

11217  
137

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA



DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION  
UNIDAD DE INVESTIGACION MEDICA EN MEDICINA REPRODUCTIVA  
HOSPITAL DE GINECOOBSTETRICIA "LUIS CASTELAZO AYALA"  
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

CORRELACION ENTRE LAS CONCENTRACIONES DE ESTRADIOL SERICO  
MATERNO Y FETAL Y LA CONCENTRACION PLACENTARIA DE RECEPTORES  
DE ESTROGENOS EN EMBARAZOS DE TERMINO Y SIN COMPLICACIONES.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
ESPECIALIDAD EN GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA

PRESENTA

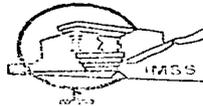
PATRICIA RODRIGUEZ ROMERO

TUTOR: M. en C. JUAN CARLOS MARTINEZ CHEQUER



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D. F.



20013

DIVISION DE EDUCACION  
E INVESTIGACION MEDICA  
HQB. "LUIS CASTELAZO AYALA"  
IMSS

1



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).

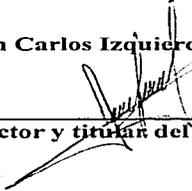
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

SUBDIRECCIÓN DE INVESTIGACION  
DIVISION DE CALIDAD DE POSGRADO  
FACULTAD DE MEDICINA  
U. N. A. N.

**HOSPITAL DE GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA  
" LUIS CASTELAZO AYALA "**

**CORRELACION ENTRE LAS CONCENTRACIONES DE ESTRADIOL SERICO  
MATERNO Y FETAL Y LA CONCENTRACION PLACENTARIA DE  
RECEPTORES DE ESTROGENOS EN EMBARAZOS DE TERMINO Y SIN  
COMPLICACIONES.**

**Dr. Juan Carlos Izquierdo Puente**

  
\_\_\_\_\_  
Director y titular del curso

**Dr. Gilberto Tena Alavez**

  
\_\_\_\_\_  
Jefe de la División de Educación e Investigación Médica

**Dr. Juan Carlos Martínez Chéquer**

  
\_\_\_\_\_  
Tutor e investigador médico adscrito a la Unidad de  
Investigación Médica en Medicina Reproductiva

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## **INDICE**

<b>Resumen</b>	<b>1</b>
<b>Introducción</b>	<b>2</b>
<b>Antecedentes</b>	<b>3</b>
<b>Planteamiento del problema</b>	<b>6</b>
<b>Hipótesis</b>	<b>7</b>
<b>Objetivo</b>	<b>8</b>
<b>Material y métodos</b>	<b>9</b>
<b>Resultados</b>	<b>12</b>
<b>Discusión</b>	<b>13</b>
<b>Conclusiones</b>	<b>15</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>16</b>
<b>Tablas</b>	<b>19</b>
<b>Anexos</b>	<b>20</b>

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## RESUMEN

Rodríguez RP, Martínez-Chéquer JC. Correlación entre las concentraciones de estradiol sérico materno y fetal y las concentraciones placentarias de receptores de estrógenos en embarazos de término y sin complicaciones

**OBJETIVO:** Correlacionar las concentraciones de estradiol sérico materno y/o fetal con las concentraciones de receptores de estrógenos placentarios de mujeres que cursaron con embarazos de término y sin complicaciones.

**MATERIAL Y METODOS:** El estudio se realizó en la Unidad de Investigación Médica en Medicina Reproductiva y el Servicio de Tococirugía del Hospital de Gineco-obstetricia "Luis Castelazo Ayala" del IMSS, durante el período comprendido entre Marzo de 2000 y Febrero de 2001. Se seleccionaron 18 pacientes que cursaban con embarazos de término y sin complicaciones a las que se les interrumpió el embarazo mediante operación cesárea por el antecedente de dos cesáreas previas. El estradiol sérico materno y fetal se midieron bajo la técnica de radioinmunoanálisis. Para la medición de receptores de estrógenos en placenta, se uso el método de radioligando y carbón cubierto con dextrán. Para correlacionar las concentraciones séricas de estradiol materno y fetal con las concentraciones placentarias de estrógenos se utilizó la prueba no paramétrica de correlación de rangos de Spearman. Las concentraciones de estradiol sérico materno y fetal se analizaron con la prueba no paramétrica de comparación entre dos grupos no relacionados (U de Mann-Whitney).

**RESULTADOS:** La concentración de receptores de estrógenos obtenida en las placentas fue de  $2.43 \pm .53$  fmol/gr. proteína, en tanto que las concentraciones de estradiol sérico materno fetal fueron de  $7267.5 \pm 447.4$  ng/ml, y las de estradiol fetal  $7277 \pm 268.4$  ng/ml.

**CONCLUSIONES:** No se encontró correlación entre la concentración de receptores de estrógenos en la placenta y las concentraciones de estradiol sérico materno ni fetal. Al comparar las concentraciones séricas de estradiol entre la madre y el feto no existió ninguna diferencia estadísticamente significativa entre ellas.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## INTRODUCCION

Los estrógenos intervienen en la regulación del crecimiento, diferenciación y funcionamiento de diversos tejidos blanco tanto dentro como fuera del aparato reproductor. Los efectos ocasionados por los estrógenos son posibles a través de las acciones que ejercen sobre sus receptores. Durante el embarazo se incrementan las concentraciones séricas de estradiol como consecuencia de la producción que realiza la placenta a través del estímulo hormonal proveniente del feto. Se desconoce la concentración de receptores de estrógenos en las placentas provenientes de mujeres con embarazos de término y sin complicaciones, así como la correlación entre dichos receptores y las concentraciones séricas de estradiol materno y fetal, por lo que el objetivo del presente estudio fue correlacionar la concentración de receptores de estrógenos en placentas con las de estradiol sérico materno y fetal en embarazos de término y sin complicaciones. Con tal motivo se desarrolló un estudio observacional, prospectivo, transversal y descriptivo. Se estudiaron 18 pacientes a quienes se les interrumpió el embarazo mediante operación cesárea por el antecedente de 2 cesáreas previas. El estradiol sérico materno y fetal se midió bajo la técnica de radioinmunoanálisis. Para la medición de receptores de estrógenos en placenta, se usó el método de radioligando y carbón cubierto con dextrán.

La concentración de receptores de estrógenos obtenida en las placentas fue de  $2.43 \pm 0.53$  fmol/gr. proteína, en tanto que las concentraciones de estradiol sérico materno fueron  $7267.5 \pm 447.4$  ng/ml y las de estradiol fetal  $7277 \pm 268.4$  ng/ml. En conclusión no se encontró correlación entre la concentración de receptores de estrógenos en la placenta y las concentraciones de estradiol sérico materno ni fetal. Al comparar las concentraciones séricas de estradiol entre la madre y el feto no existió ninguna diferencia estadísticamente significativa como tampoco existió una correlación entre ellas.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## ANTECEDENTES

Los procesos fisiológicos y del desarrollo son promovidos y regidos por los esteroides (1), dentro de ellos se incluyen a los estrógenos que son hormonas lipofílicas de las que existen tres tipos en el organismo humano: el 17 $\beta$  estradiol (el más potente), la estrona y el estriol (2). Son sintetizados principalmente en los ovarios, tejido adiposo, piel, tejido óseo, músculo esquelético, foliculo piloso y la placenta. En esta última, la producción de estrógenos se lleva a cabo a partir de la transformación placentaria de la hormona dehidroepiandrosterona sulfato (DHEA-S) que es producida por las glándulas suprarrenales del feto, en androstenediona y posteriormente en estrógenos(3). Durante el embarazo los estrógenos comienzan a elevar sus concentraciones desde la implantación del embrión hasta el nacimiento, ignorándose aún el significado biológico para la madre y el feto de dicho incremento (4). Actúan en el hígado, hueso, cerebro y vasos sanguíneos, intervienen en el metabolismo de las lipoproteínas y en la regulación de genes vasodilatadores (PGI<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub>), factores de crecimiento (VEGF, TGF $\alpha$ , IGF-II), receptores para IGF-1 y EGF e incremento de la respuesta inmune humoral y participan importantemente en el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios (5-7). Los estrógenos entran a la célula por difusión pasiva, cruzan la membrana celular y se dirigen al citoplasma o núcleo para unirse con su receptor (8) ya que al ser estructuras poco complicadas no pueden codificar o decodificar programas genéticos. Por el contrario, sus receptores son adaptadores moleculares con suficiente complejidad química que los hace capaces de interpretarlos al unirse con especificidad y alta afinidad a ellos en las células blanco (9). En los receptores de estrógenos se encuentran cinco dominios: A/B, C, D, E y F (10). La región más constante y con mayor actividad en toda la familia es la C ya que une al receptor con el DNA. Entre la región C y D se encuentra el mecanismo de señalamiento de localización nuclear. La región D es como una bisagra entre la C y la E. La región E es relativamente larga y cuenta con varias funciones siendo la más importante la de unir al estrógeno, las otras son: transactivación dependiente del ligando, interfase de dimerización, interacción con la proteína de choque térmico-90 y una señal de localización nuclear. La región F no aparece en todos los receptores de la familia y su función es desconocida. La región A/B tiene un factor de transactivación independiente del estrógeno y su longitud y secuencia varía entre los diversos receptores. La estabilidad de la región C está dada por dos dedos de zinc y los aminoácidos que determinan la especificidad al DNA

se encuentran en la P-box de la región C terminal del primer dedo de zinc (11). La transactivación se lleva a través de un factor independiente del ligando (AF-1) localizado en el dominio A/B. Todos ellos sin la presencia del estrógeno permanecen inactivos. Cuando el receptor no tiene ligando se encuentra en conjunto con proteínas de choque térmico (Hsp90, Hsp70 y Hsp56) (12) que actúan como chaperonas, manteniendo al receptor en una forma inactiva a la transcripción permitiendo su conformación competente y su actividad sobre la unión al DNA. Una vez que se une el estrógeno se liberan las proteínas de choque térmico y en forma de homodímeros se unen a específicas secuencias del DNA llamadas elementos de respuesta a estrógenos (ERE), localizados en las regiones promotoras o "enhancers" de los genes blanco (13). Los ERE son dos secuencias palindrómicas separadas por tres nucleótidos que dan inicio a la expresión de diferentes genes, todos ellos *regulados por los estrógenos*. Una vez que el homodímero se une al ERE, se inicia directa o indirectamente la transcripción.

En síntesis, la actividad biológica de los estrógenos está en relación directa con su biodisponibilidad plasmática, fijación a las proteínas plasmáticas, metabolismo, tasa de depuración tisular, afinidad de fijación al receptor de estrógenos, capacidad de translocación del receptor al núcleo, duración de la retención por el receptor en el núcleo y regeneración del receptor citosólico. Los receptores de estrógenos ofrecen una afinidad mucho mayor -millones de veces- que la de las proteínas del plasma. Por ello las concentraciones plasmáticas -aún siendo muy escasas- pueden dar efectos biológicos importantes (14). La vía activada del complejo hormona-receptor es la responsable de la regulación transcripcional de muchos genes blanco, tanto en tejidos reproductivos como en no reproductivos y el gen del receptor de estrógeno tiene más de 140 Kb y cuenta con 8 exones (15).

Usando un modelo en primates se demostró que la placenta es un tejido blanco a los estrógenos a través de sus receptores, que regulan la diferenciación funcional del sincitiotrofoblasto (16) y coordinan el desarrollo de la placenta y los sistemas endocrinos fundamentales para el mantenimiento del neonato (3). La presencia de receptores de estrógenos en la placenta ha sido demostrada en el citosol y el núcleo (17-19) mediante la utilización de diferentes técnicas incluyendo la de radioligando. Pese a que es bien conocido que la dinámica hormonal involucra tanto a la hormona como a su propio receptor, no ha sido posible demostrar una correlación entre la presencia del estradiol sérico y la presencia del receptor de estrógenos en la placenta (20), sin embargo, no se ha

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

realizado ningún estudio en mujeres embarazadas sino solamente en primates y tampoco se ha incluido la posible participación del estradiol fetal en dicha dinámica, por lo que el objetivo de este trabajo fue correlacionar los niveles séricos del estradiol materno y fetal con la concentración de los receptores de estrógenos en las placentas provenientes de mujeres embarazadas que cursaron gestaciones de término y sin complicaciones.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Es conocido que las hormonas inducen la formación de sus receptores para posteriormente acoplarse a ellos y como consecuencia expresar moléculas bioactivas responsables de diferentes acciones biológicas. En el embarazo dicha relación permite el desarrollo normal del trofoblasto y clínicamente el desarrollo de un embarazo de evolución normal. Sin embargo, se desconoce si la presencia de los receptores de estrógenos en la placenta obedece a la producción de estradiol materno (efecto endocrino) o a la producción de estradiol fetal (efecto paracrino), por lo que se genera la siguiente cuestión: ¿Existe correlación entre las concentraciones de estradiol en el suero sanguíneo materno y/o fetal y la concentración de receptores de estrógenos en la placenta de mujeres que cursan con embarazos de término y sin complicaciones?

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## **HIPOTESIS**

**Las concentraciones séricas de estradiol materno y fetal guardan correlación con las concentraciones de receptores de estrógenos placentarios provenientes de mujeres con embarazos de término.**

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## **OBJETIVO**

**Correlacionar las concentraciones de estradiol sérico materno y/o fetal con las concentraciones de receptores de estrógenos placentarios provenientes de mujeres que cursaron con embarazos de término y sin complicaciones.**

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## **MATERIAL Y METODOS**

El estudio se realizó en la Unidad de Investigación Médica en Medicina Reproductiva y el Servicio de Tococirugía del Hospital de Gineco-obstetricia "Luis Castelazo Ayala" del IMSS, durante el periodo comprendido entre Marzo de 2000 y Febrero de 2001.

El protocolo de estudio fue autorizado por el Comité Local de Investigación del Hospital.

Se cuantificaron las concentraciones de estradiol sérico materno y fetal al igual que la concentración de receptores de estrógenos en las placentas provenientes de 18 pacientes que cursaron embarazos de término y sin complicaciones.

### **Criterios de inclusión**

1. Embarazos sin alteraciones
2. Edad comprendida entre 18 y 30 años
3. Embarazos mayores a 36 semanas
4. Interrupción del embarazo por cesárea

### **Criterios de no inclusión**

1. Embarazos asociados a cualquier complicación obstétrica
2. Embarazo múltiple
3. Enfermedades crónicas y/o tratamientos farmacológicos

### **Criterios de eliminación**

1. Corioamnionitis
2. Acretismo placentario
3. Desprendimiento prematuro de placenta normoinserta

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## **Crterios Operativos**

### Embarazo sin alteraciones

Se consideró embarazo sin alteraciones a los que cursaron con ausencia de entidades patológicas o complicaciones obstétricas asociadas al mismo.

### Receptores de estrógenos placentarios

Se consideró como receptor de estrógeno placentario a la molécula peptídica obtenida del resultado de la centrifugación de las células del trofoblasto y que medida bajo la técnica de radioligando, expresa las concentraciones de estradiol en femtomoles por miligramo de proteína.

## **Metodología**

Se seleccionaron pacientes a las que se les realizó operación cesárea por antecedente de 2 o más cesáreas previas. Con la paciente en quirófano y previo al inicio de la operación cesárea, se le tomaron 10 ml de sangre de la vena antecubital del brazo contralateral al que contenía la venoclisis. Posterior al nacimiento del bebe, se obtuvieron 10 ml de sangre proveniente del fragmento de cordón umbilical adosado a la placenta. Ambas muestras fueron centrifugadas y el suero obtenido se congeló a -20° C, hasta la determinación del estradiol mediante radioinmunoanálisis utilizando estuches comerciales Cis Bio International. La especificidad del análisis fue del 100%, la sensibilidad del 95% y los coeficientes de variación del 3.5 y 4% (21).

Inmediatamente después del alumbramiento se tomó una muestra de 200 g de tejido placentario y se colocó en solución fisiológica a 4° C, posteriormente se guardó la muestra con nitrógeno líquido a -70°C hasta la determinación de los receptores de estrógenos (22).

### Obtención de receptores de estrógenos

A 4° C se disecó el tejido de la placa basal separando los vasos del trofoblasto. El tejido obtenido se fragmentó finamente y se le agregó amortiguador TED [(Tris-hidroxi-metil-amino-metanol-HCl 10mM, etilen-diamino-tetracetato sódico (EDTA) 1mM, ditiotreitól (DTT) 1mM] y Molibdato de Na 10mM, a un pH de 8. Se homogenizó en un politrón (Tissumizer-Tekmar), aplicándose 4 pulsos de 20 segundos con reposo de 5 segundos, a 300 rpm. El homogenizado pasó a una ultracentrifuga refrigerada Beckman L8-80 a 100

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

000 g por 30 minutos. Del sobrenadante se tomaron alícuotas para la determinación de receptores de estrógenos.

#### Medición de receptores

Bajo la técnica de radioligando y carbón cubierto con dextrán usando estradiol-3H: (2,3,6,7H) actividad específica (85-110 Ci/nmol de Amersham International) a concentraciones de .25-1 nM; la unión inespecífica se determinó adicionando 200 veces la concentración de Dietil-etilbestrol (DES) de Sigma Chemical Company.

La consistencia de la medición fue realizada a través de un coeficiente de correlación intraclase (variación intraobservador) el cuál fue igual a .97 ( $p < .001$ ). Para la validez (variación interobservador) se usó el coeficiente kappa que resultó igual a .85.

#### **Análisis Estadístico**

El tamaño de la muestra se calculó de acuerdo a una fórmula de diferencia de medias (23), realizándose previamente un estudio piloto (24) para el conocimiento de las concentraciones normales de los receptores de estrógenos placentarios.

Los resultados se expresaron como mediana (Md)  $\pm$  desviación intercuartílica. Con la finalidad de correlacionar las concentraciones de estradiol materno y fetal con la concentración de receptores de estrógenos placentarios se utilizó la prueba no paramétrica de correlación de rangos de Spearman. Las concentraciones de estradiol sérico materno y fetal se analizaron mediante la prueba no paramétrica de comparación entre 2 grupos no relacionados (U de Mann-Whitney).

Se utilizaron pruebas estadísticas no paramétricas debido a que los resultados se distribuyeron de una forma anormal.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## RESULTADOS

### Características generales

La edad, peso, paridad y semanas de gestación de las pacientes estudiadas se describen en la tabla I.

### Concentraciones placentarias de los receptores de estrógenos

La concentración de los receptores de estrógenos de las placentas provenientes de embarazos de término y sin complicaciones se aprecian en la tabla I.

### Concentraciones séricas de estradiol materno y fetal

Las concentraciones séricas de estradiol materno y fetal se aprecian en la tabla I.

### Correlación entre las concentraciones séricas de estradiol materno o fetal y la concentración placentaria de receptores de estrógenos

Se encontró una correlación negativa igual a  $-0.134$  entre la concentración sérica de estradiol materno y la concentración placentaria de receptores de estrógenos en las mujeres que cursaron embarazos de término y sin complicaciones, en tanto que se apreció una correlación negativa igual a  $-0.055$  entre la concentración sérica de estradiol fetal y la concentración placentaria de receptores de estrógenos. En ambos casos las diferencias estadísticas no fueron significativas.

### Comparación entre las concentraciones séricas de estradiol materno y fetal

Al compararse las concentraciones séricas de estradiol entre la madre y el feto se apreció que fueron muy similares. No se obtuvo ninguna diferencia estadísticamente significativa entre ellas.

### Correlación entre las concentraciones séricas de estradiol materno y fetal

Se apreció una correlación positiva entre las concentraciones de estradiol materno y fetal igual a  $0.340$ , que no fue estadísticamente significativa.

## DISCUSION

En este trabajo se confirmó la presencia de los receptores de estrógenos en las placentas de mujeres embarazadas tal y como ha sido descrito a través de la utilización de otras técnicas de laboratorio (25). Debido a la controversia que existe acerca de la presencia de los receptores de estrógenos en la placenta (26), se utilizó una técnica cuantitativa denominada radioligando y carbón cubierto con dextrán que a diferencia de las técnicas semicuantitativas como la inmunohistoquímica o el Northern blot, no se modifica como consecuencia de la pureza del tejido, el volumen del mismo, ni por la forma como se describen los resultados.

Los hallazgos de este estudio resultaron similares a lo referido por Albrecht y Pepe (20) cuando estudiaron primates, ya que tampoco fue posible establecer en las mujeres embarazadas una correlación estadísticamente significativa entre las concentraciones séricas de estradiol materno y la concentración placentaria de los receptores de estrógenos (efecto endocrino) lo cuál confirma que la presencia del estradiol independientemente de sus concentraciones es motivo suficiente para que se lleve a cabo una interacción con su receptor (14,20). Por otra parte, cuando comparamos las concentraciones de estradiol fetal con respecto a la concentración de receptores placentarios de estrógenos (efecto paracrino) tampoco encontramos ninguna correlación estadísticamente significativa lo que probablemente traduce que son eventos independientes, situación que no había sido evaluada con anterioridad. Finalmente, cuando comparamos las concentraciones de estradiol materno con respecto a la de estradiol fetal, apreciamos concentraciones muy parecidas y no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre ambas. De igual manera no se encontró una correlación significativa desde el punto de vista estadístico entre ambas, lo que confirma que pese a que la placenta es la fuente productora de estradiol, la producción de esta hormona es independiente entre la madre y el feto, lo que ha sido señalado con anterioridad. El punto de cuestionamiento en este trabajo es saber el significado biológico de las cantidades similares de estradiol tanto maternas como fetales y cuál y cómo es la participación del estradiol sérico circulante tanto en el torrente sanguíneo de la madre como en el del feto, sobre la presencia de los receptores placentarios de estrógenos, ya que necesariamente las hormonas, incluyendo al estradiol deben mantener una dinámica con sus receptores para poder surtir efectos biológicos. En conclusión, en este estudio

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**pudimos identificar la presencia de receptores de estrógenos en las placentas provenientes de mujeres que cursaron embarazos de término y sin complicaciones, más no así, una importante correlación entre el estradiol circulante de la madre o del feto con los receptores placentarios de estrógenos, lo que confirma que más que la concentración de estradiol circulante, lo más importante es su presencia para que sus acciones biológicas contribuyan con el desarrollo del embarazo.**

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## CONCLUSIONES

- 1.- La concentración sérica de estradiol materna es similar a la fetal en los embarazos de término y sin complicaciones.
- 2.- No existe correlación entre la concentración sérica de estradiol materno y la de receptores estrogénicos en placentas provenientes de embarazos de término y sin complicaciones.
- 3.- No existe correlación entre la concentración sérica de estradiol fetal y la de receptores estrogénicos en placentas provenientes de embarazos de término y sin complicaciones.
- 4.- No existe correlación entre las concentraciones séricas de estradiol materno y fetales en los embarazos de término y sin complicaciones.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## BIBLIOGRAFIA

1. Yamamoto KR. Steroid receptor regulated transcription of specific genes. *Ann Rev Genet* 1985;19:209-52.
2. Speroff L, Glass RH, Kase NG. Biosíntesis, metabolismo y mecanismo de acción de las hormonas. En: Speroff L, Glass RH, Kase NG, ed. *Endocrinología Ginecológica e Infertilidad*. España: Toray; 1986:1-38.
3. Pepe GJ, Albrecht DE. Actions of placental and fetal adrenal steroid hormones in primate pregnancy. *Endocrine Rev* 1995;16:608-48.
4. Pepe GJ, Albrecht ED. Regulation of functional differentiation of the placental villous syncytio trophoblast by estrogen during primate pregnancy. *Steroids* 1999;64:624-7.
5. Ciocca DR, Roig LM. Estrogen receptors in human non-target tissues: biological and clinical implications. *Endocrine Rev* 1995;16:35-62.
6. Dickson RB, Lippman ME. Growth factors in breast cancer. *Endocrine Rev* 1995;16: 559-89.
7. Banerjee SK, Sakar DK, Weston AP, Alok De, Campbell DR. Over expression of VEGF and its receptor during the development of estrogen-induced. *Carcinogenesis* 1997;18:1155-61.
8. Tsai MJ, O'Malley BW. Molecular mechanisms of action of steroid thyroid receptor superfamily. *Annu Rev Biochem* 1994;63:451-86.
9. Jensen EV, DeSombre ER. Mechanism of action of the female sex hormones. *Annu Rev Biochem* 1972;41:203-30.
10. Laudet V, Hanni C, Coll J, Catzeflis F, Stehelin D. Evolution of the nuclear receptor superfamily. *EMBO J* 1992;11: 1003-13.
11. Mader S, Kumar V, Verneuil H, Chambon P. Three aminoacids of the estrogen receptor are essential to its ability to distinguish an estrogen. *Nature* 1989;338:271-4.
12. Pratt WB. The role of heat shock proteins in regulating the function, folding and trafficking of the glucocorticoid receptor. *J Biol Chem* 1993;268:21455-8.
13. Gronemeyer H. Control of transcription activation by steroid hormone receptors. *FASEB J* 1992;6:2524-9.

14. Mattick S, Glenn K, de Haan G, Shapiro J. Analysis of ligand dependence and hormone response element synergy. *J Steroid Biochem Molec Biol* 1997;60:285-94.
15. Ponglikitmongkol M, Green S, Chambon P. Genomic organization of the human estrogen receptor gene. *EMBO J* 1988;7:3385-8.
16. Cronier L, Guibourdenche J, Niger C, Malassine A. Oestradiol stimulates morphological and functional differentiation of human cytotrophoblast. *Placenta* 1999;20:669-76.
17. Patricio B. Récepteurs estrogéniques et progestéroniques dans le placenta humain. *Rev Fr Gynécol Obstét* 1994; 89(3):145-7.
18. Billiar R, Pepe G, Albrecht E. Immunohistochemical identification of the estrogen receptors in the nuclei of cultured human placental syncytiotrophoblast. *Placenta* 1997;18:365-70.
19. Li J, Lu H, Hou Y. The studies of the estrogen and progesterone receptor levels in the placenta, fetal membrane, uteroplacental bed and myometrium in patients with prolonged pregnancy. *Chung Hua Fu Chan Ko Tsa Chih* 1995;30:536-8.
20. Albrecht ED, Pepe GJ. Central integrative role of oestrogen in modulating the communication between the placenta and fetus that results in primate placental development. *Placenta* 1999;20:129-39.
21. Estr Ctria (manual). Cis Bio International. France 1996:8-14.
22. González-Sánchez JL, Calzada SL, Galindo VA, Salazar EL. Receptores de estradiol en la neoplasia intraepitelial cervical y cancer cervicouterino. *Ginecol Obstet Mex* 1996; 64:438-42.
23. Mejía-Aranguré JM, Fajardo GA, Gómez DA, Cuevas-Uróstegui ML, Hernández-Hernández DM, Garduño EJ, et al. El tamaño de muestra: un enfoque práctico en la investigación pediátrica. *Boi Med Hosp Infant Mex* 1995;52:381-91.
24. Kelsey LJ, Whittermore SA, Evans SA, Thompson DW. Methods of sampling and estimation of simple size. En Kelsey LJ, Whittermore SA, Evans SA, Thompson DW, eds. *Methods in Observational Epidemiology*. Unites States of América: Oxford University Press, 1996:311-339.

TESIS CON  
 FALLA DE ORIGEN

25. Rivera J, Cano A. Oestrogen and progesterone receptors in human term placenta. *Placenta* 1989;10:579-88.
26. Rossmannith WG, Wolfahrt S, Ecker A, Eberhardt E. The demonstration of progesterone but not of estrogen receptors in the developing human placenta. *Horm Metab Res* 1997;29:604-10.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Tabla I

**Características generales de las pacientes**

		(n=18)
Edad *		26 ± 7
Peso °		72.5 ± 20.2
Edad gestacional *		39.5 ± 0.2
	Paridad	
	primíparas	6
	múltiparas	12
Receptores (placenta)		2.43 ± .53
	Estradiol (sérico)	
materno		7267 ± 447
fetal		7277 ± 268

\* Md ± desviación intercuartilica; °media ± d.e.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## ANEXO I

### Técnica de radioligando y carbón cubierto con dextrán

#### A) Reactivos

##### Solución TED (TRIS - EDTA - DTT)

- 1 - Poner en un vaso de precipitado 655.5 mg de TRIS (PM 121.1 x10), más 279.2mg de EDTA (Etilen-diaminotetracetato), más 77.1 mg de DTT (Dithiothreitol) y 1 210 mg de molibdato de Na. Estas cantidades son para preparar 500 ml de buffer.
- 2.- Al vaso se le agrega 200ml de H<sub>2</sub>O bidestilada.
- 3.- Se agita con un agitador magnético hasta disolver la mezcla.
- 4.- Estandarizar el potenciómetro (medidor de pH), usando un estándar de 4 y otro de 7.
- 5.- Medir el pH de la solución y llevarlo a 7.4. Ajustándose con HCl ó NaOH.
- 6.- Pasar a matriz aforado de 500ml, enjuagando el vaso de precipitado 3 veces con agua bidestilada. Se termina aforando a 500ml.
- 7.- Guardar en frasco ámbar y en refrigeración.

##### Dextrán

- 1.- Pesar 100mg grenetina, trisma base 121mg, dextrán 025mg. Todo es para 100ml de preparación.
- 2.- En baño María disolver la grenetina con H<sub>2</sub>O bidestilada, por otra parte se mezcla tris y dextrán usando un agitador magnético.
- 3.- Se mezclan ambas soluciones y se lleva a un pH de 8, usando NaOH.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

4.- Se dejó de agitar hasta su completa homogenización, se colocan en tubos cónicos de 10 ml y se congela hasta su uso.

#### B) Procedimiento

##### Citosol

- 1.- Limpiar la placenta sobre una plancha de hielo, separando vasos, trofoblasto y amnios.
- 2.- Pesar 1gr de tejido no vascular.
- 3.- Tejido + 2 ml (relación: 2 ml/1 gr tejido) TED/Molibdato Na.
- 4.- Homogenizar en un politrón a 4°C, a pulsos de 25-5-25 seg.(homogenizar-descanso-homogenizar).
- 5.- El material se coloca en tubos de policarbonato para rotor T1-75.
- 6.- Usar ultracentrifuga Beckman a 100 000g por 30 minutos.
- 7.- Preparar tubos con trazador con H<sup>3</sup>, evaporar etanol con nitrógeno en campana de aspiración. Colocados permanentemente en hielo.
- 8.- Separar el sobrenadante del "pellet", el cuál se guarda, y agregar carbón activado a una razón de 5mg/2ml.
- 9.- Agitar en vórtex, colocar en tubos de policarbonato (2) y centrifugar en frío (4°C) a 3000g / 5 minutos.
- 10.- Con suma precaución separar el sobrenadante con pipetas Pasteur sin arrastrar el carbón localizado en el pellet, mismo que se desecha.
- 11.- Con micropipeta automática pasar 200µl para cada tubo, agitar y meter en cámara de refrigeración a 4°C durante 18horas (incubación del trazador-tejido).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

- 12.- El sobrante del sobrenadante se guarda para medición de proteínas.
- 13.- Al día siguiente tomar dextrán (10ml) y agregar 25mg de carbón activado. Agitar en vórtex continuamente, evitando la sedimentación.
- 14.- Sacar los tubos (trazador-tejido), retirar el hielo y agregar a cada tubo 200 $\mu$ l del carbón cubierto con dextrán.
- 15.- Luego de agitarlos en vórtex se colocan en camisas de centrifuga.
- 16.- Centrifugar en frío (4°C) por 10 minutos.
- 17.- El sobrenadante se pasa a los frascos viales respetando el botón de carbón.
- 18.- Agregar 5ml de líquido de centelleo, agitar, colocar en frascos viales del contador de centelleo líquido.
- 19.- Medición de centelleo en un contador de emisiones beta.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## **ANEXO 2**

### **Tablas y gráficas**

**Tabla I.- Se aprecian las características clínicas de las pacientes embarazadas como la edad, peso, edad gestacional y paridad, al igual que las concentraciones séricas de estradiol materno, fetal y la concentración placentaria de los receptores de estrógenos.**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**