a espermátocitos, han perdido sus rela-- ciones y han migrado hacia la luz, pasando una serie de unio-- nes ocluyentes. Las uniones ocluyentes aíslan a las célula-- germinales en maduración, de la influencia directa de las -- sustancias que hay en los espacios de tejido conectivo inter-- tubular y así forman una barrera sanguínea-testicular. g, es-- permatogonia; c, espermátocitos; t, espermátidas; s, núcleo-- de la célula de Sertoli; i, cuerpos de inclusión en el cito-- plasma de la célula de Sertoli; bl, lámina basal; m, célula-- mioide. (Copenhaver, 1981).

separa la superficie basal de las células de Sertoli y el compartimento de las células mioides peritubulares que permite el intercambio libre y directo de nutrientes y productos de desecho entre la vascularización intersticial y las células espermatogénicas más primitivas. El compartimento más apical está aislado de estos intercambios.

Esta disposición celular que divide al túbulo en dos compartimentos se denomina barrera hematotesticular, cuya función más importante es regular el movimiento de iones y proteínas en ambas direcciones. Ello implica que las espermatides, así como las células en las siguientes etapas de desarrollo, se encuentren en un ambiente diferente al del resto del túbulo. Esta separación impide la salida de antígenos provenientes de células que se encuentran de un lado de la barrera, así como también la entrada de anticuerpos o células del sistema inmune. (14)

En el testículo de los mamíferos, la célula de Sertoli es el blanco de acción de la hormona folículo estimulante (FSH) la cual se une a un receptor membranar y activa al sistema adenilatociclasa dependiente de  $Mg^{2+}$  y de guanidil nucleótidos. Esto regula diversos procesos celulares que se listan a continuación (20):

- 1.- Flujo de iones.
- 2.- Metabolismo de nucleótidos cíclicos
- 3.- Actividad enzimática.
- 4.- Síntesis de ARN
- 5.- Síntesis y secreción de esteroides y proteínas
- 6.- División celular
- 7.- Movilidad celular.

La célula de Sertoli secreta diversas hormonas y productos no hormonales cuyas funciones no son totalmente conocidas.

- 1.- Proteína con capacidad para unir andrógenos (A B P)

La ABP es un dímero glucoprotéico que une testosterona y 5-dihidrotosterona. Su secreción es estimulada por la FSH, la progesterona la hi-

- droxicorticosterona, la testosterona y el estradiol. Aproximadamente el 20% de la ABP producida por la célula de Sertoli es secretada hacia la sangre. (65)
- 2.- Activador de Plasminógeno  
Es una proteína secretada al tiempo que ocurre la liberación de espermatozoides a la luz del túbulo; es posible que esté involucrado en los procesos de espermiación. (44)
- 3.- Transferrina  
Es una proteína transportadora de  $Fe^{2+}$ . Se ha propuesto que capacita a las células a traspasar la fase G<sub>2</sub> del ciclo celular. (62)
- 4.- Somatomedina testicular  
Se trata de un factor con actividades similares a las de la somatomedina de origen hepático. (57)
- 5.- Inhibidor de la actividad de aromatasas  
Las células de Sertoli inmaduras secretan un factor que inhibe la actividad de la aromatasas, enzima que convierte la testosterona y la androstendiona en estradiol. (7)
- 6.- Inhibina  
Hormona peptídica que inhibe la síntesis y la secreción de FSH y parcialmente la de LH en cultivos de células de adenohipófisis. (27)
- 7.- Factor de crecimiento del túbulo seminífero  
Factor mitogénico no identificado con certeza. (53 ).

Evidencias experimentales han demostrado que existe una relación funcional entre la célula de Leydig y la célula de Sertoli. Dado que morfológicamente no se ha encontrado esta relación, se ha propuesto la existencia de un factor con "actividad" semejante a la hormona hipotalámica liberadora de LH (LHRH) producido al parecer por la célula de Sertoli (60).

Las células espermátogénicas se encuentran distribuidas entre las células de Sertoli y según su grado de diferenciación (espermátocito I, espermátocito II, espermátide, espermatozoide) se desplazan hacia la luz del túbulo (Fig. 3)

Entre los túbulos seminíferos se encuentra la glándula intersticial testicular que produce andrógenos. A estas células se les conoce como células de Leydig y se originan a partir de células mesenquimáticas indiferenciadas.

La célula de Leydig es estimulada por la hormona luteinizante(LH) a través de la interacción de ésta con un receptor membranal y el consecuente incremento de  $AMP_c$  y  $Ca^{2+}$  intracelular (20). La activación del sistema adenilciclasa, así como el incremento intracelular de  $Ca^{2+}$ , provocan una serie de cambios que conducen a la síntesis y activación de enzimas esteroideogénicas.

El paso limitante en la síntesis de la testosterona es la escisión de la cadena lateral del colesterol, reacción que es catalizada por el citocromo P-450 y por la LH (30).

#### Conductos genitales ( Fig. 1)

- |                     |  |
|---------------------|--|
| 1.- Túbulos rectos: | Es el lugar donde desembocan varios túbulos seminíferos y se continúan con la rete testis. |
| 2.- Rete testis:    | Está formado por conductos anchos, donde el flujo del líquido se dirige                    |



ge hacia el conducto eferente y por éstos hacia el epidídimo. Contiene espermatozoides inmóviles, glucosa, y fructosa, así como la mayoría de los aminoácidos libres. Se han encontrado cantidades variables de esteroides, de metabolitos de la testosterona y de estrógenos.

### 3.- Conducto del epidídimo:

Es el conducto donde el espermatozoide completa su maduración y adquiere escasa movilidad.

El epitelio de cada región anatómica del epidídimo proporciona un ambiente que permite al espermatozoide "madurar". Esta maduración involucra cambios bioquímicos, morfológicos y fisiológicos.

### 4.- Conducto deferente:

La porción proximal de este túbulo corre a lo largo del epidídimo, luego se hace recto y se introduce en la cavidad abdominal como parte del cordón espermático. Antes de desembocar en la uretra se ensancha y forma la ampolla del conducto deferente. Luego se adelgaza y forma el conducto eyaculador que penetra en la glándula prostática y desemboca en la uretra.

### Vesículas seminales

Son estructuras glandulares que producen una secreción viscosa muy alcalina, rica en fructosa, que sirve como fuente energética a los espermatozoides: el líquido seminal.

### El pene.

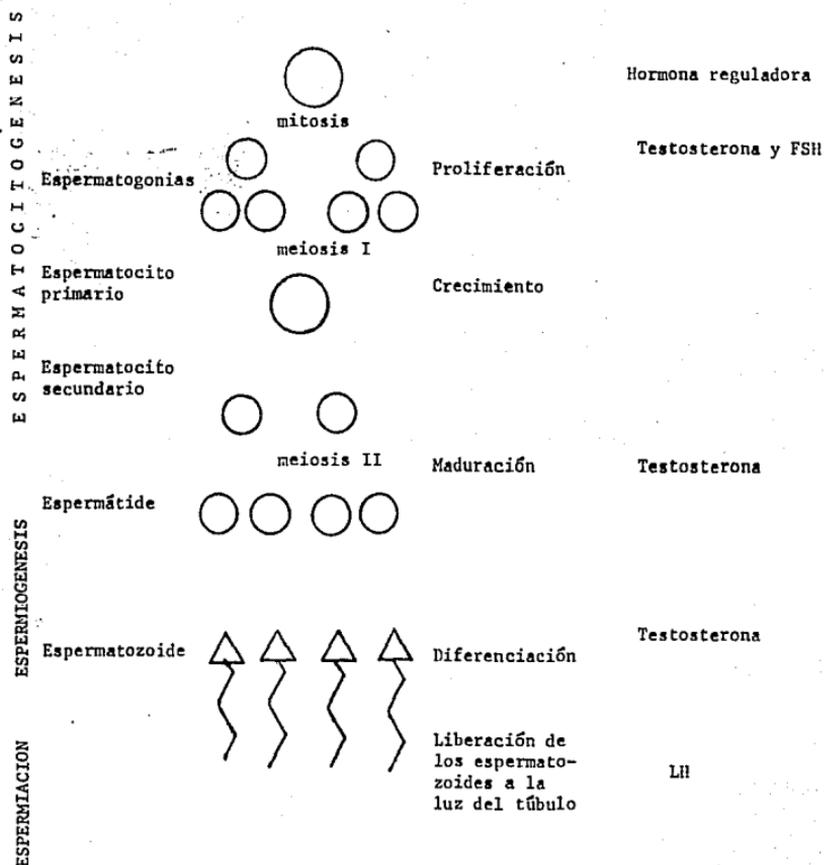
El pene está formado por tres estructuras: Dos cuerpos cavernosos cada uno rodeado por una membrana denominada albugínea y un cuerpo esponjoso. Ambos son irrigados por la arteria dorsal y la arteria profunda ramas de la arteria peneana; está innervado por fibras nerviosas espinales simpáticas y parasimpáticas.

Semen: Está formado por el líquido seminal, las secreciones prostáticas, los espermatozoides y las células que se descaman del epitelio que tapiza los conductos reproductivos y de las glándulas. Se denomina plasma seminal a la fase líquida del semen que contiene las secreciones de la próstata, de las vesículas seminales, de las glándulas bulbouretrales y del epidídimo. Este líquido es el medio de transporte y mantenimiento de los espermatozoides. En el espermatozoide el proceso de obtención de energía implica la conversión de fructosa en ácido láctico (glucólisis anaeróbica).

El volumen de eyaculado depende de la frecuencia de la emisión seminal. En el hombre normal, después de tres días de abstinencia, el volumen de eyaculado varía entre 2.5 y 3.5 ml. con  $80$  a  $100 \times 10^6$  espermatozoides por ml. de los cuales el 80% son normales y móviles (14).

### ESPERMATOGENESIS.

Los túbulos seminíferos contienen gran cantidad de células pequeñas situadas en capas a lo largo del borde externo del epitelio tubular, estas células denominadas espermatogonias establecen una relación estrecha con las células de Sertoli y son modificadas bioquímica y morfológicamente en su ascenso hacia la región adluminal, dichos cambios conducen a la formación de espermátides que son depositadas en la luz del túbulo.



ESPERMATOGENESIS  
(Houillon 1978).

Cuadro 2 composición de plasma seminal.

origen

	Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup>	
	Arginina	
	Colina	proveniente de glicerilfosforilcolina
	Espermina	
	Ergotioneína	
	Fibrina	
V.S.	Fructuosa	2mg/ml.
	Inositol	0.6 mg/ml.
	Sorbitol	0.1 mg/ml.
	Acido cítrico	4 mg/ml.
Prost.	Fosfatasa ácida	
Epidí dimo	Glicerilfosforilcolina	5 mg/ml.

Control hormonal de la espermatogénesis.

La hormona luteneizante (LH) actúa sobre la célula de Leydig donde es timula la actividad de la enzima 20-22 desmolasa, responsable de la transformación del colesterol a pregnenolona ( Fig.4 ) que es el paso limitante en su transformación a testosterona ( Fig.5 ).

La participación de la hormona folículo estimulante (FSH) en este proceso está en controversia, ya que existen evidencias experimentales que indican que ejerce su actividad solamente durante la primera onda de espermatogénesis, estimulando a la célula de Sertoli a formar la barrera hematotesticular, así como a producir el líquido túbular en donde se completa el proceso de maduración. ( 29 ).

Se ha propuesto que la FSH, así como la LH, ejercen su acción por medio de la participación de un segundo mensajero: el AMP cíclico. En la figura 6 se ilustra el mecanismo de acción general de las hormonas polipeptídicas ( 2 ).

Por estímulo de la FSH la célula de Sertoli incrementa la transforma-

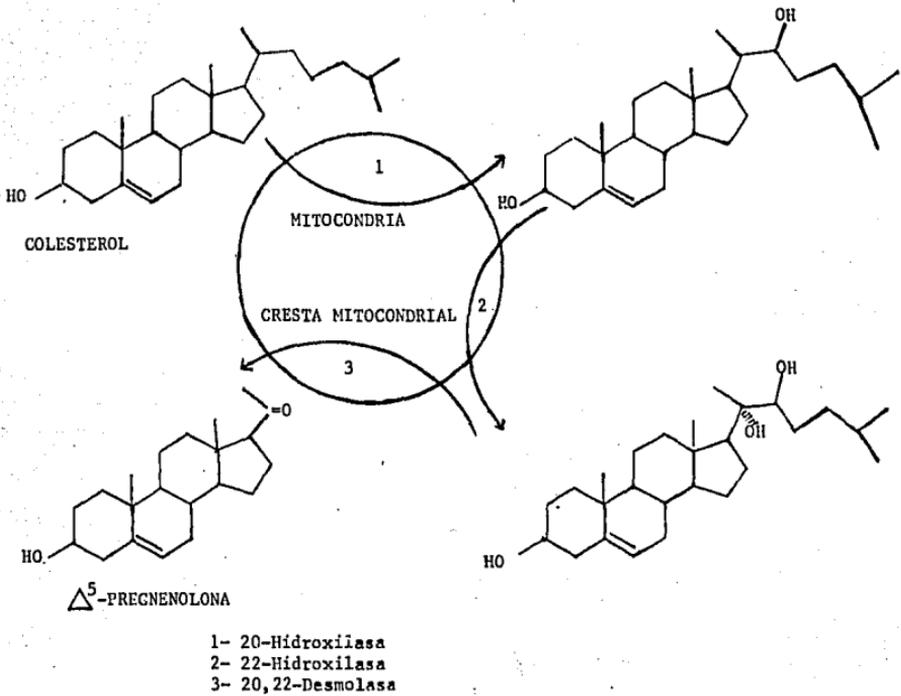


Fig. 4 Peso limitante en la síntesis de la testosterona: la transformación de colesterol a pregnenolona. En la adrenal es estimulada por la hormona adrenocorticotrópica (ACTH), angiotensina II y AMP cíclico; en la gónada por la hormona luteinizante.

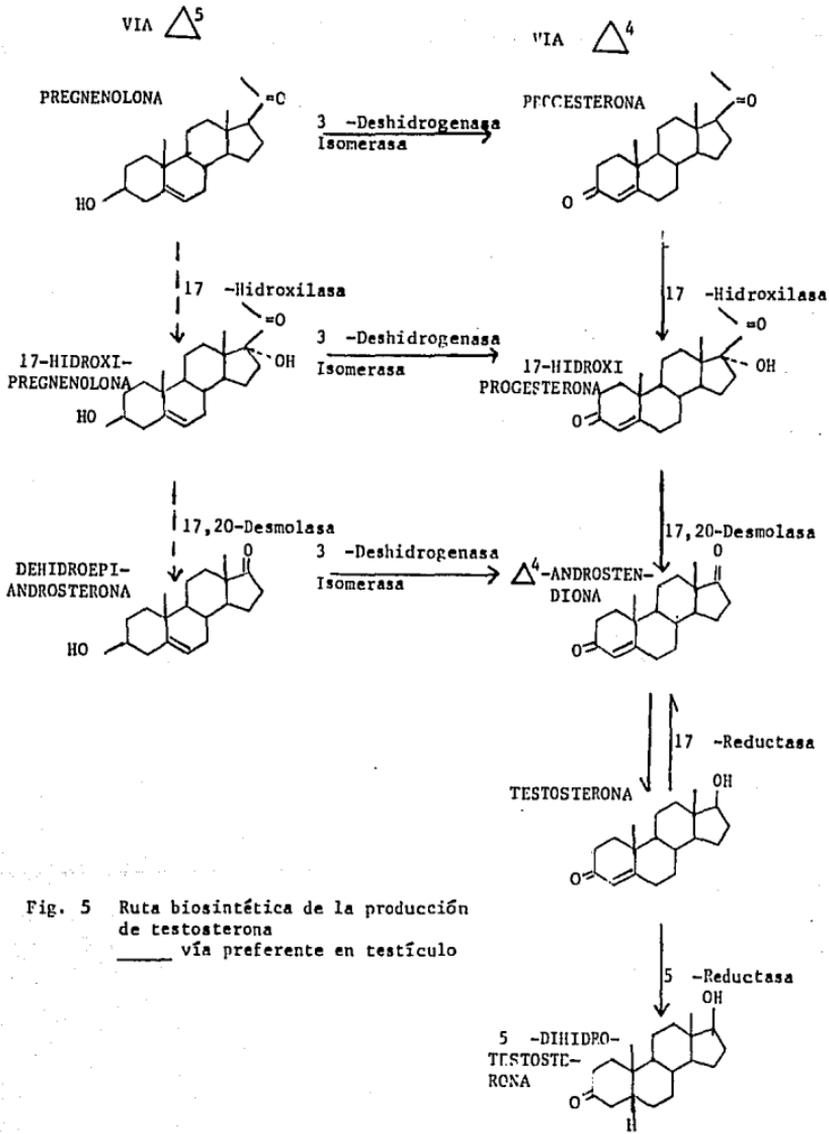


Fig. 5 Ruta biosintética de la producción de testosterona  
\_\_\_\_\_ vía preferente en testículo

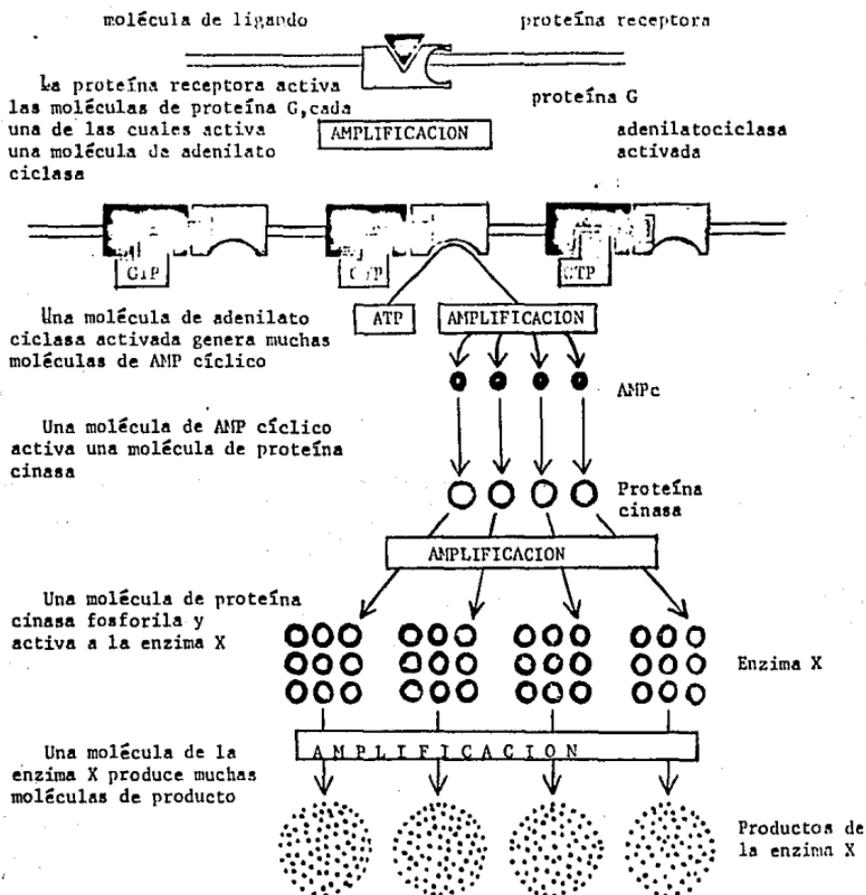


Fig. 6 Mecanismo general de acción de las hormonas polipeptídicas( Alberts 1983 ).

ción de testosterona a  $17-\beta$  estradiol, la síntesis de proteína y de DNA, así como aumento en la síntesis de proteína que une a los andrógenos (ABP o PUA o PTA).

La FSH y la LH son hormonas secretadas por las células basófilas de la adenohipófisis. Ambas son glucoproteínas con un contenido en carbohidratos del 18 al 20% principalmente manosa, galactosa, hexosaminas como N-acetil glucosamina y N-acetil galactosamina y ácido siálico; tienen un peso molecular de aproximadamente 25,000 daltones y pueden ser disociadas en dos unidades las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$ , en ambas hormonas la subunidad  $\alpha$  es la misma.

En el hombre, las células germinales primordiales se localizan en el endodermo dorsal del saco vitelino, a los 24 días de vida fetal. Estas células incrementan su número por mitosis y durante la cuarta y quinta semana emigran hacia la pared intestinal posterior y desde ésta a través del mesenterio dorsal a la gónada primordial.

Las porciones más internas de los cordones sexuales primarios se unen a los túbulos convolutos de origen mesonéfrico, los que dan origen a la rete testis y los tubos rectos. El conducto de Wolf da origen al epidídimo, el conducto deferente, las vesículas seminales y el conducto eyaculador. Las células intersticiales del testículo (célula de Leydig) proliferan a partir de la 6a-7a semana y comienzan a secretar andrógenos.

Después del nacimiento hay regresión de las células de Leydig. Durante la prepubertad y pubertad las células mesenquimatosas proliferan y se diferencian a células de Leydig.

Los cordones seminíferos continúan su crecimiento durante la vida fetal y la niñez. En la pubertad (6-8 años), el crecimiento de los cordones seminíferos se acelera y durante la primera etapa hay proliferación de espermatogonias e inicio del proceso de espermatocitogénesis. La culminación del proceso de espermiogénesis se alcanza al finalizar la pubertad.

En la célula de Leydig la LH estimula la producción de andrógenos, a través de su unión al receptor y del aumento de AMP cíclico. El efecto trófico sobre la célula de Leydig involucra la regulación de receptores a LH y pro lactina sobre la superficie celular y la modulación de las vías esteroideogénicas que conducen a la producción de andrógenos.

La regulación del número de receptores a LH en la célula de Leydig se realiza por dos procesos:

- a)- El de regulación estimulante
- b)- El de regulación inhibitoria

En el primer caso un incremento en la concentración de LH induce la producción de receptores a LH; en el momento en el que se alcanza el umbral de respuesta, los receptores que están ocupados no desencadenan la serie de reacciones como lo hacen cuando están en condiciones basales. A partir de este momento, la hormona estimula la pérdida o enmascaramiento de sus receptores.

Cuando la célula de Leydig pierde hasta el 50% de los receptores a LH, la secreción de testosterona, estimulada por HGC, no se altera. Sin embargo se acumula progesterona y  $17\ \alpha$ -hidroxiprogesterona que son los precursores de la testosterona.

Cuando se pierden aproximadamente 70% de los receptores, también se pierden de la capacidad esteroideogénica. La célula es incapaz de sintetizar pregnenolona y por lo tanto testosterona. Este efecto se explica por la alteración del paso limitante de la síntesis de testosterona (20)

La secreción de LH es estimulada por LHRH, lo que también estimula parcialmente la secreción de FSH.

#### Acción de Andrógenos.

El efecto estimulante de los andrógenos en la espermatogénesis se ejerce directamente sobre la célula somática y no sobre la célula germinal. Algunos

autores postulan que la célula somática (de Sertoli) es capaz de estimular el desarrollo de la célula germinal mediante la secreción de sustancias reguladoras (29). A la fecha, no se cuenta con evidencias experimentales de la existencia de tal factor regulador.

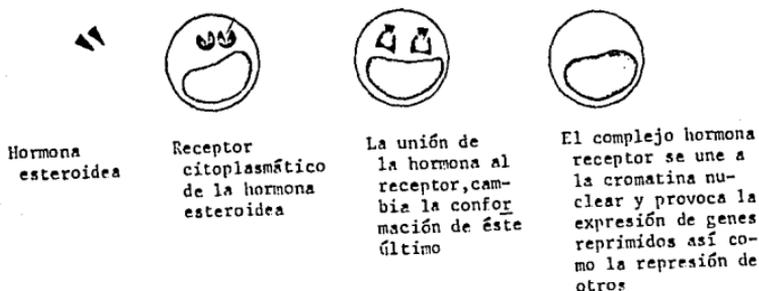
Tanto en la célula de Sertoli como en la de Leydig, así como en otras células de la economía, la acción de la testosterona requiere de la presencia de receptores citoplasmáticos. Tanto los espermatoцитos I y II como las espermatídes poseen dichos receptores. (Fig 7)

La actividad de los andrógenos es muy importante tanto en la vida uterina por sus efectos masculinizantes sobre el feto, como en la etapa prepubertad y pubertad por sus efectos sobre los órganos blanco donde activan su crecimiento y desarrollo de sus funciones durante toda la vida del individuo; los andrógenos mantienen la actividad morfológica y funcional del sistema reproductivo, su estado metabólico y la expresión de la conducta sexual.

En el cuadro 3 se resumen los principales efectos de los andrógenos durante la pubertad.

A continuación se esquematiza el mecanismo de acción de los andrógenos sobre las células blanco:

Fig. 7 Mecanismo de acción de hormonas esteroideas (Alberts, 1983)



El catabolismo de los andrógenos se realiza mediante dos tipos de reacciones:

a)- Transformación: se efectúa tanto en el hígado como en el órgano blanco (Fig. 8)

b)- Conjugación: se conjugan con ácido glucurónico o con el ión sulfato, esta reacción se efectúa en el hígado y el esteroide conjugado es posteriormente eliminado por vía renal.

También pueden ser secretadas por la bilis, entrar al intestino y ser reabsorbidos (circulación enterohepática).

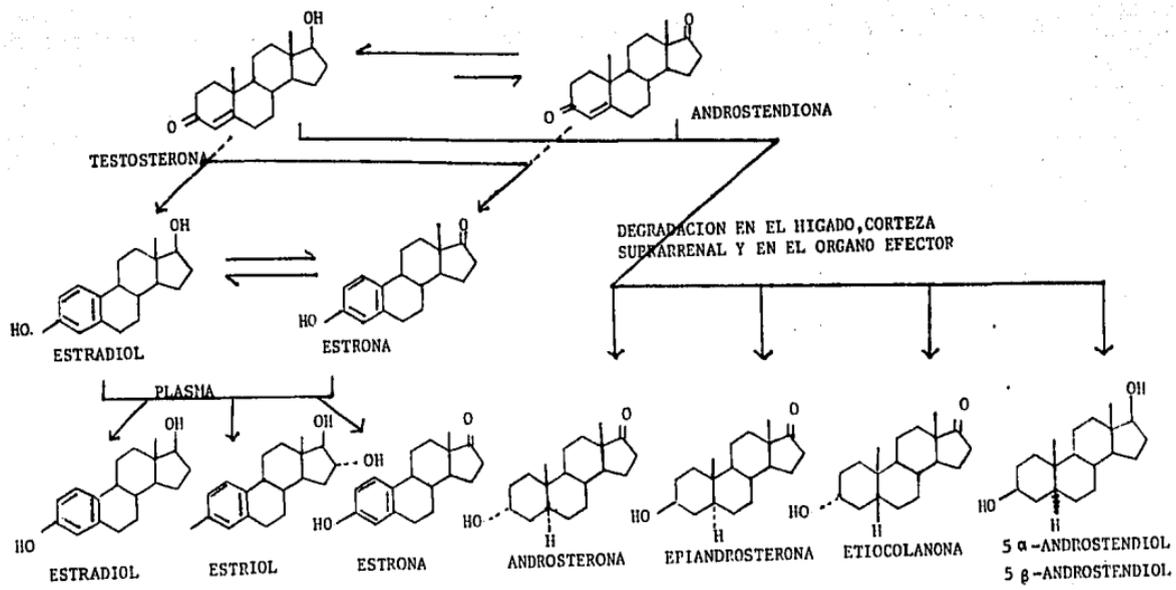


Fig. 8 Reacciones de transformación de los andrógenos y los estrógenos

**Cuadro 3 Cambios puberales debidos a las acciones de la testosterona.**

**Genitales externos:**

**Crecimiento del peñe:** El pene y el escroto aumentan de tamaño y se pigmentan. En la piel del escroto aparecen pliegues rugosos.

Crece el bigote y la barba y retrocede la línea de implantación del ca bello. El vello del pubis crece hacia arriba y se distribuye en la forma romboide típica del hombre. Aparece vello en las axilas, el tronco y las extremidades.

**Crecimiento de estatura:** Incremento en el ritmo de crecimiento de 5-7.5 cm. por año, hasta alcanzar la estatura de la raza.

**Organos sexuales**

**secundarios:** La próstata y las vesículas seminales crecen y se agrandan en el curso de los cuatro a cinco años siguientes. Al inicio de la pubertad aparece la actividad secretora.

**Voz:** El tono de voz se hace más grave a causa de la hipertrofia de la laringe y del engrosamiento de las cuerdas vocales.

**Conducta:** Se manifiesta en actividades más agresivas, hay desarrollo de la libido y de la potencia sexual.

**Metabolismo:** Acción anabólica sobre las proteíñas, se modifica la distribución del tejido adiposo corporal y se estimula el cierre de las epífisis.

### III SISTEMA REPRODUCTOR FEMENINO

El aparato reproductivo femenino incluye el ovario (dos) (órgano reproductor primario.), la trompa de falopio (dos), el útero que en conjunto reciben el nombre de genitales internos, la vagina, los labios mayores, los labios menores, el clitoris, (genitales externos) y la glándula mamaria (órganos reproductores secundarios) (Fig. 9 ).

#### EL OVARIO

El ovario es una estructura glandular que en la mujer mide aproximadamente cuatro centímetros de longitud, en el que histológicamente se distinguen dos zonas:

Zona Medular	Tejido conectivo laxo vasos sanguíneos y linfáticos nervios parte de la glándula intersticial
Zona Cortical	Tejido conectivo en el cual están distribuidos los folículos, los cuerpos lúteos y parte de la glándula intersticial.

Desde el punto de vista funcional, el ovario está constituido por tres compartimientos ( Fig. 10 ).

Folicular	Formado por los folículos en diferente etapa de desarrollo (primordial, primario, secundario, preovulatorio).
Luteal	Cuerpo lúteo que se desarrolla a partir del folículo ovulado.
Intersticial	Que se forma a partir de la teca interna de folículos secundarios que sufrieron el proceso de atresia.

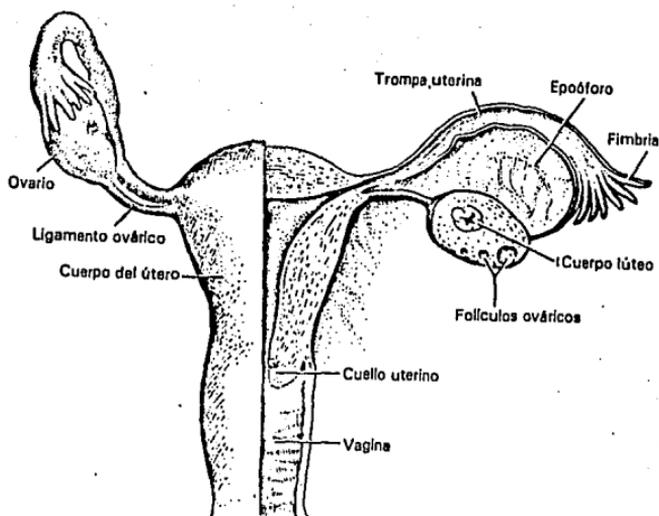


Figura 9 Esquema de los órganos internos del sistema reproductor femenino. El ovario y la trompa uterina se ven a la izquierda aproximadamente en posición normal, en cambio a la derecha han sido separados (Copenhaver 1981).

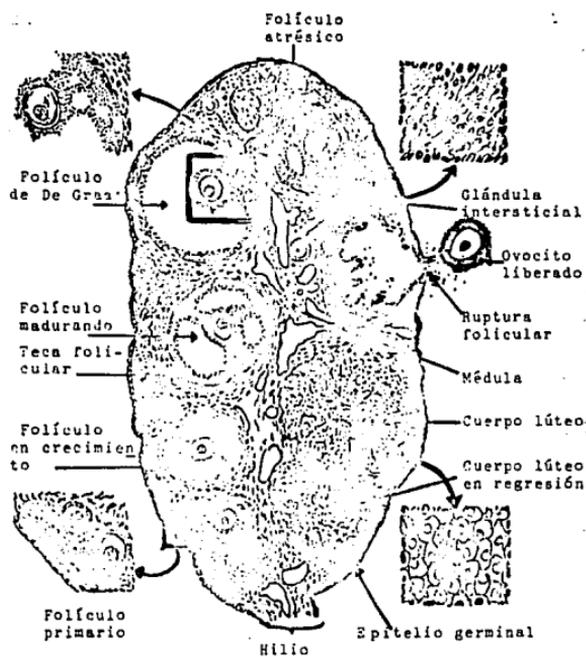


Fig. 10 Compartimientos del ovario de mamífero  
(Feder, 1981)

En la procreación y mantenimiento de las especies el ovario tiene dos funciones fundamentales, su función citogenética a través de la producción (ovocitogénesis) y liberación (ovulación) de óvulos (ovocito secundario) con el complemento cromosómico haploide (n) característico de la especie; su función glandular que consiste en la secreción de hormonas esteroidales que modulan la ovocitogénesis, el complejo sistema de regulación neuro hormonal de la secreción hipofisaria y estimulan el desarrollo y la función de los órganos reproductores secundarios (25,69).

#### TROMPAS DE FALOPPIO

Son estructuras pares que conducen al óvulo o al huevo que resulta de la fecundación del ovocito hacia la cavidad uterina; la trompa se divide en: el infundíbulo, la ampolla, el istmo y el segmento uterino o intersticial.

El aparato ciliar del epitelio de la trompa es fundamental en el transporte del óvulo fecundado (huevo) hacia la cavidad uterina donde se implantará y su estructura y funciones son moduladas por las hormonas esteroideas secretadas por el ovario.

#### EL UTERO.

Es un órgano piriforme, ancho en la porción superior en el que se distinguen dos regiones: una superior o cuerpo (el fondo) y una porción estrecha y cilíndrica: el cuello, cuya parte terminal se proyecta en la vagina como la porción vaginal del útero u hocico de tenca.

La pared del útero está constituida por tres capas:

- a)- Perimetrio: formado por una capa peritoneal que se continúa con el ligamento ancho y que posee la estructura típica de una membrana serosa.
- b)- Miometrio: Formado por varias capas de músculo liso de aproximadamente 15 mm. de espesor; la longitud de las células musculares varía a lo largo del ciclo.

- c)- Endometrio o mucosa del útero: Está compuesto por un epitelio cilíndrico simple de recubrimiento, glándulas cilíndricas que secretan mucoproteínas y un corión muy vascularizado. Durante la etapa fértil la mucosa del cuerpo y del fondo experimentan una serie de cambios cíclicos dependientes de la maduración funcional del folículo ovárico, de la ovulación y de la formación del cuerpo lúteo. Los estrógenos estimulan la proliferación, el crecimiento de las glándulas endometriales y el desarrollo de receptores a progesterona así como el contenido de agua, electrolitos, proteínas y nucleótidos en el corión de la mucosa. También actúan sobre las glándulas del cuello, las que secretan el moco cervical cuya fluidez es variable a lo largo del ciclo, la cual aumenta por efecto de los estrógenos (40,69). Una vez que la mucosa uterina ha sido estimulada por los estrógenos, la progesterona induce cambios en la morfología y la función del epitelio y las glándulas uterinas las que adquieren su capacidad secretora fundamental en el proceso de implantación y desarrollo inicial del blastocisto.

Los cambios que presenta el útero constituyen la preparación de éste a la implantación, lo que implica la hipertrofia de los elementos glandulares, vasculares e intersticiales de la mucosa. Si hay implantación, la hipertrofia continúa; en caso de que no haya fecundación o el huevo no se implanta, las capas hipertrofiadas se lisan y los restos del tejido con un poco de sangre son eliminados como líquido menstrual.

Durante el ciclo menstrual se distinguen cuatro etapas en el endometrio (Fig. 11).

- a)- Menstrual; sangrado que dura de tres a cinco días
- b)- Proliferativa o estrogénica: rápida regeneración de endometrio, la capa de tejido y los vasos sanguíneos se incrementan de 0.5 a 2.3 mm.; comprende hasta el día 13-14 del ciclo.
- c)- Prográvida o progestacional: hay hipertrofia de células glandulares así como aumento del edema y de la vascularización; se inicia desde la mitad del ciclo hasta el día 26 o 27.

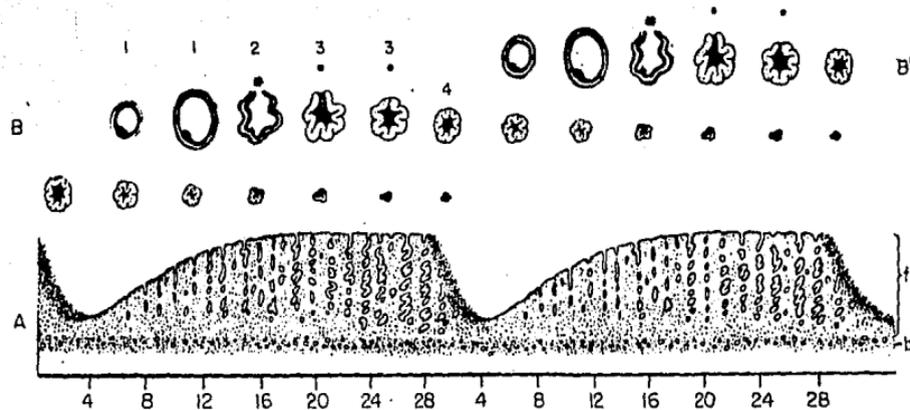


Fig. 11 Esquema que ilustra las relaciones de la menstruación y la ovulación. A, cambios cíclicos en la mucosa uterina; B, ciclos ováricos; b, capa basal, y f, capa funcional de la mucosa; 1, folículo en maduración; 2, ruptura de un folículo y salida del ovocito (ovulación); 3, cuerpo lúteo en función completa; 4 y figuras restantes, cuerpo lúteo en degeneración. Los números de la base indican los días del ciclo menstrual (Copenhaver 1981).

- d)-Prememenstrual: hay constricción de las arterias espiraladas y ésta-sis vascular, se produce anoxia en el tejido que fin-liza con la lisis del mismo y pérdida de sangre; dura de uno a dos días y termina cuando aparece el sangrado menstrual.

### LA VAGINA.

La pared de la vagina está formada por tres capas: la mucosa, la muscular y la fibrosa. La mucosa está cubierta por epitelio plano estratificado sobre una membrana basal y una lámina propia subyacente.

El epitelio vaginal es rico en glucógeno que se incrementa por la administración de estrógenos; bajo la acción de éstos la mucosa vaginal engrosa y las células superficiales tienden a cornificarse, aumenta la concentración de glucógeno en estas células y por acción de los bacilos de Dodérlein el glucógeno se transforma en ácido láctico el que confiere a la vagina su pH -- ácido normal.

En los mamíferos, los tipos de células que se desprenden de la mucosa - vaginal cambian a lo largo del ciclo y es posible conocer el día del ciclo en el que se encuentra el animal mediante la toma y estudio de frotis vaginales.

En el tejido que soporta al epitelio hay linfocitos y leucocitos polimorfonucleares; la lámina propia está compuesta por tejido conectivo laxo, rico en fibras elásticas y también se observan leucocitos polimorfonucleares.

La capa muscular está formada por haces de fibras musculares lisas que se continúan con las del miometrio en el útero; en la porción inferior el músculo liso es reemplazado por músculo estriado; la capa fibrosa está forma-da por tejido conectivo denso con muchas fibras elásticas gruesas.

A nivel de la apertura de la vagina, se encuentra un pliegue transversal en forma de semiluna denominada himen.

### EL CLITORIS

Está formado por tejido eréctil semejante al de los cuerpos cavernosos del pene; está cubierto por epitelio escamoso estratificado debajo del cual hay estroma con papilas que presentan vasos sanguíneos y fibras nerviosas sen-sitivas.

### LABIOS MENORES

Se encuentran cubiertos por epitelio escamoso estratificado, sobre una capa basal pigmentada. El tejido conectivo subyacente está muy vasculari-zado y tiene muchas fibras elásticas; en el estroma hay grandes glándulas se-báceas y terminaciones nerviosas similares a las del clítoris.

### LABIOS MAYORES

Son pliegues cutáneos que cubren a los labios menores; están constitu-idos por un epitelio escamoso estratificado y una dermis subyacente de tejido fibroelástico; en la cara interna la epidermis es más delgada, mientras que en la cara externa hay pelo, glándulas sudoríporas y sebáceas.

### GLANDULA MAMARIA

Las glándulas mamarias son de origen cútaneo y se desarrollan dentro de la fascia superficial. Cada glándula está formada por 15 a 20 lóbulos, ca-da lóbulo representa una glándula compuesta, con un conducto lobular separado que desemboca en el vértice del pezón.

La glándula está rodeada o encapsulada por una capa de tejido adiposo-tanto en la cara interna como en la superficial (excepto a nivel de la aréola). También hay tejido adiposo en el interior de la glándula, cuya cantidad varía según el estado funcional de la misma. Los ligamentos de Cooper son haces fi-breros que van desde la dermis al interior de la glándula, su función es de sostenimiento.

A cada lóbulo corresponde un conducto principal que cruza el pezón y se abre en la superficie. Los conductos se ramifican como cualquier glándula-compuesta y finalmente un conducto terminal penetra a cada lobulillo como un conducto intralobulillar.

La piel del pezón es pigmentada y algo arrugada con papilas altas de tejido conectivo, posee además muchas glándulas sebáceas.

En la mujer, los estrógenos estimulan el desarrollo de los conductos mamarios, mientras que la progesterona favorece la formación de los alvéolos; sin embargo el efecto de las hormonas esteroidales es deficiente en ausencia de hormonas hipofisarias.

En animales hipofisectomizados, el crecimiento óptimo de la glándula requiere de por lo menos cuatro hormonas: los estrógenos, la progesterona, la prolactina y la hormona de crecimiento. La actividad de las hormonas tiroideas así como de la insulina parecen ejercer un efecto indirecto a través de los procesos de obtención de energía ( 32 ).

Durante el embarazo, en la mujer, las mamas aumentan de tamaño y es notable el crecimiento de las estructuras alveolares; una vez desarrollada la mama, la secreción de leche se debe principalmente a la acción de prolactina(14) aunque en la rata se requiere de la hormona de crecimiento así como del estímulo de la succión en el inicio y mantenimiento de la lactancia ( 32 ).

#### DESARROLLO FOLICULAR Y OVULACION

Alrededor de la novena semana de vida embrionaria, en la corteza ovárica se forman cordones celulares compuestos por ovogonias en proliferación, las que darán origen a los ovocitos primarios. Al mismo tiempo, los túbulos convolutos (rete ovarii) retroceden hacia la región hiliar( 14 ).

La actividad mitótica de las células germinales cesa antes del nacimiento y las ovogonias son aisladas del resto del tejido ovárico por una cubierta de células foliculares primitivas provenientes de la rete ovárica y del epite-

lio superficial . Aquellas ovogonias que no son aisladas, degeneran y son fagocitadas. Inmediatamente que las ovogonias quedan aisladas, comienzan la profase meiótica la cual se detiene en la etapa de diacinesis o dictioteno (en los roedores), estado en el que permanecen hasta que el folículo alcance la etapa de preovulatorio o que vaya a la atresia (56).

#### OVOCITOGENESIS

A diferencia del macho, donde cada espermatocito primario origina cuatro espermatozoides funcionales, en la hembra un ovocito primario crece hasta transformarse en un óvulo maduro mientras que las otras tres células son eliminadas como cuerpos polares.

La ovogonia que contiene un número completo de cromosomas (diploide) se divide por mitosis y las células resultantes son también diploides. El período mitótico de la ovogonia termina alrededor del sexto mes de vida fetal.

El ovocito I permanece en la primer profase meiótica hasta el momento previo a la ovulación donde pasa por una división de maduración (meiosis) donde se reduce el número de cromosomas transformándose en una célula haploide (ovocito II). En esta división el contenido citoplasmático se reparte de manera desigual de tal forma que una célula permanece con la mayor parte del citoplasma (ovocito II) y la otra es el primer cuerpo polar.

El ovocito II a través de una segunda división meiótica origina una ovotida u óvulo maduro y el segundo cuerpo polar, desprovisto prácticamente del citoplasma ( Fig. 12).

En los mamíferos, durante el desarrollo folicular el ovocito duplica su tamaño, mientras que el folículo en su conjunto alcanza proporciones mucho mayores. Las diversas etapas del crecimiento del folículo ya se presentan durante la vida fetal. Después del nacimiento y hasta la pre-pubertad el crecimiento folicular se hace muy lento y la mayoría de los folículos en crecimiento terminan en atresia. En la pubertad, las células de la granulosa de algunos folículos secundarios proliferan rápidamente y se diferencian, lo que da ori-

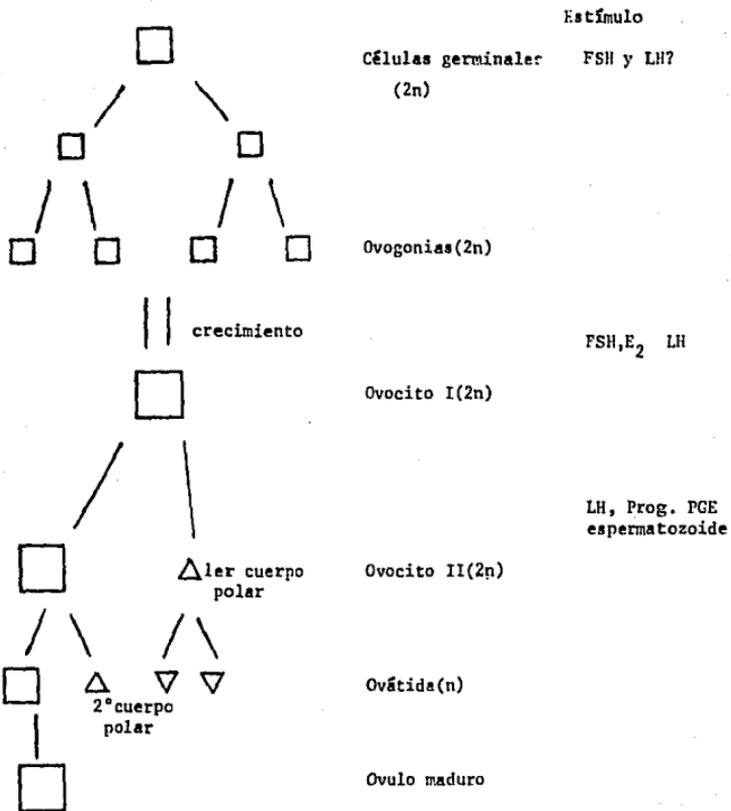


Fig. 12 OVOGENESIS  
(Houillon, 1978)

gen a los folículos terciarios. Cuando el folículo mide aproximadamente 300  $\mu$ m. se acumula líquido producto de la actividad de las células de la granulosa lo que provoca la delaminación de éstas células formando el antro. El ovocito I rodeado por células de granulosa sobresalen en la cámara folicular a nivel del cumulus oophorus, separado de éste por la membrana pelúcida. La disposición de la capa más interna de las células de la granulosa en el cumulus oophorus semeja una corona y se le denomina corona radiada (Fig.13).

Existen evidencias que sugieren que la FSH junto con la LH estimulan el crecimiento de un grupo de folículos del cual saldrá el preovulatorio, mientras que el aumento brusco de la concentración de LH circulante induce la ovulación y la luteinización.

Durante el desarrollo folicular hay incremento del número de receptores a LH en células de la granulosa acompañado del incremento en la producción de AMP cíclico en respuesta a LH ( 56). Se ha observado un pequeño incremento en la actividad de la enzima 3- $\beta$  hidroxisteroide deshidrogenasa en la mitocondria según el desarrollo del folículo, con incremento en la producción de pregnenolona a partir de colesterol( 33).

En la fase folicular, la principal fuente de hormonas esteroidales es el folículo; la célula de la granulosa puede convertir testosterona y androstendiona a estradiol, pero no puede sintetizar andrógenos a partir de pregnenolona o progesterona, transformación que se efectúa al parecer en las células de la teca interna. La participación de los dos tipos de células (granulosa y de la teca interna) en la biosíntesis de los estrógenos está fuertemente apoyada por los estudios realizados "in vitro" estimulando con FSH y LH, así como por la distribución de sus receptores intraováricos e intrafoliculares.

En estudios realizados mediante autoradiografía, se encontró unión de FSH únicamente en células de la granulosa mientras que la unión de LH se encontró tanto en células de la teca, como en las intersticiales y las luteales así como en células de la granulosa de folículos preovulatorios.

En la rata, el contenido de receptores a FSH permanece constante a lo largo del ciclo estral, mientras que el número de receptores a LH en células de la granulosa se incrementa en el proestro, incremento que ocurre antes del incremento plasmático de gonadotropinas en esta etapa del ciclo( 56).

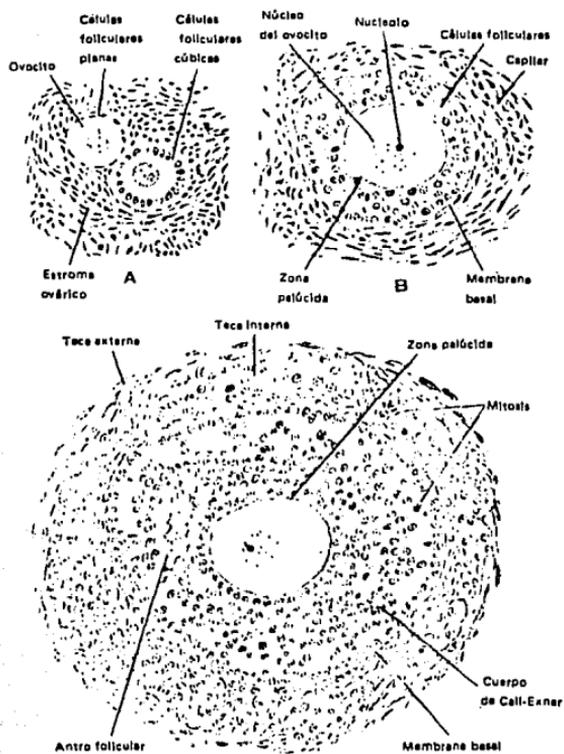


Fig. 13 Folículos en diferentes etapas de desarrollo (Copenhaver, 1981).

La presencia de receptores membranales a FSH en células de la granulosa y la evidencia de que los estrógenos, pero no la testosterona, incrementan la respuesta ovárica a FSH condujeron a la búsqueda de receptores a estrógenos, los que fueron encontrados en la fracción citoplasmática de las células de la granulosa ( 56 ).

Existen receptores a estrógenos en el útero, la glándula mamaria, la vagina, la adenohipófisis y el hipotálamo de la oveja, el mono, la rata y el humano. En la rata se ha encontrado asociación de progesterona marcada en la hipófisis y en el hipotálamo anterior, medio y posterior . La presencia de receptores a progesterona es estimulada por el pretratamiento con estrógenos y su número cambia a lo largo del ciclo estral ( 43,56 ).

El estradiol, así como la FSH, estimulan el crecimiento folicular y amplifican la inducción de receptores a LH estimulados por FSH. Sin embargo, la inducción de receptores a FSH no requiere de la acción de los estrógenos ( 56 ).

El folículo preovulatorio es el más activo en la producción de esteroides y posee mayor capacidad de respuesta a las gonadotropinas. Esta capacidad podría reflejar un aumento en el número de células de la granulosa o quizá un efecto del estradiol sobre el sistema adenilato ciclasa (segundo mensajero en el efecto de la FSH).

La secreción de las gonadotropinas por la hipófisis está regulada por el hipotálamo a través de la síntesis y liberación de la hormona liberadora de LH (LHRH) un decapeptido sintetizado en el cuerpo neuronal de células del área preóptica en el hipotálamo; la secreción de LHRH está regulada por un sistema complejo de neurotransmisores entre los que se encuentran la serotonina, la dopamina, la noradrenalina y la acetilcolina ( 3 ).

Además de hormonas esteroidales, el ovario produce una serie de compuestos con efectos hormonales algunos de los cuales no han sido completamente caracterizados. Sin embargo, se conoce su(s) efecto(s) sobre el desarrollo folicular; a continuación se citan algunos de ellos:

- 1- Inhibidor de la maduración del ovocito: polipéptido de peso molecular menor de 2000 daltones. Es sintetizado por las células de la granulosa y su concentración en el líquido folicular es mayor cuanto más pequeño es el folículo. Su secreción es inhibida por la LH y por otras hormonas que estimulan la ovulación y la reiniciación de la meiosis:

Este factor inhibe la maduración del ovocito I especialmente el reinicio del proceso meiótico y bloquea o disminuye la síntesis de progesterona por parte de las células de la granulosa (26). Para que sus efectos se produzcan, es necesaria la presencia de desmosomas entre el ovocito y las células de la granulosa (35).

- 2- Inhibidor de la fijación de FSH a sus receptores (IF-FSH-R): péptido de peso molecular menor de 700 daltones que no posee glucidos en su molécula. Su concentración en el líquido folicular aumenta a medida que el folículo crece; del mismo modo, sus efectos inhibidores aumentan a medida que el folículo se desarrolla. Su papel en la regulación de la función folicular no ha sido dilucidado, aunque podría participar activamente en la inducción de la atresia al impedir que la FSH se una a sus receptores, lo que disminuiría la aromatización de andrógenos y los niveles intrafoliculares de estrógenos.

- 3- Inhibidor de la luteinización: péptido del que parecen existir dos fracciones, una de peso molecular menor de 3500 daltones y otra mayor de 10000. Su concentración es mayor en los folículos grandes que en los pequeños. Sus efectos conocidos son el bloqueo de la síntesis de AMP cíclico inducida por LH, así como la inhibición de la secreción de progesterona.

- 4- Inhibidor de la fijación de la LH a sus receptores: péptido del que existen dos fracciones, una de 3300 y otra de 10000 daltones. Se origina en las células del cuerpo lúteo y como su nombre lo indica sus efectos son impedir la unión de LH a sus receptores, principalmente en el propio cuerpo lúteo por lo que estimula la luteólisis; a la fecha no se ha localizado en los folículos (26).

- 5- Gonadotropinas (GnRH o GnRH ovárico): Se conoce que el GnRH puede actuar directamente en el ovario donde estimula la ovulación y la maduración del ovocito, inhiben la secreción de estrógenos por sus efectos sobre la célula de la granulosa y de andrógenos por la acción sobre las células tecales (56); estimula la secreción de progesterona y de prostaglandina E (36). Es producida por las células

las de la granulosa y su mecanismo de acción está vinculado a la disminución de los receptores a LH y prolactina(PRL) en esta misma célula;su secreción es estimulada por la LH.

El estímulo de la maduración del ovocito por parte de la GnRH implica la inhibición de la acumulación de AMP cíclico intrafolicular( 17 ). La GnRH ejerce efectos estimulantes sobre la ovulación y el reinicio de la maduración del ovocito en la rata(22,49 ).

- 6- Inhibina:hormona de origen gonadal que regula principalmente la secreción de FSH sin modificar sustancialmente la de LH. Se conoce desde 1931(28 ) y está vinculada a la regulación de la síntesis y la liberación de la FSH. En los ovarios es sintetizada por las células de la granulosa y su producción es estimulada por FSH y LH. Desde el punto de vista bioquímico, la inhibina es heterodéica y su peso molecular está entre 10000 y 30000 daltones.

Se ha demostrado el efecto de la inhibina en células de la granulosa en cultivo, donde disminuye la producción de progesterona( 26 ).

- 7- Proteína(s) del líquido folicular inhibidora(s) de la actividad aromataza: en el líquido folicular del ovario de la mujer y de la cerda existe una proteína que inhibe el aumento del peso del ovario de la rata inducida por la gonadotropina menopáusica humana(hMG) y también inhibe la actividad de la aromataza. Su peso molecular es de 12000 a 15000 daltones y es secretada por las células de la granulosa.

La actividad de esta proteína aumenta de manera paralela a la elevación de estrógenos en el líquido folicular y disminuye cuando las células de la granulosa se luteinizan y aumenta el contenido de progesterona en el líquido folicular(19 ).

- 8- Activador de plasminógeno: se ha identificado en folículos preovulatorios en respuesta a FSH/LH y posiblemente está involucrado en la cascada de reacciones enzimáticas proteolíticas necesarias en la ovulación ( 14 ).

El folículo que madura por acción de las hormonas hipofisarias, sobresale en la superficie del ovario, sus paredes se adelgazan y finalmente se rompe. Previo a la ruptura, la base del cumulus oophorus se lisa y el ovocito rodeado por células de la granulosa es liberado en el antro, después de lo cual el ovocito será liberado del folículo y expulsado hacia el pabellón en la parte supe-

rior del oviducto. En los primates, regularmente sólo un folículo madura cada mes; el proceso de transformación del folículo en crecimiento a folículo maduro se completa en aproximadamente dos semanas ( 39 ).

#### CUERPO LÚTEO

Después de la ruptura del folículo y la descarga del óvulo, el folículo contraído se diferencia a cuerpo lúteo y son las células de la granulosa transformadas en células granuloso-luteínicas las que secretan progesterona. La diferenciación de las células de la granulosa a cuerpo lúteo implican:

- a)- Aparición de gotas de lípidos
- b)- Incremento del retículo endoplásmico liso
- c)- Aparición de mitocondrias con un complejo sistema de crestas - predominantemente tubulares.

Durante la formación del cuerpo lúteo se ha observado incremento en la actividad de la enzima 3- $\beta$ -HSD en respuesta a la LH. En esta etapa, las células de la granulosa pierden capacidad de sintetizar y aromatizar andrógenos lo que provoca marcada disminución en la producción de estradiol. La LH estimula la producción de progesterona e inhibe la actividad de la aromatasas ( 33 ).

En la mujer, el cuerpo lúteo es funcional durante los primeros dos a tres meses de la gestación y solamente 12 a 14 días del ciclo no fértil ( 14 ).

Después de la ovulación, las fimbrias transportan al óvulo hasta la trompa mediante dos mecanismos: el movimiento peristáltico y la acción ciliar del epitelio. La fecundación del óvulo se efectúa en el tercio externo de la trompa de falopio; después de ser fecundado el huevo resultante viaja hacia el útero y en aproximadamente seis a ocho días de implanta en el endometrio, el que está en fase secretoria. Durante el transporte se inicia la división mitótica del huevo y la formación de complejos de dos, cuatro y ocho células. En la mayoría de los mamíferos se alcanza el estadio de morula alrededor del quinto día y el de blastocisto al final de la primera semana de preñez ( 34 ).

En el transporte del huevo, éste se encuentra rodeado por la zona pelúcida. Cuando ésta se pierde por remoción de gran parte de las glicoproteínas, el huevo presenta una carga de superficie prácticamente neutra que posiblemente sea necesaria en el momento de la implantación( 34 ).

El estado hormonal de la hembra es también muy importante en el proceso de implantación. Además de la presencia de estrógenos y progesterona se sabe que otras hormonas son necesarias para que este proceso se realice adecuadamente. En la rata, se ha mostrado la necesidad de la presencia de la LHRH, ya que la administración de anticuerpos contra LHRH en los días uno a siete o tres a cinco de la preñez, retrasa el momento de la implantación hasta el día 14. Este efecto es reversible por la administración de LHRH o de estrógenos. La administración de antiLHRH a animales en los que ya se había efectuado la implantación provocó reabsorción fetal sin sangrado( 3,6 ).

La implantación del blastocisto requiere de la adecuada adhesividad y capacidad invasiva del mismo. La adhesividad ha sido relacionada con la cantidad de calcio intracelular fundamentalmente en las zonas donde se establece el contacto blastocisto-endometrio( 34 ).

Si el óvulo fertilizado se implanta, el cuerpo lúteo no se atrofia por lo que la secreción de estrógenos y progesterona por parte de aquel, mantiene la actividad secretora del endometrio y las condiciones apropiadas en el estroma endometrial.

En la mujer, la dependencia endócrina del embarazo, puede dividirse en dos etapas:

- a)- ovárica: Después de la implantación, el cuerpo lúteo secreta estrógenos y progesterona que son fundamentales para el mantenimiento y crecimiento del blastocisto. El funcionamiento del cuerpo lúteo es estimulado por la gonadotropina coriónica secretada por la placenta.
- b)- placentaria: A partir de la segunda mitad del tercer mes de embarazo se observa aumento en la excreción de pregnandiól, en este momento, la placenta es responsable de la producción de

las hormonas necesarias para el mantenimiento del embarazo (Fig. 5,8). Estos compuestos esteroideos son producidos por la gónada y la unidad fetoplacentaria a partir de la dehidroepiandrosterona sintetizada por la corteza suprarrenal y viajan en la sangre unidos a proteínas séricas (albúmina, globulina,  $\beta$  globulina, glucoproteína  $\alpha$ -ácida) (65), y son eliminadas por vía renal conjugadas con ácido glucurónico o sulfato (antes de la conjugación, la progesterona es convertida a pregnandiol).

Hacia el final del embarazo se incrementa la concentración de andrógenos urinarios lo cual podría ser provocado por la disminución de la capacidad de aromatización de la placenta.

#### REGRESION DEL CUERPO LUTEO

Cuando el óvulo no es fertilizado, el cuerpo lúteo sufre regresión. En los no primates se ha encontrado una sustancia luteolítica de origen uterino, la prostaglandina  $F_2$ . En los primates ésta sería sintetizada por el propio ovario. Los mecanismos propuestos en el inicio de la luteólisis con participación de la prostaglandina son (33):

- a)- Disminución del flujo sanguíneo hacia el ovario lo que resulta en anoxia y la consecuente luteólisis.
- b)- Dos efectos sobre la síntesis y liberación hormonal, uno rápido que implica la inhibición de la adenil ciclasa activada por LH. Se ha observado disminución de la cantidad de colesterol unido al citocromo P-450 que es el complejo que da origen a la pregnenolona. El otro efecto es lento e involucra la disminución del número de receptores a LH en la célula luteal.
- c)- Disminución de la actividad de la enzima 3- $\beta$  HSD.

La regresión del cuerpo lúteo implica cambios en la porción fosfolipídica de la membrana celular y la sensibilización de las membranas lisosomales con la consecuente salida de las hidrolasas almacenadas.

#### IV PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La carencia de un método anticonceptivo eficaz y seguro ha provocado que en los últimos años, los estudios enfocados hacia la regulación de la fertilidad obtengan fuerte apoyo de organizaciones mundiales como la OMS. Esta institución consciente de la carencia de materia prima disponible para la síntesis de anticonceptivos existentes en el mercado, ha dirigido su búsqueda hacia los productos de origen vegetal que fueron utilizados ó continúan en uso en países de flora abundante como México y Colombia.

El uso de extractos vegetales sin control de calidad y contenido de material activo, ha provocado que la efectividad de éstos sea puesta en duda por las instituciones sanitarias, lo que plantea la necesidad de efec—tuar un estudio sistemático de éste tipo de extractos para conocer si alteran el proceso reproductivo y cual es su mecanismo de acción.

#### V OBJETIVOS

- 1) Determinar en un modelo experimental si los extractos del barbasco poseen efectos anticonceptivos.
- 2) Aislar el o los componentes de los extractos del barbasco con acción biológica contraceptiva.
- 3) Estudiar el o los sitios de acción del extracto, o de los componentes activos, sobre el proceso reproductivo.

#### VI HIPOTESIS

Dado que a los extractos de vegetales utilizados como fuentes para la obtención de diosgenina se les ha demostrado capacidad contraceptiva, y que tradicionalmente se le adjudica al barbasco (Dioscorea composita, fuente de diosgenina en México), efectos similares, los extractos de és—ta última presentan actividad contraceptiva que podría ser útil en la regulación del proceso reproductivo.

VII MATERIAL Y METODOS

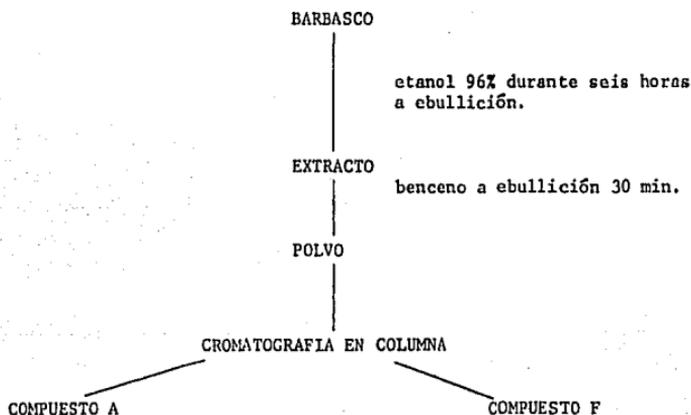
En el presente estudio, la metodología empleada se dividió en dos secciones. En la primera, se muestra la metodología utilizada para la extracción y caracterización química de los productos y en la segunda la que se usó en el estudio de los efectos biológicos del extracto y los compuestos aislados del mismo.

a - Metodología del estudio químico ( 23,41)

El barbasco utilizado en este trabajo fué colectado en la región de Pichucalco, Chiapas por la empresa "Steromex" quien amablemente nos lo proporcionó.

El rizoma del barbasco seco se extrajo con etanol 96% mediante el uso de un equipo soxhlet y se secó con aire a temperatura ambiente. El polvo obtenido se desengrasó con benceno y el producto desengrasado fué utilizado en las pruebas biológicas.

## Obtención del extracto y los compuestos A y F



### 1.- Obtención del compuesto A

Se empacó una columna de 94 x 4.5 cm. con gel de sílice con la mezcla de elución etanol-cloroformo 97:3; se sembró sobre ella 40 g. de extracto de barbasco disueltos en 80 ml. de la mezcla de disolventes. Después de colectar un volumen muerto de 250 ml. se colectaron 50 fracciones de 50 ml; la presencia de los productos fué seguida por cromatografía en placa.

Las fracciones colectadas fueron concentradas en rotavapor, el material resultante se secó a temperatura ambiente; el producto fue recristalizado de acetona.

Se midió el punto de fusión en un aparato de fusión Fisher y se realizó el estudio espectroscópico de IR en un aparato Pye Unicam y RMN en un Varian EM-60.

### 2.- Obtención del compuesto F

Para la obtención del compuesto F en la preparación de la columna y la elución, se utilizó una mezcla de etanol-cloroformo 90:10; las fracciones colectadas fueron de 30 ml. El compuesto F comenzó a eluirse a partir de las fracciones 61-62

La cromatografía en placa fina reveló que las fracciones intermedias estaban compuestas por más de un producto. La recristalización del producto se realizó a partir de etanol o metanol, sin observarse diferencias en el producto obtenido de ambos disolventes.

Se realizó el estudio espectroscópico así como la medición del punto de fusión.

#### b - Metodología del estudio de los efectos biológicos

En todos los experimentos se utilizaron ratas de la cepa CIIZV de 90 a 150 días de edad. Los animales fueron mantenidos en condiciones con

troladas de luz-oscuridad (luces encendidas de 5:00-19:00 horas), con libre acceso al alimento y al agua (excepto cuando se indiquen condiciones especiales).

En las ratas hembra el ciclo estral se siguió por la toma de frotis vaginales diarios (09:-10:00 horas) y sólo se utilizaron en el estudio aquellos animales que presentan tres ciclos consecutivos de cuatro días de duración. El ciclo estral se divide en: diestro 1 ( $D_1$ ), diestro 2 ( $D_2$ ), proestro (P) y estro (E).

1.- Efectos del extracto de barbasco y de diosgenina sobre el ciclo estral y la ovulación.

55 ratas en diferentes días del ciclo estral recibieron por vía oral una suspensión del extracto, diosgenina o vehículo durante 17 días en dosis de 600mg/Kg/día. Durante el tratamiento se continuó la toma de frotis vaginales.

En el siguiente estro vaginal, después de finalizar el tratamiento, los animales fueron sacrificados por decapitación. Se colectó sangre del tronco la cual se dejó coagular a temperatura ambiente durante una hora. Se centrifugó a 3000 rpm. durante 15 minutos. El suero se almacenó a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta la posterior determinación de FSH por radioinmunoanálisis de doble anticuerpo. Se diseccionaron y pesaron los ovarios, el útero, las adrenales y la hipófisis. En el oviducto se contó el número de ovocitos por la técnica habitual de laboratorio.

Con los datos del ciclo estral se calculó el índice estrogénico de la siguiente manera:

$$\frac{\text{número de días en estro (E)}}{\text{número total de días en estudio}}$$

Los datos de peso de órganos fueron calculados como mg. de tejido por 100 g. de peso corporal.

Las adrenales fueron homogeneizadas en solución amortiguadora de fosfatos 0.1 M pH 7.4, y en el sobrenadante se cuantificó el ácido ascórbico por el método de Schaffert (59), la proteína por el método de Bradford (9), y el colesterol por el método de Abbel (1).

Los resultados se expresan como ug. de compuesto/mg. de tejido.

2.- Efectos del extracto, de diosgenina y de los compuestos A y F sobre la implantación.

Grupos de dos ratas en proestro, fueron colocados toda la noche con un macho de fertilidad comprobada; al día siguiente se tomaron frotis vaginales en busca de espermatozoides, ese día fué considerado como el día primero de la preñez.

Los animales fueron divididos en los siguientes grupos:

2.1.- Administración desde el primero al noveno día de la preñez.

Grupo 1: vehículo de suspensión (alcohol etílico 7%)(n=11)

Grupo 2: suspensión de diosgenina por vía oral en dosis de 600mg./Kg / día (n=9)

Grupo 3: suspensión de extracto por vía oral en dosis de 600mg./Kg / día (n=8)

Grupo 4: 200 ul. de vehículo por vía subcutánea (n=15)

Grupo 5: 5 mg. de compuesto F por vía subcutánea (n=7)

Grupo 6: 5 mg. de compuesto A por vía subcutánea (n=8)

## 2.2.- Administración desde el quinto al treceavo día de la preñez.

Grupo 7: vehículo de suspensión ( $n=17$ )

Grupo 8: suspensión de diosgenina por vía oral en dosis de 150 mg./ra  
ta/día ( $n=16$ ).

\*Grupo 9: suspensión de extracto por vía oral en dosis de 150 mg./ ra-  
ta/día -partícula gruesa y partícula fina- ( $n=8/n/8$ )

Grupo 10: 200 ul. de vehículo por vía subcutánea. ( $n=15$ )

Grupo 11: 5 mg. de compuesto F por vía subcutánea ( $n=8$ )

El extracto de barbasco fué tamizado a través de mallas de diferen-  
te tamaño No. 50 y No. 200; con las partículas, se prepararon las  
suspensiones denominadas partícula gruesa (malla 50) y partícula fi  
na (malla 200) probadas sólo en éste grupo.

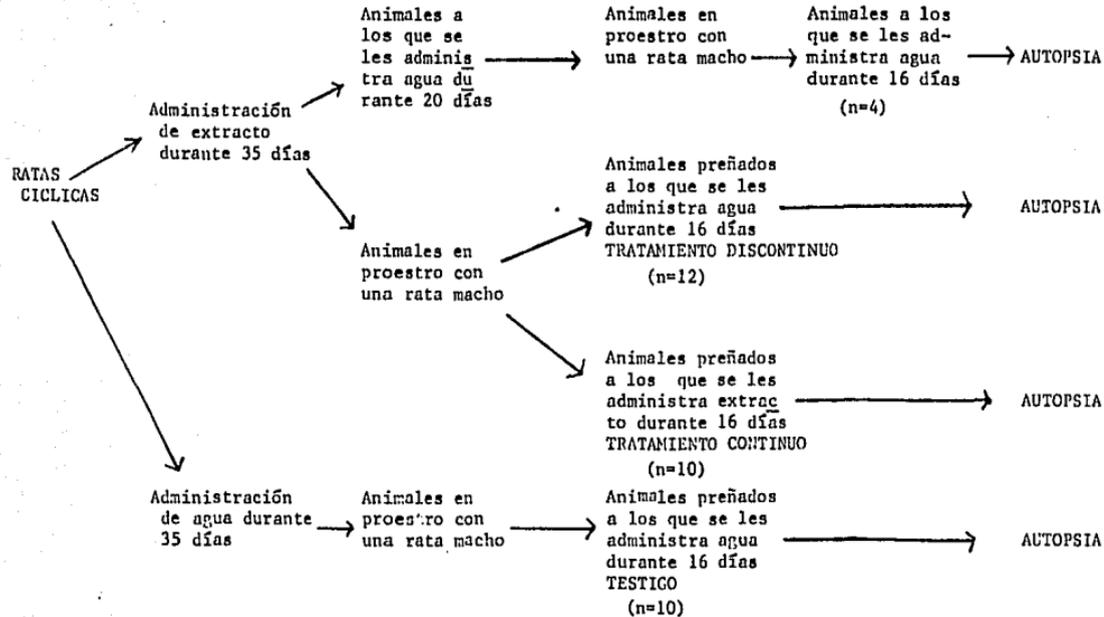
Los animales fueron sacrificados por decapitación en el día 16 de la  
preñez. Se observaron y contaron los sitios de implantación y de reabsorción;  
los fetos fueron separados y pesados como masa total. Se disecaron y pesaron  
los ovarios, las adrenales y la hipófisis.

Las adrenales fueron procesadas de igual manera que en el experimento  
uno.

## 3.- Efectos del tratamiento crónico con extracto de barbasco previo a la preñez.

En el cuadro 4 se presenta el procedimiento experimental seguido en  
esta fase del estudio.

Todos los animales fueron sacrificados por decapitación a los 16 días  
de la preñez; se contaron los sitios de implantación y de reabsorción, se se-  
pararon los fetos y se pesaron como masa total. Se disecaron y pesaron los --  
ovarios, las adrenales y la hipófisis.



Cuadro 4

4

Procedimiento experimental para el estudio del efecto del tratamiento crónico con extracto previo a la preñez

Las adrenales se procesaron como en el experimento uno.

4.- Estudio de la posible capacidad estrogénica de la diosgenina y del extracto de barbasco.

Diez ratas hembra fueron castradas mediante incisión dorsal; 15 días después de la cirugía se les administró por la vía oral una suspensión de extracto de barbasco o de diosgenina en dosis de 600 mg/ Kg /día durante 15 días. Durante el tratamiento se tomaron frotis vaginales a los animales de ambos grupos. La presencia de escamas en el frotis (estro vaginal) fue considerado como índice que el compuesto tuvo capacidad estrogénica.

5.- Efectos de la administración crónica de extracto de barbasco sobre la fertilidad de la rata macho.

A 14 ratas macho de 150 días de edad se les administró extracto suspendido en el agua para beber durante 60 días, en dosis de 600 mg./ Kg / día. El grupo testigo recibió agua durante los 60 días (n=15).

Al término del tratamiento, los animales de ambos grupos fueron puestos en presencia de una rata hembra de fertilidad comprobada. Los machos fueron sacrificados por decapitación al día siguiente, se disecaron y pesaron los testículos, las vesículas seminales, la próstata, las adrenales y la hipófisis. Los testículos fueron fijados en solución de Bouin para el posterior estudio histológico, según el método de Revilla y Domínguez (55).

Las adrenales de los animales de ambos grupos experimentales se procesaron como en el experimento uno.

Las hembras preñadas por los machos de ambos grupos se dejaron evolucionar hasta el día 16 de la preñez, día en que fueron sacrificadas por decapitación. Después de la autopsia se contaron los sitios de implantación o reabsorción y los fetos fueron separados y pesados en masa total.

#### 6.- Análisis de los datos

Los datos obtenidos fueron analizados utilizando las pruebas de: t de Student, F de Fisher, Chi cuadrada y sólo se aceptaron como válidas aquellas diferencias en las que la probabilidad fué igual o menor al 5%.

## VIII RESULTADOS.

### a.- Estudio químico.

Del extracto etanólico del barbasco se aislaron por cromatografía en columna dos compuestos con alta pureza, verificado por cromatografía en capa fina y cuya separación requirió del uso de dos mezclas diferentes de disolventes. Estos compuestos tuvieron diferente rendimiento y los denominamos compuesto A y compuesto F.

#### 1.- Características del compuesto A.

El compuesto A fué separado del extracto etanólico por el uso de la mezcla del etanol-cloroformo 97:3 y su rendimiento fué del 0.9%.

Luego de la recristalización de acetona, el compuesto A se presenta como cristales blancos, mientras que el producto bruto lo hace como hojuelas blancas.

Los cristales son solubles en agua, metanol y etanol y son poco solubles en acetona, cloroformo, benceno y éter etílico. Su punto de fusión es de 242-244°C.

#### 2.- Características del compuesto F.

Los cristales brutos se presentan como hojuelas color ocre que mantienen su aspecto después de la recristalización de metanol.

Los cristales son solubles en agua, metanol y etanol e insolubles en éter etílico, benceno y cloroformo. Su punto de fusión es de 225°C.

El compuesto F fué separado del extracto etanólico mediante el uso de la mezcla etanol-cloroformo 90:10 y su rendimiento fué del 13.19%.

En el cuadro 5 se listan las reacciones de color de los compuestos A y F frente a reactivos considerados específicos para identificar algunos grupos químicos.

Reacciones de color de los compuestos A y F en presencia de diferentes reactivos (12).

Reactivo	Reacción de color		Específicos para identificar.
	Comp. A	Comp. F	
Carr-Price's	-	ocre	esteroides triterpenoides
Sulfato cérico	-	café	esteroides triterpenoides
Dragendorff	-	naranja	alcaloides
Yodo-Yoduro de potasio	rojizo	rojizo	esteroides y alcaloides esteroidales.
Lieberman-Buchard	violeta	rojo	esteroles y tritertenoides.
Acido fosfomolibdico	gris	gris	esteroides.
Acido fosfotungstico	violeta	violeta	vitamina D.
Acido sulfúrico 50%	violeta	café	reactivo oxidante general.
Reactivo de Marquis	café	café	ergotamina, pentaquina, tebaina.
Acido tricloroacético.	-	ocre	vitamina D.
p-formaldehído-ácido fosfórico	violeta	gris	reacción a los compuestos -

$\Delta^5$ .

b.- Estudio biológico.

1.- Efectos del extracto de barbasco y de diosgenina sobre el ciclo estral y la ovulación.

En la gráfica 1 se muestra que la administración de vehículo no afectó el ciclo estral de los animales, independientemente del día del ciclo en que se inició el tratamiento. En los animales que recibieron extracto, se observó alteración del ciclo estral que fué más pronunciado cuando el tratamiento se inició en los primeros días del ciclo. ( $D_1$ ,  $D_2$  y P). En cambio, en los animales cuyo tratamiento se inició en el día del estro, los cambios no fueron tan evidentes (gráfica 2 ).

La administración de diosgenina provocó alteraciones del ciclo estral que fueron más evidentes en los animales cuyo tratamiento se inició en el  $D_2$  o en el P y no tan marcado, cuando fué iniciado en el  $D_1$  o en el E (gráfica 3 ).

Estos resultados son confirmados por el análisis del índice estrogénico. Como se puede observar en la tabla 1 el índice estrogénico disminuyó en los animales tratados con extracto en los días  $D_1$ ,  $D_2$ , P y en los tratados con diosgenina, cuyo tratamiento se inició en  $D_2$  y P.

La administración de diosgenina o extracto no modificó la tasa de animales ovulantes (tabla 2 ); en cambio el número de ovocitos liberados por animal ovulante disminuyó significativamente tanto en los animales tratados con diosgenina como los que recibieron extracto. Esta disminución no se acompañó de cambios en el peso de los ovarios ni del útero (tabla 2 ). En los animales tratados con diosgenina se observó disminución en el peso de las glándulas adrenales y de la hipófisis, mientras que en los animales que recibieron extracto, sólo se presentó disminución en el peso de la hipófisis.

En los animales tratados con extracto, la disminución en el número de ovocitos liberados se acompañó de un incremento significativo en los niveles circulantes de FSH.

EFFECTO DE LA ADMINISTRACION DE VEHICULO SOBRE EL CICLO ESTRAL DE LA RATA

DIA DE LA ADMINISTRACION

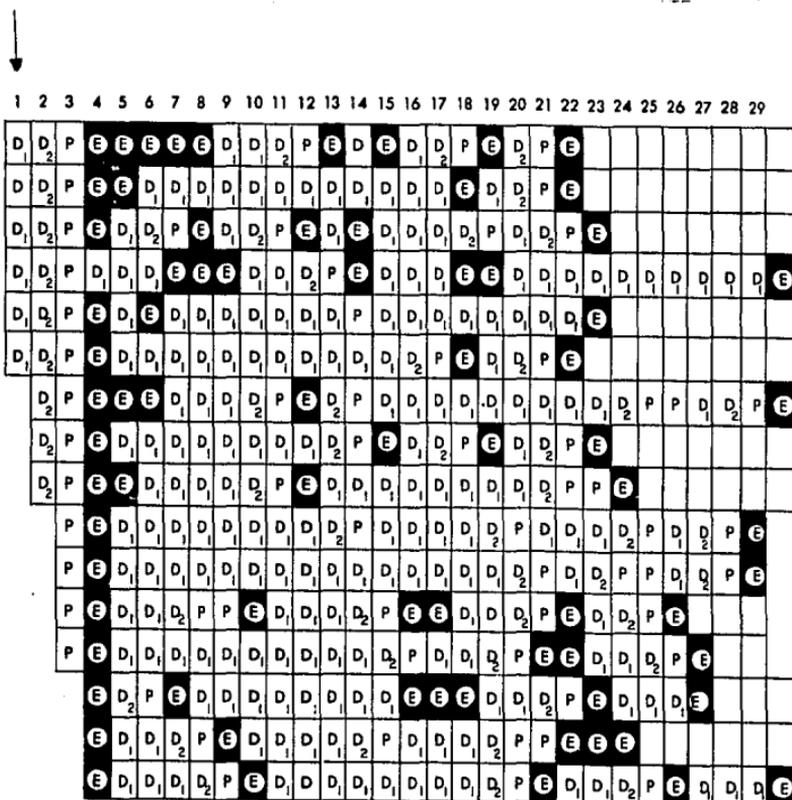
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	
D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	
D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E		
D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E		
P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E			
P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E			
E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E				
E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	P	E				

D<sub>1</sub> = Diestro uno      P = Proestro  
 D<sub>2</sub> = Diestro dos      E = Estro



EFFECTO DE LA ADMINISTRACION DE DIOSGENINA SOBRE EL CICLO ESTRAL DE LA RATA

INICIO DE LA ADMINISTRACION



D<sub>1</sub> = Diestro uno      P = Proestro  
 D<sub>2</sub> = Diestro dos      E = Estro

EFFECTO DE LA ADMINISTRACION DE EXTRACTO DE BARDASCO O DIOSGENINA  
SOBRE EL CICLO ESTRAL DE LA RATA

INDICE ESTROGENICO  DIA DEL CICLO ESTRAL	TESTIGO	EXTRACTO	DIOSGENINA	EXTRACTO	DIOSGENINA
				$\frac{\quad}{\quad} \times 100$ TESTIGO	$\frac{\quad}{\quad} \times 100$ TESTIGO
D <sub>1</sub>	25.0	15.7	23.3	62.8 p < 0.01	93.2
D <sub>2</sub>	25.2	15.6	16.0	61.9	63.4
P	27.2	17.0	13.6	62.5 p < 0.02	50.0
E	20.5	23.8	23.6	83.5	75.7

$$\text{Indice estrogénico} = \frac{\text{número de días en Estro(E)}}{\text{número total de días en estudio}}$$

**EFFECTO DE LA ADMINISTRACION DE DIOSGENINA O EXTRACTO DE BARBASCO SOBRE LA OVULACION,  
EL PESO DE LOS OVARIOS, LAS ADRENALES Y LA HIPOFISIS (MEDIA  $\pm$  EEM)**

GRUPO	OVULANTES TOTAL	No. DE OVOCITOS	OVARIOS	UTERO	ADRENALES	HIPOFISIS
			mg/100 g de peso corporal			
TESTIGO	11/12	9.82 $\pm$ 0.6	22.12 $\pm$ 1.26	173 $\pm$ 7.26	21.56 $\pm$ 0.55	7.09 $\pm$ 0.39
DIOSGENINA	15/16	5.87 $\pm$ 0.76**	19.86 $\pm$ 1.21	179 $\pm$ 8.72	18.91 $\pm$ 0.46**	5.66 $\pm$ 0.34**
EXTRACTO	20/27	7.0 $\pm$ 0.7**	23.88 $\pm$ 0.82	178 $\pm$ 6.3	20.91 $\pm$ 0.66	6.01 $\pm$ 0.34*

\* P < 0.05

\*\* P < 0.01

En los animales que recibieron diosgenina el incremento en la concentración de FSH fué mayor, aunque no alcanzó niveles de significancia estadística debido a la gran dispersión de los datos (tabla 3 ).

2.- Efectos del extracto de barbasco, de diosgenina y de los compuestos F y A sobre la implantación.

2.1.- Administración desde el día primero al noveno de la preñez.

La administración de diosgenina en el primer día de la preñez no modificó la tasa de animales preñados ni el número de fetos presentes, aunque sí se observó aumento significativo con el número de reabsorciones, así como incremento en el peso de las glándulas adrenales (tabla 4 ).

La administración del extracto en el primer día de la preñez provocó disminución significativa de la tasa de animales que mantuvieron la preñez, lo cual se acompañó de disminución del número de fetos y del peso de los mismos ( tabla 5 ). No se observaron diferencias en el número de reabsorciones, aunque se observó una disminución significativa en el peso de los ovarios.

En los animales tratados con extracto desde el primer día de preñez, se observó incremento en el peso de la glándula adrenal que no alcanzó niveles significativos, lo que se acompañó del aumento en la concentración de ácido ascórbico y de colesterol (tabla 6 ).

La tasa de animales preñados disminuyó en los animales tratados con el compuesto A a partir del día primero de preñez, aunque el número de fetos presente fué similar al grupo testigo.

La administración del compuesto F no modificó la tasa de preñez pero provocó disminución significativa del número de fetos presentes, aunque su peso fué similar al de los animales del grupo testigo. No se observaron diferencias con el peso de los ovarios ni de la hipófisis (tabla 7 ).

TABLA 3

EFFECTO DE LA ADMINISTRACION DE DIOSGENINA O EXTRACTO DE BARDASCO SOBRE LOS NIVELES SERICOS DE HORMONAS FOLICULO ESTIMULANTE (MEDIA  $\pm$  EEM) DE ANIMALES AUTOPSIADOS EN ESTRO

GRUPO	FSH ng/ml
TESTIGO	280.4 $\pm$ 23.3
DIOSGENINA	384 $\pm$ 57
EXTRACTO	372 $\pm$ 22.4 *

\*p < 0.01

**EFFECTO DE LA ADMINISTRACION DE DIOSGENINA EN EL PRIMER DIA DE LA PREÑEZ SOBRE EL NUMERO DE FETOS, EL PESO DE LOS OVARIOS, LAS ADRENALES Y LA HIPOFISIS (MEDIA  $\pm$  EEM) Y EL NUMERO DE REABSORCIONES**

GRUPO	PREÑADAS TOTAL	No FETOS	No. REABSORCIONES	OVARIOS mg/100 gp. c.	ADRENALES	HIPOFISIS
TESTIGO	8/11	6.75 $\pm$ 1.13	12(5/11) <sup>a</sup>	26.39 $\pm$ 1.81	19.15 $\pm$ 1.31	6.53 $\pm$ 0.72
DIOSGENINA	8/9	7.25 $\pm$ 0.67	22(7/9) *	39.73 $\pm$ 6.22	31.08 $\pm$ 4.86 *	5.57 $\pm$ 0.33

<sup>a</sup>reabsorciones(animales que presentaron reabsorciones/número total de animales)

\*  $p < 0.05$

TABLA 5

**EL EFECTO DE LA ADMINISTRACION DE EXTRACTO DE BARDASCO DE PARTICULA FINA EN EL PRIMER DIA DE LA PREÑEZ, SOBRE EL NUMERO Y PESO DE LOS FETOS, EL PESO DE LOS OVARIOS, LA HIPOFISIS (MEDIA  $\pm$  ESM) Y EL NUMERO DE REABSORCIONES**

GRUPO	PREÑADAS TOTAL	No. FETOS	No. REABSORCIONES	PESO FETOS mg	OVARIOS mg/100 gp. c	HIPOFISIS
TESTIGO	8/8	9.86 $\pm$ 0.46	3(3/8) <sup>a</sup>	312 $\pm$ 8.5	34.1 $\pm$ 2.59	5.68 $\pm$ 0.75
EXTRACTO	3/8***	4.33 $\pm$ 2.40*	3(2/8)	226.4 $\pm$ 26**	21.36 $\pm$ 2.27*	5.15 $\pm$ 0.51

\* p < 0.05

\*\* p < 0.01

\*\*\* p < 0.025, prueba de Fisher

a Reabsorción (animales que presentan reabsorciones/número total de animales)

**EFFECTO DE LA ADMINISTRACION DE EXTRACTO DE BARDASCO DE PARTICULA FINA EN EL PRIMER DIA DE PREÑEZ SOBRE EL PESO (MEDIA  $\pm$  SEM) Y EL CONTENIDO DE ACIDO ASCORBICO Y COLESTEROL EN LA GLANDULA ADRENAL**

GRUPO	ADRENALES mg/100 g p.c.	ACIDO ASCORBICO $\mu$ g/mg tejido	COLESTEROL $\mu$ g/mg tejido
TESTIGO	18.31 $\pm$ 0.69	0.535 $\pm$ 0.06	81 $\pm$ 11
TRATADO	26.46 $\pm$ 3.78	1.67 $\pm$ 0.11 *	196 $\pm$ 27 *

\* p < 0.01

TABLA 7

EFFECTO DE LA ADMINISTRACION DE LOS COMPUESTOS F O A EN EL PRIMER DIA DE LA PREÑEZ, SOBRE EL NUMERO Y PESO DE LOS FETOS Y EL PESO DE LOS ORGANOS (MEDIA  $\pm$  EEM)

GRUPO	PREÑADAS TOTAL	No. FETOS	PESO FETOS mg	OVARIOS (mg/100 g peso corporal)	HIPOFISIS
TESTIGO	15/15	10.2 $\pm$ 0.39	335 $\pm$ 7.5	32 $\pm$ 1.04	5.02 $\pm$ 0.17
COMPUESTO F	7/7	7.52 $\pm$ 1.17*	327 $\pm$ 21	28.18 $\pm$ 1.61	5.26 $\pm$ 1.03
COMPUESTO A	5/8*	10 $\pm$ 0.32	290 $\pm$ 13***	26.13 $\pm$ 2.08**	4.93 $\pm$ 0.406

\* p 0.05

\*\* p 0.02

\*\*\* p 0.01

**EFFECTO DE LA ADMINISTRACION DE LOS COMPUESTOS F O A EN EL PRIMER DIA DE LA PREÑEZ, SOBRE EL PESO (MEDIA  $\pm$  EEM) Y EL CONTENIDO DE ACIDO ASCORBICO Y COLESTEROL EN LA GLANDULA ADRENAL**

GRUPO	ADRENALES mg/100 g de peso corporal	ACIDO ASCORBICO mg/mg tejido	COLESTEROL mg/mg de tejido
TESTIGO	20.16 $\pm$ 0.96	2.3 $\pm$ 0.25	49.6 $\pm$ 3.47
COMPUESTO F	21.21 $\pm$ 0.63	1.92 $\pm$ 0.29	45.41 $\pm$ 1.67
COMPUESTO A	26.13 $\pm$ 2.08 *	2.12 $\pm$ 0.23	62.65 $\pm$ 3.85*

\*  $p < 0.05$

TABLA 9

EFFECTO DE LA ADMINISTRACION DE DIOSGENINA EN EL QUINTO DIA DE PREÑEZ SOBRE EL NUMERO DE FETOS, EL PESO DE LOS OVARIOS, LA ADRENAL Y LA HIPOFISIS (MEDIA  $\pm$  ECM) Y EL NUMERO DE REABSORCIONES

GRUPO	PREÑADAS TOTAL	No. FETOS	No. REABSOR- CIONES	OVARIOS mg 100 g	ADRENALES de peso corporal	HIPOFISIS
TESTIGO	17/17	6.53 $\pm$ 0.6	8(4/17) <sup>a</sup>	28.3 $\pm$ 1.13	18.48 $\pm$ 0.55	5.38 $\pm$ 0.25
DIOSGENINA	14/16	7.85 $\pm$ 0.77	10(4/6)	29.25 $\pm$ 1.04	20.45 $\pm$ 0.53*	5.42 $\pm$ 0.22

\*p < 0.001

<sup>a</sup> Reabsorciones (animales que presentan reabsorciones/número total de animales)

**EFFECTO DE LA ADMINISTRACION DE EXTRACTO DE BARDASCO DE PARTICULA GRUESA (MALLA No. 50) O PARTICULA FINA (MALLA No. 200) EN EL QUINTO DIA DE LA PREÑEZ SOBRE EL NUMERO Y PESO DE FETOS, EL PESO DE LOS OVARIOS, LA HIPOFISIS (MEDIA  $\pm$  SEM) Y EL NUMERO DE REABSORCIONES**

GRUPO	PREÑADAS TOTAL	No. FETOS	No. REABSORCIONES	PESO FETOS mg	OVARIOS mg/100 g de peso c.)	HIPOFISIS
TESTIGO	8/8	11.0 $\pm$ 0.42	1(1/8) <sup>a</sup>	317 $\pm$ 9.81	33.47 $\pm$ 2.0	4.95 $\pm$ 0.17
PARTICULA GRUESA	7/8	9.0 $\pm$ 0.9	6(3/8)	276 $\pm$ 9.22*	33.52 $\pm$ 1.64	4.83 $\pm$ 0.23
PARTICULA FINA	5/8	5.8 $\pm$ 1.2*	8(3/8)**	239 $\pm$ 19.0*	29.84 $\pm$ 1.14	4.58 $\pm$ 0.48

\*p < 0.005

\*\*p < 0.05

a Reabsorciones (animales que presentan reabsorciones/numero total de animales)

TABLA 11

**EFFECTO DE LA ADMINISTRACION DE EXTRACTO DE BARBASCO DE PARTICULA GRUESA O PARTICULA FINA EN EL QUINTO DIA DE PREÑEZ SOBRE EL PESO (MEDIA  $\pm$  EEM) Y LA CONCENTRACION DE ACIDO ASCORBICO Y COLESTEROL EN LA GLANDULA ADRENAL**

GRUPO	n	PESO ADRENAL (mg/100 g p.c.)	ACIDO ASCORBICO $\mu\text{g}/\text{mg}$ tejido	COLESTEROL $\mu\text{g}/\text{mg}$ tejido
TESTIGO	17	21.85 $\pm$ 0.59	2.66 $\pm$ 0.19	44.3 $\pm$ 1.96
PARTICULA GRUESA	8	19.84 $\pm$ 0.7	3.08 $\pm$ 0.48	55.3 $\pm$ 3.8 **
PARTICULA FINA	8	17.86 $\pm$ 0.89 *	3.10 $\pm$ 0.16	65 $\pm$ 5.7 ***

\*  $p < 0.005$

\*\*  $p < 0.02$

\*\*\*  $p < 0.01$

Los fetos de los animales tratados con el compuesto A, tuvieron menor peso que los del grupo de animales testigo. En los animales tratados se observó disminución del peso de los ovarios (tabla 7).

En los animales tratados con el compuesto A aumentó el peso de las adrenales y el contenido de colesterol. En los animales tratados con el compuesto F no se observaron modificaciones (tabla 8).

## 2.2. Administración desde el día quinto al 13avo de la preñez.

La administración de diosgenina a partir del día quinto no modificó la tasa de animales preñados ni el número de fetos ni de reabsorciones. Esto se acompañó del aumento en el peso de las adrenales sin que se observaran modificaciones en el peso de los ovarios o de la hipófisis ( tabla 9 ).

Los efectos de la administración de extracto a partir del día quinto de la preñez, dependieron del tamaño de la partícula utilizada en la suspensión administrada. Aquellos animales que recibieron partícula gruesa no presentaron modificaciones en la tasa de animales que mantuvieron la preñez, ni en el número de fetos ni en el de reabsorciones, aunque el peso de los fetos fué inferior al de los animales testigo (tabla 10 ).

El peso de la glándula adrenal y el contenido de ácido ascórbico fueron normales aunque se observó un incremento en la concentración de colesterol en este grupo de animales (tabla 11).

En los animales a los que se le administró partícula fina se observó disminución en el número de fetos, y aumento en el peso de los mismos y aumento en el número de reabsorciones. El peso de los ovarios y de la hipófisis, fueron similares a los del grupo testigo (tabla 10 ).

El peso de las adrenales de los animales que recibieron partícula fina, disminuyó significativamente, lo que se acompañó del aumento del contenido de colesterol sin que se modificara el de ácido ascórbico (tabla 11).

Cuando los animales recibieron el compuesto F a partir del quinto día de la preñez, no se observaron diferencias significativas en el número de fetos ni en el peso de los mismos, aunque se presentó disminución en el peso de los ovarios (tabla 12).

En este grupo no se observaron diferencias significativas del peso de las adrenales ni del contenido de ácido ascórbico y colesterol (tabla 13).

### 3.- Efectos del tratamiento crónico con extracto de barbasco previo a la preñez.

La administración de extracto de barbasco previa a la preñez, no modificó el número de animales que mantuvieron su preñez en ninguno de los grupos experimentales. En los animales con tratamiento continuo o discontinuo se observó disminución significativa del número de fetos presentes, que se acompañó del incremento en el número de reabsorciones en ambos grupos (tabla 14). En los animales en los que se suspendió la administración del extracto durante 20 días no se modificó el número de fetos ni el de reabsorciones con respecto al testigo. El peso de los fetos así como el de los ovarios y la hipófisis fué similar al del grupo testigo (tabla 14).

El peso de las adrenales de los animales de tratamiento continuo no se modificó, aunque se observó incremento en el contenido de ácido ascórbico y disminución del colesterol. La disminución del peso en las adrenales de los animales de tratamiento discontinuo, no alcanzó significancia estadística. Sin embargo, se observó mayor incremento en el contenido de ácido ascórbico y disminución del de colesterol. En los animales en los que se suspendió la administración de extracto durante 20 días, la disminución del peso de las adrenales fué más pronunciada, aunque debido a la dispersión de los datos no alcanzó significancia. En este grupo el incremento en el contenido de ácido ascórbico fué mayor que en los grupos anteriores. Este aumento se acompañó de la del contenido de colesterol (tabla 15).

TABLA 12

**EFEECTO DE LA ADMINISTRACION DEL COMPUESTO F EN EL QUINTO DIA DE LA PREÑEZ SOBRE EL NUMERO DE FETOS, EL PESO DE LOS OVARIOS Y LA HIPOFISIS (MEDIA  $\pm$  EEM)**

GRUPO	PREÑADAS TOTAL	No. FETOS	PESO FETOS mg	OVARIOS mg/100 g de peso corporal	HIPOFISIS
TESTIGO	15/15	10.2 $\pm$ 0.39	335 $\pm$ 7.5	32 $\pm$ 1.04	5.02 $\pm$ 0.17
COMPUESTO F	5/8	8.8 $\pm$ 1.07	312 $\pm$ 10	27.6 $\pm$ 1.73*	5.29 $\pm$ 0.61

\* p < 0.05

TABLA 13

**EFFECTO DE LA ADMINISTRACION DEL COMPUESTO F EN EL QUINTO DIA DE LA PREÑEZ, SOBRE EL PESO (MEDIA  $\pm$  EEM) Y EL CONTENIDO DE ACIDO ASCORBICO Y COLESTEROL EN LA GLANDULA ADRENAL**

GRUPO	n	ADRENALES mg/100 g peso corporal	ACIDO ASCORBICO mg/mg tejido	COLESTEROL mg/mg tejido
TESTIGO	15	19.64 $\pm$ 0.61	3.16 $\pm$ 0.36	62 $\pm$ 2.65
COMPUESTO F	8	21.25 $\pm$ 1.77	2.73 $\pm$ 0.27	54.45 $\pm$ 7.14

TABLA 14

**EFFECTO DE LA ADMINISTRACION CRONICA DE EXTRACTO DE DARBASCO (PARTICULA FINA)  
 SOBRE EL NUMERO Y PESO DE LOS FETOS, EL PESO DE LOS OVARIOS Y LA HIPOFISIS (MEDIA  $\pm$  EEM)  
 Y EL NUMERO DE REABSORCIONES**

GRUPO	PREÑADAS TOTAL	No. FETOS	No. REABSOR- CIONES	PESO FETOS mg	OPVARIOS mg/100 sp.c.	HIPOFISIS
TESTIGO	14/14	13 $\pm$ 0.41	3(3/14)	309 $\pm$ 11	29 $\pm$ 2.13	3.98 $\pm$ 0.12
CONTINUO	10/10	8.6 $\pm$ 0.56**	11(8/10)*	303 $\pm$ 10	29 $\pm$ 0.94	4.97 $\pm$ 0.37
DISCONTINUO	12/12	8.33 $\pm$ 1.02**	16(7/12)*	365 $\pm$ 30	29 $\pm$ 0.67	4.96 $\pm$ 0.43
20 DIAS	4/4	9 $\pm$ 2	0	315 $\pm$ 8.2	25 $\pm$ 1.24	4.42 $\pm$ 0.37

\*p < 0.01

\*\*p < 0.05

TABLA 15

**EFFECTO DE LA ADMINISTRACION CRONICA DE EXTRACTO DE BARBASCO DE PARTICULA FINA A PARTIR DEL PRIMER DIA DE LA PREÑEZ SOBRE EL PESO (MEDIA  $\pm$  EEM) Y EL CONTENIDO DE ACIDO ASCORBICO Y COLESTEROL EN LA GLANDULA ADRENAL**

GRUPO	ADRENALES mg/100 g p.c.	ACIDO ASCORBICO $\mu$ g/mg tejido	COLESTEROL $\mu$ g/mg prot.
TESTIGO	18.31 $\pm$ 0.89	0.535 $\pm$ 0.62	1510 $\pm$ 340
CONTINUO	18.36 $\pm$ 0.49	1.93 $\pm$ 0.25 *	658 $\pm$ 58 **
DISCONTINUO	17.82 $\pm$ 0.46	2.40 $\pm$ 0.316 *	604 $\pm$ 52 **
20 DIAS	15.88 $\pm$ 1.4	2.878 $\pm$ 0.83 *	640 $\pm$ 73 **

\* p < 0.0001

\*\* p < 0.05

4.- Estudio del efecto estrogénico de diosgenina y extracto de barbasco.

El estudio citológico en ambos grupos indicó que tanto la diosgenina como el extracto de barbasco en dosis de 150 mg/rata/día no ejercen efectos estrogénicos como lo muestra la ausencia de estro vaginal en todos los animales estudiados.

Todos los animales presentaron frotis vaginales de diestro (células-nucleadas y abundantes leucocitos).

5.- Efectos de la administración crónica de extracto de barbasco sobre la fertilidad de la rata macho.

El número de fetos de las hembras preñadas por animales tratados, disminuyó significativamente con relación a las hembras del grupo testigo ( $10.38 \pm 0.5$  vs  $13.00 \pm 0.4$   $p < 0.001$ ). En los animales tratados no se observaron modificaciones en el peso de vesículas seminales, los testículos, la próstata ni de la hipófisis.

En la glándula adrenal sólo se observó disminución en el contenido de ácido ascórbico (tabla 16).

El estudio morfométrico e histológico de los testículos mostró disminución significativa en la superficie tubular de los animales tratados así como gran incremento en los túbulos dañados (tabla 17).

TABLA 16

**EFFECTO DE LA ADMINISTRACION CRONICA (60 DIAS) DE EXTRACTO DE BARBASCO (PARTICULA FINA)  
 SOBRE EL PESO (MEDIA  $\pm$  DESV) Y EL CONTENIDO DE ACIDO ASCORBICO Y  
 COLESTEROL EN LA GLANDULA ADRENAL**

GRUPO mg/100 g p.c.	n	ADRENALES mg/mg prot.	ACIDO ASCORBICO mg/mg prot.	COLESTEROL
TESTIGO	15	10.72 $\pm$ 0.57	10.06 $\pm$ 2.33	1.044 $\pm$ 106
TRATADO	14	11.67 $\pm$ 0.58	3.28 $\pm$ 0.543*	1.084 $\pm$ 63.3

\*p < 0.005

**EFFECTO DE LA ADMINISTRACION CRONICA (60 DIAS) DE EXTRACTO DE BARDASCO SOBRE LA SUPERFICIE TUBULAR Y EL NUMERO DE TUBULOS ALTERADOS.**

GRUPO	SUPERFICIE TUBULAR	TUBULOS NORMALES	TUBULOS DAÑADOS
TESTIGO	72.063 $\pm$ 1763	27.75 $\pm$ 2.7	8 $\pm$ 3.5
TRATADO	52.826 $\pm$ 967*	19.2 $\pm$ 5.3	28.4 $\pm$ 7.6**

\* p &lt; 0.0001

\*\* p &lt; 0.025

## IX Discusión

Tanto el compuesto A como el compuesto F al ser agitados en agua, provocan gran cantidad de espuma, propiedad que caracteriza a las saponinas(48). Los puntos de fusión de los compuestos separados, sugieren, que ambos poseen un grado de pureza elevado.

El estudio de las reacciones de color, así como la espectrofotometría indican que ambos son saponinas, y según los estudios de cromatografía en capa fina, su Rf corresponde al Rf de uno de los compuestos descritos por Espejo y col.. Sin embargo, la similitud entre ambos compuestos no puede ser afirmada, dado que no se dispone de los resultados del estudio de RIN de C<sup>13</sup>, ni del análisis elemental del compuesto F.

El compuesto A, se trata de otra saponina de Rf y punto de fusión diferentes a los del compuesto F, las características fisicoquímicas del compuesto A son parecidas a las de otro de los compuestos descritos por Espejo y col. ( 21 ).

Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que el extracto etanólico de la Dioscorea composita (barbasco) tiene efectos anticonceptivos, los cuales actúan en por lo menos tres de los puntos que Dicsfalusy(18) propone como susceptibles de control:

- la ovulación
- la implantación
- la espermatogénesis

Según el presente estudio la capacidad de los extractos de barbasco para alterar una parte del proceso reproductivo de la hembra (implantación, peso de los fetos y peso de los ovarios), podría estar vinculado directamente a la presencia de ambos compuestos aislados.

Tal como se mostró, el compuesto F bloqueó de manera significativa la implantación, al disminuir el número de fetos presentes por animal preñado, aunque todos los animales presentaron puntos de implantación y el peso de los fetos fue normal. Los efectos del compuesto A sobre la implantación parecen ser más del tipo todo o nada, ya que si bien el número de animales

preñados fué del 63% Vs. 100% de los testigos, el número de fetos por animal preñado fué semejante al del grupo testigo, aunque el peso de los fetos y de los ovarios disminuyó significativamente.

Los efectos del extracto reflejan la sumatoria de los efectos de aminoácidos (o más) compuestos, ya que en este grupo se observó disminución de la tasa de animales preñados y del número de fetos, del peso de los animales, así como de los ovarios de la madre.

Estudios realizados con otros compuestos con actividad biológica muestran que la capacidad de absorción de éstos depende en gran parte del tamaño de la partícula (4, 13). En nuestro caso esto se corrobora, dado que el extracto de barbasco de partícula gruesa no modificó el proceso de implantación, mientras que el mismo extracto, pero de partícula pequeña bloqueó parcialmente la implantación cuando se le administró a partir del quinto día de la preñez.

La disminución en el número y peso de los fetos presente en animales tratados con extracto en el primero o quinto día de la preñez, podría ser un reflejo de alguna alteración en el patrón de secreción de gonadotropinas (LH) que mantienen el funcionamiento del cuerpo lúteo (33). El incremento en la concentración de colesterol y ácido ascórbico en la suprarrenal, sugiere la posible existencia de alteraciones en la esteroidogénesis adrenal (58). Se ha demostrado que la cuantificación de ácido ascórbico en la adrenal, es una medida indirecta de la actividad enzimática productora de pregnenolona a partir de colesterol (51).

En nuestro caso se podría descartar la posibilidad de que los resultados obtenidos fueran debidos al estrés, ya que es bien conocido que el aumento en la secreción de ACTH en respuesta a un efecto estresante provoca disminución de la concentración de ácido ascórbico (6, 58), y depleción de los lípidos de la glándula (68).

El aumento del número de reabsorciones en los animales tratados con diosgenina en el primer día de la preñez podría reflejar los efectos que ésta tiene sobre la adhesividad de las células de la mórula. Estudios "in vitro" han demostrado que la diosgenina evita la compactación en el estadio de ocho células( 63 ). El hecho de que la diosgenina administrada en el quinto día de la preñez no modifica el número de reabsorciones apoya esta interpretación.

Sin embargo no puede descartarse que tanto los efectos de la diosgenina, como quizás parte de los provocados por el extracto, sean consecuencia de alteraciones en la absorción de colesterol a partir de la dieta, así como del proveniente de la circulación enterohepática( 11 ). El colesterol es el precursor de la biosíntesis de hormonas esteroideas, tanto ováricas como suprarrenales y en ambos casos las células utilizan preferentemente el colesterol circulante que el sintetizado de novo ( 8 ). El colesterol circulante disminuye durante la preñez( 38 ), por lo que si disminuye su absorción, los efectos serían más pronunciados.

Los efectos de la diosgenina y del extracto no parecen ser debidos a la capacidad estrogénica intrínseca de ambos ya que en los animales castrados, ni la diosgenina ni el extracto mostraron poseer actividad estrogénica. Estos resultados difirieron de los publicados por otros autores, quienes utilizando como parámetros de la actividad estrogénica el peso fresco del útero y el contenido en glucógeno, concluyen que la diosgenina aislada del Costus speciosus posee actividad estrogénica( 61 ).

La administración de diosgenina como del extracto provocaron modificación del ciclo ostral, disminución del número de ovocitos liberados, que se acompañó de un aumento en los niveles circulantes de FSH en el día del estro vaginal que siguió a la suspensión del tratamiento.

Estos hechos reflejan la alteración de los mecanismos de regulación de

la secreción de gonadotropinas y como consecuencia la alteración del ciclo. Es bien conocido que las modificaciones tanto agudas como crónicas de la secreción de gonadotropinas, provocan alteraciones tanto del ciclo estral como de la ovulación ( 56 ). La alteración en la absorción del colesterol provocado por la diosgenina ( 11 ) y quizá por el extracto, podrían ser el origen de las alteraciones del ciclo estral. Estudios realizados sobre las concentraciones de colesterol en el ovario durante el ciclo estral, muestran que estos varían considerablemente a lo largo del mismo ( 38 ).

Los efectos que provocó el extracto de barbasco sobre el proceso de implantación son reversibles, dado que los animales tratados con el mismo y -- puestos a preñar luego de 20 días de descanso fueron semejantes al grupo testigo.

El extracto de barbasco también alteró la capacidad reproductora del macho y provocó aumento del número de túbulos seminíferos con incremento de la descamación celular. Estos resultados podrían reflejar alteraciones de la funcionalidad de las células de Sertoli, ya que éstas son fundamentales para mantener la integridad anatómica y funcional del túbulo seminífero (20,29). En ratas tratadas con antiandrógenos se ha observado el aumento de la descamación celular y disminución de la superficie tubular ( 55 ).

#### X Conclusiones

En base a los resultados obtenidos se puede concluir que:

- 1.- El extracto de barbasco altera el proceso reproductivo tanto en la hembra como en el macho.
- 2.- Los efectos sobre la hembra son reversibles.
- 3.- Las alteraciones que el extracto provoca sobre el proceso de implantación serían el resultado de las acciones que por lo menos dos de los compuestos aislados ejercen sobre el proceso.

- 4.- Tanto los efectos del extracto, como los de la diosgenina sobre la ovulación y la implantación no parecen ser debidos a un fenómeno de estrés.
- 5.- Los efectos anticonceptivos descritos en la zona de recolección del barbasco parecen estar vinculados a los múltiples efectos que ejerce el extracto sobre el sistema reproductivo.

Agradecemos al Dr. Alfredo Ulloa del Instituto Nacional de la Nutrición así como a las Biólogas Leticia Morales Ledezma y Angélica Flores Ramírez por las determinaciones de hormona folículo estimulante.

## XI Bibliografía

- 1- Abell, L.L., Levy, B.B., Brodie, D.B. y Kendall, E.F.  
A simplified method for the estimation of total cholesterol in serum and demonstration of its specificity  
J. Biol. Chem. 195, 357-366, 1952
- 2- Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. y Watson, D.J.  
Molecular Biology of the cell  
Gerland Publishing, Inc. New York 1983, pág. 733-750
- 3- Arimura, A.  
Hypothalamic gonadotropin releasing hormone and reproduction  
En: Reproduction Physiology II, V. 13, Ed. Creep, R.O.  
University Park Press 1977
- 4- Atkinson, R.M., Bedford, C., Child, K.J. y Tomich, E.C.  
Effect of particle size on blood griseofulvin levels in man  
Nature 193, 588-589, 1962
- 5- Basu, N. y Rastogi, R.P.  
Triterpenoid saponins and sapogenins  
Phytochemistry 6, 1249-1270, 1967
- 6- Bex, F.J. y Carbin, A.  
LH-RH and analogs: Reproductive pharmacology and contraceptive and therapeutic utility. En: Frontiers in neuroendocrinology V.8 Eds. Martin, L. y Ganong W.F. Raven Press 1984
- 7- Boitani, C., Ritzén, E.M. y Parvinen, M.  
Inhibition of rat Sertoli cell aromatase by factor(s) secreted specifically at spermatogenic stages VII and VIII  
Molec. Cell Endocr. 23, 11-22, 1981
- 8- Boyd, G.S., Mc Nemara, B., Sucking, K.E. y Tocher, D.R.  
Cholesterol metabolism in adrenal cortex  
J. steroid Biochem. 19, 1, 1017-1027, 1983
- 9- Bradford, M.M.  
A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein to dye-binding  
Annal. Biochem. 72, 248-254, 1976
- 10- Brower, C. y Ortíz de Montellano, B.  
Herbal emmenagogues used by women in Colombia and México. En: Plants used in indigenous Medicine, Ed. Nina Edking, en prensa.

- 11- Cayen M. N. y Dvornik D.  
Effect of diosgenin on lipid metabolism in rats  
J. of Lipid Res. 20, 2, 162-174, 1979
- 12- Clarke G. C.  
Isolation and identification of drugs  
The Pharmaceutical Press 1971
- 13- Conklin J. D. , Sobers J. R. y Jagner D.L.  
Urinary Drug Excretion in Dogs During Therapeutic doses of  
Different Nitrofurantoin Dosage Forms.  
J. Pharm. Sci. 58, 1365, 1368, 1969
- 14.- Copenhagen M. W., Kelly E. D. y Wood L. R.  
Tratado de Histología  
Interamericana 17ava. Ed. 1981, pág. 593-673
- 15- Chou, S.C., Ramanathan, S., Matsui, A., Rogers, D., y Cutting,  
W.C.  
Isolation of saponins with antifertility activity from Gleditsia  
horrida.  
Indian J. Exp. Biol. 9, 503-504, 1971
- 16- Dasgupta, B., and Pandey, V. B.  
A new Indian source of diosgenin (Costus speciosus).  
Experiencia 35, 5, 475-476, 1970
- 17- Dekel, N., Sherizly, I., Tsafiriri, A., and Naor, Z.  
A comparative study of the mechanism of action of Lutening hormone  
and a gonadotropin releasing hormone analog on the ovary.  
Biol. Reprod. 28, 161-166, 1983
- 18- Diczafaluzy, E.  
Reproductive Process stages modification sensitive.  
Bulletin of the WHO 40, 479-491, 1969
- 19- Di Zerega, G.S., Turner, C.K., Steufer, R. L. Abderson, L.D., Channing,  
C.P., y Hodgson, G.D.  
Suppression of follicle-stimulating hormone-dependent folliculogenesis  
during the primate ovarian cycle.  
J. Clin. Endocrinol. Metab. 52, 451-456, 1981.
- 20- Dufau, M. L., Winters, C.A., Mattori, M., Aquilano, D. Barañao, J.L.S.  
Nozu, K., Bankal, A. y Catt, K. J.  
Hormonal regulation of androgen production by the Leydig cell.  
J. Steroid. Biochem. 20, 1, 161-173, 1984
- 21- Espejo, O., Campos, L. J., H., y Giral, F.  
Spirostanic diosgenin precursors from Dioscorea composita tubers.  
Phytochemistry 21, 2, 413-416, 1982

- 22- Ekholm, C., Clark, M. R., Magnusson, C., Isaksson, O., y Lehaire, W.J.  
Ovulation induced by a gonadotropin releasing hormone analog in hypo-  
physectomized rats involves prostaglandins.  
Endocrinology. 110, 288-290, 1982
- 23- Fansworth, N.  
Biological and Phytochemical screening of Plants  
J. Pharm. Sci. 55, 225-276, 1966
- 24- Farnsworth, N. R., and Waller, D.P.  
Current status of plant products reported to inhibit sperm. en:  
Research Frontiers in Fertility Regulation. V. 21-16, 1982  
Ed. Zatuchni, G.I. Northwestern University.
- 25- Feder, H.H.  
Estrous cyclicity in mammals. In: Neuroendocrinology of reproduction  
physiology and behavior. Cap. 10 Dir. Adler, N.T.  
Plenum Press 1981
- 26- Franchimont, P.  
Un aspect nouveau de la regulation de la reproduction: Les cybernines  
intra-gonadisches.  
Méd. et Hyg. 40, 2053-2058, 1982
- 27- Franchimont, P., Crozo, F., Verhoeven, G., Hazzee-Hagelstein, M.T. y  
Charlet-Renard, C.H.  
Inhibin secretion by Sertoli cells. En: Oligozoospermia:  
Recent progress in andrology.  
Eds. Frajes, G., Hafez, E.S., Conti, C., and Fabbrini, A.  
Raven press. New York 1981, 131-137
- 28- Franchimont, P., Verstralen-Proyard, J., Hazzee-Hagelstein,  
M. T., Renard, Ch., Demovlin, A., Bouguignon, J.P., y Hustin, J.  
Inhibin: From concept to reality.  
Vit. Hormon. 37, 243-302, 1979
- 29- Fritz, B.I.  
Hormonal control of spermatogenesis. En: Biochemical Actions of hormones.  
Ed. Litwack, G. V. 5, Cap. 6.  
Academic press, 1978, 249-281
- 30- Gower, D. B., y Cooke, G.M.  
Regulation of steroid-transforming enzymes by endogenous steroids.  
J. Steroid Biochem. 19, 4, 1527-1556, 1983
- 31- Guerra, M.O., y Andrade, A.T.L.  
Contraceptive effects of native plants in rats.  
Contraception. 18, 2, 191-199, 1978
- 32- Grosvenor, C.E., Martínez-Escalera, G. Mena, F.  
Regulación neuroendócrina de la secreción de prolactina durante la  
lactancia. En: Nuevos conceptos sobre fisiología y patología hipotálamo-  
hipofisaria.  
Ed. Valverde, C., Panhaner, G., Mena, F. CONACYT, 1982, 153-178

- 33- Henderson, K.M.  
Regulation of corpus luteum steroidogenesis. En: Advances in animal and comparative physiology. Adv. Physiol. Sci. 20, Ed. Pethes, G. y Frenyo, V.L. Pergamon Press 1980.
- 34- Hicks, J.J. y Collado M.L.  
Nuevos conceptos relacionados con la implantación IV: Función del moco cervical y del fluido endometrial  
Ginec. Obstet. Mex. 46, 273, 51-66, 1979.
- 35- Hillensjo, T., Channing, C.P., Ponerontz, S.H. y Schwartz-Kripner, A  
Intrafollicular control of oocyte maturation in the pig  
In Vitro, 15. 32-39, 1979.
- 36- Hillensjo, T., Le Mairc, W. J., Clark, M.R. y Ahren, K.  
Effect of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) and GnRH agonists upon accumulation of progesterone, cAMP and prostaglandin in isolated preovulatory rat follicles.  
Acta endocrinol. 101, 603-610, 1982
- 37- Hoffer, A.P., y Hinton, B.T.  
Morphological evidence for a blood-epididimis barrier and the effects of gossypol on its integrity.  
Biology of Reproduction. 30, 991-1004, 1984.
- 38- Hoffman, D.C. y Fajer, A.B.  
Free and esterified cholesterol concentrations in the Hamster ovary during the oestrus cycle, pregnancy and lactation.  
J. Reprod. Fert. 32, 267-275, 1973.
- 39- Houillon, Ch.  
Sexualidad  
Ediciones Omega. 1978, pág. 53-62
- 40- Jensen, E.V. y De Sombre, E.R.  
Estrogens and progestins. En: Biochemical actions of hormones.  
Cap. 7. Ed. Litwaci, G. Academi Press. 1970.
- 41- Kadkade, P., Madrid, T., Lujan, J., Fuentes, A. y Rolz, C.  
Studies of the steroidal compounds of Piscescorea sp.  
9th. IUPAC. International Symposium on the chemistry of natural products, Otawa, Canadá. 1974
- 42- Kamboj, V.P. y Dhawan, B.M.  
Research on plants for fertility regulation in India.  
J. of Ethnopharm. 6, 191-226, 1982.
- 43- Steroid hormone receptors in brain, hypothalamus and hypofisis.  
En: Receptors and mechanisms of action of steroid hormones.  
Cap. 12.  
Ed. Pasqualini, J.R. Marcel Dekker Inc. 1977.

- 44- Lacroix, M., Parvinem, M. y Fritz, B.  
Plasminogen activator is localized in stages VII and VIII of the seminiferous epithelium of the rat testis.  
Biol. Reprod. 25, 143-146, 1981.
- 45- Landgren, B. M., Aedo, A. R., Hagenfeldt, K. y Diczfalusy, E.  
Clinical effects of orally administered extracts of Montanoa tormentosa in early human pregnancy.  
Amm. J. Obstet. Gynecol. 135, 4, 480-484, 1979.
- 46- Levine, S.D. y Mateos, J.L.  
Zoapatanol and Montanol, novel oxypene diterpenoids from the mexican plant Zoapatle (Montanoa tormentosa).  
Amm. Chem. Soc. 101, 3404-3405, 1979.
- 47- Lozoya, X. y Lozoya, M.  
Flora medicinal de México, V. I. Plantas Indígenas.  
INSS. México. 1982.
- 48- Mahato, S.B., Ganguly, A. N. y Sahu, N.P.  
Steroid saponins  
Phytochemistry 21, 5, 959-978, 1982.
- 49- Nekola, M.V. y Coy, D.H.  
Direct and indirect inhibition of ovulation in rats by an antagonist of luteinizing hormone-releasing hormone.  
Endocrinology. 116, 756-760, 1985.
- 50- Oko, R., y Hrudka, F.  
Comparison of the effects of Gossypol, Estradiol-17  $\beta$  and testosterone compensation on male reproductive organs.  
Biology of Reproduction. 30, 1198-1207, 1984
- 51- Overbeck, G.A.  
Hormonal regulation of ascorbic acid in the adrenal of the rat.  
Acta Endocrinol. 109, 393-402. 1985
- 52- Piñeiro, L.A. Toxicología de las plantas mexicanas. En:  
Estado actual del conocimiento en plantas medicinales mexicanas  
IMEPLAN, Méx. 1976, pág. 163-172
- 53- Purvis, K., y Hansson, V.  
Hormonal regulation of spermatogenesis: Regulation of target cell response.  
Int. J. Androl. 3, 81-143, 1981.
- 54- Quezada, N.  
Métodos anticonceptivos y abortivos tradicionales. Anales de  
Abtropolgía, Vol. XII.  
México. UNAM. 1975, pág. 223-242

- 55- Revilla, R. y Domínguez, C.R.  
Testicular changes in the rat by prepuberal administration by the synthetic antiandrogen.  
Archs. Acadol. 13, 59-62, 1984.
- 56- Richards, J.S.  
Maturation of ovarian follicles: actions and interactions of pituitary and ovarian hormones of follicular cell differentiation.  
Physiological Reviews. 60, 1, 51, 89, 1980.
- 57- Ritzén, E.M., Boitani, C., Parvinen, M., French, F.S. y Fedelman, M.  
Stage dependent secretion of ABP by rat seminiferous tubules.  
Molec. Cell Endocr. 25, 25-33, 1982.
- 58- Sayers, A.H., Sayers, G., y Woodbury, A.L.  
The assay of adrenocorticotrophic hormone by the adrenal ascorbic acid depletion method.  
Endocrinology. 42, 379-393, 1948.
- 59- Schaffert, R.R., y Kingsley, R.G.  
A rapid, simple method for the determination of reduced, dehydro, and total ascorbic acid in biological material.  
J. Biol. Chem. 212, 59-68. 1955.
- 60- Sharpe, M.R. y Fraser, M.H.  
The role of LH in regulation of Leydig cell responsiveness to an LHRH agonist.  
Mol. and Cell Endocr. 33, 131-146. 1983.
- 61- Sing, S., Samuel, A.K., Dhattachaya, S.K., y Pandey, B.V.  
Destrogenic activity of saponins from Costus speciosus (Koen) Sm.  
Indian J. Of Medical Research. 60-64, 2, 1972.
- 62- Skinner, M. K., y Griswold, M.D.  
Sertoli cells synthetiza and secreted a transferrin-like protein.  
J. Biol. Chem. 255, 9523-9525, 1980.
- 63- Surani, H. A., Kimber, J.S., y Osborn, C.J.  
Mevalonate reverses the developmental arrest of preimplantation mouse embryos by compactin an inhibitor of HMGCoA reductase.  
J. Embryol. Exp. Morph. 75, 205-223, 1983.
- 64- Tewari, P.V., Chaturvedi, C., y Pandey, V.B.  
Antidertility activity of Costus speciosus Em.  
Indian J. Pharm. 35, 4, 114-115, 1973.
- 65- Urlich, W.  
Binding of hormones to to serum protein. En: Biochemical actions of hormones. Cap. 6.  
Ed. Litwack Gerald. Academic Press. 1970.

- 66- Wall, E., Eddy, C.R., Willaman, J.J., Correll, D.S. y Schubert, B.J. y Gentry, H.S.  
Steroidal sapogenins. XII- Survey of plants for steroidal sapogenins and other constituents.  
J. am. Pharm. Ass. 43, 503-505, 1954.
- 67- Wall, E., Krider, H. M. Krewson, C.F., Eddy, C. R. Willaman, J.J. Corell, D. S. y Gentry, M.S.  
Steroidal Sapogenins VII.- Survey of plants for steroidal sapogenins and other constituents.  
J. Amm. Pharm. Ass. 43, 1-7, 1954.
- 68- Williams, R. H.  
Tratado de endocrinología 3era. Ed.  
Salvat Editores. 1975,pág. 293-297
- 69- Zteinetz, B.G.  
Secretion and function of ovarian estrogens. En: Hansbook of Physiology  
Ed. Zuckerman, L. y Weir, B.J.  
Academic Press. 1977,pág. 19-22