

173  
24



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

BIOLOGIA

“RESPUESTA CONTRACTIL INDUCIDA  
POR SEROTONINA EN LAS REGIONES  
MESOMETRIAL Y ANTIMESOMETRIAL  
DEL UTERO DE RATA”.

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
B I O L O G O  
P R E S E N T A :  
SILVIA CLAUDIA QUIROZ AMBRIZ

MEXICO, D. F.

1992

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

# INDICE

	Página
I. Resumen . . . . .	1
II. Antecedentes. . . . .	3
II.1. Morfofisiología del Miometrio . . . . .	3
II.2. Regulación Neuroendocrina de la Actividad Miométrica . . . . .	6
II.2.1. Regulación Hormonal . . . . .	7
II.2.2. Regulación Neural . . . . .	16
III. Planteamiento del Problema . . . . .	21
IV. Hipótesis . . . . .	23
V. Objetivos. . . . .	24
VI. Material y Método. . . . .	25
VII. Resultados . . . . .	35
VII.1 Sensibilidad a la serotonina de las regiones mesometrial y antimesometrial del útero aislado de rata . . . . .	35
VII.2 Efecto de la indometacina en la respuesta contráctil inducida por serotonina en el útero aislado de ratas ovariectomizadas-tratadas con estradiol. . . . .	44
VII.3 Peso húmedo de los segmentos mesometrial y antimesometrial del útero aislado de rata . . . . .	47
VIII. Discusión . . . . .	48
XI. Conclusión . . . . .	54
X. Bibliografía. . . . .	56

## I. RESUMEN

Diferentes investigaciones indican que la serotonina (5-HT) induce un incremento en la respuesta contráctil en el útero durante el estro, el embarazo y en útero de ratas ovariectomizadas-tratadas con estradiol.

El estudio de los eventos implicados en la respuesta contráctil del músculo liso uterino inducida por serotonina amplían la información de los mecanismos involucrados en la contractilidad del útero por tal motivo se seleccionó como modelo experimental el útero, aislado de rata para evaluar la reactividad farmacológica de la 5-HT en la región mesometrial y antimesometrial de este tejido en las diferentes fases del ciclo estral (estro, metaestro, diestro y proestro) y en ratas ovariectomizadas-tratadas con una dosis de 10 ug/kg de 3-benzoato de 17-beta-estradiol, así como la posible participación de las prostaglandinas endógenas en este mecanismo de contracción.

La serotonina indujo una respuesta contráctil de la región mesometrial y antimesometrial de útero aislado de rata. Se observó que existieron cambios en la sensibilidad a serotonina en ambas regiones en relación al estado endócrino, observándose la máxima respuesta contráctil en las fases de proestro, estro y ratas ovariectomizadas-tratadas con estradiol; en cambio en las fases de diestro y metaestro se apreció una insensibilidad a la serotonina en las dos regiones.

Las curvas concentración-respuesta a serotonina en las regiones uterinas mesometrial y antimesometrial fueron dependientes de la concentración de serotonina ( $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  M).

La respuesta contráctil máxima en la concentración de  $10^{-5}$  M de serotonina en la región mesometrial y antimesometrial; en las fases de proestro, metaestro y ovariectomizadas-tratadas con estradiol presentó un incremento significativo ( $P < 0.05$ ); en relación con la respuesta contráctil máxima observada en las fases de estro y diestro en ambas regiones.

Por otra parte, se observó un desplazamiento no paralelo de la curva concentración-respuesta a serotonina al utilizar indometacina (inhibidor de la síntesis de prostaglandinas) en las concentraciones de  $1 \times 10^{-5}$  y  $3.2 \times 10^{-4}$  M indicando que existe una disminución en la respuesta contráctil máxima en las regiones uterinas mesometrial y antimesometrial en útero de ratas ovariectomizadas-tratadas con estradiol. Esto podría indicar que existe la participación de prostaglandinas endógenas en la respuesta contráctil inducida por serotonina. Debido a que las prostaglandinas endógenas parecen actuar sinérgicamente en el mecanismo contráctil inducido por serotonina en el útero aislado de rata como mediadores intracelulares de la motilidad uterina.

Finalmente, los resultados obtenidos en este estudio permiten establecer que la respuesta contráctil inducida por serotonina depende del estado endócrino del animal y de las concentraciones fisiológicas de serotonina, indicando que existe una mayor respuesta contráctil en la región mesometrial posiblemente por un aumento en el número de receptores serotoninérgicos ( $S_2$ ) a serotonina y no por un aumento en la masa muscular al ser comparada con la región antimesometrial.

## **II. ANTECEDENTES**

### **II.1. Morfofisiología del Miometrio**

El útero es un segmento de paredes gruesas que forma parte del aparato reproductor de las hembras de los mamíferos y que está localizado entre el oviducto y la vagina. El útero de los roedores es de tipo bicornio y consta de dos cuernos uterinos completamente separados; el cérvix, aunque fusionado externamente, tiene dos canales separados o bien, uno en forma de Y. La pared del útero incluye tres capas: perimetrio (externa y serosa), miometrio (media y muscular) y endometrio (interna y mucosa). Anatómicamente el útero se divide en dos regiones funcionales: una porción altamente vascularizada definida como región mesometrial y una porción altamente conductora de estímulos eléctricos constituida de paquetes musculares longitudinales denominada región antimetometrial (Eckstein y Zuckerman, 1956; Melton y Saldivar, 1964, 1965; Lesson y Lesson, 1977).

El miometrio, una capa gruesa de musculatura lisa, es el responsable del trabajo mecánico que el útero realiza. En úteros bicornios como el de los roedores, las células del músculo liso están arregladas en dos capas que forman el miometrio: la capa externa, en la cual los haces se encuentran arreglados paralelamente al eje longitudinal del útero y su contracción tiende a acortar al útero en dirección céfalo-caudal, y la capa interna, en la que los haces se encuentran arreglados concéntricamente alrededor del eje longitudinal y cuya

contracción constriñe el lumen uterino. Los haces están completamente entrelazados (Finn y Porter, 1975). Según Ludwig (1952), los haces de las capas longitudinal externa y circular interna en la rata son continuos a través de un sistema complejo de giros espirales separados por tejido conectivo. El tejido conectivo comprende colágena, fibroblastos, células cebadas y fibras elásticas; sus funciones son sostener las fibras musculares y transmitir la tensión producida por la contracción de una fibra a la siguiente.

La actividad contráctil es generada por el deslizamiento de proteínas contráctiles de las células musculares. Un complejo sistema mecano-electroquímico es responsable de este deslizamiento y de su conversión en la contracción muscular (Marshall, 1973).

La contracción del músculo liso es consecuencia del aumento de calcio libre intracelular que activa la maquinaria contráctil. Este aumento podría originarse por la liberación de iones de calcio de almacenes intracelulares o por la entrada de iones de calcio del medio extracelular (Bolton, 1979; Godfrain, 1981). Se ha propuesto que los iones de calcio extracelulares pasan a través de la membrana plásmática de células de músculo liso por dos vías: una vía de calcio sensible al voltaje y otra vía de calcio operada por el receptor (Bolton, 1979). Por otra parte, la relajación ocurre cuando las concentraciones de calcio intracelular están por abajo de  $10^{-7}$  M, como resultado del flujo del calcio o la recaptura de calcio por los sitios de unión intracelular (Marshall, 1973).

Los iones de calcio están involucrados en el proceso de acoplamiento excitación-contracción en el miometrio. El calcio puede actuar en un sitio

receptor asociado con la molécula de miosina para producir la contracción (Bremel y col., 1977; Sobieszek, 1977). Sin embargo, la manera en que la interacción actina-miosina es controlada en el músculo liso permanece en controversia. Ebashi (1977) ha propuesto que otras dos proteínas, la leiotonina y una proteína ácida, son esenciales para la contracción del músculo liso, de tal manera que estas moléculas junto con la tropomiosina producen la contracción al actuar en la molécula de actina.



## **II.2. Regulación Neuroendocrina de la Actividad Miométrial**

La mayoría de los músculos lisos tiene una función específica que se lleva a cabo de manera intermitente o continuamente a lo largo de la vida del animal. De acuerdo con la posición y función de los músculos lisos sus patrones de actividad varían ampliamente. Los patrones temporales y espaciales de dicha actividad dependen de las propiedades membranales de las células musculares lisas y de su inervación. La actividad espontánea puede dar lugar a un tono continuo o a ondas de contracción. Las hormonas y/o neurotransmisores, ya sean excitatorios o inhibitorios, modifican esta actividad o reestablecen su estado de reposo (Creed, 1979).

La actividad del músculo liso uterino depende de cierto número de factores, entre ellos se encuentran: las propiedades de las células musculares lisas individuales, la interacción entre ellas y la interacción con agentes externos como nervios, hormonas y el medio ambiente físico (Creed, 1979).

### II.2.1. Regulación Hormonal.

La función del útero varía de acuerdo con el estado reproductivo del animal. Estos cambios son regulados por las hormonas sexuales, estrógenos y progesterona, las cuales inician una serie de cambios funcionales para la implantación, mantenimiento del embrión, alteraciones del estado contráctil del músculo liso uterino, así como la sensibilidad miometrial a factores que presentan una función importante en la iniciación del parto (Sakamoto y col., 1986).

Los estrógenos tienen diversos efectos en el útero, incrementan el suplemento sanguíneo causando hiperemia, incrementan la permeabilidad capilar, la recaptura de agua, electrolitos y aminoácidos por las células del útero. La actividad glucolítica y el metabolismo de carbohidratos aumentan, así como el consumo de oxígeno y síntesis de los tres tipos de ARN (mensajero, ribosomal y de transferencia), (Vilée, 1973). El estradiol incrementa la recaptura de nucleótidos precursores de ARN, la actividad de la RNA polimerasa, la actividad del templado de cromatina en el útero, la síntesis de fosfolípidos y proteínas, la población de ribosomas en la célula, la motilidad uterina y el contenido de actina-miosina, aunque esta respuesta es retardada por varios días (Vilée, 1973). Algunos de estos efectos producidos por los estrógenos en el útero de rata pueden ser explicados en base a los siguientes mecanismos:

- 1) Respuestas mediadas por los eosinófilos uterinos que migran de la sangre al útero bajo estimulación estrogénica a través de un mecanismo no genómico, por ello han sido llamadas no-genómicas o tempranas ya que

aparecen en minutos o a lo máximo en 6 horas después de la administración de estradiol a ratas ovariectomizadas, produciéndose en el útero cambios tales como eosinofilia, edema, incremento de la permeabilidad vascular y liberación de las aminas histamina y serotonina contenidas en las células cebadas (Tchernitchin, 1982).

- 2) Respuestas mediadas por el receptor citosólico-nuclear y la interacción del complejo hormona-receptor con el genoma provocando un incremento de la síntesis proteica y el ARN uterino, así como una diferenciación morfológica y funcional de las células blanco. Estas respuestas corresponden a la fase tardía genómica de la estimulación estrogénica que se desarrolla completamente 24 horas después (Jensen y De Sombre, 1972; Tchernitchin y Galand, 1981; Lee, 1982; Tchernitchin, 1983).
- 3) Respuesta mediadas por monofosfato cíclico de adenosina (AMPC) estimulando el incremento del contenido uterino del glucógeno (Tchernitchin y col., 1977). Se ha establecido que muchas hormonas provocan un aumento en la concentración intracelular de AMPC activando a la enzima adenil ciclasa que cataliza la conversión del trifosfato de adenosina (ATP) en AMPC, y que se localiza en la superficie interna de la membrana celular siendo un sitio receptor específico. Se ha sugerido que el AMPC actúa como "segundo mensajero" propagando el efecto de la hormona (primer mensajero) a toda la célula.

- 4) Otro de los mecanismos de transducción de la señal hormonal es la de los fosfoinosítidos. La hidrólisis de un fosfolípido de membrana (fosfolipasa C) específico para el fosfatidilinositol 4, 5 bifosfato produce dos segundos mensajeros intracelulares: el inositol trifosfato que abre los canales de calcio, y el diacilglicerol que activa una proteína cinasa.

El inositol 1, 4, 5 trifosfato tiene la capacidad de interactuar con receptores intracelulares probablemente localizados a nivel del retículo sarcoplásmico, del retículo endoplásmico liso y en células del músculo liso (Spat y col., 1986). La activación de estos receptores por este segundo mensajero induce la apertura de un canal que libera calcio, que desencadena procesos tales como la contracción del músculo liso, la ruptura del glucógeno y la excitosis (Michell, 1985). El ión de calcio es un factor de acoplamiento capaz de activar múltiples enzimas dependientes del complejo calcio - calmodulina.

Por otro lado el diacilglicerol es un activador de la proteína cinasa - C, la cuál ocasiona la modificación covalente (fosforilación) de múltiples enzimas y proteínas provocando cambios en su actividad, así como la propagación de la señal hormonal en muchas células.

La importancia del proceso de transducción de los fosfoinosítidos es que está involucrado en varios procesos celulares que van desde la modulación del metabolismo, la secreción de enzimas y hormonas, la contracción muscular, la transmisión sináptica e incluso el crecimiento celular.

Se ha utilizado el útero de rata como modelo experimental para estudiar con técnicas bioquímicas los cambios inducidos por la estimulación hormonal. El análisis de los productos de traducción del ARNm *in vitro* en animales tratados con estradiol ha revelado el incremento de algunas proteínas. La progesterona sola no estimula el aumento de la síntesis proteica; sin embargo, el tratamiento con una combinación de estrógenos más progesterona disminuye la síntesis de proteínas estimulada por los estrógenos después de la traducción *in vitro* (Komm y Lyttle, 1984).

Estos hallazgos proveen apoyo para la observación de que los estrógenos estimulan la síntesis proteica en el miometrio. Este método ha sido utilizado exitosamente para estudiar los efectos de la progesterona sobre el aumento de las síntesis de proteínas inducida por estrógenos. Wheeler y col. (1987) demostraron que en el útero de rata la progesterona inhibe la síntesis de proteínas de peso molecular 115 000 y 65 000 daltones inducidas por el tratamiento con estrógenos; la aplicación de la progesterona se realizó 8 horas después del tratamiento con estrógenos. Este estudio reportó también que el ARNm se produce entre las 6 y 12 horas después de la administración de los estrógenos. La función fisiológica de las proteínas inducidas por estrógenos en el útero de la rata se desconoce; sin embargo, su estudio contribuye a entender el mecanismo de la expresión genómica regulada por los estrógenos.

Durante el embarazo, la progesterona promueve un estado de quietud miometrial, el cual se opone y neutraliza la excitabilidad producida por los estrógenos (Garfield y col., 1978). El efecto inhibitorio de la progesterona sobre

el desarrollo de uniones estrechas uterinas tanto in vivo como in vitro puede ser responsable parcialmente del bloqueo de la contractilidad uterina (Garfield y col., 1978).

Muchas de las respuestas miométriales que se observan durante el embarazo y el parto se han relacionado con los niveles de estrógenos y progesterona; la relación estrógenos/progesterona se incrementa en varias especies justo antes del inicio de la labor de parto (Challis y Mitchell, 1981).

Existen otras hormonas que tienen influencia en la contractilidad del útero, como la oxitocina que es un octapéptido producido por el hipotálamo y liberado de la pituitaria posterior.

Se ha observado que la oxitocina contrae el útero de varias especies de mamíferos. En algunas especies la respuesta uterotónica es dependiente del estado endócrino del animal; por ejemplo, el útero de conejo, después del tratamiento con estradiol, es muy sensible a la oxitocina, mientras que el útero de conejos tratados con progesterona son insensibles a la misma. No obstante, el útero de conejo retiene la capacidad de responder a otros agentes como la metilcolina, que es un agonista colinérgico (Nisseson y col., 1978).

La oxitocina producida por la pituitaria y el ovario activa el útero vía su suplemento sanguíneo y su unión a dos tipos de receptores: uno en las células miométriales que estimulan las contracciones uterinas, y el segundo tipo localizado en las células deciduales que estimula la producción de prostaglandinas. Estas prostaglandinas se difunden en el miometrio adyacente y

aumentan las contracciones inducidas por la oxitocina. Con el efecto directo de las prostaglandinas en el cérvix, las contracciones adquieren la fuerza necesaria para dilatar el cérvix y expulsar al feto. Una fuente adicional de oxitocina durante la labor puede ser la placenta, un sitio con una producción limitada de oxitocina (Fuchs, 1987).

Las prostaglandinas son un grupo de lípidos biológicamente activos que desempeñan un papel importante en varios procesos reproductivos. Las prostaglandinas son hidroxiácidos no saturados liposolubles que contienen 20 átomos de carbono. El esqueleto básico es el ácido prostanoico, común en todas las prostaglandinas, que está formado por ácidos grasos esenciales naturales.

En la mayoría de los tejidos de los mamíferos el precursor más importante para la biosíntesis local de prostaglandinas es el ácido araquidónico; la fuente principal de éste ácido es la propia membrana de la célula. El ácido araquidónico se metaboliza rápidamente originando productos oxigenados por medio de dos mecanismos enzimáticos diferentes: una ciclooxigenasa y una lipoxigenasa. La síntesis de prostaglandinas primarias (A, E, F) se realiza por un complejo de enzimas microsomales, y la principal enzima es la ciclooxigenasa que cataliza la formación de endoperóxidos a partir de la cadena insaturada de algunos ácidos grasos. Las prostaglandinas son eliminadas rápidamente a través de la circulación: es probable que sus efectos se produzcan principalmente dentro o en los tejidos adyacentes al lugar donde se producen, es decir, son hormonas que tienen un efecto local (Austin y Short, 1972).

Las prostaglandinas se utilizan en la clínica para estimular la actividad uterina en el segundo trimestre del embarazo y en la etapa final del embarazo (Garrioch, 1978). Se ha observado que los segmentos uterinos provenientes de mujeres no embarazadas (etapa proliferativa) y embarazadas (tercer trimestre) son sensibles a la acción uterotónica de la prostaglandina F2- alfa. Estos resultados indican que en el útero probablemente no se presenta un cambio en la concentración de receptores a prostaglandinas (Garrioch, 1978).

Por otra parte, aunque la síntesis de prostaglandinas es influida por la actividad de las hormonas ováricas, parece ser que éstas no tienen un efecto directo en su liberación. Algunos estudios *in vivo* han indicado que la liberación de prostaglandinas es regulada por un equilibrio inhibitorio y estimulador, ambos factores de origen intracelular y extracelular. Varios péptidos y aminas biogénicas pueden estimular la liberación de prostaglandinas de varios tejidos; éstos incluyen epinefrina, histamina, bradiquinina, angiotensina I y II y las hormonas neurohipofisarias. En las funciones del tracto reproductor femenino la interacción de la oxitocina y las prostaglandinas es un caso notable (Fuchs, 1987).

Kuriyama y Susuki (1976) encontraron que en el útero de rata embarazada, inmediatamente antes del parto, la oxitocina es más efectiva en inducir la contracción del miometrio que a la mitad del embarazo. Este súbito cambio en la sensibilidad del útero de rata embarazada a la oxitocina corresponde al aumento de la concentración de receptores miometriales a oxitocina (Alexandrova y Soloff, 1982; Fuchs y col., 1983). Este efecto uterotónico es bloqueado por la indometacina (inhibidor de la ciclooxigenasa),



por lo que se presume que las prostaglandinas uterinas contribuyen a la acción uterotónica de la oxitocina (Garrioch, 1978).

Por otra parte, el mecanismo de los ciclos estrales, se basa en los cambios de la citología vaginal, que están regulados por las hormonas esteroides que actúan sobre los órganos accesorios. De esta forma, el ciclo estral está regulado por factores liberadores, hormonas hipofisarias y sexuales o gonadales.

En la mayoría de los mamíferos se presenta el ciclo estral. La fase en que la hembra se encuentra en condiciones fisiológicas y psicológicas que permiten que se lleve a cabo la copulación ha sido definido como período de calor o de estro. El tiempo transcurrido entre el comienzo de un estro y el comienzo del siguiente es lo que se llama ciclo estral.

El ciclo estral de la rata tiene una duración de cuatro a cinco días y se repite a lo largo del año (poliestro). El ciclo se divide en cuatro fases:

**Estro.-** Es la fase de receptividad sexual y en la que ocurre la ovulación. El ovario presenta folículos maduros, el endometrio tiene una proliferación glandular, se inicia la formación de cuerpo amarillo y al final de esta fase disminuye la hormona luteinizante (HL) y los estrógenos circulantes.

**Metaestro.-** En esta fase la hembra rechaza al macho. Es la fase posovulatoria, que se caracteriza por el desarrollo del cuerpo lúteo e iniciación de la secreción de progesterona.

**Diestro.-** Durante esta fase también la hembra rechaza al macho. Es la más larga del ciclo. Se le clasifica como la fase del cuerpo amarillo, en ella, predomina la influencia de la progesterona luteínica, sobre las estructuras accesorias. En el ovario, se encuentran uno o más cuerpos amarillos.

**Proestro.-** En esta fase la hembra empieza a aceptar al macho. Es la fase que antecede a la ovulación. Se inicia en el ovario la maduración de los folículos. En el endometrio se inicia la proliferación glandular, los niveles de progesterona disminuyen, la liberación de la hormona folículo estimulante (HFE) estimula el crecimiento del folículo y los niveles de estrógenos se elevan. Este proceso culmina en el estro, cerrándose el ciclo y a la vez iniciándose el siguiente.

## II.2.2. Regulación Neural.

Numerosos estudios de la inervación autónoma del músculo liso uterino se han realizado gracias al desarrollo de la técnica histoquímica de fluorescencia desarrollada por Falck y col. (1962) para la localización celular de catecolaminas.

Desde un punto de vista clásico, el músculo liso del útero tiene una inervación dual: la inervación parasimpática, con acetilcolina como transmisor químico, y la inervación simpática, con noradrenalina como transmisor. Las neuronas colinérgicas activan receptores muscarínicos (excitatorios) y las neuronas noradrenérgicas activan receptores adrenérgicos alfa (excitatorios) y beta (inhibitorios) (Moawad, 1973).

Adham y Schenk (1969) han caracterizado la inervación autónoma del útero, cérvix y vagina de rata, señalando que la capa circular del útero está más intensamente inervada con respecto a la longitudinal y que la intensidad de la inervación disminuye gradualmente hacia la parte ovárica del cuerno uterino; concluyendo que la inervación adrenérgica y colinérgica del útero de rata es considerablemente más densa y prominente en estro que en diestro y que el contenido de neurotransmisores de las neuronas puede estar regulado por un factor hormonal.

La acetilcolina produce aumento en la actividad contráctil del útero de varias especies de mamíferos como rata, cobayo, conejo y humano. En la rata y en el conejo el tratamiento con estrógenos no modifica la sensibilidad del útero a los agonistas colinérgicos (Nissenson y col., 1978).

Existen evidencias experimentales que concluyen que la sensibilidad del útero a las catecolaminas varía según la especie, así como el estado endócrino del útero y que los cambios en la motilidad uterina se deben a fluctuaciones en la densidad de los receptores adrenérgicos alfa y beta (Diamond y Brody, 1966; Nesheim, 1974; Williams y Lefkowitz, 1977; Roberts y col., 1977). La noradrenalina es el principal neurotransmisor adrenérgico que se ha encontrado en el útero de rata, cobayo, conejo, oveja y humano (Arkininstall y Jones, 1985).

El útero de rata presenta variaciones en la concentración de los receptores adrenérgicos del subtipo beta durante las diferentes fases del ciclo estral. Krall y col. (1978) encontraron que el contenido miometrial de receptores adrenérgicos beta, en la rata se eleva significativamente durante las fases de proestro y estro; por otra parte, observaron que la castración produce una reducción significativa del contenido de receptores adrenérgicos beta y esta reducción se puede revertir al administrar estradiol. Los resultados obtenidos de estos estudios concuerdan con la sensibilidad del útero de rata a la noradrenalina durante las diferentes fases del ciclo estral (Sterin-Speziale y col., 1981).

Además de la innervación directa adrenérgica y colinérgica, el músculo liso uterino tiene la influencia directa de otros neurotransmisores putativos como histamina y serotonina que tienen acceso a este tejido por difusión de terminales nerviosas de los vasos sanguíneos o de otros tejidos. De acuerdo con estudios de fluorescencia histoquímica realizados por Mckercher y col. (1973), los únicos almacenes identificables de histamina y serotonina en el útero de la rata son las

células cebadas, aunque los límites de detección de esta técnica no son suficientemente sensibles para permitir la exclusión definitiva de almacenes de aminas en otro tipo celular. Las células cebadas se encuentran discontinuamente a lo largo del cuerno uterino (Levier y Spaziani, 1966) y alcanzan su mayor número cerca de las pequeñas arterias y arteriolas del miometrio. Las aminas son liberadas de las células cebadas por degranulación o exocitosis (Johnson y Moran, 1969; Ellis y col., 1970; Lagunoff, 1972).

La distribución de las células cebadas en secciones cruzadas del útero de rata es regulada significativamente por estradiol como lo muestran los resultados de Gibbons y Chang (1972) y Mckercher y col. (1973). El gran número de células cebadas totalmente desgranuladas durante el proestro y 15 horas después de la administración de estrógenos a ratas ovariectomizadas podría indicar que la liberación de las aminas biogénicas ocurre de las células cebadas. Mckercher y col. (1973) encontraron que después de 4 horas de la administración de estrógenos, el contenido de histamina y serotonina de las las células cebadas uterinas disminuye al 70%. Probablemente esta disminución se debe a un aumento en la liberación de las mismas y este fenómeno podría relacionarse con el edema uterino que se observa 4 horas después de la administración de estrógenos a ratas ovariectomizadas.

La histamina produce contracciones en el músculo liso uterino aislado de cobayo y humano; sin embargo, relaja el músculo liso del útero de la rata. El útero aislado de la rata parece ser el único caso en la que la histamina induce relajación uterina (Bertaccini y col., 1979).

El útero de rata tiene receptores a histamina del subtipo H2. La activación de los receptores H2 produce un aumento de la liberación de noradrenalina de las varicosidades nerviosas adrenérgicas; la noradrenalina activa los receptores postsinápticos adrenérgicos beta-2 y se produce relajación en el útero (Goyal y Verma, 1982). El efecto relajante uterino de la histamina sobre el útero aislado de la rata es dependiente del estado hormonal. Viggiano y col. (1984) reportaron que el útero aislado de ratas en fase de estro es más sensible a la histamina que el útero de animales en fase de diestro.

La información relacionada con la sensibilidad del útero a la serotonina es muy escasa y se refiere principalmente a estudios realizados en útero aislado de rata. Diversas investigaciones señalan que el útero aislado de rata es altamente sensible a la respuesta contráctil a serotonina durante estro o la preñez y esta sensibilidad disminuye durante diestro, postparto y después de remover los ovarios (Robson y col., 1954; Ichida y col., 1984).

La gran sensibilidad del útero de rata tratada con estrógenos a la serotonina fue motivo del desarrollo de un bioensayo para este neurotransmisor (Amin y col., 1954). Recientes investigaciones explican el mecanismo de acción de los estrógenos en la inducción de la sensibilidad del útero de rata a la serotonina, en relación a si se trata de un mecanismo genómico o no genómico (Campos y col., 1990). La sensibilidad del útero de rata ovariectomizada a la serotonina empezó a manifestarse después de 6 horas del tratamiento con estradiol y se incrementó conforme aumentó el tiempo de exposición al estradiol; la respuesta contráctil máxima se observó a las 48 horas del tratamiento hormonal. El pretratamiento con actinomicina D antes de la administración de

estradiol bloqueó completamente la sensibilidad uterina a serotonina inducida por estrógenos (Campos y col., 1990). Estos aspectos indican que la respuesta contráctil del útero de rata inducida por serotonina se lleva a cabo a través de un mecanismo genómico y que pertenece a la fase tardía de las respuestas del útero de la rata a la acción de los estrógenos. Aunque en este estudio se concluyó que la sensibilidad uterina a la serotonina inducida por estrógenos en ratas ovariectomizadas es una respuesta tardía, no se pueden descartar otros factores relacionados con la inducción específica de la sensibilidad uterina a la serotonina, como el contenido de esta amina en las células cebadas, cuyo número y degranulación son inducidos por estrógenos y quizás representen una acción hormonal independiente.

Se han propuesto diferentes mecanismos para explicar el incremento específico de la respuesta contráctil a serotonina inducido por estrógenos en el tejido uterino: 1) por cambios en la degradación metabólica de la serotonina; 2) cambios en la recaptura de serotonina y; 3) por cambios cualitativos y cuantitativos de los receptores a serotonina. Ichida y col. (1984) demostraron que el incremento específico de la respuesta contráctil a la serotonina por la administración de estradiol es debido a un cambio en el número de receptores en este tejido. Cohen y col. (1985) complementaron la observación anterior proponiendo que los receptores específicos a serotonina presentes en el útero de la rata son del subtipo 5-HT<sub>2</sub>, y recientemente Campos y col. (1990) mostraron que este fenómeno pertenece a una acción genómica de los estrógenos sobre el útero de rata.

### **III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Existen varios reportes acerca de la acción de la noradrenalina y la serotonina en el útero de rata; sin embargo, el estudio de la variación de la población de receptores a estos agonistas en diferentes regiones del útero ha recibido escasa atención. En este aspecto se han descrito variaciones en la respuesta a agonistas beta-adrenérgicos de tiras longitudinales y circulares de músculo liso uterino de rata, así como una reactividad variable a noradrenalina en diferentes regiones del útero humano (Daels, 1974; Nesheim, 1975).

Melton y Saldívar (1964, 1965) han descrito un grupo compacto de fibras musculares longitudinales en el útero de la rata, que se localiza opuestamente a la región mesometrial y conduce estímulos eléctricos a mayor velocidad que el resto del miometrio. Recientemente se ha reportado una diferente respuesta contráctil de la región antimesometrial en comparación con la mesometrial a agonistas adrenérgicos (Borda y col., 1978).

Hasta la fecha se desconoce la función de la serotonina en el útero de la rata y las consecuencias de su regulación estrogénica. En vista de los hallazgos que muestran variación anatómica de la respuesta contráctil uterina a diferentes agonistas, el propósito principal de este estudio fue caracterizar la respuesta contráctil inducida por serotonina en las regiones mesometrial y antimesometrial del útero de rata en las diferentes fases del ciclo estral y en ratas ovariectomizadas-tratadas con estrógenos.



Por otra parte, como se ha reportado que la liberación de prostaglandinas en el útero es consecuente a la acción de la oxitocina, es decir, las prostaglandinas modulan la acción uterotónica de la oxitocina para producir las contracciones uterinas (Roberts y MacCraken, 1976; Garrioch, 1978), se ha sugerido que las prostaglandinas actúen como moduladores de la acción uterotónica inducida por otras hormonas y neurotransmisores (Fuchs, 1987).

Asimismo se ha observado que la respuesta contráctil del útero puede ser modificada por la inhibición de la síntesis de prostaglandinas endógenas disminuyendo la actividad espontánea del útero de rata (Borda y col., 1981).

Por lo anterior en este estudio se investigó la posible participación de las prostaglandinas endógenas en la respuesta contráctil inducida por serotonina en las regiones mesometrial y antimesometrial de útero de ratas ovariectomizadas y tratadas con estrógenos.

#### **IV. HIPOTESIS**

Con la premisa de que existe una variación anatómica en la reactividad uterina a diferentes hormonas y/o neurotransmisores se propone que existirán diferencias farmacológicas en la actividad contráctil inducida por serotonina in vitro de las regiones mesometrial y antimesometrial del útero aislado de rata.

## V. OBJETIVOS

- 1) Caracterizar la respuesta contráctil inducida por serotonina en las regiones mesometrial y antimesometrial del útero aislado de rata en las diferentes fases del ciclo estral y en ratas ovariectomizadas-tratadas con estradiol.
- 2) Determinar la posible participación de las prostaglandinas endógenas en la respuesta contráctil inducida por serotonina en las regiones mesometrial y antimesometrial del útero de ratas ovariectomizadas-tratadas con estradiol, empleando la indometacina (inhibidor de la síntesis de prostaglandinas).
- 3) Cuantificar el peso húmedo uterino de las regiones mesometrial y antimesometrial para evaluar si la masa muscular del tejido uterino tiene un efecto sobre la respuesta contráctil inducida por serotonina.

## **VI. MATERIAL Y METODO**

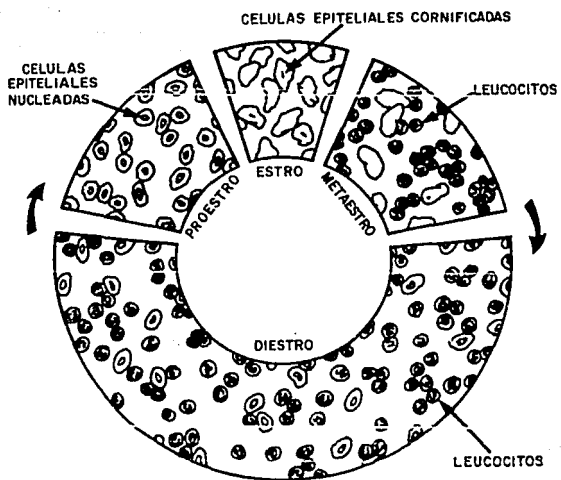
### **Material Biológico:**

Se utilizaron úteros aislados de ratas hembras vírgenes de la cepa Sprague Dawley de 200 g de peso corporal, mantenidas bajo condiciones de fotoperíodo de luz/oscuridad (12/12 horas), en diferentes fases del ciclo estral (diestro, proestro, estro, metaestro) y ratas ovariectomizadas-tratadas con estradiol a una temperatura de 20° C, en jaulas y alimento especial para roedores y ventilación apropiada.

Las fases del ciclo estral se determinaron por análisis citológico de frotis vaginal. Los cambios histológicos observados en el ciclo estral fueron los siguientes: en la fase de diestro se observaron leucocitos (polimorfonucleares) y algunas células epiteliales (nucleadas, de mayor tamaño que los leucocitos). En la fase de proestro se observó un gran número de células epiteliales nucleadas; los leucocitos desaparecen. En el principio del estro se observan algunas células epiteliales nucleadas, pero en el estro propiamente, el frotis presentó células epiteliales cornificadas. Solamente se emplearon animales que presentaron dos ciclos estrales continuos (Fig. A).

La ovariectomía se realizó 15 días antes del sacrificio o del tratamiento con estradiol la cual consistió en: primero se anestesió al animal con éter y se realizó una "incisión dorsal" al nivel de la base de los riñones, aproximadamente entre las últimas costillas y el muslo. Se rasuró el pelo de los dos costados y sobre esa zona se limpió con cloruro de benzalconio. Se procedió a hacer una incisión

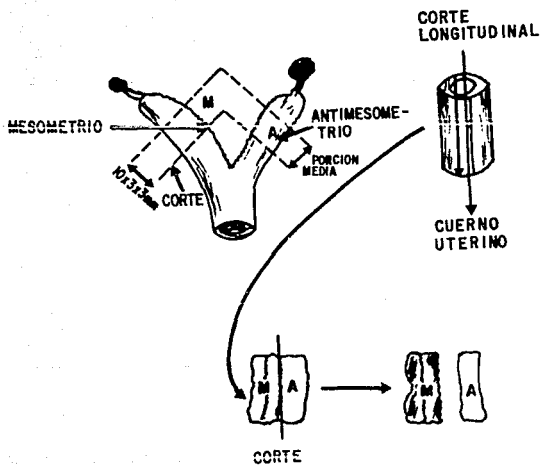
transversal de 1.5-2.0 cm. La incisión de la piel se hizo lateralmente de un lado a otro para dejar expuestos los ovarios. Se separaron las capas musculares que cubrían los ovarios, entre la última costilla y la pelvis, e inmediatamente debajo de la masa muscular dorsal y de esta manera se localizaron los ovarios a través de la pared abdominal. Después se aislaron los ovarios que se encontraban insertados en una acumulación de grasa y se extrajeron. Finalmente se cerró la pared abdominal mediante una sutura sencilla con hilo absorbible. Ya terminada la técnica se aplicó penicilina intramuscular para evitar infecciones posteriores en el animal. Posteriormente se dejó que los animales se recuperarán siete días. El tratamiento con estradiol consistió en una dosis de 10 ug/kg de 3-benzoato de 17-beta-estradiol en un volumen de 0.1 ml de aceite de maíz administrada por vía subcutánea, 44 horas antes del sacrificio, empleando una jeringa de 1.0 ml y una aguja hipodérmica de calibre 23; para abatir los niveles plasmáticos de estrógenos y progesterona.



**FIGURA A.- CAMBIOS VAGINALES DURANTE LAS DIFERENTES FASES DEL CICLO ESTRAL DE LA RATA.**

### **Preparación del tejido uterino:**

Los animales se sacrificaron por dislocación cervical. Se realizó una incisión ventral en el abdomen, se localizaron las trompas uterinas y los ovarios. Se procedió a separar el útero de la vagina y se quitó cualquier tejido adherente no uterino. Los cuernos uterinos se aislaron y se disecaron dentro de una caja de Petri que contenía solución fisiológica Krebs Ringer Bicarbonato (KRB) a 30°C, con la siguiente composición milimolar: Glucosa, 11; Na HCO<sub>3</sub>, 20; NaCl, 120; KCl, 4.6; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.2; MgSO<sub>4</sub>, 1.2. y CaCl<sub>2</sub>, 1.5 mM. El pH se ajustó a 7.4 con burbujeo constante de una mezcla gaseosa 95% O<sub>2</sub> / 5% CO<sub>2</sub> durante 20 minutos. De la porción media de cada cuerno uterino se separaron las regiones mesometrial y antimesometrial de aproximadamente 10 x 3 x 3 mm (Fig. B). Las regiones se colocaron en un papel filtro y se extrajo por presión el fluido intrauterino de cada una de las regiones uterinas aisladas y se cuantificó el peso húmedo uterino con una balanza analítica.



**FIGURA B.-** DIAGRAMA DE LAS REGIONES MESOMETRIAL Y ANTIMESOMETRIAL DE LA PORCION MEDIA DE UTERO AISLADO DE RATA.

M= MESOMETRIAL      A= ANTIMESOMETRIAL



### **Registro isométrico:**

Las regiones uterinas aisladas se colocaron verticalmente en una cámara para tejidos aislados de 10 ml de volumen que contenía 10 ml de solución fisiológica KRB a 37° C con burbujeo constante de una mezcla gaseosa de 95% O<sub>2</sub> / 5% CO<sub>2</sub>. Un extremo de la región se fijó a la base de la cámara y la otra se unió por medio de hilo de seda (4-0) al transductor de tensión. Los tejidos se tensionaron a 1 g y se estabilizaron durante una hora renovando la solución de KRB cada 10 minutos antes de ser expuestos a los diferentes fármacos. Las contracciones del músculo liso uterino de los segmentos se registraron en un sistema isométrico convencional que consiste de un transductor de tensión Grass modelo FTO3 conectado a un polígrafo Grass modelo 7B.

### **Soluciones:**

El cloruro de acetilcolina se preparó con KRB y se utilizó la concentración 10<sup>-4</sup> M.

El sulfato de creatinina de serotonina (5-HT) se preparó con KRB. A partir de la concentración 10<sup>-4</sup> M se prepararon las diferentes concentraciones (10<sup>-8</sup>, 10<sup>-7</sup>, 10<sup>-6</sup>, 10<sup>-5</sup> M).

La indometacina se disolvió en una solución de NaOH (0.1N) para obtener las concentraciones (1 x 10<sup>-5</sup> y 3.2 x 10<sup>-4</sup> M).

La solución de 3-benzoato de 17-beta estradiol se preparó con 0.1 ml. de aceite de maíz para obtener la concentración de 10 ug/ml.

#### **Curvas concentración-respuesta:**

La actividad contráctil espontánea se registró al iniciar cada experimento durante 20 minutos. Los fármacos (acetilcolina, serotonina e indometacina) se añadieron directamente al baño de incubación en un volumen que nunca excedió de 20 ul de las soluciones apropiadas para obtener las concentraciones finales requeridas. En todos los casos las drogas se dejaron actuar durante 5 minutos; después de ese tiempo el tejido se lavó dos veces con KRB fresco y precalentado a 37°C.

#### **Curvas concentración-respuesta a serotonina:**

Las regiones uterinas incubadas durante una hora con KRB precalentado, se expusieron a acetilcolina ( $10^{-4}$  M). Posteriormente se adicionaron las diferentes concentraciones de serotonina ( $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  M) por un período de 5 minutos, lavándose los tejidos después de ese tiempo dos veces con KRB para que finalmente se obtuviera la curva concentración-respuesta a serotonina.

Para estudiar la participación de las prostaglandinas endógenas en la respuesta contráctil inducida por serotonina se realizó el siguiente protocolo:

a) primera curva concentración respuesta a serotonina; b) incubación con indometacina ( $1 \times 10^{-5}$  y  $3.2 \times 10^{-4}$  M); c) segunda curva concentración-respuesta a serotonina en presencia de indometacina.

### **Obtención y manejo de datos:**

El aumento de la actividad contráctil de las regiones uterinas inducidas por serotonina y acetilcolina se midió como el área bajo la curva del trazo poligráfico obtenido durante los primeros 5 minutos de exposición al fármaco, por medio de un planímetro (HIRUDEN). La respuesta inducida por acetilcolina ( $10^{-4}$  M) se consideró la respuesta del 100% en todos los experimentos y con ésta se compararon las respuestas obtenidas con serotonina en todas las condiciones experimentales de éste estudio. Las curvas concentración-respuesta a la serotonina se construyeron en forma no acumulativa.

### **Reactivos**

Todos los reactivos utilizados para preparar la solución KRB fueron de grado analítico. Se utilizó agua bidestilada para preparar la solución KRB. El sulfato de creatinina de serotonina, el cloruro de acetilcolina, la indometacina y el 3-benzoato de 17-beta-estradiol fueron suministrados por la firma comercial Sigma Chemical Co. (St. Louis, Mo.)

### **Análisis Estadístico**

El análisis estadístico de los resultados obtenidos se determinó mediante la prueba paramétrica t de Student para datos no pareados con nivel de significancia  $P < 0.05$ . (Wayne, 1988). Las concentraciones efectivas 50 (CE50: concentración de serotonina que produce la mitad de la respuesta máxima) se determinaron gráficamente de acuerdo con el método de Tallarida y Murray, 1981.

La comparación de las CE50 y las respuestas máximas con indometacina respecto a la curva concentración-respuesta a serotonina en las regiones mesometrial y antimesometrial de ratas ovariectomizadas-tratadas con estradiol se determinó mediante la prueba de Dunnett con nivel de significancia  $P < 0.05$  (Tallarida y Murray, 1981).

## **VII. RESULTADOS**

### **VII.1. Sensibilidad a la serotonina de las regiones mesometrial y antimesometrial de útero aislado de rata.**

La sensibilidad a serotonina de útero aislado de ratas en las regiones mesometrial y antimesometrial fue analizada mediante el registro isométrico de la actividad contráctil. La representación del trazo poligráfico indica que existe un aumento en la sensibilidad a serotonina, debido a un incremento en la amplitud y proporción de las contracciones del músculo liso de ambas regiones.

La serotonina indujo una respuesta contráctil en las regiones mesometrial y antimesometrial del útero aislado de ratas en las 4 fases del ciclo estral y ovariectomizadas-tratadas con estradiol. En las figuras 1 y 2 se muestran los registros típicos de dicha respuesta y se observa que la sensibilidad a serotonina es dependiente del estado endócrino.

Los cambios en la sensibilidad a serotonina en las regiones mesometrial y antimesometrial del tejido uterino variaron en relación al estado endócrino; observándose que las fases de proestro y estro presentaron una mayor sensibilidad en la respuesta contráctil inducida por serotonina; sin embargo, en las fases de diestro y metaestro se observó una insensibilidad uterina a la serotonina en ambas regiones.

Por otra parte, en útero de ratas ovariectomizadas-tratadas con estradiol la respuesta contráctil inducida por serotonina en la región mesometrial presentó su mayor sensibilidad, debido a que el estradiol incrementó la sensibilidad a la serotonina.

Estos aspectos indican que la región mesometrial en las 4 fases del ciclo estral y en útero de ratas ovariectomizadas-tratadas con estradiol mostró una mayor sensibilidad a la serotonina en comparación con la región antimesometrial.

REGION MESOMETRIAL

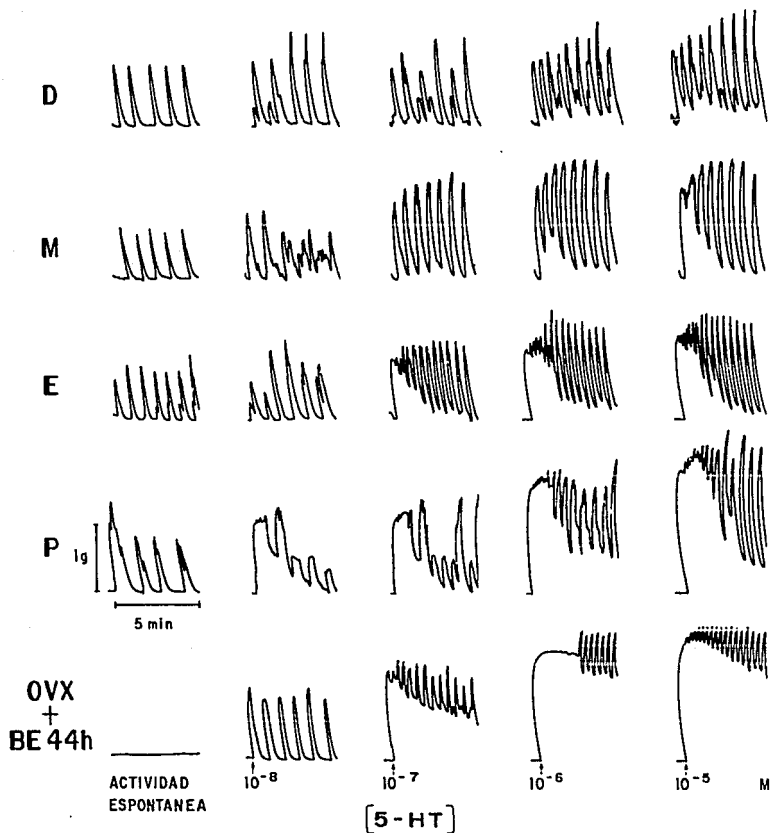


Figura 1. TRAZOS TÍPICOS DE LA RESPUESTA CONTRACTIL INDUCIDA POR SEROTONINA (5-HT) EN LA REGION MESOMETRIAL UTERINA DE RATAS EN DIESTRO, METAESTRO, ESTRO, PROESTRO Y OVARIETOMIZADAS-TRATADAS CON BENZOATO DE ESTRADIOL (D, M, E, P y OVX+BE 44 h RESPECTIVAMENTE).

# REGION ANTIMESOMETRIAL

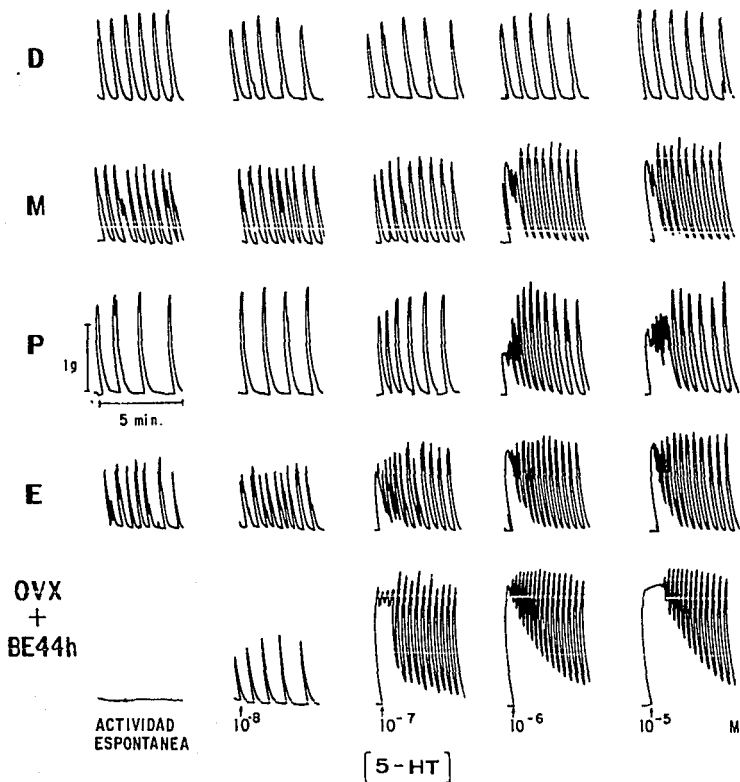


Figura 2. TRAZOS TÍPICOS DE LA RESPUESTA CONTRACTIL INDUCIDA POR SEROTONINA (5-HT) EN LA REGION ANTIMESOMETRIAL UTERINA DE RATAS EN DIESTRO, METAESTRO, PROESTRO, ESTRO Y OVARIETOMIZADAS-TRATADAS CON ESTRADIOL (D, M, P, E y OVX+BE 44 h RESPECTIVAMENTE).



Las curvas concentración-respuesta a serotonina de las regiones mesometrial y antimesometrial de útero aislado de ratas en las diferentes fases del ciclo estral y ovariectomizadas-tratadas con estradiol se muestran en las figuras 3 y 4 respectivamente. En los diferentes estados hormonales se observó que la respuesta contráctil fue dependiente de la concentración de serotonina ( $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  M).

Los resultados indican que la respuesta contráctil inducida por serotonina en la región mesometrial fue dependiente de la concentración; observándose la máxima respuesta contráctil en el útero de ratas ovariectomizadas-tratadas con estradiol en comparación con las fases de proestro, metaestro, estro y diestro ( $P > M > E > D$ ); sin embargo, en la región antimesometrial de ratas ovariectomizadas-tratadas con estrógenos los cambios en la sensibilidad a serotonina también fueron dependientes de la concentración así como en las fases de estro, metaestro, proestro y diestro ( $E > M > P > D$ ).

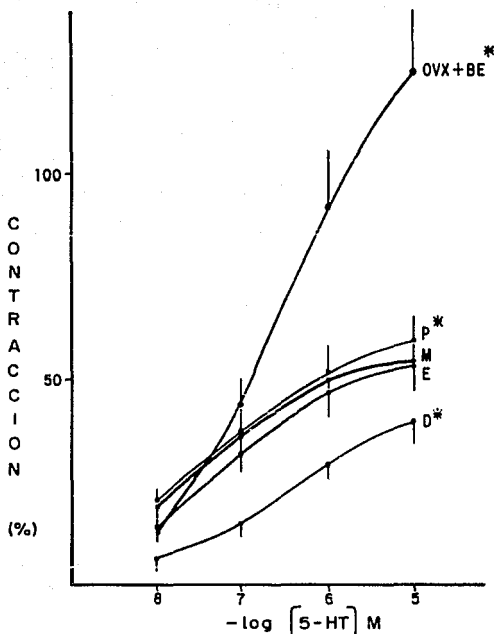


Figura 3. CURVAS CONCENTRACION-RESPUESTA A SEROTONINA (5-HT) DE SEGMENTOS MESOMETRIALES AISLADOS DE UTERO DE RATA EN DIFERENTES FASES DEL CICLO ESTRAL Y OVARIETOMIZADAS-TRATADAS CON ESTRADIOL (OVX+BE 44h). CADA PUNTO REPRESENTA EL PROMEDIO DE 9-18 EXPERIMENTOS Y LAS LINEAS VERTICALES, EL ERROR ESTANDAR. LOS RESULTADOS SE ANALIZARON MEDIANTE LA PRUEBA  $\dagger$  DE STUDENT.

\*  $P < 0.05$

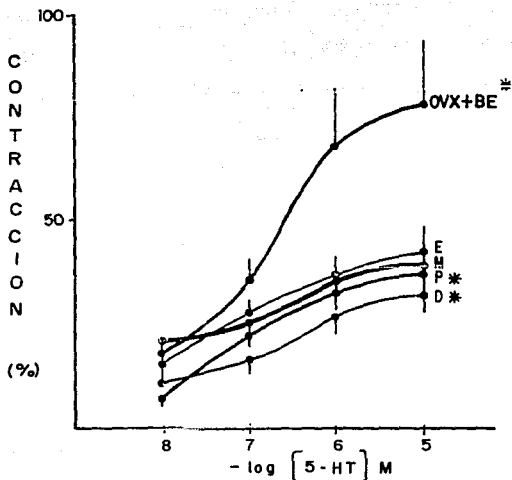


Figura 4. CURVAS CONCENTRACION-RESPUESTA A SEROTONINA (5-HT) DE SEGMENTOS ANTIMESOMETRICIALES AISLADOS DE UTERO DE RATAS EN DIFERENTES FASES DEL CICLO ESTRAL Y OVARIECTOMIZADAS-TRATADAS CON ESTRADIOL (OVX+BE 44 h). CADA PUNTO REPRESENTA EL PROMEDIO DE 11-17 EXPERIMENTOS Y LAS LINEAS VERTICALES, EL ERROR ESTANDAR. LOS RESULTADOS SE ANALIZARON MEDIANTE LA PRUEBA † DE STUDENT.

\* P < 0.05

Las respuestas contráctiles máximas a serotonina en la concentración ( $10^{-5}$  M) en las regiones mesometrial y antimesometrial se representan en la figura 5. El análisis estadístico mediante la prueba t de Student para datos no pareados demostró que existen diferencias significativas entre ambas regiones ( $P < 0.05$ ) en las fases de proestro, metaestro y en ratas ovariectomizadas-tratadas con estradiol, en cambio en las fases de estro y diestro la diferencias no fueron significativas ( $P > 0.05$ ).

Estos aspectos junto con los resultados observados en la sensibilidad a serotonina y en las diferentes concentraciones administradas en el sistema experimental en las 4 fases del ciclo estral y en útero de ratas ovariectomizadas-tratadas con estradiol, nos permiten establecer que existe cierta importancia fisiológica de la serotonina en la regulación de la actividad contráctil modulada por los estrógenos, principalmente en la región mesometrial.

Estos resultados indican que en las regiones mesometrial y antimesometrial de útero aislado de rata la sensibilidad y la respuesta contráctil inducida por serotonina son dependientes de la concentración y del estado endócrino del animal.

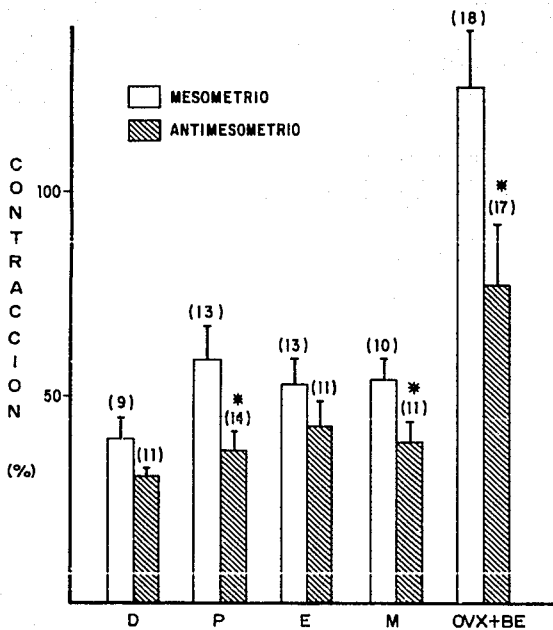


Figura 5. RESPUESTAS CONTRACTILES MAXIMAS A SEROTONINA EN LAS REGIONES MESOMETRIAL Y ANTIMESOMETRIAL DEL UTERO DE RATAS EN DIESTRO, PROESTRO, ESTRO, METAESTRO Y OVARIETOMIZADAS-TRATADAS CON ESTRADIOL (D,P,E,M Y OVX+BE 44 h RESPECTIVAMENTE).

LOS VALORES REPRESENTAN EL PROMEDIO DEL NUMERO DE EXPERIMENTOS SEÑALADOS Y LAS LINEAS VERTICALES, EL ERROR ESTANDAR.

PRUEBA t DE STUDENT \* P < 0.05

**VII. 2. Efecto de la indometacina en la respuesta contráctil inducida por serotonina en el útero aislado de ratas ovariectomizadas-tratadas con estradiol.**

La participación de las prostaglandinas en la actividad contráctil inducida por serotonina en las regiones mesometrial y antimesometrial de ratas ovariectomizadas-tratadas con estradiol se analizó mediante el uso de un inhibidor de la síntesis de prostaglandinas, la indometacina.

Las figuras 6 y 7 muestran el efecto de la indometacina sobre la respuesta contráctil inducida por serotonina en las regiones mesometrial y antimesometrial respectivamente de útero aislado de ratas ovariectomizadas-tratadas con estradiol. Se observa que la indometacina ( $1 \times 10^{-5}$  y  $3.2 \times 10^{-4}$  M) produjo un desplazamiento no paralelo de la curva concentración-respuesta a serotonina disminuyendo la respuesta contráctil máxima de las regiones mesometrial y antimesometrial ( $P < 0.05$ ), sin embargo las concentraciones efectivas medias (CE50) no variaron significativamente en relación con la curva control ( $P > 0.05$ ).

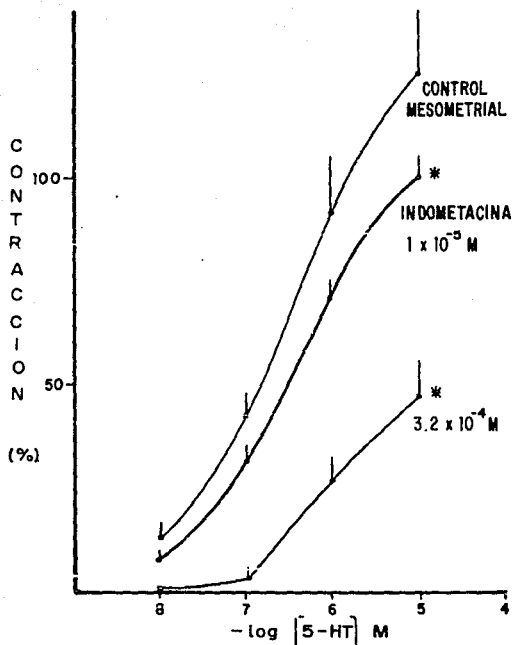


Figura 6. EFECTO DE INDOMETACINA EN LA RESPUESTA CONTRACTIL A SEROTONINA DE LA REGION MESOMETRIAL DEL UTERO AISLADO DE RATAS OVARIECTOMIZADAS-TRATADAS CON ESTRADIOL. LOS PUNTOS REPRESENTAN EL PROMEDIO Y LAS LINEAS VERTICALES, EL ERROR ESTANDAR. (n=10). LAS DIFERENCIAS DE LAS RESPUESTAS CONTRACTILES MAXIMAS RESPECTO AL CONTROL SE ANALIZARON CON LA PRUEBA  $\dagger$  DE STUDENT.

\*  $P < 0.05$

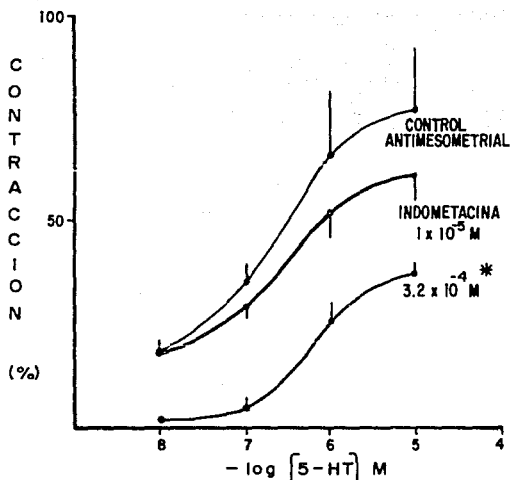


Figura 7. EFECTO DE INDOMETACINA EN LA RESPUESTA CONTRACTIL A SEROTONINA DE LA REGION ANTIMESOMETRIAL DEL UTERO AISLADO DE RATAS OVARIETOMIZADAS-TRATADAS CON ESTRADIOL. LOS PUNTOS REPRESENTAN EL PROMEDIO Y LAS LINEAS VERTICALES, EL ERROR ESTANDAR. (n=10).

LAS DIFERENCIAS DE LAS RESPUESTAS CONTRACTILES MAXIMAS RESPECTO AL CONTROL SE ANALIZARON CON LA PRUEBA  $\dagger$  DE STUDENT.

\*  $P < 0.05$



### **VII. 3. Peso húmedo de los segmentos mesometrial y antimesometrial del útero aislado de rata.**

Los pesos húmedos de las regiones uterinas (mesometrial y antimesometrial) de ratas en las diferentes fases del ciclo estral, así como en ratas ovariectomizadas-tratadas con estradiol, se presentan en la tabla I. Los pesos húmedos de las regiones mesometrial y antimesometrial aisladas en las fases de diestro, estro, metaestro y ovariectomizadas-tratadas con estradiol no presentaron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ); sin embargo, existió un incremento significativo en el peso húmedo de la región antimesometrial en la fase de proestro ( $P < 0.05$ ) al compararlo con la región mesometrial.

**Tabla I. PESOS HUMEDOS DE LAS REGIONES MESOMETRIAL Y ANTIMESOMETRIAL DE UTEROS AISLADOS DE RATAS EN LAS DIFERENTES FASES DEL CICLO ESTRAL Y OVARIETOMIZADAS - TRATADAS CON ESTRADIOL (OVX+BE 44 h).**

FASE	R E G I O N		NUMERO DE ANIMALES
	MESOMETRIAL (mg)	ANTIMESOMETRIAL (mg)	
DIESTRO	21.08 ± 3.02	20.80 ± 1.97 N.S.	n = 6
PROESTRO	25.71 ± 1.62	29.62 ± 1.46*	n = 8
ESTRO	29.65 ± 2.77	31.37 ± 2.27 N.S.	n = 8
METAESTRO	26.75 ± 2.75	22.05 ± 3.55 N.S.	n = 6
OVX+BE 44h	27.10 ± 1.75	28.13 ± 0.73 N.S.	n = 6

LOS VALORES REPRESENTAN EL PROMEDIO ± EL ERROR ESTANDAR.

EL ANALISIS ESTADISTICO SE REALIZO MEDIANTE LA PRUEBA † DE STUDENT PARA DATOS NO PAREADOS.

\* P < 0.05

N.S. = DIFERENCIA NO SIGNIFICATIVA.

## VIII. DISCUSION

El análisis realizado en este estudio permitió determinar que las regiones mesometrial y antimesometrial del útero de rata presentaron diferente sensibilidad a la serotonina en las fases de proestro, metaestro y ovariectomizadas-tratadas con estradiol, como lo muestran las diferencias en la respuesta contráctil máxima entre éstas regiones (Fig. 5).

Estos resultados permiten sugerir que en la región mesometrial podría existir un mayor número de receptores a serotonina o un aumento en la afinidad del agonista por el receptor en comparación con la región antimesometrial. De acuerdo con Ichida y col. (1984) el incremento específico en la sensibilidad a la serotonina en el útero completo de rata inducido por la administración de estradiol se debe a un cambio en el número de receptores S<sub>2</sub> a serotonina y no a un cambio en la afinidad del agonista por el receptor.

Diferentes investigaciones han establecido que la reactividad uterina contráctil o relajadora depende de la región estudiada. En primer término los resultados de este estudio coinciden con las sugerencias de Sterin-Speziale y col. (1981) quienes reportaron que en la región mesometrial podría existir un mayor número de receptores adrenérgicos beta o una mayor afinidad a los agonistas adrenérgicos que en la región

antimesometrial. Pero sus hallazgos fueron en útero de ratas en la fase estro y, estudiando su acción inhibitoria. Asimismo, concuerdan con los resultados de Borda y col. (1978) quienes determinaron que existen diferencias entre ambas regiones en la contracción inducida por oxitocina en el útero de ratas en la fase estro.

Los resultados de este estudio indican que existieron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en la región mesometrial y antimesometrial en la respuesta contráctil máxima inducida por serotonina en el útero de ratas ovariectomizadas-tratadas con estradiol y en las fases de proestro y metaestro (OVX + BE > P > M).

Nesheim (1975) reportó que el músculo longitudinal del útero de conejas tratadas con estrógenos responde con mayor sensibilidad a la estimulación adrenérgica beta a diferencia del músculo circular.

Daels (1974) observó que los segmentos de la región externa en úteros de mujeres no embarazadas presentaron una mayor respuesta contráctil a la adrenalina y oxitocina a diferencia de la región interna. En contraste, cuando estudió las secciones provenientes del útero de mujeres en posparto, determinó que la región externa presentó contracciones espontáneas regulares y de gran amplitud que decrecieron en frecuencia y tono cuando se adicionó adrenalina, mientras que la región interna mostró

una fuerte contracción tónica. En cuanto, a la oxitocina la región externa respondió con una fuerte contracción tónica, mientras que la región interna no presentó ningún cambio.

Uno de los modelos experimentales más utilizados en el estudio de la acción de los estrógenos sobre el útero es la rata ovariectomizada (Kirkland y col., 1977; Marshall y col., 1986; Gimeno y col., 1987). La vigorosa actividad espontánea que presentan los úteros de ratas ovariectomizadas está relacionada con la liberación de prostaglandinas al medio de incubación, tal como lo han demostrado Sterin-Speziale y col. (1980). Por otro lado, la indometacina (inhibidor de la ciclooxigenasa) inhibe en forma dependiente de la dosis la actividad espontánea de los úteros de ratas ovariectomizadas, lo cual confirma que esta actividad se origina por la liberación de prostaglandinas (Garrioch, 1978; Caldwell y Gardner, 1987).

El efecto de la indometacina ( $1 \times 10^{-5}$  M concentración que inhibe específicamente la síntesis de prostaglandinas; Vane, 1971) sobre la contracción inducida por serotonina en útero de ratas ovariectomizadas tratadas con estradiol tanto en la región mesometrial como en la antimesometrial sugiere que el incremento en la sensibilidad a la serotonina observado en esa condición hormonal podría deberse a la estimulación de la síntesis de prostaglandinas, como han propuesto Vane y Williams (1973) así como Baudouin-Legros y col. (1974) quienes determinaron que la indometacina inhibió la respuesta contráctil inducida por la oxitocina del

útero de rata en la fase de proestro. Sin embargo, no se ha dilucidado si el agente contráctil (oxitocina o serotonina) induce la liberación de prostaglandinas y actúa sinérgicamente con ellas para contraer el útero, o si la acción principal del agonista es estimular la síntesis de prostaglandinas en el útero, siendo éstas las que causan la respuesta contráctil del tejido. Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que existe un efecto sinérgico debido a que la disminución en la respuesta contráctil máxima de las regiones estudiadas es, aunque significativa, relativamente pequeña, y apoyan la hipótesis de que las prostaglandinas actúan como moduladores intracelulares de la motilidad uterina.

En cuanto al efecto de la concentración de  $3.2 \times 10^{-4}$  M de indometacina, Northouer (1977) ha presentado evidencias de que, a altas concentraciones, la indometacina puede actuar como un antagonista de calcio; por tal motivo, se considera que la marcada inhibición que produjo la indometacina a esta concentración no involucra la participación de las prostaglandinas endógenas en la respuesta contráctil inducida por serotonina, sino el bloqueo de la entrada de calcio extracelular del cual el músculo liso es altamente dependiente.

En este trabajo experimental se estudio la respuesta contráctil inducida por serotonina en las regiones mesometrial y antimesometrial de útero aislado de ratas ovariectomizadas-tratadas con estradiol durante 44 horas, observándose en este modelo experimental un incremento

significativo de la máxima respuesta contráctil en la región mesometrial. Estas observaciones concuerdan con los estudios de Campos y col. (1990) que indican que la sensibilidad uterina a la serotonina puede ser considerada como una respuesta tardía inducida por estrógenos. Estos mismos autores, han observado que los estrógenos inducen específicamente contractilidad a serotonina debido a que la respuesta uterina a acetilcolina y oxitocina no se modificó por el tratamiento con estrógenos.

Por lo anterior podría especularse que las diferencias de contractilidad a serotonina entre las regiones mesometrial y antimesometrial se debieran a diferencias en la masa muscular ya que la principal respuesta estrogénica tardía es el aumento en la síntesis de proteínas. Sin embargo, los resultados de la cuantificación del peso húmedo en ambas regiones sólo mostraron una diferencia significativa en la fase de proestro (Tabla I), aunque fue la región antimesometrial, la que presentó una menor respuesta contráctil, siendo esta región en la que se determinó un incremento en el peso húmedo uterino, lo cual podría explicarse por el edema que se observa cuando los niveles de estrógenos son máximos aunque este fenómeno debiera observarse en las dos regiones. Por tal motivo, proponemos que la masa muscular no se relaciona con las diferencias observadas en la respuesta contráctil inducida por serotonina en las regiones mesometrial y antimesometrial en las diferentes fases del ciclo estral y en ratas ovariectomizadas-tratadas con estradiol.

La existencia de regiones uterinas con diferentes características contráctiles a la adrenalina, oxitocina y serotonina sugiere un significado fisiológico regulado por los niveles hormonales aunque este fenómeno todavía no ha sido completamente entendido. Sterin-Speziale y col. (1981) han especulado que como en el útero de la rata la región antimesometrial corresponde a la región de implantación, su menor actividad contráctil podría relacionarse con la nidación del blastocisto. Asimismo los estudios de contractilidad uterina provenientes de útero de mujeres sugieren que el incremento de la actividad contráctil observado al final del embarazo y durante el parto podría estar mediado no solo por la oxitocina sino también por la serotonina (Cruz y col., 1989).

Las complejas interacciones del sistema neuroendócrino en el útero incluyen cambios en la densidad de la innervación, contenido de neurotransmisores (serotonina) y población de receptores, fenómenos dependientes de las hormonas ováricas y el estado de la gestación, así como la participación de sistemas moduladores de la neurotransmisión (prostaglandinas). Estos hallazgos podrían explicar la regulación neuroendócrina de la actividad muscular necesaria para: 1) el transporte del espermatozoide en el tracto femenino; 2) el transporte del embrión antes de la implantación; 3) el mantenimiento del embarazo y; 4) el parto.



## IX. CONCLUSION

El análisis realizado en este estudio permitió determinar que la serotonina indujo una respuesta contráctil en las regiones mesometrial y antimesometrial del útero aislado de rata en las 4 fases del ciclo estral y en ratas ovariectomizadas-tratadas con estradiol, existiendo una sensibilidad a la serotonina en ambas regiones relacionada con la concentración de serotonina administrada y/o con el estado endócrino del animal.

Por otra parte, la respuesta contráctil máxima a serotonina en las regiones mesometrial y antimesometrial en las fases de proestro, metaestro y ovariectomizadas-tratadas con estradiol presentó un incremento significativo. Estos hallazgos indican que en la región mesometrial se presentó la máxima respuesta contráctil, así como una mayor sensibilidad a serotonina, sugiriendo que podría existir un mayor número de receptores a serotonina ( $S_2$ ) o un aumento en la afinidad del agonista por el receptor.

Por otro lado, la curva concentración-respuesta a serotonina con la concentración de indometacina de  $1 \times 10^{-5}$  M, indica que existió una disminución en las respuestas contráctiles máximas en las regiones uterinas mesometrial y antimesometrial de ratas ovariectomizadas-tratadas

con estradiol, lo que permite sugerir que la actividad contráctil uterina inducida por la serotonina es parcialmente mediada por prostaglandinas endógenas.

Estos aspectos junto con los resultados observados en la sensibilidad a la serotonina del útero de rata nos permiten señalar que existe una importancia fisiológica de la serotonina en la modificación de la actividad contráctil mediada por los estrógenos principalmente en la región mesometrial.

Finalmente en el aparato reproductor de la hembra, el sistema serotoninérgico está menos estudiado que el sistema adrenérgico; su distribución anatómica y su función aún no está definido. Por tal motivo, es importante realizar un estudio farmacológico del sistema serotoninérgico del músculo liso uterino.

## X. BIBLIOGRAFIA

Adham, N. & Schenk, E. (1969): Autonomic innervation of the rat vagina, cervix and uterus and its cyclic variation. *Am. J. Obst. Gynec.* 104 (4): 508 - 516.

Alexandrova, M. & Soloff, M. (1980): Oxytocin receptors and parturition. I. Control of oxytocin receptor concentration in the rat myometrium at term. *Endocrinol.* 106: 730 - 738.

Amin, A., Crawford, T. & Gaddum, J. (1954): The distribution of substance P and 5-HT in the central nervous system of the dog. *J. Physiol.* 126: 596 - 618.

Arkininstall, S. & Jones, C. (1985): Regional changes in catecholamine content of the pregnant uterus. *J. Reprod. Fert.* 73: 547 - 557.

Austin, R. & Short, V. (1972) Reproduction in mammals. Vol. 3. Hormones in reproduction. Cambridge University Press. England.

Baudouin-Legros, M., Meyer, P. & Worcel, M. (1974): Effects of prostaglandin, oxytocin and prostaglandin F2-alpha contractile effects on the rat uterus during the oestrous cycle. *Br. J. Pharmac.* 52: 393 - 399.

Bertaccini, B., Molina, E., Vitall, T. & Zappia, L. (1979): Action of histamine receptors agonists and antagonists on the rat uterus. Br. J. Pharmac. 66: 13.

Bolton, T. B. (1979): Mechanisms of action of transmitters and substances on smooth muscle. Physiol. Rev. 59: 606 - 718.

Borda, E., Sterin-Borda, L., Sterin-Speziale, N., Gimeno, M.F. & Gimeno, A. L. (1978): Functional, pharmacological and morphological characteristics of two regions of rat uterine horns. Acta Physiol. Latinoam. 29: 223 - 233.

Borda, E., Agostini, M., Sterin-Borda, L., Gimeno, M. & Gimeno, A. (1981): Inhibitory effects of some catecholamines on contractions of uterine strips isolated from estrous and spayed rats. Influence of endogenous and exogenous prostaglandins on the action of methoxamine. Eur. J. Pharmac. 69: 55 - 62.

Bremel, R., Sobieszek, A. & Small, J. (1977): Regulation of actin-myosin in vertebrate smooth muscle. En: Biochemistry of Smooth Muscle. Stephens, N. (ed.). University Park Press. Baltimore, E.U.A. Pp. 533 - 549.

Caldwell, N. y Gardner, R. (1987): The selective inhibition by indomethacin of rat uterine contractile response. Annals New York Academy of Sciences, 494: 101 - 103.

Campos, G., Caracheo, F., Valencia, A. & Ponce, H. (1990): The Sensitivity of rat uterus to serotonin *in vitro* is a late estrogenic response. Arch. Inv. Med. México. 21:27.

Cohen, M., Schenck, K., Colbert, W. & Wittenauer, L. (1985): Role of 5-HT<sub>2</sub> receptors in serotonin induced contractions of non vascular smooth muscle. J. Pharmac. Exp. Ther. 232 (3): 770 - 774.

Creed, K.E. (1979): Functional diversity of smooth muscle. British Medical Bulletin, 35 (2): 243 - 247.

Cruz, M.A., Gonzalez, C., Acevedo, C. G., Sepulveda, W.H. & Rudolph, M.I. (1989): Effects of histamine and serotonin on the contractility of isolated pregnant and nonpregnant human myometrium, Gynecol. Obst. Invest. 28: 1 - 4.

Challis, J. & Mitchell, B. (1981): Hormonal control of preterm and term parturition. Semin. Perinatol. (N.Y.). 5: 192 - 202.

Daels, J. (1974): Uterine contractility patterns of outer and inner zones of the myometrium. J. Obstet. Gynecol. 44 (3): 315 - 326.

Diadmond, J. & Brody t. (1966): Hormonal alteration of the response of the uterus to catecholamines. Life Sci. 5 (23): 2187 - 2193.

Ebashi, S. (1977): Role of subcellular structures in  $Ca^{++}$  homeostasis. En: Excitation-contraction coupling in smooth muscle. Casteels, R., Godfrain, T. y Rüegg, J. (eds.). Elsevier. Amsterdam. Pp. 239 - 240.

Eckstein, P. & Zuckerman, S. (1956): Morphology of the reproductive tract. En: Marshall's Phys. of Reprod. 1(1). Parks, Logman, Green & co. New York.

Ellis, H., Johnson, A. & Moran, N. (1970): Selective release of histamine from mast cells by several drugs. J. Pharmac. Exp. Ther. 175: 627 - 631.

Falck, B., Hillarp, N., Thiene, B. & Torp, A. (1962): Fluorescence of catecholamines and related compounds condensed with formaldehyde. J. Histochem. Cytochem. 10: 348 - 354.

Finn, C.A. & Porter, D.G. (1975): The uterus. Publishing Sciences Groups, Inc. E.U.A.

Fuchs, A., Periyasamy, S., Alexandrova, M. & Soloff, M. (1983): Correlation between oxytocin receptor concentration and responsiveness to oxytocin in pregnant rat myometrium: effects of ovarian steroids. Endocrinology. 113: 742 - 748.

Fuchs, A.R. (1987): Prostaglandin F<sub>2</sub> alpha and oxytocin interactions in ovarian and uterine function. J. Steroid. Biochem. 27 (4-6): 1073 - 1080.

Garfield, R.E., Sims, S., Kannan, M. & Daniel, E. (1978): Possible role of gap junctions in activation of myometrium during parturition. *Am. J. Physiol.* 235: C 168 - 179.

Garrioch, C. B. (1978): The effect of indomethacin on spontaneous activity in the isolated human myometrium and on the response to oxytocin and prostaglandin. *Br. J. Obst. Gynaecol.* 85: 47 - 52.

Gibbons, A. & Chang, M. (1972): Number of mast cells in the rat uterus with special reference to its relation to hormonal treatment and decidual response. *Biol. Reprod.* 6: 193 - 203.

Gimeno, M., Franchi, A., González, E. y Gimeno A. (1987): Uptake and release of 3H prostaglandins F-2 alpha in uterine strips isolated from ovariectomized rats. Influence on *in vitro* progesterone. *Prostaglandins*, 33 (1): 51 - 61.

Godfrain, T. (1981): Calcium influx and receptor-response coupling. En: New Perspective on calcium antagonist. Weiss, G. B. (ed.). Am. Physiol. Soc. Bethesda. Maryland. Pp. 95 - 107.

Goyal, R. & Verma, S. (1982): Mechanisms of action of histamine in the estrogen primed rat uterus. *Eur. J. Pharmacol.* 77: 237 - 242.

Ichida, S., Tokunaga, H., Oda, Y., Hayashi, T., Murakami, T. & Kita, T. (1984): Mechanisms of specific change by estradiol in sensitivity of rat uterus to serotonin. *J. Pharmac. Exp. Ther.* 229 (4): 244 - 249.

Jensen, E. & DeSombre, E. (1972): Mechanisms of action of the female sex hormones. *Ann. Rev. Biochem.* 41: 203 - 230.

Johnson, R. & Moran, N. (1969): Selective release of histamine from rat mast cells by compound 48/80 and antigen. *Am. J. Physiol.* 215 (3): 453 - 459.

Kirkland, J., Gardner, R., Ireland, J. y Stancel, G. (1977): The effect of hypophysectomy on the uterine response to estradiol. *Endocrinology*, 101: 403 - 410.

Komm, B. & Lyttle, C. (1984): Steroidal regulation of rat uterine in vitro mRNA translation products. *J. Steroid. Biochem.* 21: 571.

Krall, J., Mori, H., Tuck, M., Leshon, L. & Korenman, S. (1978): Demonstration of adrenergic catecholamine receptors in rat myometrium and their regulation by sex steroid hormones. *Life. Sci.* 23: 1073 - 1082.

Kuriyama, H. & Suzuki, H. (1976): Effects of prostaglandin E2 and oxytocin on the electrical activity of hormone-treated pregnant rat myometria. *J. Physiol.* 260: 335 - 349.



Lagunoff, D. (1972): The mechanism of histamine release from mast cells. *Biochem. Pharmacol.* 21: 1889 - 1896.

Lee, S.H. (1982): Uterine epithelial and eosinophil estrogen receptors in rats during the estrous cycle. *Histochemistry*, 74: 443 - 452.

Lesson, C.R. y Lesson, T.S. (1977): *Histología*. Ed. Interamericana. México.

Levier, R. & Spaziani, E. (1966): The effect of estradiol on the occurrence of mast cells in the rat uterus. *Exp. Cell. Res.* 41: 244 - 252.

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

Marshall, J. M. (1973): Physiology of Myometrium. En: The uterus. Norris, H. J. (ed). The Williams & Wilkins Company. Baltimore, USA. Pp. 101 - 108.

Marshall, K. y Senior, J. (1986): The effect of mepyramine and ranitidine on the oestrogen and antioestrogen stimulated rat uterus. *Br. J. Pharmac.* 86: 251.

Mckercher, T., Van Orden III, Bhatnagar, R. & Burke, J. (1973): Estrogen induced biogenic amine reduction in the rat uterus. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 185 (3): 514 - 522.

Melton, C. E. & Saldivar, J.T. (1964): Impulse velocity and conduction pathways in rat myometrium. *Am. J. Physiol.* 207: 279 - 285.

Melton, C. E. & Saldivar, J.T. (1965): Estrous cycle and electrical activity of rat myometrium. *Life Sci.* 4: 593 - 602.

Michell, R.H. (1985): Inositol phospholipids and cell surface receptor function. *Biochem. Biophys. Acta* 415: 81.

Moawad, A. H. (1973): The sympathetic nervous system and the uterus. En: Uterine contraction, Jasimovich, J. B. (ed.) John Wiley & sons. New York. Pp. 65 - 82.

Nesheim, B. (1974): Comparison of alpha and beta receptor stimulation in the circular and longitudinal muscle of the estrogen and progesterone dominated rabbit uterus. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 34: 295 - 304.

Nesheim, B.I. (1975): Action of beta-adrenoceptor antagonists on the response to isoprenaline in the oestrogen dominated rabbit uterus. *Br. J. Pharmacol.* 53: 393 - 401.

Nissenson, R., Fluoret, G. & Hechter, O. (1978): Opposing effect of estradiol and progesterone on oxytocin receptors in rabbit uterus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 75 (4): 2044 - 2048.

Northover, B. J. (1977): Indomethacin-A calcium antagonist. Gen. Pharmacol. 8: 293.

Roberts, J. & McCracken, J. (1976): Does prostaglandin F2 alpha released from the uterus by oxytocin mediate the oxytocic? Biol. Reprod. 15: 457 - 463.

Roberts, J., Insel, P., Goldfien, R. & Goldfien, A. (1977): Alpha adrenoreceptors but not beta adrenoreceptors increase in rabbit uterus with estrogen. Nature, 270: 624 - 625.

Robson, J., Trounce, J. & Diddcock. (1954): Factors affecting the response of the uterus to serotonin. J. Endocrinol. 10: 129 - 132.

Sakamoto, H., McLusky, M. & Naftolin, F. (1986): Steroid receptors in the pregnant uterus. En: The physiology and biochemistry of the uterus in pregnancy and labor. Huszar, G. (ed.) CRC Press. Florida, E.U.A. Pp. 35 - 52.

Sobieszek, A. (1977): Vertebrate smooth muscle myosin:enzymatic and structural properties. En: Biochemistry of Smooth Muscle. Stephens, N. (ed.) University Park Press. Baltimore, E.U.A. Pp. 413 - 443.

Sterin - Speziale, N., Gimeno, M., Bonacossa, A. y Gimeno, A. (1980): The effect of estradiol on isolated rat uterine motility and on prostaglandin generation. Prostaglandins, 20 (2): 233 - 243.

Sterin-Speziale, N. Gimeno, M., Borda, E., Chaud, M. & Gimeno, A. (1981): A different contractile response to catecholamine of two regions (mesometrial and antimesometrial) of isolated rat uterine horns. *Pharmacol. Res. Comm.* 13: 401 - 410.

Spat, A. Bradford, P.G., McKinney, J. S., Rubin, R.P., Putney, J.W. Jr. (1986): A saturable receptor of  $^{32}$  P-inositol-1,4,5-trisphosphate in hepatocytes and neutrophils. *Nature*, 319: 514.

Tallarida, R. J. & Murray, R. (1981): Manual of pharmacologic calculations. Springer-Verlag. New York.

Tchernitchin, A., Tchernitchin, X., Rodriguez, A., Mena, M., Unda, C., Mairesse, N. & Galand, P. (1977): Effect of propranolol on various parameters of estrogen stimulation in the rat uterus. *Experientia*, 33: 1536 - 1537.

Tchernitchin, A. & Galand, P. (1981): Some uterine estrogenic responses depend on systemic, not local, estrogen levels. *Biol. Reprod.* 24, suppl., 148 A.

Tchernitchin, A., & Galand, P. (1982): Dissociation of separate mechanisms of estrogen action by action actinomycin D. *Experientia*, 38: 511 - 513.

Tchernitchin, A. (1983): Eosinophil mediated non-genomic parameters of estrogen stimulation-a separate group of responses mediated by an independent mechanism. *J. Steroid. Biochem.* 19 (1): 95 - 100.

Vane, J.R. (1975): Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature New Biol.* 231: 232 - 235.

Vane, J.R. & Williams, K.I. (1973): The contribution of prostaglandin production to contractions of the isolated uterus of the rat. *Br. J. Pharmac.* 48: 629 - 639.

Viggiano, M., Dveksler, G., Franchi, A. & Gimeno, A., (1984) Prostaglandins and ovarian factors as modulators of the negative inotropic action of histamine in the isolated rat uterus. *Prost. Leukotr. Med.* 16: 267 - 278.

Villee, C. A. (1973): Pharmacologic Physiology of the Endometrium and Steroids Interactions. En: The uterus. Norris, H. J. (ed.). The Williams and Wilkins Company. Baltimore. Pp. 80 - 88.

Wayne, W. D. (1988). *Bioestadística*. Ed. Limusa. México.

Wheeler, C., Komm, B. & Lyttle, R. (1987): Estrogen regulation of protein synthesis in the immature rat uterus: the effects of progesterone on

proteins released into the medium during in vitro incubations. *Endocrinol* 120 (3): 919 - 923.

Williams, L. & Lefkowitz, R. (1977): Regulation of rabbit myometrial alpha adrenergic receptors by estrogen and progesterone. *J. Clin. Invest.* 60: 815 - 818.