



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE QUÍMICA**

**TESINA**

**“REGULACIÓN HORMONAL DEL ESTRÉS DE RETÍCULO ENDOPLÁSMICO EN  
MIOMETRIO HUMANO”.**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

**PRESENTA**

**ASHLEY ESTEFANIA CASTELLANOS VILLEGAS**

**CDMX, 2023**





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 esta 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.

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:**     **Profesor:** PEDRAZA CHAVERRI JOSE  
**VOCAL:**           **Profesor:** CAMACHO ARROYO IGNACIO  
**SECRETARIO:**   **Profesor:** VAZQUEZ MARTINEZ EDGAR RICARDO  
**1er SUPLENTE:**   **Profesor:** DIMITROVA DINKOVA TZVETANKA  
**2do SUPLENTE:**   **Profesor:** CUEVAS VELAZQUEZ CESAR LUIS

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

Unidad de Investigación en Reproducción Humana (UIRH), Instituto Nacional de Perinatología (INPer)-Facultad de Química, UNAM.

**ASESOR DEL TEMA:**

Dr. Edgar Ricardo Vázquez Martínez

**SUPERVISOR TÉCNICO:**

-----

**SUSTENTANTE:**

Ashley Estefania Castellanos Villegas

## **Agradecimientos**

Esta investigación fue realizada gracias al Programa UNAM-PAPIIT con número IA209520. Agradezco a la DGAPA-UNAM la beca recibida. Este trabajo también fue apoyado por el Instituto Nacional de Perinatología 'Isidro Espinosa de los Reyes' (INPer; número de registro 2017-2-93) y la Universidad Nacional Autónoma de México-Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (UNAM-PAPIIT; número de registro IA203822).

# Índice

<b>1. Resumen</b>	<b>1</b>
<b>2. Introducción</b>	<b>2</b>
<b>3. Planteamiento del problema</b>	<b>3</b>
<b>4. Objetivo general</b>	<b>3</b>
4.1 Objetivos particulares	3
<b>5. Metodología</b>	<b>3</b>
<b>6. Información recopilada de la búsqueda bibliográfica</b>	<b>4</b>
6.1 Aparato reproductor femenino	4
6.2 Embarazo y fisiología del parto	5
6.3. Fases del parto	7
6.4 Miometrio	9
6.4.1 Células miometriales	9
6.4.2 Receptores membranales y proteínas de transporte presentes en las células miometriales	10
6.4.3 Acción hormonal en el miometrio durante el embarazo	11
6.4.3.1 Progesterona	11
6.4.3.2 Estrógenos	15
6.4.3.3 Oxitocina	19
6.5 Retículo endoplásmico	21
6.5.1 Estrés del retículo endoplásmico (ERS)	22
6.5.2 Respuesta a proteínas mal plegadas (UPR)	22
6.6 Regulación de la UPR el miometrio	25
6.6.1 Modelos animales	25
6.6.2 Cultivos primarios	26
<b>8. Discusión</b>	<b>31</b>
<b>9. Conclusión</b>	<b>32</b>
<b>11. Referencias</b>	<b>34</b>

## Índice de figuras

<i>Figura 1. Aparato reproductor femenino.....</i>	<i>5</i>
<i>Figura 2. Fases del parto humano.....</i>	<i>7</i>
<i>Figura 3. Canales, bombas e intercambiadores miométriales.....</i>	<i>10</i>
<i>Figura 4. Posibles mecanismos de la pérdida de la respuesta funcional a la progesterona en el embarazo humano.....</i>	<i>13</i>
<i>Figura 5. Vía clásica y vía no clásica de la señalización de estrógenos .....</i>	<i>17</i>
<i>Figura 6. Señalización del OTR en el miometrio. ....</i>	<i>20</i>
<i>Figura 7. Descripción general de la vía de señalización de la UPR.....</i>	<i>24</i>

## Índice de tablas

<i>Tabla 1. Modelos in vivo para estudiar los eventos asociados al inicio del trabajo de parto en miometrio. ....</i>	<i>28</i>
<i>Tabla 2. Modelos in vitro para estudiar los eventos asociados al inicio del trabajo de parto en miometrio. ....</i>	<i>29</i>

## 1. Resumen

El trabajo de parto se caracteriza por contracciones uterinas regulares que aumentan su frecuencia e intensidad. Cuando el trabajo de parto ocurre antes de las 37 semanas del embarazo, se considera que se llevó a cabo un parto pretérmino, el cual es la principal causa de muerte neonatal. El comprender la actividad de la capa muscular del útero (miometrio) durante el embarazo y su transición hacia un estado contráctil es importante para conocer los eventos asociados al parto y sus patologías, tal como el parto pretérmino. Hasta el momento, no se conoce por completo cómo se regulan los mecanismos celulares y moleculares que están involucrados en dicho proceso. La regulación hormonal y la activación del estrés del retículo endoplásmico en el miometrio humano se consideran mecanismos involucrados en el trabajo de parto. Sin embargo, hasta el momento hay escasa información acerca de los mecanismos de regulación hormonal sobre la respuesta al estrés del retículo endoplásmico en miometrio humano. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue realizar una búsqueda bibliográfica a partir del año 1988 hasta el 2021 de artículos científicos para recopilar información acerca del efecto de las hormonas progesterona, estradiol y oxitocina (P4, E2 y OT) en el miometrio y su posible relación con el estrés del retículo endoplásmico. Los resultados de la búsqueda bibliográfica mostraron que se ha demostrado que la P4 preserva la quietud miometrial a lo largo del embarazo, mientras que el E2 y la OT promueven la contractilidad miometrial para llevar a cabo el trabajo de parto. En los trabajos consultados, también se describen los abordajes experimentales que se han reportado para inducir el estrés del retículo endoplásmico en dicho tejido. Se encontró que el trabajo de parto está relacionado negativamente con la inducción del estrés del retículo endoplásmico y la activación de la respuesta a proteínas mal plegadas (UPR), que a su vez es importante para el establecimiento del fenotipo contráctil de las células miometriales, en donde la UPR preserva la quiescencia miometrial durante el embarazo. Sin embargo, cuando existe un estrés exacerbado también se promueve el trabajo de parto. Respecto a la regulación hormonal del estrés del retículo endoplásmico en miometrio, se encontró que en ratones gestantes la administración con progesterona induce la UPR, lo que a su vez previene el parto prematuro. Sin embargo, no existe evidencia de la asociación entre las hormonas P4, E2 y OT y el estrés de retículo endoplásmico en miometrio humano. Por lo tanto, es indispensable estudiar en modelos *in vivo* e *in vitro* la relación que existe entre las hormonas que regulan la actividad del miometrio durante el embarazo y el trabajo de parto y el estrés de retículo endoplásmico.

## 2. Introducción

El útero, específicamente la capa de músculo liso de este órgano, el miometrio, cumple una función importante durante el trabajo de parto, en donde se contrae en el momento adecuado con la cantidad suficiente de fuerza para inducir el trabajo de parto, pero permanece relajado o quiescente, aunque esté enormemente distendido durante el embarazo; además de mantener su tono durante la menstruación y en ausencia de embarazo. Como resultado de la disfunción miometrial, se pueden presentar contracciones no programadas que conducen a abortos o parto prematuro, o contracciones más fuertes de lo necesario que causan sufrimiento fetal, hipoxia e incluso muerte del feto (Pehlivanoğlu *et al.*, 2013). El trabajo de parto prematuro es la principal causa de mortalidad neonatal; se clasifica clínicamente como aquel que comienza antes de las 37 semanas de gestación. Hasta la fecha, existen pocas intervenciones efectivas y de amplia aplicación para su prevención (Kyathanahalli *et al.*, 2015).

La actividad del miometrio está regulada por distintas hormonas sexuales como la progesterona (P4), el estradiol (E2) y la hormona peptídica oxitocina (OT). En la fisiología del embarazo se ha visto involucrado también, al estrés del retículo endoplásmico (RE). Durante la producción de proteínas funcionales, mecanismos moleculares específicos del RE detectan la cantidad y calidad de las proteínas sintetizadas, así como el plegamiento adecuado en sus estructuras nativas (Guzel *et al.*, 2017). Durante este proceso, el exceso de acumulación de proteínas mal plegadas en el lumen del RE, provocan el estrés del mismo, lo que resulta en la activación de la cascada de señalización conocida como la respuesta a proteínas mal plegadas (UPR), la cual es un medio importante para restablecer la homeostasis celular y eliminar el estrés incitante. La evidencia emergente sugiere que la activación de la UPR en el miometrio es un regulador de la duración de la gestación y por lo tanto del inicio del trabajo de parto. En particular, se ha establecido que la inducción de la UPR promueve las contracciones del miometrio, lo que puede desencadenar un parto a término o un parto prematuro (Kawakami *et al.*, 2014; Kyathanahalli *et al.*, 2015).

Actualmente, no se han dilucidado por completo los mecanismos celulares y moleculares implicados en la activación de la UPR en el miometrio humano. En particular, se tiene poca información acerca de cuál es el efecto de las hormonas sexuales que regulan la actividad miometrial en esta respuesta celular. En el presente trabajo, se realizó una búsqueda bibliográfica acerca de los mecanismos moleculares de regulación hormonal de la UPR en miometrio humano.

### **3. Planteamiento del problema**

Hasta el momento, no se conocen por completo los mecanismos celulares y moleculares implicados en la activación de la UPR en el miometrio humano. Se desconoce cuál es el efecto de las hormonas sexuales que regulan la actividad miometrial en esta respuesta celular. El estudio de los mecanismos moleculares asociados al trabajo de parto, permitirán conocer cuáles son los eventos indispensables para que se termine el embarazo de manera fisiológica. Esto permitirá explorar a futuro cuáles son los mecanismos que se activan en condiciones patológicas durante el embarazo, como en el caso del parto pretérmino, una de las principales complicaciones del embarazo que está asociada a una alta incidencia de mortalidad y morbilidad perinatal.

### **4. Objetivo general**

Realizar una búsqueda bibliográfica en la base de datos de PubMed sobre la regulación hormonal de la P4, el E2 y la OT de la respuesta al estrés del retículo endoplásmico en miometrio humano.

#### **4.1 Objetivos particulares**

- Realizar una búsqueda bibliográfica en la base de datos de PubMed acerca de la fisiología del útero, embarazo y trabajo de parto.
- Realizar una búsqueda bibliográfica en la base de datos de PubMed acerca del efecto de la P4, el E2 y la OT en miometrio humano.
- Discutir los abordajes experimentales para evaluar el efecto hormonal de la P4, el E2 y la OT sobre el estrés del retículo endoplásmico del miometrio humano.
- Determinar cuál es el efecto de la P4, el E2 y la OT en el estrés de retículo endoplásmico en miometrio humano.

### **5. Metodología**

Se realizó la búsqueda de artículos científicos en PubMed a partir del año de 1988 hasta el año 2021, para determinar los modelos de estudio del estrés del retículo endoplásmico en miometrio. Además, se llevó a cabo la recopilación de concentraciones hormonales reportadas para la regulación del estrés del RE en el mismo tejido. Por otro lado, se compilaron las concentraciones hormonales reportadas durante el trabajo de parto en miometrio humano.

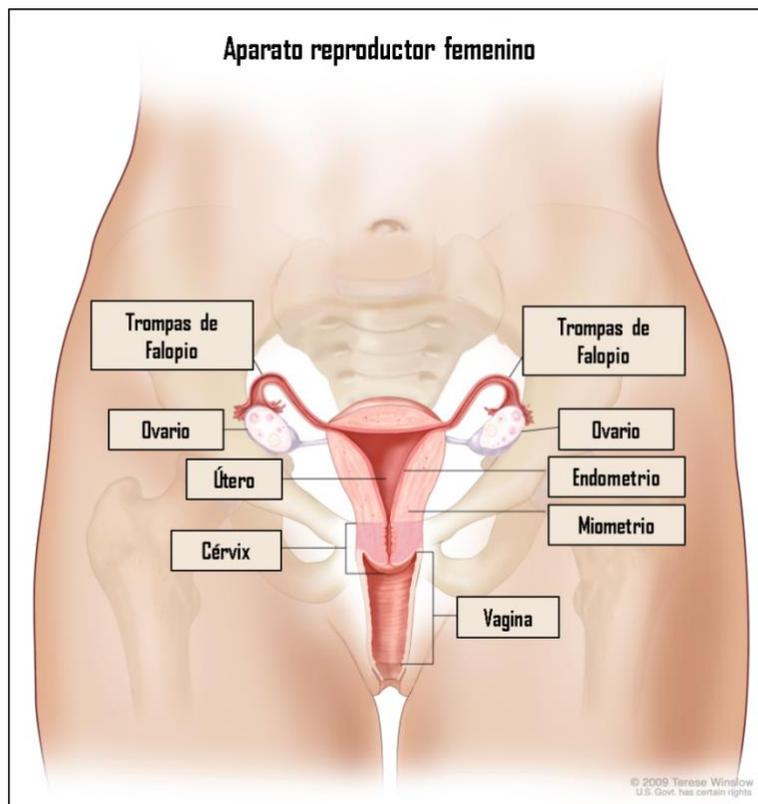
## **6. Información recopilada de la búsqueda bibliográfica**

### **6.1 Aparato reproductor femenino**

Las principales funciones del aparato reproductor femenino son la producción de óvulos para la fertilización por el espermatozoide y proporcionar condiciones apropiadas para la implantación del embrión, el crecimiento, desarrollo fetal y el nacimiento (Raff, 2013).

El sistema reproductor femenino se encuentra en la parte inferior del abdomen rodeado por los huesos de la pelvis y está compuesto por órganos externos e internos. Los genitales externos comprenden las estructuras fuera de la pelvis verdadera, incluidos los labios mayores y menores, el vestíbulo, el clítoris, el monte pubis, el perineo, el meato uretral y el área periuretral. Los genitales internos son las estructuras dentro de la pelvis verdadera, que incluyen la vagina, el cuello uterino, el útero, las trompas de Falopio y los ovarios (Marieb, 2008).

Los ovarios son responsables de la producción de hormonas sexuales, que incluyen a la progesterona y al estradiol, las cuales tienen influencia en el desarrollo y crecimiento de muchos tejidos y órganos del cuerpo, tal es el caso del miometrio, donde regulan la contractilidad y la respuesta inflamatoria (Wu *et al.*, 2017). En el aparato reproductor femenino (Figura 1), dichas hormonas mantienen las características sexuales femeninas y juegan un papel importante en el ciclo menstrual, la fertilidad y el embarazo (Sepulveda, 2012).



**Figura 1. Aparato reproductor femenino.** Esquema del útero y algunos órganos del sistema reproductor femenino. (Obtenida y modificada de National Cancer Institute, 2009).

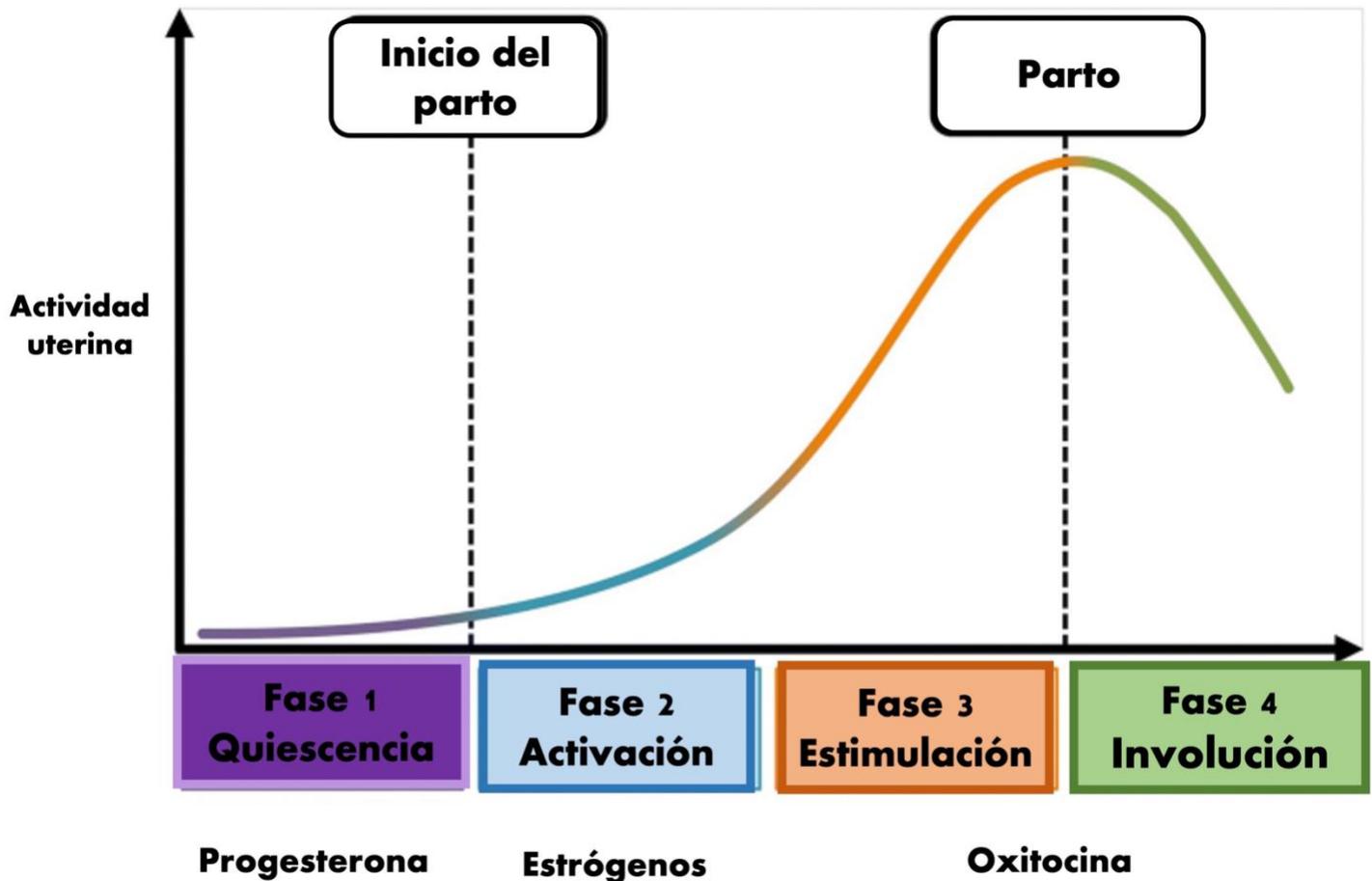
El útero, en particular, está compuesto por 3 capas: endometrio, miometrio y el perimetrio. Su estructura, bajo control hormonal, cambia en el transcurso de cada ciclo menstrual, ya que debe prepararse para un futuro embarazo; su principal función, una vez que éste se presenta, es mantener alojado al embrión y feto, y expulsar al producto de la concepción al término de la gestación (Sepulveda, 2012).

## 6.2 Embarazo y fisiología del parto

El óvulo al ser fecundado desencadena una secuencia de eventos que continúan con la implantación, el desarrollo embrionario fetal y finalizan idealmente con el nacimiento alrededor de 38 semanas más tarde, o 40 semanas después de la última menstruación. Esta serie de pasos se denominan embarazo. Durante la gestación, se producen cambios anatómicos y fisiológicos para satisfacer las crecientes necesidades metabólicas, permitir el desarrollo adecuado del feto y preparar el cuerpo para el parto. Dichos cambios comienzan a ocurrir a principios del primer trimestre, alcanzan su punto máximo en el término o el trabajo de parto, y vuelven a las condiciones anteriores al embarazo a las pocas semanas del posparto (Bhatia *et al.*, 2018).

Específicamente, para acomodar al feto en crecimiento, el útero sufre cambios estructurales extremos e hipertrofia celular. Durante el embarazo, el útero debe mantener un estado pasivo no contráctil; esto ocurre a través de niveles elevados de P4, que actúan para relajar el músculo liso. Las señales hormonales, principalmente los estrógenos, son responsables de iniciar el proceso de crecimiento uterino durante el embarazo temprano. El útero aumenta de 70 g a 1,100 g, y su capacidad de volumen aumenta de 10 ml a 5 L. Entre las semanas 12 y 16, el cuerpo uterino inferior se despliega, lo que permite que el útero se vuelva más esférico y dé lugar a la expansión del saco amniótico con un mínimo estiramiento del útero. Cuando la tasa de crecimiento fetal comienza a acelerarse a las 20 semanas, el útero se alarga rápidamente y las paredes se adelgazan. El diámetro longitudinal crece más rápidamente que los diámetros izquierdo-derecho y anteroposterior, con la máxima tasa de elongación entre las semanas 20 y 32. A las 28 semanas, se ha producido la máxima tasa de crecimiento fetal y el crecimiento del tejido uterino se ralentiza mientras continúa estirando rápidamente y adelgazando. Varias semanas después del parto, el útero vuelve a su estructura anterior al embarazo (Myers *et al.*, 2017).

En la mayoría de las especies, incluida la humana, el útero permanece relativamente inactivo durante la mayor parte del embarazo. Las contracciones que se producen están mal sincronizadas, son de baja amplitud y se desarrollan sólo en pequeños aumentos de la presión uterina. Sin embargo, en el momento del parto, el útero desarrolla contracciones de alta frecuencia y gran amplitud; el miometrio se excita, se activa espontáneamente y responde a las uterotoninas. Cuando esto ha ocurrido, el miometrio puede experimentar estimulación en respuesta a agonistas endógenos y/o exógenos (Challis, 2000). Por lo tanto, el fenotipo uterino se puede dividir en distintas fases como se presenta en la figura 2, que abarcan desde la activación del miometrio hasta el parto.



**Figura 2. Fases del parto humano.** Se considera que el embarazo consta de cuatro fases de actividad uterina. La fase 0 persiste durante el 95% del embarazo y es un estado de inactividad que se mantiene mediante la acción de la progesterona (P4) y la hormona liberadora de corticotropinas (CRH). Durante la fase de activación hay una dominancia del estradiol (E2) y aumento en las proteínas asociadas a la contracción, incluidos los receptores de oxitocina (OTR) y prostaglandinas. Esto conduce a la fase 2, caracterizada por una mayor capacidad de respuesta a las uterotónicas como las prostaglandinas y la oxitocina (OT), que estimulan al músculo uterino y generan contracciones coordinadas frecuentes y de alta intensidad. La involución postparto, fase 3, es un periodo de expulsión de la placenta influenciado principalmente por la OT materna, seguida por la remodelación del útero. (Tomada y modificada de Illicic et al., 2020).

### 6.3. Fases del parto

#### EMBARAZO- FASE 0 DEL PARTO

El útero se mantiene en un estado de reposo principalmente mediante la acción de la progesterona y otros factores como la prostaciclina (PGI<sub>2</sub>), la relaxina, el péptido relacionado con la hormona paratiroidea (PTHrP), el péptido relacionado al gen de la calcitonina (CGRP), el péptido intestinal vasoactivo (VIP) y el óxido nítrico (NO). Todos estos agentes actúan como mediadores de un aumento de las concentraciones intracelulares de adenosín monofosfato cíclico (AMPc) o guanosín monofosfato

cíclico (GMPc), los cuales inhiben la liberación de calcio intracelular para evitar la contractilidad del miometrio (Challis, 1980).

### ACTIVACIÓN DEL MIOMETRIO-FASE 1 DEL PARTO

Está asociada con la activación de la función uterina. Un aumento en los estrógenos y la hormona liberadora de corticotropina (CRH), junto con el estiramiento mecánico, puede conducir a una regulación positiva de un grupo de genes necesarios para las contracciones. Estas proteínas asociadas a la contracción (CAP), incluyen a la conexina 43 o también conocida como GJA1, la principal proteína de las uniones gap miometriales, receptores de prostaglandinas y la OT (Challis, 1980).

### ESTIMULACIÓN DEL MIOMETRIO-FASE 2 DEL PARTO

El útero puede ser estimulado por uterotónicos como las prostaglandinas, la OT y la CRH. Los eventos bioquímicos dentro del útero se asemejan a una reacción inflamatoria, con una mayor síntesis de citocinas como IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  y CCL2 (Sivarajasingam *et al.*, 2016, Challis *et al.*, 1980).

### INVOLUCIÓN DEL ÚTERO-FASE 3 DEL PARTO

La tercera etapa del trabajo de parto se define como el tiempo desde el nacimiento del bebé hasta la expulsión de la placenta. Esta etapa incluye la involución uterina que sigue al parto del feto y la placenta, y se ha atribuido principalmente a los efectos de la OT. Los cambios moderados en las concentraciones de OT en el plasma materno al final de la gestación se compensan con un aumento sustancial en la expresión del receptor de oxitocina (OTR) en el endometrio y miometrio, y con un aumento dramático en la sensibilidad uterina a la estimulación con OT (Challis, 2000 & 1980).

Cuando el nacimiento ocurre antes del periodo normal establecido, se considera un nacimiento pretérmino, el cual se clasifica clínicamente como aquel que comienza antes de las 37 semanas de gestación (Kim *et al.*, 2019). Los nacimientos prematuros siguen siendo la principal causa de muerte y discapacidad neonatal. El síndrome del parto prematuro sigue siendo el desafío clínico y de investigación más importante que enfrentan las mujeres embarazadas y los profesionales de la salud. Se ha informado que la tasa mundial de partos prematuros es de 15 millones de bebés y las tasas están aumentando. Muchos de los bebés prematuros que sobreviven sufren algún tipo de discapacidad de por vida, en particular, discapacidades relacionadas con el aprendizaje y problemas visuales y auditivos. A nivel mundial, la prematuridad es la primera causa de mortalidad en los niños menores de cinco años (Obtenido de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/preterm-birth>, 2018).

El estudio de los mecanismos asociados a la regulación del trabajo de parto permitirá conocer cuales son los eventos indispensables para que se termine el embarazo de manera fisiológica. Esto

posibilitará explorar a futuro cuales son los mecanismos que se activan en condiciones patológicas durante el embarazo, como en el caso del parto pretérmino.

## **6.4 Miometrio**

El miometrio es la pared más gruesa del útero, la cual está conformada por dos tipos de capas musculares: circular y longitudinal. Durante el embarazo, el miometrio sufre hipertrofia (incremento de tamaño) e hiperplasia (aumento del número de células). Durante el trabajo de parto el miometrio experimenta contracciones rítmicas que ayudan al feto a atravesar el cuello uterino que se ablanda al término (Smith *et al.*, 2007).

### **6.4.1 Células miometriales**

Las células del músculo liso del útero están caracterizadas por tener forma de huso, núcleo central, mitocondrias, retículo sarcoplásmico (RS) y mioproteínas, como la actina y la miosina. Lo que distingue a los miocitos uterinos de otras células musculares es su tamaño relativamente grande, de hasta 0,5 mm de largo, grandes corrientes de calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) y poderosas contracciones (Wray *et al.*, 2006). La membrana plasmática delimita el miocito miometrial y alberga los canales iónicos, bombas e intercambiadores necesarios para la función uterina (Wray *et al.*, 2019).

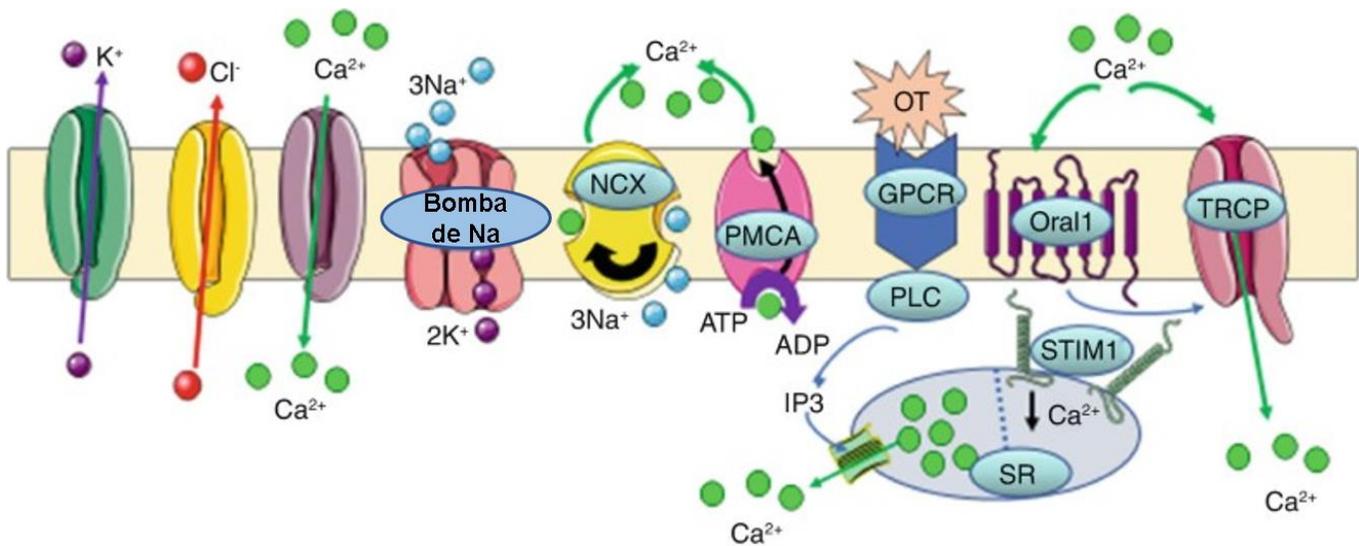
El depósito de ( $\text{Ca}^{2+}$ ) interno, del RS, es una característica de todos los tipos de músculos. Entre los músculos lisos, su tamaño y función varían. Dentro del mismo músculo liso su función puede cambiar con el desarrollo, la enfermedad y el estado fisiológico. El miometrio probablemente tiene uno de los RS más grandes. Se ha demostrado que el RS miometrial, no es sólo un depósito central cerca de los miofilamentos, sino que también corre muy cerca de la membrana plasmática. Esto permite que se produzcan microdominios de concentraciones de calcio [ $\text{Ca}^{2+}$ ] citosólico más alto que el volumen, ya que el  $\text{Ca}^{2+}$  se libera en un espacio de difusión limitada. Esto es importante ya que ayuda a explicar cómo los canales iónicos activados por  $\text{Ca}^{2+}$  en la superficie de la membrana están expuestos a un [ $\text{Ca}^{2+}$ ] suficientemente alto para activarlos. Este vínculo entre el RS y la excitabilidad, a través de los canales iónicos, es clave para la opinión ahora aceptada de que el papel del RS no es simplemente un depósito de  $\text{Ca}^{2+}$ , sino que también afecta la excitabilidad en el músculo liso (Wray *et al.*, 2019).

Se requiere transporte activo para impulsar el movimiento de  $\text{Ca}^{2+}$  hacia el RS en las células del músculo liso. La ATPasa que cataliza este movimiento es la ATPasa de calcio del retículo sarcoendoplasmático (SERCA), que es una ATPasa de tipo P y la principal proteína asociada con el RS (Wray *et al.*, 2019).

### 6.4.2 Receptores membranales y proteínas de transporte presentes en las células miométriales

Para comprender cómo surge la actividad eléctrica en las células miométriales, se requiere conocer a los canales iónicos, a las bombas y a las corrientes en el miometrio, sus densidades, conductancia, activación e inactivación, acoplamiento a las células vecinas, modulación y cómo se relacionan con el potencial de membrana en reposo y el potencial de acción.

Una característica universal de la contracción en las células musculares es la necesidad de un aumento de  $[Ca^{2+}]$  intracelular. Esto puede entenderse en los músculos lisos por la necesidad de que la cinasa de cadena ligera de miosina (MLCK) sea activada por la unión de  $Ca^{2+}$ -calmodulina (Wray *et al.*, 2019). La figura 3 presenta un esquema de la membrana plasmática de los miocitos uterinos y sus canales iónicos, bombas, receptores e intercambiadores.



**Figura 3. Canales, bombas e intercambiadores miométriales.** (Tomada y modificada de Wray *et al.*, 2019). Ión potasio ( $K^+$ ), ión cloruro ( $Cl^-$ ), ión calcio ( $Ca^{2+}$ ), ión sodio ( $Na^{2+}$ ), intercambiador de sodio/calcio (NCX), ATPasa de calcio (PMCA), oxitocina (OT), receptores acoplados a proteínas G (GPCR), fosfolipasa C (PCL), proteína del canal de calcio activado por la liberación de calcio 1 (Oral1), molécula de interacción estromal 1 (STIM1), retículo sarcoplásmico (RS), receptores de potencial transitorio canónico (TRCP). Los detalles de cada transportador se encuentran en el texto.

La entrada del  $Ca^{2+}$  está controlada por canales de  $Ca^{2+}$  tipo L, los cuales son canales activados por alto voltaje de larga apertura, esenciales para la contracción. Las células expresan una amplia variedad de canales de potasio ( $K^+$ ), controlados por voltaje,  $Ca^{2+}$ , adenosín trifosfato (ATP) y el estiramiento uterino. La apertura de canales de cloruro ( $Cl^-$ ) conducen a la salida de  $Cl^-$  lo que resulta en la despolarización de la membrana provocando la entrada de  $Ca^{2+}$  (Berstein *et al.*, 2014). Los flujos de  $Ca^{2+}$  de la membrana plasmática se equilibran mediante dos vías de salida: a través de la ATPasa

de calcio (PMCA) y del intercambiador de sodio/calcio (NCX). La bomba de sodio ( $\text{Na}^+$ ) elimina  $3\text{Na}^+$  en conjunto con la entrada de  $2\text{K}^+$ . El RS capta  $\text{Ca}^{2+}$  a través del SERCA y sólo libera  $\text{Ca}^{2+}$  a través de canales abiertos por inositol trifosfato ( $\text{IP}_3$ ). Cuando disminuye el  $\text{Ca}^{2+}$  del RS, STIM1 y Ora1 interactúan, formando un poro selectivo de  $\text{Ca}^{2+}$  y estimulando la apertura de canales de TRCP catiónicos no específicos. Mediante este mecanismo el RS puede modular la excitabilidad de la membrana plasmática. Los agonistas, como la OT, se unen a los GPCR y, a través de la PLC, generan  $\text{IP}_3$ , además de contribuir a la despolarización y estimular la entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  y mejorar la contractilidad (Wray et al., 2019).

Además de la existencia de estos receptores y transportadores, se ha descrito la presencia de hexámeros de conexinas. Los miocitos en el miometrio se encuentran conectados por uniones gap. Estas conexiones contienen principalmente a GJA1 y permiten el acoplamiento eléctrico entre las células. Se cree que el aumento de las uniones entre los huecos miometriales y la sincronización eléctrica, juegan un papel importante en el desarrollo gradual de la contractilidad uterina durante el trabajo de parto (Miyoshi et al., 1996, Ramondt et al., 1994, Sheldon et al., 2014).

#### **6.4.3 Acción hormonal en el miometrio durante el embarazo**

Se cree que la función de las células miometriales durante el embarazo está controlada por una interacción compleja de señales endocrinas, paracrinas y autocrinas de los sistemas materno y fetal que inducen dos estados principales: 1) inactividad para el mantenimiento del embarazo, y 2) trabajo de parto, que interrumpe el embarazo (Wilson et al., 2020). Las principales hormonas involucradas en este proceso incluyen al E2, la P4 y la OT.

##### **6.4.3.1 Progesterona**

La P4 es una hormona esteroide sintetizada en las gónadas, placenta y otros tejidos. Esta hormona tiene un papel importante en el desarrollo y diferenciación de sus órganos blanco, y diversas funciones reproductivas y no reproductivas (Mani & Blaustein, 2012). La progesterona es una de las principales hormonas del embarazo. En todas las especies examinadas hasta ahora, los niveles de progesterona en la circulación materna dominan el medio endocrino del embarazo. En las mujeres, la P4 es producida por el cuerpo lúteo y por la placenta durante el embarazo, por conversión del colesterol proveniente de la circulación materna a través de la actividad de enzimas metabólicas como la  $3\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa/ $\Delta$ -5-4 isomerasa ( $3\beta$ -HSD).

Los niveles séricos de P4 no varían significativamente a finales del tercer trimestre del embarazo y no hay evidencia de una caída en el plasma materno o de la P4 en los tejidos uterinos durante el trabajo de parto, contrario a lo observado en otros mamíferos como los roedores (Lévy et al., 2016). Durante

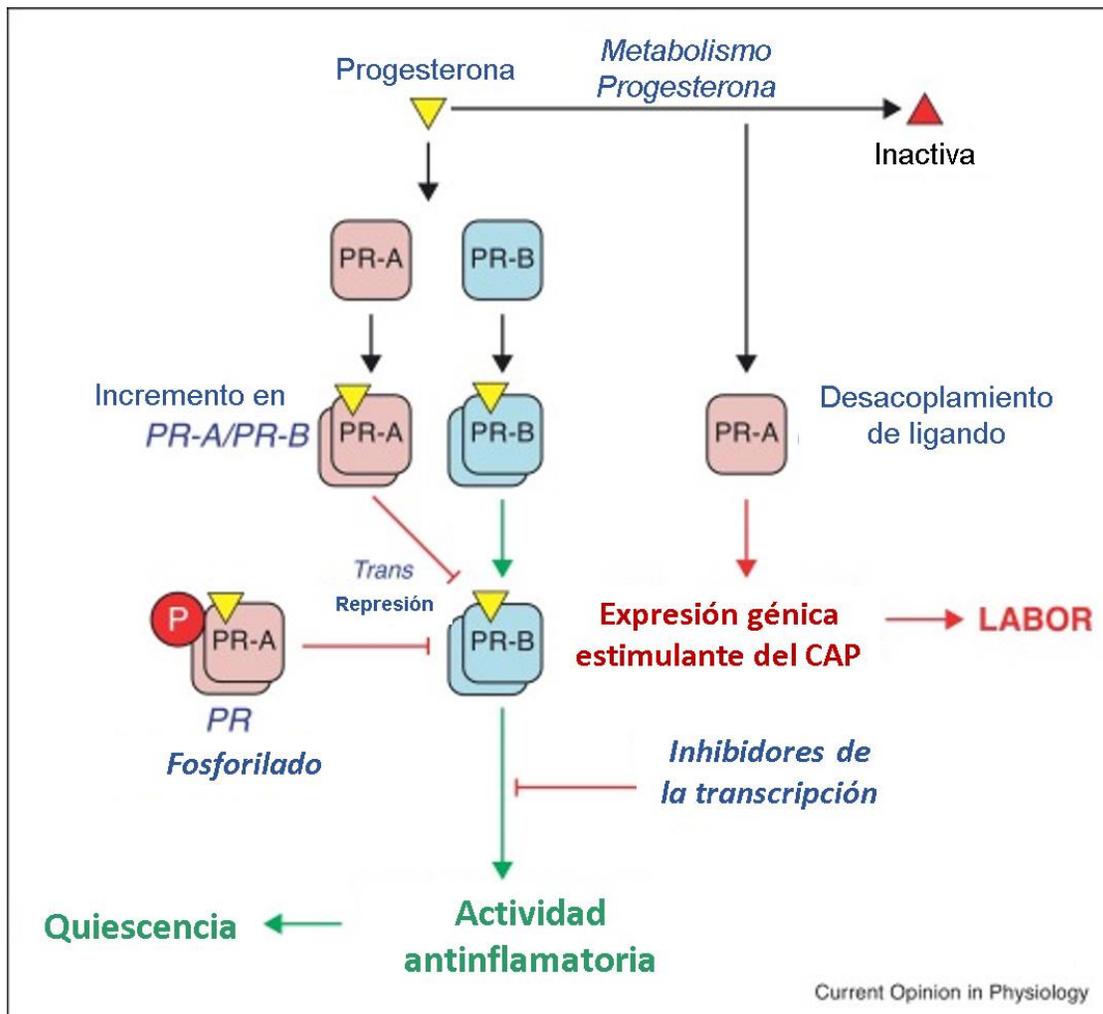
el embarazo, los niveles de P4 están en equilibrio dinámico con los estrógenos en el control de la actividad miometrial.

Se ha postulado que la P4 mantiene la quiescencia al promover el fenotipo de células miometriales inactivas y que el trabajo de parto se inicia mediante procesos fisiológicos o patológicos que interrumpen la capacidad de la P4 para inhibir el trabajo de parto; a este proceso, se le ha denominado pérdida de la respuesta funcional a la P4 (Wilson *et al.*, 2020).

Las acciones de la P4 se llevan a cabo principalmente por su receptor nuclear (PR). Los efectos fisiológicos de la P4 están mediados por la interacción de la hormona con dos isoformas de dicho receptor (PR-A y PR-B). Ambas isoformas son codificadas a partir del mismo gen (*PGR*) y son producto de promotores alternativos y diferentes sitios para el inicio de la transcripción (Gardner *et al.*, 2012).

La P4 difunde libremente a través de la membrana plasmática de sus células blanco y se internaliza en el citoplasma para interactuar con el PR a través de su dominio de unión al ligando, induciendo un cambio conformacional que promueve la fosforilación del PR, lo que permite que se disocie de las chaperonas, se dimerice y se transloque al núcleo. El receptor activo se une a los elementos de respuesta a progesterona específicos, ubicados dentro de las regiones reguladoras de sus genes blancos (Barrera *et al.*, 2007).

En las células miometriales humanas se han propuesto varios mecanismos para la pérdida de la respuesta funcional a la progesterona, cada uno de los cuales implican cambios en la actividad transcripcional de las isoformas del PR (Figura 4). Estos incluyen: 1) mayor abundancia y actividad trans-represiva del PR-A; 2) aumento de la abundancia de co-represores transcripcionales que inhiben la actividad anti-inflamatoria del PR-B; 3) modulación de la actividad del PR mediante modificaciones postraduccionales que conduce a la interacción funcional entre los PRs y otros factores de transcripción (por ejemplo, NF- $\kappa$ B y AP-1) que controlan la expresión de genes relacionados con las CAP y 4) el metabolismo de la progesterona en las células miometriales que conducen a la generación de un PR-A no ligado que ejerce efectos favorables al trabajo de parto (Wilson *et al.*, 2020). Se ha llegado a concluir de manera más concisa que el PR-B mantiene la quiescencia del miometrio durante el embarazo, mientras que el PR-A es capaz de transformar el miometrio de un estado latente a un órgano que se contrae activamente para mejorar la conectividad de los miocitos durante el parto (Nadeem *et al.*, 2017).



**Figura 4. Posibles mecanismos de la pérdida de la respuesta funcional a la progesterona en el embarazo humano.** Tras la unión del ligando, los receptores de progesterona (PR) dimerizan y se activan como factores de transcripción. Durante la mayor parte del embarazo, la progesterona que actúa a través de PR-B ejerce una actividad antiinflamatoria para bloquear el trabajo de parto. La pérdida de la respuesta funcional a la progesterona podría estar mediada por un aumento en la relación PR-A/PR-B y / o fosforilación de PR-A que conduce a un aumento de la actividad transrepresiva de PR-A sobre PR-B. Un aumento de los represores transcripcionales también podría inhibir la actividad antiinflamatoria mediada por PR-B. Si bien el nivel de progesterona permanece alto durante el parto, se cree que el metabolismo de la progesterona a una forma inactiva conduce a la generación del PR-A sin ligando que aumenta la expresión de genes asociados al trabajo de parto en las células miométricas. (Tomada y modificada de Wilson *et al.*, 2020).

Tan y col. utilizaron una línea celular de miometrio humano genéticamente modificada a través de dos plásmidos distintos que tenían insertado el marco de lectura abierto del PR-A y del PR-B, respectivamente en el sitio de clonación múltiple, los cuales eran de expresión inducible para PR-A o PR-B (HTERT-TM<sup>A/B</sup>), con el fin de determinar la participación de cada isoforma en la regulación de la expresión de genes que codifican a las CAP y mediadores proinflamatorios. En este trabajo, se estableció que la P4 disminuye la expresión de genes proinflamatorios cuando la proporción PR-A a

PR-B favorece a PR-B y aumenta la expresión de genes proinflamatorios cuando la proporción favorece a PR-A (Tan *et al.*, 2012). Esto es consistente con la hipótesis propuesta por Siiteri *et al.* en la década de 1970 en la que se estableció que la P4 mantiene el embarazo al funcionar como una hormona antiinflamatoria en las células miometriales (Siiteri *et al.*, 1977). Además, el estudio de Tan y col. revela que la P4 a través de PR-B aumenta la expresión del gen que codifica al inhibidor alfa de NF-kappa-B (*NFKBIA*) e inhibe la expresión del gen que codifica a la prostaglandina-endoperóxido sintasa 2 (*PTGS2*) basal e inducida por lipopolisacáridos (LPS) (Tan *et al.*, 2012). Estos hallazgos sugieren que, durante la mayor parte del embarazo humano, la P4 mantiene la quiescencia a través de PR-B mediante la inhibición de la actividad de NFκB, disminuyendo la expresión de moléculas proinflamatorias en los miocitos, así como la capacidad de respuesta a estímulos proinflamatorios/parto mediados por NFκB. El estudio también revela que ambos efectos mediados por PR-B son reprimidos por PR-A (Tan *et al.*, 2012). En el parto, el aumento de la expresión de PR-A estimula el parto al prevenir las acciones antiinflamatorias de la P4 mediadas por PR-B y aumentar directamente la expresión de moléculas proinflamatorias, así como al impulsar directamente la expresión de las CAP, como GJA1 (Ilicic *et al.*, 2020).

Un estudio reciente realizado en la línea celular HTERT-TM<sup>A/B</sup> revela que la P4, así como IL-1β y LPS, aumentan significativamente la abundancia de PR-A a través de mecanismos postraduccionales que implican una mayor estabilidad de la proteína PR-A. Por el contrario, la abundancia de PR-B disminuye en respuesta a la P4 en el miometrio en el parto a término. Además, IL-1β y LPS aumentan la capacidad de PR-A para inhibir la actividad transcripcional de PR-B (Peters *et al.*, 2017). Estos resultados sugieren que existe un aumento en los niveles en estado estacionario del PR-A y de su actividad trans-represiva en las células del miometrio, promoviendo así la pérdida de la actividad antiinflamatoria mediada por el PR-B (Ilicic *et al.*, 2020).

La transformación del útero de un órgano inactivo a uno contráctil resulta de una interacción compleja entre las señales hormonales e inflamatorias; sin embargo, la contribución relativa de cada uno al fenotipo contráctil sigue sin estar clara. Recientemente, se utilizó la secuenciación de RNA para caracterizar los cambios globales del transcriptoma uterino en tres modelos de parto en ratón: (1) trabajo de parto espontáneo a término, (2) trabajo de parto prematuro inducido por un antagonista de la progesterona conocido como RU486 y (3) trabajo de parto prematuro inducido por LPS. El trabajo de parto a término espontáneo y el trabajo de parto prematuro inducido por RU486 presentan cambios de expresión génica global similares, mientras que el trabajo de parto prematuro inducido por LPS expresa un perfil de transcriptoma distinto (Migale *et al.*, 2016). Esto es consistente con estudios

previos que revelan diferencias entre los mecanismos subyacentes del trabajo de parto prematuro inducido por la inflamación y la pérdida de la respuesta funcional a la P4 y el trabajo de parto a término espontáneo (Filipovich *et al.*, 2016 & Hirsch *et al.*, 2012 & Muhle *et al.*, 2001). Estos resultados sugieren que los mediadores inflamatorios juegan un papel importante en la respuesta funcional a la P4 humana (Migale *et al.*, 2016).

Se ha investigado la posibilidad de que la fosforilación de la serina específica de los PR esté involucrada en la modulación de la función de los mismos y, como tal, que sea responsable de la pérdida de la respuesta funcional a la P4 en el embarazo humano. La fosforilación ocurre en múltiples residuos de serina de ambas isoformas del PR y puede afectar la estabilidad de las isoformas del PR, la sensibilidad hormonal y la localización nuclear. La fosforilación del PR-A en los residuos de serina - 344 y - 345 (pSer 344/345 -PR-A) inhibe la actividad antiinflamatoria mediada por PR-B y, por tanto, conduce a la pérdida de la respuesta funcional a la P4 en las células miometriales (Amini *et al.*, 2016).

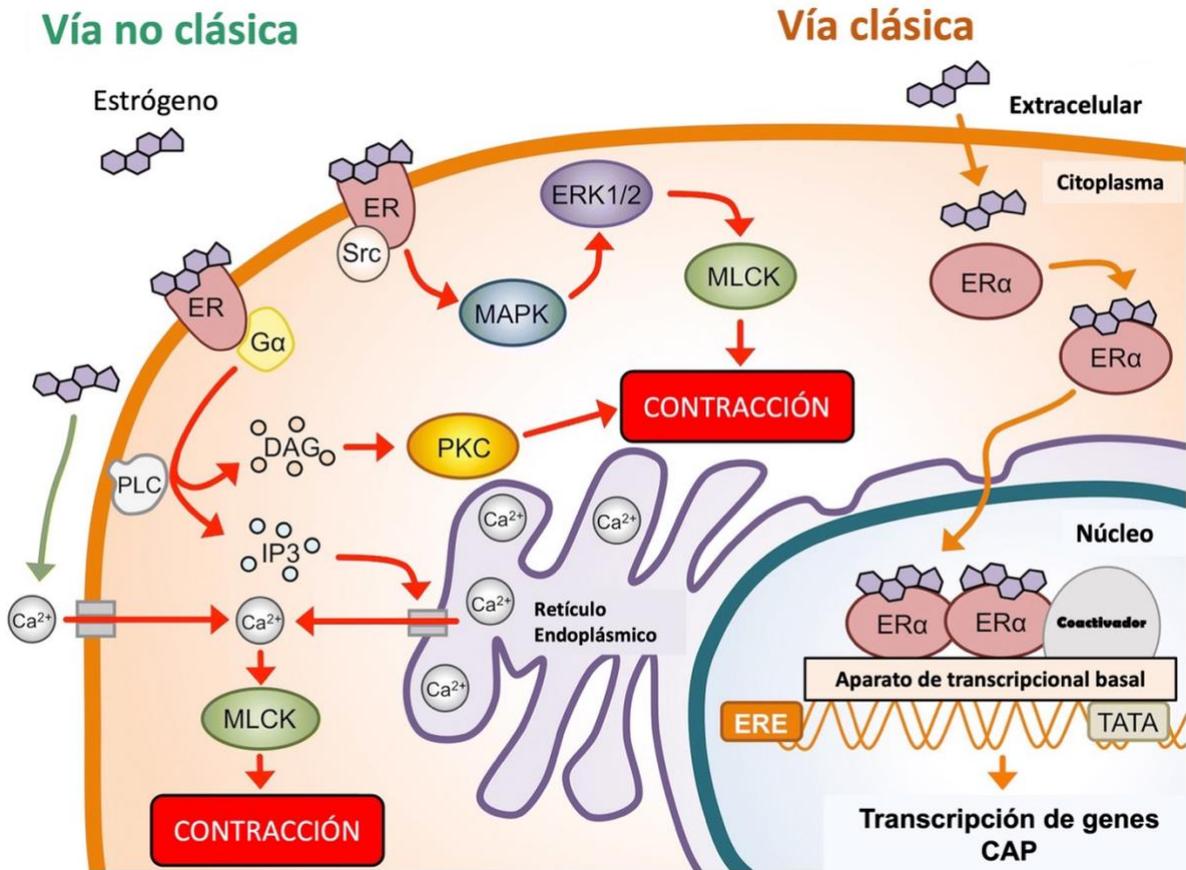
Recientemente, Nadeem *et al.* describieron que durante el embarazo el PR-B unido a la P4 inhibe la translocación de GJA1 (conexina 43) y la formación de uniones gap en células miometriales humanas gestantes al prevenir la expresión de la proteína chaperona isoforma corta, GJA1-20K. Se necesita GJA1-20K para facilitar el transporte de GJA1 de longitud completa a la membrana plasmática y, sin su presencia, no hay conectividad célula-célula entre los miocitos, lo que reduce la probabilidad de contracciones miometriales. Durante el trabajo de parto, el PR-A unido a la P4 induce la síntesis de GJA1-20K, que a su vez facilita el transporte de GJA1 del retículo endoplásmico al Aparato de Golgi, estimula el tráfico directo de GJA1 hacia la membrana plasmática y la formación de uniones gap, lo que promueve la conectividad célula-célula para sincronizar el miometrio. (Nadeem *et al.*, 2017). Durante mucho tiempo, se creyó que la P4 era responsable de la inhibición de la expresión de GJA1; sin embargo, estos resultados indican que PR-A es un regulador maestro de la expresión de GJA1, su tráfico, la formación de uniones gap y la conectividad de los miocitos, que es crucial para el éxito del trabajo de parto (Ilicic *et al.*, 2020).

#### **6.4.3.2 Estrógenos**

Los estrógenos son hormonas esteroideas que provienen en general de la conversión de andrógenos a estrógenos mediante la enzima aromatasa. Los diferentes tipos de estrógenos son: estradiol (E2), estriol (E1), estrona y estetrol; siendo el E2 el estrógeno predominante y más activo, debido a que tiene la mayor afinidad por el receptor de estrógenos (ER) (Hasan *et al.*, 2011). La principal fuente de estrógenos en la mujer sin embarazo es el ovario (Wilson *et al.*, 2020). Durante el embarazo, la placenta es la fuente principal de estrógenos y las concentraciones de estrógenos aumentan en la

circulación materna con el aumento de la edad gestacional. En general, los estrógenos regulan la proliferación y diferenciación del miometrio durante el embarazo. Son esenciales para el desarrollo y la función uterina, y juegan un papel clave en el parto (Challis, 1980 & Wilson *et al.*, 2020).

La acción de los estrógenos está mediada por los ER's, los cuales pueden ser intracelulares y membranales. Los ER intracelulares pueden unirse a secuencias de DNA llamadas elementos de respuesta a estrógenos (ERE) o pueden asociarse con factores de transcripción unidos a otras secuencias de reconocimiento de DNA (como AP-1). Los receptores también pueden mediar acciones no genómicas de la hormona, dentro de los cuales se incluyen a los receptores membranales. Hay tres formas principales de ER en los seres humanos: dos subtipos de RE intracelulares, ER $\alpha$  y ER $\beta$ , y un receptor acoplado a proteína G unido a la membrana, GPER (Ilicic *et al.*, 2020). Los receptores mencionados anteriormente se encuentran ilustrados en la Figura 5.



**Figura 5. Vía clásica y vía no clásica de la señalización de estrógenos.** Los efectos de los estrógenos están mediados por los receptores de estrógenos (ER). Los ER pueden unirse a secuencias de DNA llamadas elementos de respuesta a estrógenos (ERE). Los receptores también pueden mediar en acciones no clásicas de la hormona (Tomada y modificada de Ilicic *et al.*, 2020).

En los seres humanos, la concentración plasmática de estrógenos es alta durante la mayor parte del embarazo y permanece elevada durante el parto (Smith *et al.*, 2009 & Dehertogh *et al.*, 1975). Esto ha llevado al concepto de activación funcional de estrógenos en el útero humano durante el parto, que se ha propuesto que está mediada por cambios en la expresión y actividad transcripcional de los receptores de estrógenos ERα y ERβ, los cuales están codificados por los genes *ESR1* y *ESR2* respectivamente. En presencia de concentraciones elevadas de estrógenos, los dos receptores actúan de manera indistinguible sobre genes controlados por promotores que contienen los ERE. En los promotores de genes en los que los ER actúan a través de la interacción con los factores de transcripción AP-1, el ERα estimula y el ERβ inhibe la transcripción (Hall *et al.*, 1999 & Paech *et al.*, 1997). Por lo tanto, el nivel relativo de ERα y ERβ puede afectar los patrones de expresión génica que responden a los estrógenos en las células diana. Mesiano y col. informaron que la expresión de *ESR1* es baja en el miometrio a término sin trabajo de parto y aumenta con el inicio del trabajo de parto, mientras que los niveles de *ESR2* apenas son detectables. Además, encontraron una

correlación positiva entre los niveles de expresión de *ESR1* y la proporción de PR-A/PR-B, lo que indica un vínculo entre los receptores de PR y ER $\alpha$  (Ilicic *et al.*, 2020).

El RNAm de *ESR1* se expresa en el miometrio gestante con niveles crecientes durante el trabajo de parto, mientras que los niveles de RNAm de *ESR2* permanecen casi indetectables (Welsh *et al.*, 2012). Tomando en cuenta estos resultados, se ha sugerido que PR-B suprime la expresión de ER $\alpha$ , haciendo que el miometrio no responda a la acción de los estrógenos circulantes (Mesiano *et al.*, 2007). Con el avance de la gestación, hay un aumento en los niveles de PR-A, que reprime la actividad de PR-B, por lo que la expresión de *ESR1* aumenta. Esta teoría implica que el parto humano está impulsado por eventos que aumentan los niveles de PR-A al término de la gestación, lo que induce la pérdida de la respuesta funcional a la progesterona y la acción de los estrógenos por la expresión elevada de ER $\alpha$  (Ilicic *et al.*, 2020).

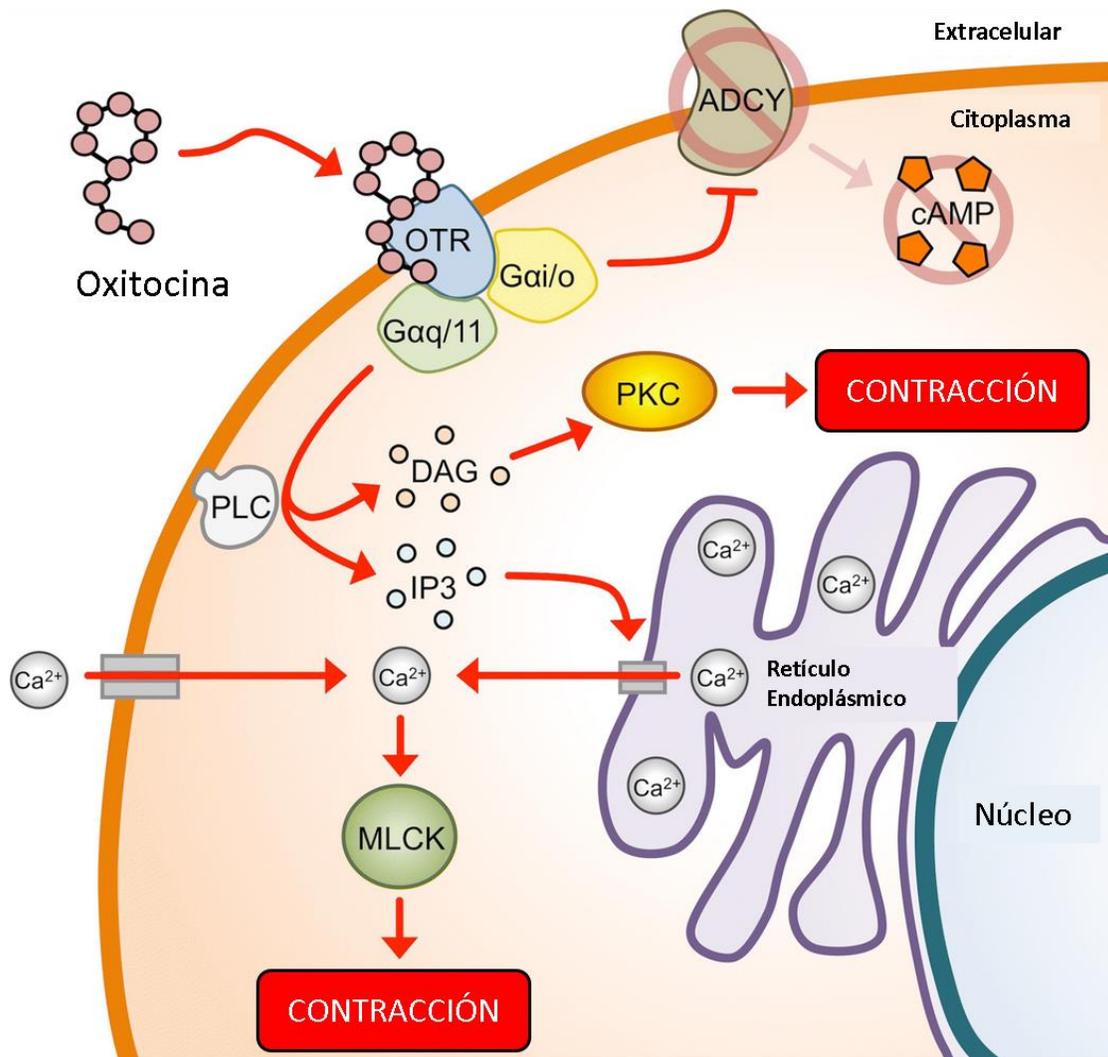
A pesar de que se ha reportado una baja expresión de *ESR2* en miometrio humano durante el término de la gestación, se ha establecido que existe una relación inversa entre los niveles de ER $\beta$  y *GJA1*, un producto del gen *GJA1* dependiente de AP-1, en miometrio a término (Wu *et al.*, 2000). Estas interesantes observaciones sugieren la posibilidad de que a través de ER $\beta$ , los estrógenos bloquean la expresión de genes que promueven el trabajo de parto y que son controlados por AP-1, tal como como *GJA1*, hasta el término de la gestación, cuando la expresión de ER $\beta$  disminuye (Ilicic *et al.*, 2020).

Las acciones rápidas de los estrógenos (aproximadamente 30 min) se atribuyen a la señalización no clásica. Tanto el receptor de estrógenos acoplado a proteína G unido a membrana (GPER) como el ER $\alpha$  pueden desencadenar la movilización de Ca<sup>2+</sup> y la acumulación de fosfatidilinositol 3,4,5 trifosfato (PIP3) dentro de los 60 s posteriores a la unión a los estrógenos por medio de distintos mecanismos intracelulares (Revankar *et al.*, 2005). La señalización de estrógenos no clásica también puede implicar la acumulación de AMPc y la activación de la proteína cinasa activada por mitogeno (MAPK (ERK1/2)) en varios tipos celulares (Hall *et al.*, 2001 & Nilsson *et al.*, 2001). Se ha detectado el RNAm y proteína de GPR30 en el miometrio humano gestante a término (Welsh *et al.*, 2012 & Maiti *et al.*, 2011). Maiti *et al.* describieron que el activador farmacológico de GPR30, G1, induce la fosforilación de ERK1/2 en explantes de miometrio humano y mejora la capacidad de respuesta de las tiras de miometrio a la oxitocina, lo que es consistente con la movilización de Ca<sup>2+</sup>. Estos resultados confirman que la activación de ERK1/2, en parte a través de GPR30, es integral para la regulación de la contractilidad del miometrio durante el trabajo de parto (Paul *et al.*, 2011). La participación de la vía no clásica de

señalización por estrógenos en la contractilidad del miometrio requiere más investigación (Ilicic *et al.*, 2020).

#### **6.4.3.3 Oxitocina**

La OT es una hormona peptídica producida por las neuronas hipotalámicas como un pre-propéptido, el cual se somete a una serie de modificaciones postraduccionales para producir el péptido maduro. Estas modificaciones tienen lugar durante el transporte axonal hacia las terminales sinápticas, desde donde se libera por exocitosis a la circulación en respuesta a una variedad de estímulos. La oxitocina también es sintetizada por los tejidos periféricos, incluido el revestimiento del útero (decidua/epitelio uterino durante el embarazo), el cuerpo lúteo, el amnios y la placenta (Arrowsmith, 2014). El OTR pertenece a la clase A de la superfamilia de receptores acoplados a proteína G (GPCR). En el útero, la proteína  $G\alpha_{q/11}$  se acopla a la fosfolipasa C- $\beta$  (PLC- $\beta$ ), que cataliza la hidrólisis de fosfatidilinositol 4,5-difosfato (PIP<sub>2</sub>) en inositol-trifosfato (IP<sub>3</sub>) y diacilglicerol (DAG) (Busnelli *et al.*, 2012; Strakova *et al.*, 1997). A su vez, estos segundos mensajeros controlan la movilización de Ca<sup>2+</sup> de depósitos intracelulares como el RS y la activación de la proteína cinasa tipo C (PKC), respectivamente. La liberación de Ca<sup>2+</sup> del RS provoca contracciones del músculo liso mediante la estimulación de la calmodulina dependiente de Ca<sup>2+</sup> que, a su vez, activa la cinasa de cadena ligera de miosina (MLCK) (Arthur *et al.*, 2017). La fosforilación posterior de las cadenas ligeras de miosina por la MLCK produce ciclos de puentes cruzados entre la miosina y la actina, para llevar a cabo las contracciones. Este mecanismo se encuentra representado en la figura 6 (Ilicic *et al.*, 2020).



**Figura 6. Señalización del OTR en el miometrio.** La oxitocina actúa a través del receptor de oxitocina (OTR), un receptor de 7 dominios transmembranales que se encuentra en la superficie celular, para estimular las contracciones del miometrio. La unión de la oxitocina al receptor activa a la proteína G heterotrimérica  $G_{\alpha q/11}$ . La señalización a través de  $G_{\alpha q/11}$  conduce a la activación de la PLC, la hidrólisis de fosfatidilinositol 4,5-difosfato (PIP2) a inositol trifosfato (IP3) y diacilglicerol (DAG), que desencadena la liberación de  $Ca^{2+}$  intracelular. El aumento de  $Ca^{2+}$  intracelular activa a la cinasa de cadena ligera de miosina (MLCK), que fosforila cadenas ligeras de miosina (MLC) y provoca la contracción de los miocitos. Modificada de Ilicic *et al.*, 2020.

En el miometrio, las funciones más destacadas del OTR incluyen el inicio y la estimulación de las contracciones del miometrio durante el trabajo de parto. La evidencia de esto proviene de la importante regulación positiva del OTR que se observa en humanos durante el inicio del trabajo de parto, aumentando la sensibilidad del miometrio a la OT. Los antagonistas de los OTR pueden inhibir las contracciones uterinas al final de la gestación y el parto (Wilson *et al.*, 2020). Durante el trabajo de

parto se observa un aumento de la secreción pulsátil de OT por la neurohipófisis y un aumento de la expresión y afinidad de los receptores en el miometrio y la decidua, lo que resulta en una mayor eficiencia de la acción de la OT a medida que avanza el embarazo (Challis, 1980).

La OT placentaria actúa directamente sobre el miometrio para causar contracciones e indirectamente induce la producción de prostaglandinas, especialmente prostaglandina F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>). La PGF<sub>2α</sub> es producida principalmente por la decidua materna y actúa sobre el miometrio para incrementar los niveles de OTR y las uniones gap, promoviendo así las contracciones uterinas (Challis, 1980).

Los estudios sugieren que el aumento de la proporción de estrógenos a la P4 que ocurre antes del inicio del trabajo de parto conduce a un mayor número de OTR en el útero. Muchos estudios en animales también revelan un aumento en la concentración de OT antes del parto (Fuchs *et al.*, 1980, Glatz *et al.*, 1981, Landgraf *et al.*, 1983, Higuchi *et al.*, 1986, Currie *et al.*, 1988, Haluska *et al.*, 1988, Hirst *et al.*, 1993, Gilbert *et al.*, 1994); sin embargo, existe evidencia limitada con respecto a este fenómeno en humanos debido a las dificultades técnicas para determinar niveles de OT en mujeres en trabajo de parto (Challis, 1980).

En estudios recientes con tejidos humanos y líneas celulares miometriales se ha descrito que la unión de la OT a su receptor conduce a la activación de NFκB y aumenta la producción de PG, quimiocinas inflamatorias y citocinas. Estos factores promueven la remodelación de la membrana fetal, la maduración cervical y la activación del miometrio (Kim *et al.*, 2015 & Pont *et al.*, 2012).

## **6.5 Retículo endoplásmico**

El citoplasma de las células eucariotas contiene un retículo endoplásmico (RE) que consta de una red de sacos aplanados y un laberinto de túbulos membranosos ramificados continuos con la membrana nuclear (Porter *et al.*, 1945). El RE es un orgánulo multifuncional requerido para la biosíntesis de lípidos, el almacenamiento de calcio, el plegamiento y procesamiento de proteínas. Durante la producción de proteínas funcionales, mecanismos moleculares específicos del RE detectan la cantidad y calidad de las proteínas sintetizadas, así como el plegamiento adecuado de sus estructuras nativas (Kozutsumi *et al.*, 1988). Las proteínas ingresan al RE como cadenas polipeptídicas desplegadas. Su flujo hacia el RE es variable porque puede cambiar rápidamente en respuesta a los programas de diferenciación celular, las condiciones ambientales y el estado fisiológico de la célula. Para manejar esta situación dinámica, las células ajustan la capacidad de plegamiento de proteínas del RE de acuerdo con sus requisitos, asegurando así que la calidad de la superficie celular y las proteínas secretadas se puedan mantener con alta fidelidad (Ron and Walter, 2007). La síntesis de proteínas en

el RE involucra a varios factores moleculares que evalúan la cantidad y calidad de las proteínas sintetizadas, así como el plegamiento en su estructura nativa (Bukau *et al.*, 2006). La acumulación excesiva de proteínas desplegadas y/o mal plegadas en la luz del RE, activa un programa de adaptación específico del RE (la respuesta a proteínas mal plegadas; UPR) que aumenta la degradación asociada al RE (ERAD) de estas proteínas estructuralmente anormales y funcionalmente deterioradas para mantener la homeostasis proteica (Guzel *et al.*, 2017).

### **6.5.1 Estrés del retículo endoplásmico (ERS)**

Varias condiciones fisiológicas asociadas con una mayor demanda de proteínas dan como resultado niveles aumentados de proteínas desplegadas y/o mal plegadas que se acumulan en el lumen del RE, lo que a su vez induce el estrés del mismo, desencadenando la activación de la vía de señalización de la UPR (Kim *et al.*, 2009, Ozcan *et al.*, 2004). Esta vía conecta la luz del RE con el citoplasma y el núcleo, mejorando así la capacidad celular para hacer frente al estrés. En muchos estudios se ha demostrado ahora el papel de las cascadas de señalización del estrés del RE/UPR en el ciclo menstrual endometrial, la foliculogénesis y la maduración de los ovocitos, la fertilización, el desarrollo del embrión antes de la implantación, el embarazo y el parto (Cao *et al.*, 2016, Khan *et al.*, 2015, Yang *et al.*, 2016, Yalcin *et al.*, 2017, Buhimschi *et al.*, 2014). Asimismo, se ha descrito la alteración de la homeostasis del RE por estrés grave/ prolongado de este orgánulo en varias patologías del tejido reproductivo, como endometriosis, cáncer, pérdida recurrente del embarazo y complicaciones del embarazo asociadas con el parto prematuro (Guzel *et al.*, 2017).

### **6.5.2 Respuesta a proteínas mal plegadas (UPR)**

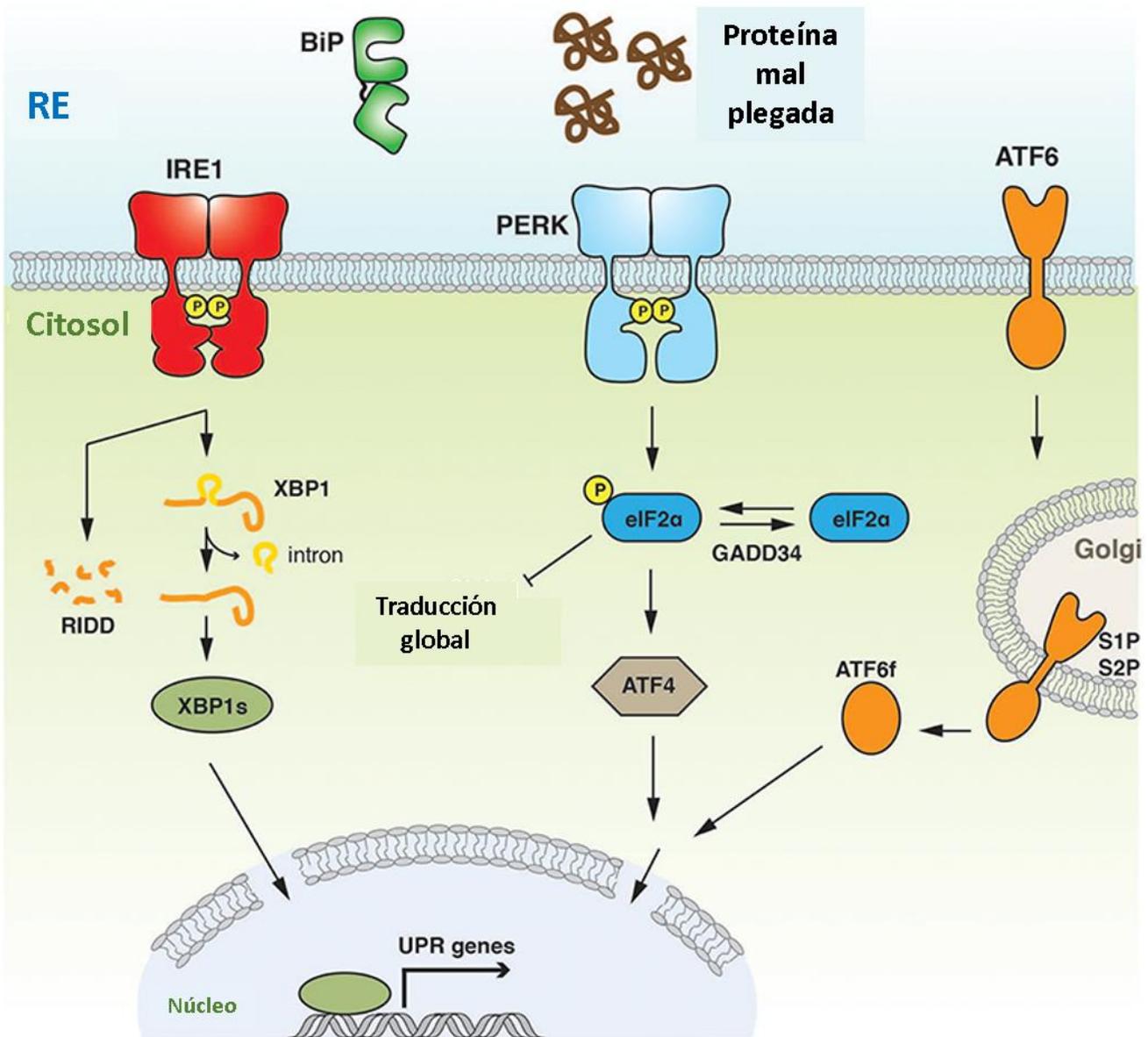
Este mecanismo complejo es un medio importante para restablecer la homeostasis celular y aliviar el estrés incitante. Su activación se lleva a cabo por tres vías de señalización las cuales se encuentran ilustradas en la Figura 7, denominadas con base en las proteínas que inician cada vía, las cuales son: el factor de transcripción 6 (ATF6), la proteína cinasa R del retículo endoplásmico (PERK) y la enzima 1 que requiere inositol (IRE1). Estas proteínas inician la cascada de señalización respectiva al separarse de la proteína 78 regulada por glucosa (GRP78), una proteína chaperona que monitorea la acumulación de proteínas desplegadas y mal plegadas dentro del lumen del RE. En estados fisiológicos (sin estrés), estos transductores se encuentran unidos a la chaperona GRP78. Los inductores de estrés del RE acumulan proteínas desplegadas/mal plegadas en la luz del RE. Una mayor afinidad de GRP78 por las proteínas mal plegadas disocia GRP78 de ATF6, PERK e IRE1, lo que permite la unión de proteínas mal plegadas a GRP78 que desencadena las tres cascadas de señalización de la UPR (Guzel *et al.*, 2017), las cuales consisten en lo siguiente:

(1) La señalización de ATF6 implica su translocación al aparato de Golgi para que sea escindido por la proteasa del sitio 1 (S1P) y la proteasa del sitio 2 (S2P) (Ye *et al.*, 2000) y posteriormente sea liberado en el núcleo como factor de transcripción activo para inducir la expresión de *GRP78*.

(2) La señalización de PERK consiste en la autofosforilación de PERK (P-PERK), que genera una cinasa activa que fosforila al factor 2 $\alpha$  de iniciación de la traducción eucarionte (P-eIF2 $\alpha$ ). La fosforilación de eIF2 $\alpha$  bloquea su actividad como factor iniciador de la traducción e induce la fosforilación de ATF4 (P-ATF4) que conduce a la translocación nuclear de este factor de transcripción para inducir la expresión de *GRP78*, de la proteína homóloga C/EBP (*CHOP*) y *XBPu* (Kadowaki *et al.*, 2013).

(3) La señalización de IRE1 $\alpha$  incluye la autofosforilación de esta proteína (P-IRE1 $\alpha$ ), activando su actividad endonucleasa que cataliza la escisión de un intrón no convencional de 26 nucleótidos del RNAm de XBP1 (XBP1u), lo que se traduce en una isoforma de 371 aminoácidos, XBP1 empalmada (XBP1s), que funciona como un factor de transcripción que induce la expresión de genes que codifican proteínas que participan en la UPR, tales como *GRP78* y *ERAD*, entre otras (Lee *et al.*, 2003, Yoshida *et al.*, 2001).

En general, al aumentar los niveles de la proteína chaperona *GRP78* y el bloqueo de la síntesis de proteínas mediada por eIF2 $\alpha$ , la señalización de la UPR incrementa el transporte de proteínas mal plegadas al complejo *ERAD* para la degradación mediada por proteasomas, restableciendo así la homeostasis del RE y favoreciendo la supervivencia celular (Schroder *et al.*, 2005). Por otro lado, si el estrés del RE es prolongado y/o severo induce apoptosis por activación de *CHOP*, escisión de caspasa 3 mediada por caspasa 12 ligada a RE y/o liberación de citocromo-c mitocondrial asociada a flujo de Ca<sup>2+</sup> RE (Guzel *et al.*, 2017).



**Figura 7. Descripción general de la vía de señalización de la UPR.** La UPR induce una respuesta transcripcional y traduccional al estrés del RE. Las tres proteínas activadoras de la UPR, IRE1, PERK y ATF6 dan lugar a tres ramas separadas de la respuesta, las cuales tienen como objetivo aliviar la carga de la proteína mal plegada y garantizar una homeostasis exitosa del RE. Modificada de Adams *et al.*, 2019.

Se han descrito efectos potenciales asociados a la UPR, en la fisiología y patología reproductiva, que incluyen cambios en el ciclo menstrual, gametogénesis, desarrollo de embriones antes de la implantación, implantación y placentación, trabajo de parto, endometriosis, complicaciones del embarazo y parto prematuro, así como la tumorigénesis del sistema (Guzel *et al.*, 2017).

## 6.6 Regulación de la UPR en el miometrio

A continuación se describen los modelos experimentales en ratones, cultivos primarios y líneas celulares en los cuales se ha estudiado la participación de la UPR en la activación de los miocitos uterinos y/o las contracciones uterinas durante el trabajo de parto.

### 6.6.1 Modelos animales

En modelos animales se han utilizado ratones hembra CD-1 de 6 a 8 semanas de edad para observar la tasa de nacimientos a término o partos prematuros. En respuesta a la aplicación de tratamientos de TM a distintas dosis (0.04, 0.2 y 1 mg/kg) administrados por vía intraperitoneal en el día E15, se observó una inducción del estrés del RE. En particular, a mayores dosis se encontró un aumento de los niveles de los marcadores asociados a la UPR como GRP78, una disminución de los niveles de la caspasa 3 (CASP3) activa y un aumento de los niveles de la proteína GJA1. En este trabajo se estableció una asociación directa entre la capacidad de respuesta contráctil de los miocitos uterinos y la actividad de la CASP3 (Kyathanahalli *et al.*, 2015), así como se identificó un sitio de escisión específico de esta caspasa en la secuencia (298 RNYNKQASEQNWANYSAEQNRMGQAG—STISNSHAQPFDNPNQNSKRLA—AGHELQ 354) de aminoácidos de GJA1. En este trabajo se describió que los ratones gestantes expuestos al tratamiento de TM a (1 mg/kg) tienen partos prematuros, debido al aumento de los niveles de la proteína GJA1. Se ha utilizado la aplicación de otro fármaco conocido como el ácido 4-fenilbutírico (PBA, 50 mg/kg), el cual reduce el estrés del retículo endoplásmico (Loutfy *et al.*, 2020); se ha informado que su administración a una dosis de 50 mg/kg previo a la TM (0.2 y 1 mg/kg) induce un aumento en los niveles de GRP78, pero mantiene los niveles proteicos de CASP3 y GJA1, lo cual favorece que los partos de los ratones lleguen al término (Ingles *et al.*, 2018 & Kyathanahalli *et al.*, 2015).

La CASP3 también regula el mecanismo contráctil de los miocitos mediante el corte de las proteínas de  $\alpha$ - y  $\gamma$ -actina, lo que disminuye la capacidad contráctil del miometrio. A medida que se acerca el término del embarazo, la CASP3 activa se vuelve indetectable y la cantidad de productos de escisión de actina disminuyen (Jesayuria *et al.*, 2009). La activación de la CASP3 suele estar vinculada a la apoptosis (Fernandes *et al.*, 1994). Sin embargo, varios estudios demuestran que la CASP3 regula negativamente la contractilidad de los miocitos en las células musculares esqueléticas (Fernandes *et al.*, 1994), cardíacas (Supinski *et al.*, 2006, Narula *et al.*, 2006) y lisas (Shynlova *et al.*, 2006) sin provocar la muerte celular (Narula *et al.*, 2006). Recientemente se ha explorado el mecanismo por el cual los miocitos uterinos de ratones gestantes resisten la muerte celular apoptótica a pesar del aumento de la actividad de la CASP3 (Jesayuria *et al.*, 2009). Se ha propuesto que existe un mecanismo denominado preacondicionamiento, el cual consiste en que el útero experimente estímulos

de estrés menores durante el desarrollo del embarazo, lo cual le permite adaptarse/prepararse para estímulos de estrés mayores conforme se acerca el parto, lo cual aumenta su capacidad para experimentar estrés del ER, sin un aumento precoz de la respuesta de la UPR, con el fin de prevenir la contractilidad prematura (Ingles *et al.*, 2018). Esto se ha estudiado a través de la aplicación de tratamientos con PBA (50 mg/kg), TM (5 mg/kg) y PBA+TM en conjunto, en donde se ha observado que en los tratamientos conjuntos existe una mayor incidencia de la CASP3 apoptótica, lo cual los autores determinan que se puede observar a través de los niveles de escisión de la proteína PARP [la cual participa en procesos celulares importantes como la recuperación celular tras un daño al DNA (Chaitanya *et al.*, 2010)], sugiriendo así que un mal precondicionamiento o un precondicionamiento atenuado posteriormente expuesto a un estímulo de estrés mayor, tiene como consecuencia una respuesta exagerada hacia el mismo, lo cual a nivel fenotípico resulta en un parto prematuro (Ingles *et al.*, 2018).

### **6.6.2 Cultivos primarios**

Cabe señalar que la regulación de la contractilidad miometrial dependiente del sistema ERS-UPR se ha caracterizado mayormente en ratones, y los datos son todavía limitados en cuanto a un mecanismo similar en los seres humanos. Para los cultivos primarios, se obtuvieron tejidos de mujeres sometidas a parto por cesárea a término, en donde se ha identificado la presencia de  $\alpha$ -actina de músculo liso, de GJA1, de la COX-2 y el OTR (Mosher *et al.*, 2013). Por otro lado, se ha descrito un aumento en los niveles de expresión de genes que codifican a las proteínas GRP78, IRE1 y XBP1s en las muestras provenientes de mujeres en parto activo comparado con las muestras de parto a término sin trabajo de parto, a niveles proteicos sólo GRP78 y XBP1s presentan una diferencia en sus niveles entre muestras, coincidiendo con lo observado a nivel de expresión (Liong *et al.*, 2014). En el caso de IRE1, se sugiere que puede producirse una regulación de la misma a nivel postraducciona.

En otro estudio también se encontró un aumento en la proteína GRP78, en muestras de mujeres en parto a término en comparación con muestras provenientes de mujeres en parto prematuro (Kyathanahalli *et al.*, 2015). Lo que recalca la importancia que tiene la activación de la UPR en el mantenimiento del embarazo.

En el estudio de Liong *et al.*, se analizó el efecto del LPS sobre los marcadores del estrés del RE debido a que se considera que éste se encuentra relacionado estrechamente a la inflamación causada por infección, lo cual es uno de los principales motivos del parto prematuro. El tratamiento con LPS provocó un aumento significativo en la expresión de *GRP78*, *IRE1* y *XBP1s*, así como en la expresión génica y liberación de citocinas proinflamatorias como IL1B, IL6, IL8 y TNF (Liong *et al.*, 2014). Para

confirmar que el estrés del RE es un modulador de la respuesta inflamatoria, se llevó a cabo el silenciamiento de genes de la respuesta al estrés los cuales incluyeron a *GRP78*, *ATF6* e *IRE1*, esto se realizó mediante RNAs pequeños de interferencia (sirRNA's), lo que dio como resultado una disminución en la secreción de citocinas proinflamatorias (Liong *et al.*, 2014). Los resultados de este estudio aportan pruebas de que el estrés del RE y la UPR en el miometrio humano son factores clave en la modulación de los procesos inflamatorios relacionados con el inicio del parto.

Se ha estudiado poco el efecto de la P4 sobre la UPR en ratones gestantes, los cuales se expusieron a tratamientos de P4 (2 mg/d) desde E13 hasta E19, lo que resultó una respuesta al estrés elevada y una mayor activación de la CASP3, así como la disminución de los niveles de GJA1 (Kyathanahalli *et al.*, 2015). Por el contrario, el tratamiento con el RU-486, dio como resultado la disminución de DDIT3, un aumento temprano de los niveles de GRP78, lo cual está relacionado con una resolución del estrés, una rápida eliminación de la CASP3 que tiene como consecuencia el aumento prematuro de la proteína GJA1.

### **6.6.3 Cultivo en línea celular**

Además de los cultivos primarios, se ha utilizado la línea celular hTERT-TM proveniente de células miometriales obtenidas por histerectomía. Estas células han sido infectadas con hTERT, el cual es un vector de expresión que contiene la transcriptasa reversa de la telomerasa humana, que mantiene la longitud de los telómeros y da a las células normales una vida útil ilimitada en cultivo. En estas células se ha detectado la expresión de distintos marcadores de células miometriales como OTR, calponina y ER $\beta$  (Condon *et al.*, 2002). Asimismo, utilizando este modelo se ha informado que los tratamientos con TM activan a la UPR asociada al estrés del RE, lo cual está asociado al aumento de los niveles de distintas proteínas como GRP78, DDIT3, CASP3 y caspasa 7 (CASP7) escindidas y PARP inactiva (Kyathanahalli *et al.*, 2015). Además, se ha sugerido que el sistema ERS-UPR controla la expresión de GJA1 y la contractilidad de estas células, ya que la exposición a la TM a concentraciones altas dio lugar a una disminución de los niveles proteicos de GJA1 (Kyathanahalli *et al.*, 2015).

Se ha observado que los tratamientos con PBA+TM (5 mM y 5  $\mu$ g/mL, respectivamente), disminuyen los niveles de DDIT3, así como los niveles de CASP3 activa y mantiene los niveles de GJA1 similares observados en los controles. Además, se observó en este tratamiento en conjunto la translocación proteica de GJA1 hacia la membrana celular de forma similar a las células control. A nivel fenotípico, mediante un ensayo de contracción de colágeno en 3D, el cual permite la visualización de la contracción del tejido (Zhang *et al.*, 2022), las células fueron tratadas con vehículo, TM (5  $\mu$ g/mL) y PBA (5 mM) de forma individual y/o simultánea; se observó que las células expuestas a PB y TM

demonstraron una mayor capacidad de respuesta contráctil similar a los niveles de control, mientras que en los tratamientos con únicamente TM se observó la pérdida de la respuesta a la contracción con respecto al control (Kyathanahalli *et al.*, 2015).

También se ha descrito que el preacondicionamiento de los miocitos uterinos con concentraciones menores de TM seguido de un tiempo de recuperación de 48 h, causa la disminución de la escisión de la proteína PARP cuando se exponen a una dosis citotóxica de TM (5,0 µg/ml), lo que demuestra la resistencia adquirida a la apoptosis por la activación de CASP3 (Ingles *et al.*, 2018). En este estudio se analizaron también marcadores de la UPR tales como XBP1s, eIF2α, ATF4 y DDIT3, en donde los marcadores asociados a la apoptosis como ATF4 y DDIT3 fueron regulados a la baja a todos los tiempos post recuperación en células preacondicionadas, mientras que el marcador asociado a la supervivencia celular XBP1s fue suprimido en las células preacondicionadas. Dado que la línea celular hTERT-HM no expresó niveles detectables de PR, la acción del PR y la P4 sobre la regulación del ERS en miocito uterino no ha sido determinada (Kyathanahalli *et al.*, 2015).

En las Tablas 1 y 2 se incluye un resumen de la información relacionada con el estudio de la participación de la UPR en el inicio del trabajo de parto en miometrio, en donde se menciona con más detalle los tiempos y concentraciones de los experimentos mencionados.

**Tabla 1. Modelos in vivo para estudiar los eventos asociados al inicio del trabajo de parto en miometrio.**

Modelos de trabajo de parto en miometrio in vivo	Tratamientos		Hallazgos principales	Referencias
Muestras	Dosis/ Concentración	Tiempo		
Ratones CD-1 hembra preñados (6-8 semanas de edad) en el día 9 de gestación.	50 mg /kg de PBA ip dos veces al día	E10-E15	Todos los partos llegaron al término.	Ingles <i>et al.</i> , 2018
	50 mg/kg de PBA ip dos veces al día + 0.2 mg/kg de TM	Tratamiento de PBA en E10-E15 Tratamiento de TM en E16	58% de partos a término	
	0.2 mg/kg de TM	E16	17% de partos a término	

Ratones CD-1 hembra preñados (6-8 semanas de edad) en el día 13 de gestación.	50 mg/kg de PBA ip	E 13	Todos los partos llegaron al término.	Kyathanahalli <i>et al.</i> , 2015
	50 mg/kg de PBA ip	1h antes y 12 h después de la exposición a TM	En los animales expuestos a dosis más altas de TM, la administración de PBA retrasó significativamente el inicio del parto prematuro.	
	0,2 y 1,0 mg/kg de TM			

**Tabla 2. Modelos in vitro para estudiar los eventos asociados al inicio del trabajo de parto en miometrio.**

Modelos de trabajo de parto en miometrio in vitro	Tratamientos		Hallazgos principales	Referencias
Muestras	Dosis/ Concentración	Tiempo		
Línea celular de miometrio uterino inmortalizada con telomerasa humana (hTERT-HM).	0.5–5 µg/ml de TM	6 h, 24 h, 48 h	Se determinó la activación del ERS y la UPR. La exposición prolongada con 2.5 µg/mL por 48 h o 5 µg/mL 6–48 h de TM, resultó en la activación de ERS.	Kyathanahalli <i>et al.</i> , 2015
	5 mM de PBA	48 h	Se observó la velocidad de contracción, la cual fue similar para el vehículo y el PBA.	
	5 µg/ml de TM	1 h	Se obtuvo un fenotipo no contráctil	
	5 µg/ml de TM + 5 mM de PBA	48 h + 1h	Se obtuvo una capacidad de respuesta contráctil similar a	

			los niveles de control.	
	0,1 µg/ml de TM + 5,0 µg/ml de TM	Tratamiento inicial por 24 h + tratamiento secundario después de 0-48 h, de recuperación por 1 h	El preacondicionamiento celular con 0,1 µg / ml de TM se demuestra con la disminución en la escisión de la proteína PARP en comparación con las células no preacondicionadas.	Ingles <i>et al.</i> , 2018
	5,0 µg/ml de TM	1 h		
Células primarias del músculo liso del miometrio aisladas de mujeres embarazadas sometidas a histerectomía por cesárea.	Parto a término sin trabajo de parto	37 semanas de gestación	El miometrio a término ( <i>n</i> = 8) demostró una elevación en la UPR, marcada por un aumento de la expresión de <i>GRP78</i> , <i>IRE1</i> y <i>XBP1s</i> en las muestras provenientes de parto activo.	Liong <i>et al.</i> , 2014
	Parto a término en trabajo de parto activo			
Células primarias del músculo liso del miometrio aisladas de mujeres embarazadas sometidas a histerectomía por cesárea.	Parto prematuro sin trabajo de parto	32-34 semanas de gestación	El miometrio a término ( <i>n</i> = 6) demostró una elevación en la UPR, marcada por un aumento de los niveles de <i>GRP78</i> en comparación con los pacientes prematuros sin trabajo de parto.	Kyathanahalli <i>et al.</i> , 2015
	Parto a término sin trabajo de parto	39-42 semanas de gestación		

## 8. Discusión

El impacto en la salud relacionado con las complicaciones del trabajo de parto continúa inspirando la investigación en la fisiología y fisiopatología uterina. En la actualidad, existe un conjunto de pruebas cada vez mayor que indican que el trabajo de parto implica una compleja red de factores endocrinos y paracrinós en la transformación del miometrio de un estado inactivo a uno contráctil al final de la gestación (Ilicic *et al.*, 2020).

Como se mencionó en el desarrollo del trabajo, las principales hormonas involucradas en la función del miometrio durante el embarazo y el trabajo de parto incluyen a la P4, el E2 y la OT. Sin embargo, su relación con la ERS-UPR no ha sido caracterizada en el miometrio humano. En otros modelos se ha caracterizado el efecto hormonal sobre el estrés del retículo endoplásmico, en donde se observa que los antagonistas del PR inducen la activación de la UPR en células de cáncer de pulmón, lo que sugiere la participación del PR en la regulación del estrés del retículo endoplásmico en esta patología (Diuofa *et al.*, 2014). En el caso del E2, el efecto que tiene sobre el estrés del retículo endoplásmico varía dependiendo del tipo celular, ya que en células de cáncer de esófago induce el estrés del retículo endoplásmico, mientras que en células pancreáticas lo inhibe (Wang *et al.*, 2020, Kooptiwut *et al.*, 2014). La OT induce a la UPR en enterocitos de intestino delgado (Klein *et al.*, 2014).

Tomando en cuenta los antecedentes encontrados en el miometrio, se propone que la P4 podría aumentar los niveles de los marcadores de la UPR para ayudar a favorecer la quiescencia similar a lo que sucede en los modelos con ratones. Mientras que en el caso del E2 y la OT, podrían disminuir los marcadores de la UPR para ayudar a favorecer las contracciones miometriales.

Aunque los modelos en ratones han sido útiles para estudiar el momento del nacimiento debido a que tienen una gestación corta, pueden ser manipulados genéticamente fácilmente y pueden ser estudiados en grandes cantidades (Elovitz *et al.*, 2004), además de compartir los componentes clave del proceso de parto y nacimiento con los humanos, aunque no se pueden ignorar las diferencias fisiológicas que existen entre el embarazo humano y el de los ratones. En primer lugar, mientras que las mujeres suelen tener embarazos únicos (Bezold *et al.*, 2013) dentro de una única cavidad uterina, los ratones suelen tener de 4 a 10 crías por camada (dependiendo de la cepa) (Murray *et al.*, 2010) dentro de dos cuernos uterinos. Esto puede complicar las comparaciones entre especies porque las mujeres con embarazos múltiples tienen un mayor riesgo de parto prematuro (Martin *et al.*, 2017). En segundo lugar, aunque la P4 es necesaria para mantener el embarazo y es producida inicialmente por el cuerpo lúteo tanto en humanos como en ratones, su producción posterior se regula de forma

diferente en las dos especies. En los humanos, la placenta se hace cargo de la producción de P4 después de la séptima u octava semana de gestación, y los niveles de P4 aumentan de forma continua hasta el final del embarazo (Csapo *et al.*, 1972, Cunningham *et al.*, 2010). Al final del embarazo humano, un cambio en la expresión de la isoforma del PR y los aumentos locales en el metabolismo de la P4 (Andersson *et al.*, 2008; Nadeem *et al.*, 2017) dan lugar a la pérdida de la respuesta funcional a la hormona. En ratones, la síntesis y los niveles de P4 disminuyen, mientras que el metabolismo local de la P4 (Mahendroo *et al.*, 1999) aumenta drásticamente en los dos últimos días de la gestación, facilitando el inicio del parto. En tercer lugar, aunque los estrógenos inhiben la quiescencia uterina y promueven la maduración del cuello uterino después de que disminuya la acción de la P4 (al promover la producción de uterotoninas y proteínas asociadas a la contracción), tanto en humanos como en ratones, los estrógenos se regulan de forma diferente en las dos especies. En los humanos, los estrógenos circulantes, derivados del ovario y la placenta, son elevados durante toda la gestación. En los ratones, los estrógenos son sintetizados por el ovario a niveles bajos en la primera mitad del embarazo y luego aumentan notablemente en la última mitad de la gestación (Ronald *et al.*, 2018).

Por lo tanto, no se pueden comparar fácilmente los estudios con ratones y utilizar sus resultados para mejorar la capacidad de predecir y prevenir el parto prematuro en mujeres, por lo que se propone el estudio experimental de la regulación de las hormonas sexuales sobre el estrés del RE, en donde se seleccione un modelo más semejante al miometrio humano para replicar el estrés que experimentan los miocitos uterinos humanos durante el trabajo de parto, así como el estudio de las hormonas sobre la UPR.

## **9. Conclusión**

La información recopilada en este trabajo indica que la P4 es responsable del mantenimiento del embarazo al promover la quiescencia del miometrio. Por otro lado, el aumento de los niveles locales de estrógenos y oxitocina hacia el final del embarazo inducen el fenotipo contráctil del miometrio y, por lo tanto, promueve el trabajo de parto. Asimismo, se estableció que el estrés del retículo endoplásmico

promueve la quiescencia del miometrio y, por lo tanto, inhibe la activación del trabajo de parto. Sin embargo, cuando existe un estrés exacerbado también se promueve el trabajo de parto. Hasta el momento, no existe evidencia de la asociación entre las hormonas P4, E2 y OT y el estrés de retículo endoplásmico en miometrio humano, por lo que es fundamental realizar estudios experimentales que investiguen esta asociación.

## **10. Perspectivas**

Para abordar de una mejor manera la regulación hormonal de la respuesta al estrés del retículo endoplásmico en miometrio humano, es necesario llevar a cabo trabajos experimentales. Debido a que la mayoría de los estudios están enfocados al estrés del retículo endoplásmico y la UPR o la acción hormonal independientemente en miometrio humano.

## 11. Referencias

- Adams, C. J., Kopp, M. C., Larburu, N., Nowak, P. R., & Ali, M. (2019). Structure and Molecular Mechanism of ER Stress Signaling by the Unfolded Protein Response Signal Activator IRE1. *Frontiers in molecular biosciences*, 6, 11.
- Amini, P., Michniuk, D., Kuo, K., Yi, L., Skomorovska-Prokvolit, Y., Peters, G. A., Tan, H., Wang, J., Malemud, C. J., & Mesiano, S. (2016). Human Parturition Involves Phosphorylation of Progesterone Receptor-A at Serine-345 in Myometrial Cells. *Endocrinology*, 157(11), 4434–4445.
- Anamthathmakula, P., Kyathanahalli, C., Ingles, J., Hassan, S. S., Condon, J. C., & Jeyasuria, P. (2019). Estrogen receptor alpha isoform ERdelta7 in myometrium modulates uterine quiescence during pregnancy. *EBioMedicine*, 39, 520–530.
- Arrowsmith, S., & Wray, S. (2014). Oxytocin: its mechanism of action and receptor signalling in the myometrium. *Journal of neuroendocrinology*, 26(6), 356–369.
- Berriault, D. R., & Werstuck, G. H. (2013). Detection and quantification of endoplasmic reticulum stress in living cells using the fluorescent compound, Thioflavin T. *Biochimica et biophysica acta*, 1833(10), 2293–2301.
- Bernstein, K., Vink, J. Y., Fu, X. W., Wakita, H., Danielsson, J., Wapner, R., & Gallos, G. (2014). Calcium-activated chloride channels anoctamin 1 and 2 promote murine uterine smooth muscle contractility. *American journal of obstetrics and gynecology*, 211(6), 688.e1–688.e10.
- Bhatia, P., & Chhabra, S. (2018). Physiological and anatomical changes of pregnancy: Implications for anaesthesia. *Indian journal of anaesthesia*, 62(9), 651–657.
- Boroditsky, R. S., Reyes, F. I., Winter, J. S., & Faiman, C. (1978). Maternal serum estrogen and progesterone concentrations preceding normal labor. *Obstetrics and gynecology*, 51(6), 686–691.
- Bukau, B., Weissman, J., & Horwich, A. (2006). Molecular chaperones and protein quality control. *Cell*, 125(3), 443–451.
- Chai, S. Y., Smith, R., Fitter, J. T., Mitchell, C., Pan, X., Ilicic, M., Maiti, K., Zakar, T., & Madsen, G. (2014). Increased progesterone receptor A expression in labouring human myometrium is associated with decreased promoter occupancy by the histone demethylase JARID1A. *Molecular human reproduction*, 20(5), 442–453.
- Chai, S. Y., Smith, R., Zakar, T., Mitchell, C., & Madsen, G. (2012). Term myometrium is characterized by increased activating epigenetic modifications at the progesterone receptor-A promoter. *Molecular human reproduction*, 18(8), 401–409.
- Chaitanya, G. V., Steven, A. J., & Babu, P. P. (2010). PARP-1 cleavage fragments: signatures of cell-death proteases in neurodegeneration. *Cell communication and signaling : CCS*, 8, 31.
- Challis J. R. (1980). Endocrinology of parturition. *Mead Johnson Symposium on Perinatal and Developmental Medicine*, (15), 8–15.
- Challis JRG (2000). Mechanism of parturition and preterm labor. *Obstetrical & gynecological survey*, 55(10), 650–660.

- Chan, Y. W., van den Berg, H. A., Moore, J. D., Quenby, S., & Blanks, A. M. (2014). Assessment of myometrial transcriptome changes associated with spontaneous human labour by high-throughput RNA-seq. *Experimental physiology*, 99(3), 510–524.
- Condon, J., Yin, S., Mayhew, B., Word, R. A., Wright, W. E., Shay, J. W., & Rainey, W. E. (2002). Telomerase immortalization of human myometrial cells. *Biology of reproduction*, 67(2), 506–514.
- De Hertogh, R., Thomas, K., Bietlot, Y., Vanderheyden, I., & Ferin, J. (1975). Plasma levels of unconjugated estrone, estradiol and estriol and of HCS throughout pregnancy in normal women. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 40(1), 93–101.
- Elaine N. Marieb. (2008). *Anatomía y fisiología humana*. Madrid, España: Pearson Education.
- Filipovich, Y., Klein, J., Zhou, Y., & Hirsch, E. (2016). Maternal and fetal roles in bacterially induced preterm labor in the mouse. *American journal of obstetrics and gynecology*, 214(3), 386.e1–386.e3869.
- Fuchs, A., Fuchs, F., Husslein, P., Soloff, M., & Fernstrom, M. (1982). *Oxytocin receptors and human parturition: a dual role for oxytocin in the initiation of labor*. *Science*, 215(4538), 1396–1398.
- Guha, P., Kaptan, E., Gade, P., Kalvakolanu, D. V., & Ahmed, H. (2017). Tunicamycin induced endoplasmic reticulum stress promotes apoptosis of prostate cancer cells by activating mTORC1. *Oncotarget*, 8(40), 68191–68207.
- Guzel, E., Arlier, S., Guzeloglu-Kayisli, O., Tabak, M. S., Ekiz, T., Semerci, N., Larsen, K., Schatz, F., Lockwood, C. J., & Kayisli, U. A. (2017). Endoplasmic Reticulum Stress and Homeostasis in Reproductive Physiology and Pathology. *International journal of molecular sciences*, 18(4), 792.
- Hall, J. M., & McDonnell, D. P. (1999). The estrogen receptor beta-isoform (ERbeta) of the human estrogen receptor modulates ERalpha transcriptional activity and is a key regulator of the cellular response to estrogens and antiestrogens. *Endocrinology*, 140(12), 5566–5578.
- Hall, J. M., Couse, J. F., & Korach, K. S. (2001). The multifaceted mechanisms of estradiol and estrogen receptor signaling. *The Journal of biological chemistry*, 276(40), 36869–36872.
- Hirsch, E., & Muhle, R. (2002). Intrauterine bacterial inoculation induces labor in the mouse by mechanisms other than progesterone withdrawal. *Biology of reproduction*, 67(4), 1337–1341.
- <https://www.who.int/es> (2018). *Nacimientos prematuros*. Recuperado el 13 de mayo de 2020 de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/preterm-birth>.
- Ilicic, M., Butler, T., Zakar, T., & Paul, J. W. (2017). The expression of genes involved in myometrial contractility changes during ex situ culture of pregnant human uterine smooth muscle tissue. *Journal of smooth muscle research = Nihon Heikatsukin Gakkai kikanishi*, 53(0), 73–89.
- Ilicic, M., Zakar, T., & Paul, J. W. (2020). The Regulation of Uterine Function During Parturition: An Update and Recent Advances. *Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif.)*, 27(1), 3–28.
- Ingles, J., Simpson, A., Kyathanahalli, C., Anamthathmakula, P., Hassan, S., Jeyasuria, P., & Condon, J. C. (2018). Preconditioning the uterine unfolded protein response maintains non-apoptotic Caspase 3-dependent quiescence during pregnancy. *Cell death & disease*, 9(10), 933.
- Kawakami, T., Yoshimi, M., Kadota, Y., Inoue, M., Sato, M., & Suzuki, S. (2014). Prolonged endoplasmic reticulum stress alters placental morphology and causes low birth weight. *Toxicology and applied pharmacology*, 275(2), 134–144.

- Ke, W., Chen, C., Luo, H., Tang, J., Zhang, Y., Gao, W., Yang, X., Tian, Z., Chang, Q., & Liang, Z. (2016). Histone Deacetylase 1 Regulates the Expression of Progesterone Receptor A During Human Parturition by Occupying the Progesterone Receptor A Promoter. *Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif.)*, 23(7), 955–964.
- Kim, S. H., MacIntyre, D. A., Firmino Da Silva, M., Blanks, A. M., Lee, Y. S., Thornton, S., Bennett, P. R., & Terzidou, V. (2015). Oxytocin activates NF- $\kappa$ B-mediated inflammatory pathways in human gestational tissues. *Molecular and cellular endocrinology*, 403, 64–77.
- Kim, S. H., Riaposova, L., Ahmed, H., Pohl, O., Chollet, A., Gotteland, J. P., Hanyaloglu, A., Bennett, P. R., & Terzidou, V. (2019). Oxytocin Receptor Antagonists, Atosiban and Nolasiban, Inhibit Prostaglandin F<sub>2 $\alpha$</sub> -induced Contractions and Inflammatory Responses in Human Myometrium. *Scientific reports*, 9(1), 5792.
- Kozutsumi, Y., Segal, M., Normington, K., Gething, M. J., & Sambrook, J. (1988). The presence of malfolded proteins in the endoplasmic reticulum signals the induction of glucose-regulated proteins. *Nature*, 332(6163), 462–464.
- Kuperman, T., Gavriel, M., Gotlib, R., Zhang, Y., Jaffa, A., Elad, D., & Grisaru, D. (2020). Tissue-engineered multi-cellular models of the uterine wall. *Biomechanics and modeling in mechanobiology*, 19(5), 1629–1639.
- Kyathanahalli, C., Organ, K., Moreci, R. S., Anamthathmakula, P., Hassan, S. S., Caritis, S. N., Jeyasuria, P., & Condon, J. C. (2015). Uterine endoplasmic reticulum stress-unfolded protein response regulation of gestational length is caspase-3 and -7-dependent. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(45), 14090–14095.
- Lai, P. F., Georgiou, E. X., Tribe, R. M., & Johnson, M. R. (2020). The impact of progesterone and RU-486 on classic pro-labour proteins & contractility in human myometrial tissues during 24-hour exposure to tension & interleukin-1 $\beta$ . *Molecular and cellular endocrinology*, 500, 110633.
- Lee, Y., Sooranna, S. R., Terzidou, V., Christian, M., Brosens, J., Huhtinen, K., Poutanen, M., Barton, G., Johnson, M. R., & Bennett, P. R. (2012). Interactions between inflammatory signals and the progesterone receptor in regulating gene expression in pregnant human uterine myocytes. *Journal of cellular and molecular medicine*, 16(10), 2487–2503.
- Lévy F. (2016). Neuroendocrine control of maternal behavior in non-human and human mammals. *Annales d'endocrinologie*, 77(2), 114–125.
- Liong, S., & Lappas, M. (2014). Endoplasmic reticulum stress is increased after spontaneous labor in human fetal membranes and myometrium where it regulates the expression of prolabor mediators. *Biology of reproduction*, 91(3), 70.
- Loutfy H. Madkour, Chapter 12 - Endoplasmic reticulum stress-induced cell death mechanism, Editor(s): Loutfy H. Madkour, Reactive Oxygen Species (ROS), Nanoparticles, and Endoplasmic Reticulum (ER) Stress-Induced Cell Death Mechanisms, Academic Press, 2020, Pages 299-342.
- Madsen, G., Zakar, T., Ku, C. Y., Sanborn, B. M., Smith, R., & Mesiano, S. (2004). Prostaglandins differentially modulate progesterone receptor-A and -B expression in human myometrial cells: evidence for prostaglandin-induced functional progesterone withdrawal. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 89(2), 1010–1013.

- Maiti, K., Paul, J. W., Read, M., Chan, E. C., Riley, S. C., Nahar, P., & Smith, R. (2011). G-1-activated membrane estrogen receptors mediate increased contractility of the human myometrium. *Endocrinology*, *152*(6), 2448–2455.
- Makieva, S., Hutchinson, L. J., Rajagopal, S. P., Rinaldi, S. F., Brown, P., Saunders, P. T., & Norman, J. E. (2016). Androgen-Induced Relaxation of Uterine Myocytes Is Mediated by Blockade of Both Ca<sup>(2+)</sup> Flux and MLC Phosphorylation. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, *101*(3), 1055–1065.
- McEvoy, A., & Tetrokalashvili, M. (2020). Physiology, Pregnancy Contractions. Retrieved 11 August 2020, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532927/?report=printable>
- Mesiano, S., & Welsh, T. N. (2007). Steroid hormone control of myometrial contractility and parturition. *Seminars in cell & developmental biology*, *18*(3), 321–331.
- Mesiano, S., Chan, E. C., Fitter, J. T., Kwek, K., Yeo, G., & Smith, R. (2002). Progesterone withdrawal and estrogen activation in human parturition are coordinated by progesterone receptor A expression in the myometrium. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, *87*(6), 2924–2930.
- Migale, R., MacIntyre, D. A., Cacciatore, S., Lee, Y. S., Hagberg, H., Herbert, B. R., Johnson, M. R., Peebles, D., Waddington, S. N., & Bennett, P. R. (2016). Modeling hormonal and inflammatory contributions to preterm and term labor using uterine temporal transcriptomics. *BMC medicine*, *14*(1), 86.
- Miyoshi, H., Boyle, M. B., MacKay, L. B., & Garfield, R. E. (1996). Voltage-clamp studies of gap junctions between uterine muscle cells during term and preterm labor. *Biophysical journal*, *71*(3), 1324–1334.
- Molina P.E. (2013). Aparato reproductor femenino. Fisiología médica. Un enfoque por aparatos y sistemas. McGraw-Hill.
- Monga, M., Ku, C. Y., Dodge, K., & Sanborn, B. M. (1996). Oxytocin-stimulated responses in a pregnant human immortalized myometrial cell line. *Biology of reproduction*, *55*(2), 427–432.
- Mosher, A. A., Rainey, K. J., Bolstad, S. S., Lye, S. J., Mitchell, B. F., Olson, D. M., Wood, S. L., & Slater, D. M. (2013). Development and validation of primary human myometrial cell culture models to study pregnancy and labour. *BMC pregnancy and childbirth*, *13 Suppl 1*(Suppl 1), S7.
- Muhle, R. A., Pavlidis, P., Grundy, W. N., & Hirsch, E. (2001). A high-throughput study of gene expression in preterm labor with a subtractive microarray approach. *American journal of obstetrics and gynecology*, *185*(3), 716–724.
- Myers, K. M., & Elad, D. (2017). Biomechanics of the human uterus. Wiley interdisciplinary reviews. Systems biology and medicine, *9*(5), 10.1002/wsbm.1388.
- Nadeem, L., Shynlova, O., Mesiano, S., & Lye, S. (2017). Progesterone Via its Type-A Receptor Promotes Myometrial Gap Junction Coupling. *Scientific reports*, *7*(1), 13357.
- Nilsson, S., Mäkelä, S., Treuter, E., Tujague, M., Thomsen, J., Andersson, G., Enmark, E., Pettersson, K., Warner, M., & Gustafsson, J. A. (2001). Mechanisms of estrogen action. *Physiological reviews*, *81*(4), 1535–1565.

- Noble, K., Zhang, J., & Wray, S. (2006). Lipid rafts, the sarcoplasmic reticulum and uterine calcium signalling: an integrated approach. *The Journal of physiology*, 570(Pt 1), 29–35.
- Otsuki, Y., Yamaji, K., Fujita, M., Takagi, T., & Tanizawa, O. (1983). Serial plasma oxytocin levels during pregnancy and labor. *Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica*, 62(1), 15–18.
- Paech, K., Webb, P., Kuiper, G. G., Nilsson, S., Gustafsson, J., Kushner, P. J., & Scanlan, T. S. (1997). Differential ligand activation of estrogen receptors ER $\alpha$  and ER $\beta$  at AP1 sites. *Science (New York, N.Y.)*, 277(5331), 1508–1510.
- Paul, J., Maiti, K., Read, M., Hure, A., Smith, J., Chan, E. C., & Smith, R. (2011). Phasic phosphorylation of caldesmon and ERK 1/2 during contractions in human myometrium. *PloS one*, 6(6), e21542.
- Peters, G. A., Yi, L., Skomorovska-Prokvolit, Y., Patel, B., Amini, P., Tan, H., & Mesiano, S. (2017). Inflammatory Stimuli Increase Progesterone Receptor-A Stability and Transrepressive Activity in Myometrial Cells. *Endocrinology*, 158(1), 158–169.
- Pierzyński, P., Pohl, O., Marchand, L., Mackens, S., Lorch, U., Gotteland, J. P., & Blockeel, C. (2021). The mechanism of action of oxytocin antagonist nolasiban in ART in healthy female volunteers. *Reproductive biomedicine online*, 43(2), 184–192.
- Pehlivanoglu, B., Bayrak, S., & Doğan, M. (2013). A close look at the contraction and relaxation of the myometrium; the role of calcium. *Journal of the Turkish German Gynecological Association*, 14(4), 230–234.
- Pont, J. N., McArdle, C. A., & López Bernal, A. (2012). Oxytocin-stimulated NFAT transcriptional activation in human myometrial cells. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)*, 26(10), 1743–1756.
- Porter, K. R., Claude, A., & Fullam, E. F. (1945). A STUDY OF TISSUE CULTURE CELLS BY ELECTRON MICROSCOPY: METHODS AND PRELIMINARY OBSERVATIONS. *The Journal of experimental medicine*, 81(3), 233–246.
- Ramondt, J., Verhoeff, A., Garfield, R. E., & Wallenburg, H. C. (1994). Effects of estrogen treatment and inhibition of prostanoid synthesis on myometrial activity and gap junction formation in the oophorectomized ewe. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*, 54(1), 63–69.
- Revankar, C. M., Cimino, D. F., Sklar, L. A., Arterburn, J. B., & Prossnitz, E. R. (2005). A transmembrane intracellular estrogen receptor mediates rapid cell signaling. *Science (New York, N.Y.)*, 307(5715), 1625–1630.
- Ron, D., & Walter, P. (2007). Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 8(7), 519–529.
- Saavedra J, & Domínguez, (2014). Texto Atlas de Histología. Biología celular y tisular, 2e. McGraw-Hill.
- Sheldon, R. E., Mashayamombe, C., Shi, S. Q., Garfield, R. E., Shmygol, A., Blanks, A. M., & van den Berg, H. A. (2014). Alterations in gap junction connexin43/connexin45 ratio mediate a transition from quiescence to excitation in a mathematical model of the myometrium. *Journal of the Royal Society, Interface*, 11(101), 20140726.

- Siiteri, P. K., Febres, F., Clemens, L. E., Chang, R. J., Gondos, B., & Stites, D. (1977). Progesterone and maintenance of pregnancy: is progesterone nature's immunosuppressant? *Annals of the New York Academy of Sciences*, 286, 384–397.
- Sivarajasingam, S. P., Imami, N., & Johnson, M. R. (2016). Myometrial cytokines and their role in the onset of labour. *The Journal of endocrinology*, 231(3), R101–R119.
- Smith, R., Smith, J. I., Shen, X., Engel, P. J., Bowman, M. E., McGrath, S. A., Bisits, A. M., McElduff, P., Giles, W. B., & Smith, D. W. (2009). Patterns of plasma corticotropin-releasing hormone, progesterone, estradiol, and estriol change and the onset of human labor. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 94(6), 2066–2074.
- Suresh, A., Subedi, K., Kyathanahalli, C., Jeyasuria, P., & Condon, J. C. (2013). Uterine endoplasmic reticulum stress and its unfolded protein response may regulate caspase 3 activation in the pregnant mouse uterus. *PloS one*, 8(9), e75152.
- Tan, H., Yi, L., Rote, N. S., Hurd, W. W., & Mesiano, S. (2012). Progesterone receptor-A and -B have opposite effects on proinflammatory gene expression in human myometrial cells: implications for progesterone actions in human pregnancy and parturition. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 97(5), E719–E730.
- Usta, I. M., Khalil, A., & Nassar, A. H. (2011). Oxytocin antagonists for the management of preterm birth: a review. *American journal of perinatology*, 28(6), 449–460.
- Welsh, T., Johnson, M., Yi, L., Tan, H., Rahman, R., Merlino, A., Zakar, T., & Mesiano, S. (2012). Estrogen receptor (ER) expression and function in the pregnant human myometrium: estradiol via ER $\alpha$  activates ERK1/2 signaling in term myometrium. *The Journal of endocrinology*, 212(2), 227–238.
- Welsh, T., Johnson, M., Yi, L., Tan, H., Rahman, R., Merlino, A., Zakar, T., & Mesiano, S. (2012). Estrogen receptor (ER) expression and function in the pregnant human myometrium: estradiol via ER $\alpha$  activates ERK1/2 signaling in term myometrium. *The Journal of endocrinology*, 212(2), 227–238.
- Wilson, R., & Mesiano, S. (2020). Progesterone signaling in myometrial cells: role in human pregnancy and parturition, *Current Opinion in Physiology*, Volume 13, p.117-122.
- Wray, S., & Prendergast, C. (2019). The Myometrium: From Excitation to Contractions and Labour. *Advances in experimental medicine and biology*, 1124, 233–263.
- Wu, J. J., Geimonen, E., & Andersen, J. (2000). Increased expression of estrogen receptor beta in human uterine smooth muscle at term. *European journal of endocrinology*, 142(1), 92–99.
- Zhang, Q., Wang, P., Fang, X., Lin, F., Fang, J., & Xiong, C. (2022). Collagen gel contraction assays: From modelling wound healing to quantifying cellular interactions with three-dimensional extracellular matrices. *European journal of cell biology*, 101(3), 151253.