

CONTRIBUCIONES ORIGINALES

PARTICIPACION DE LA 17 α -HIDROXIPROGESTERONA EN EL MECANISMO DE LA OVULACION *

VICENTE CORTÉS-GALLEGOS ‡

Progesterona (P) y 17 α -hidroxiprogesterona (17 OH-P) fueron analizadas en plasma diariamente y a través del ciclo menstrual en mujeres con ciclos ovulatorios y ciclos anovulatorios, pero sin ninguna otra alteración endocrina. Los niveles plasmáticos de 17 OH-P en 65 muestras obtenidas durante la fase folicular de los ciclos ovulatorios fueron de 1.057 ± 0.91 ng./ml., consistentemente más altos que los de P, que fueron de 0.492 ± 0.51 ng./ml., con una relación 17 OH-P/P de 2.16. Por el contrario, los niveles plasmáticos de 17 OH-P obtenidos durante la misma fase de los ciclos anovulatorios fueron de 0.288 ± 0.075 ng./ml. La diferencia entre los ciclos ovulatorios y anovulatorios fue estadísticamente significativa ($p < 0.001$). Los valores de P fueron de 0.156 ± 0.063 ng./ml. y la relación 17 OH-P/P fue de 2.76. En la segunda parte de los ciclos ovulatorios, la relación 17 OH-P/P fue de 0.46, en tanto que en los ciclos anovulatorios durante la misma fase la relación fue de 2.39. Los valores

* Trabajo auspiciado en parte por la Ford Foundation.

‡ Departamento de Investigación Científica, Centro Médico Nacional, Instituto Mexicano del Seguro Social.

totales de ambos esteroides y los valores individuales de 17 OH-P fueron diferentes en ciclos ovulatorios versus ciclos anovulatorios ($p < 0.001$). Estos resultados muestran que la 17 OH-P es un indicador de desarrollo folicular y que se podría usar como un índice para predecir la ocurrencia de subsecuente ovulación.

Varios investigadores han tratado de desarrollar un método sencillo y reproducible para diagnosticar la ovulación. Hallazgos clínicos y de laboratorio, tales como la temperatura basal e histología del endometrio, se emplean en la actualidad con tal fin. También han sido utilizadas determinaciones seriadas de pregnandiol, citología vaginal y muestras de moco endocervical durante el ciclo menstrual, para detectar la ovulación.¹⁻⁸ Estos cambios, tanto bioquímicos como morfológicos, son de gran ayuda, pero ninguno de ellos es útil para predecir la ovulación.

La facilidad de contar con métodos sensibles para analizar diariamente las concentraciones de hormonas en plasma,⁹⁻¹⁶ ha dado oportunidad para estudiar algunos aspectos fisiológicos en relación con el mecanismo de la ovulación. En el presente trabajo se cuantificaron progesterona (P) y 17 α -hidroxiprogesterona (17 OH-P), esta última precursora en la biosíntesis de andrógenos y estrógenos, en la sangre periférica de mujeres con ciclos ovulatorios y en mujeres con ciclos anovulatorios, con el objeto de comparar la producción hormonal de dos situaciones opuestas.

Material y métodos

Diez mujeres fueron seleccionadas de la Clínica de Esterilidad y Fertilidad del Hospital de la Mujer, S.S.A. Ninguna de ellas había usado alguna medida anticon-

ceptiva; sus edades variaron de 20 a 36 años. Las pacientes fueron instruidas para registrar su temperatura basal (G.T.B.) y ésta se combinó con toma de biopsia de endometrio para valorar la presencia o ausencia de ovulación.

Se realizó la medición del yodo proteico y de la excreción de 17-cetosteroides urinarios en este grupo de pacientes, para complementar el estudio endocrino general de las mismas (cuadro 1).

Valoradas las pacientes en la forma anterior por un plazo no menor de cinco meses, se las dividió en dos grupos: grupo I, mujeres con ciclos ovulatorios (longitud del ciclo menstrual: 29.2 ± 2.8 días, N = 5) y grupo II, mujeres con ciclos anovulatorios (longitud del ciclo menstrual: 35.4 ± 5.3 días, N = 5). Todas ellas continuaron registrando su G.T.B.; se obtuvo biopsia de endometrio a los 24 ± 2 días durante el ciclo en el cual se obtuvo sangre periférica para la cuantificación de P y 17 OH-P. Estas muestras fueron tomadas diariamente a través del ciclo menstrual entre las 7 y 9 a.m., utilizando jeringa heparinizada. El plasma fue separado y congelado a 20° C. para su futuro análisis.

Análisis de esteroides en plasma

P y 17 OH-P fueron cuantificadas modificando el método de Yoshimi y colaboradores¹⁷ y de Stroott y colaboradores.¹⁸ Progesterona-1,2-H³ con actividad específica de 33.5 Ci/mM y 17 α -hidroxipro-

gesterona-1,2-H³ con actividad específica de 49.2 Ci/mM se agregaron como estándares internos para la recuperación real del esteroide en cantidades de 1 000 cpm (0.011 ng.) y 1 500 cpm (0.057 ng.) respectivamente. La extracción de P y 17 OH-P fue llevada a cabo con éter y los extractos lavados con agua destilada; el éter se evaporó con una corriente de nitrógeno y el residuo fue transferido a una placa de Silicagel * previamente lavada. P fue separada usando los sistemas hexano/acetato de etilo (5:2) y benceno/acetato de etilo (3:2). La 17 OH-P, 20 α OH-P y 20 β OH-P permanecieron en la misma área, la cual fue eluida y llevada a papel de cromatografía usando ciclohexano/ácido acético al 90 por ciento, obteniéndose un Rf de 0.16, 0.26, 0.32, 0.40, 0.49 para 17 OH-P, testosterona, androstenediona, 20 α OH-P y 20 β OH-P, respectivamente. La proteína usada para el "análisis de saturación" o "competencia de esteroides en su unión a proteína" se obtuvo del plasma de mujeres sanas embarazadas en el tercer trimestre de la gestación; el plasma fue tratado con carbón Norit-A 50 mg./ml. para remover los esteroides endógenos; posteriormente fue saturado con el esteroide isotópicamente marcado en estudio. La fracción libre y la unida a la proteína se separaron usando una columna de *Sephadex G-25 medium*. Los límites de sensibilidad del método fueron: para P, de 0.053 \pm 0.014 ng./ml. D.E. y para 17 OH-P, de 0.046 \pm 0.012 ng./ml. El coeficiente de variación tuvo un margen de 13.4 por ciento para la concentración más baja y de 6.8 por ciento para las concentraciones más altas.

* Brickmann plates, Merck, A.G., Darmstadt.

Cuadro 1 Estudios clínicos (ciclo menstrual)

Ovulatorio					
Paciente	Edad	G.T.B.	Endometrio		
D.K.C.	36	Bifásica	—		
P.K.C.	28	Bifásica	Secretor		
R.C.V.	25	Bifásica	Secretor		
F.F.C.	20	Bifásica	Secretor		
S.D.T.	36	Bifásica	Secretor		
Anovulatorio					
Paciente	Edad	G.T.B.	Endometrio	Yodo proteico *	17cs †
M.B.M.	22	Mono-fásica	Proliferativo	5.7	12.3
T.P.T.	26	Mono-fásica	Proliferativo	7.3	10.9
C.T.P.	30	Mono-fásica	Proliferativo	6.8	13.1
A.L.L.	36	Mono-fásica	Proliferativo	7.5	11.8
H.H.B.	35	Mono-fásica	Proliferativo	6.3	14.5

* Margen normal: 4.0-8.0 μ g./100 ml.

† Margen normal: 8.0-15.0 mg./24 hs.

Resultados

Debido a la variación en la longitud de los ciclos, los resultados fueron analizados de acuerdo con el inicio de la menstruación. A pesar de que los valores obtenidos en el mismo día del ciclo mostraron una variación individual muy amplia, se sumaron en los dos grupos para obtener una cifra representativa de la concentración diaria de las dos hormonas. Los valores plasmáticos obtenidos estuvieron por lo menos dos desviaciones estándar por encima de la media del blanco del

Cuadro 2 Valores plasmáticos (ng./ml.)

Ciclo	Fase proliferativa		Fase secretora	
	Ovulatorio	Anovulatorio	Ovulatorio	Anovulatorio
Progesterona				
Margen:	0.099 - 2.025	0.095 - 0.313	0.114 - 11.9	0.088 - 0.304
Promedio:	0.492	0.156	5.7	0.135
D.E.:	0.516	0.063	4.9	0.035
17α-OH-progesterona				
Margen:	0.126 - 3.874	0.093 - 0.645	0.312 - 3.40	0.095 - 0.711
Promedio:	1.057	0.288	1.262	0.292
D.E.:	0.913	0.075	0.963	0.075

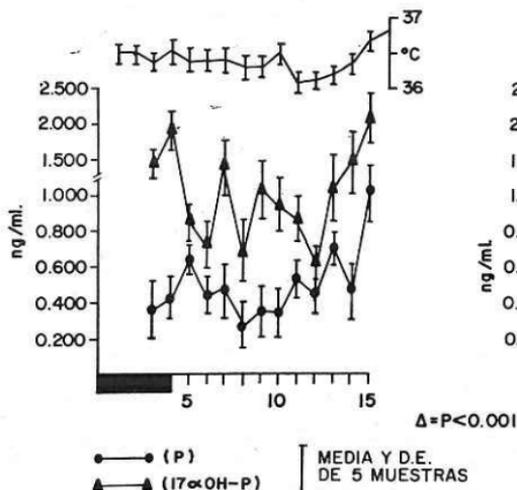
método. Para los ciclos ovulatorios, se incluyeron los valores obtenidos desde el inicio de la menstruación hasta 72 horas del ascenso franco de la G.T.B.; en el grupo de ciclos anovulatorios, por comparación se incluyó el mismo número de valores, ya que no ocurre tal ascenso en la G.T.B. Los valores extremos de P en la primera parte del ciclo menstrual ovulatorio fueron de 0.099 a 2.015 ng./ml., y en los ciclos anovulatorios de 0.095 a 0.313 ng./ml. Los límites para 17 OH-P en la primera parte del ciclo menstrual ovulatorio fueron de 0.126 a 3.874 ng./ml., en tanto que en los ciclos anovulatorios fueron de 0.093 a 0.645 ng./ml. La producción media de 17 OH-P durante la fase folicular de los ciclos ovulatorios fue de 1.057 ± 0.913 ng./ml. y la de P fue de 0.493 ± 0.31 ng./ml., con una relación de 17 OH-P/P de 2.16. Por el contrario, la media de producción de 17 OH-P en la primera fase del ciclo menstrual anovulatorio fue de 0.288 ± 0.075 ng./ml. Los valores de P fueron de 0.156 ± 0.063 ng./ml. y la relación 17 OH-P/P obtenida durante la fase folicular de los ciclos ovulatorios fue significa-

tivamente más elevada que la encontrada en los ciclos anovulatorios ($p < 0.001$). Los valores totales de las dos hormonas, así como los valores individuales de 17 OH-P, fueron diferentes en los ciclos ovulatorios *versus* los encontrados en los ciclos anovulatorios ($p < 0.001$), denotando una diferente producción esteroide en estas dos situaciones. El cuadro 2 muestra los valores de P y 17 OH-P en las dos partes del ciclo menstrual, tanto de los ciclos ovulatorios como en los anovulatorios, en tanto que la figura 1 da idea de la variación día a día de las concentraciones de esas hormonas, señalando la fase folicular o de desarrollo previa a la ovulación.

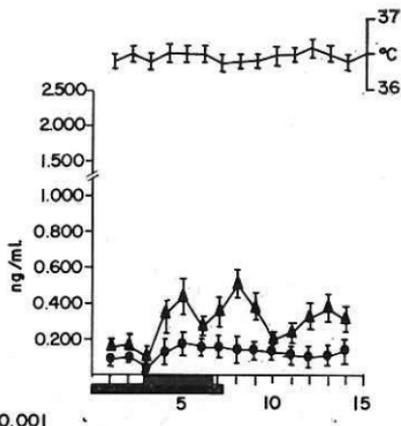
Discusión

Las observaciones previas durante el ciclo menstrual en el humano comunicadas en 1970¹⁹ están de acuerdo con las de Strott y colaboradores²⁰ en relación a la producción de P y 17 OH-P. En el presente estudio, la cuantificación simultánea de P y 17 OH-P plasmáticas durante el ciclo ovulatorio y el anovulatorio, indican pro-

OVULATORIO (5)



ANOVLUTORIO (5)



ducción hormonal por dos estructuras diferentes: por un lado un grupo con desarrollo folicular progresivo hacia la formación de cuerpo lúteo y por el otro un grupo sin desarrollo folicular progresivo que no culmina en cuerpo lúteo sino probablemente en folículos atrésicos. Por supuesto, solamente el aislamiento y la identificación de grupos celulares ováricos podría indicarnos el origen principal de un esteroide en particular. *In vitro* e *in vivo* se ha demostrado el potencial de síntesis de estructuras ováricas antes de la formación del cuerpo lúteo, estimulando el ovario poliquístico de la rata con hormona luteinizante.²¹⁻²³ En dichos estudios, una elevación máxima de 17 OH-P fue observada antes de una elevación significativa de P y antes de ocurrida la ovulación, observaciones que demuestran un fenómeno progresivo y de producción cíclica de 17 OH-P durante el desarrollo folicular. Desde el punto de vista morfo-

1 Niveles plasmáticos de progesterona y 17- α -hidroxiprogesterona (primera parte del ciclo menstrual).

lógico y bioquímico, el presente estudio demuestra el potencial de producción por compartimientos del ovario diferentes del cuerpo lúteo. La relación 17 OH-P/P encontrada en la fase folicular (2.16) y en la secretora (0.46) en los ciclos ovulatorios, contrasta marcadamente con la relación observada en los ciclos anovulatorios durante la fase folicular (2.76) y secretora (2.39). Esto podría sugerir que el estroma ovárico sea el sitio de producción de la 17 OH-P, ya que esta hormona no presentó una elevación y una caída durante los ciclos anovulatorios como la observada en el ciclo ovulatorio. La vía metabólica para el tejido intersticial o estroma pudiera ser: colesterol, pregnenolona, 17 OH-pregnenolona, 17 OH-progesterona, en vez de colesterol, pregnenolona, progesterona, 17 OH-progesterona, suge-

rido previamente por Savard y colaboradores.²⁴ El presente estudio muestra claramente la producción hormonal cíclica en el ciclo ovulatorio *versus* la producción no cíclica en los anovulatorios, sugiriendo que en estos últimos el desarrollo folicular no se lleva a cabo, ya que la ovulación no ocurrió en esos casos. A pesar de la gran variabilidad de día a día en las concentraciones de estas hormonas, respecto a la producción de 17 OH-P, no hay sobreposición en los valores aquí presentados; su patrón de producción se correlaciona con el de estradiol plasmático comunicado por Baird y Guevara.²⁵ La pregunta sería si este último esteroide se podría utilizar también para interpretar desarrollo folicular, motivo por el cual el estradiol se ha venido determinando en ambos tipos de ciclo menstrual.

El estradiol plasmático pudiera ser utilizado como índice de desarrollo folicular progresivo y quizá las concentraciones de 17 OH-P en la primera parte del ciclo menstrual, para predecir la ocurrencia de subsecuente ovulación.

El significado clínico de la presente observación es claro y empieza a ser usado para seleccionar mejores dosis de sustancias que inducen la ovulación y puede acercarnos a entender algunos de los factores fisiológicos relacionados en la reproducción humana.

El autor desea agradecer a la señorita Norma Bedolla Tovar su colaboración en el análisis de esteroides y al grupo de médicos de la Clínica de Esterilidad y Fertilidad del Hospital de la Mujer, S.S.A., por su gentileza para seleccionar algunas de las pacientes para este trabajo.

REFERENCIAS

- Farris, E. J.: *A test for determining the time of ovulation and conception in women*. Amer. J. Obstet. Gynec. 52:14, 1946.
- Cohen, M. R.; Stein, I. F., y Kaye, B. M.: Spinnbarkeit: *A characteristic of cervical mucus; significance at ovulation time*. Fert. Steril. 3:201, 1952.
- Goldhar, A.; Grody, M. H., y Masters, W. A.: *The vaginal smear as an ovulatory index*. Fert. & Steril. 3:376, 1952.
- Astwood, E. B., y Jones, G. E. S.: *A simple method for the determination of pregnanediol in human urine*. J. Biol. Chem. 137:397, 1941.
- Goldzieher, J. W., y Nakamura, Y.: *A clinical method for the determination of urinary pregnanediol and pregnanetriol*. Acta Endocr. 41:371, 1962.
- Noyes, R. W., y Haman, J. O.: *Accuracy of endometrial dating; correlation of endometrial dating with basal body temperature and menses*. Fert. & Steril. 4:504, 1953.
- Cohen, M. R., y Hankin, H.: *Detecting ovulation*. Fert. & Steril. 11:497, 1960.
- Pommerenke, W. T., y Viergiver, E.: *Relationship between cervical mucus and basal temperature cycles*. Amer. J. Obstet. Gynec. 54:676, 1947.
- Yallow, R. S., y Berson, S. A.: *Immunoassay of endogenous plasma insulin in man*. J. Clin. Invest. 39:1173, 1960.
- Murphy, B. E. P.: *Application of the property of protein-binding to the assay of minute quantities of hormones and other substances*. Nature 201:679, 1964.
- Murphy, B. E. P.: *Some studies of the protein-binding of steroids and their application to the routine micro and ultramicro measurement of various steroids in body fluids by competitive protein binding radioassay*. J. Clin. Endocr. 27:973, 1967.
- Murphy, B. E. P.: *Binding of testosterone and estradiol in plasma (human, beef, frog)*. Canad. J. Biochem. 46:299, 1968.
- Horton, R.; Kato, T., y Sherins, R.: *A rapid method for the estimation of testosterone in male plasma*. Steroids 10:245, 1967.
- Neill, J. D.; Johansson, E. D. B.; Datta, J. K., y Knobil, E.: *Relationship between the plasma levels of luteinizing hormone and progesterone during the normal menstrual cycle*. J. Clin. Endocr. 27:1167, 1967.
- Abraham, G. E.: *Solid-phase radioimmunoassay of estradiol 17 β* . J. Clin. Endocr. 29:866, 1969.
- Cortés-Gallegos, V., y Bedolla-Tovar, N.: *A new index for predicting ovulation in the human*. Resumen 277, 53a. Reunión de la Endocrine Society, 1971.
- Yoshimi, T., y Lipsett, M. B.: *The measurement of plasma progesterone*. Steroids 11:527, 1968.
- Strott, C. A., y Lipsett, M. B.: *Measurement of 17 hydroxyprogesterone in human plasma*. J. Clin. Endocr. 28:1426, 1968.
- Cortés-Gallegos, V., y Martínez-Manautou, J.: *Niveles periféricos de progesterona y 17 α*

- bidroxiprogesterona, durante el ciclo menstrual.* Mem. X Reunión Anual, Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología. 1970, p. 321.
20. Strott, C. A.; Yoshimi, T.; Ross, G. T., y Lipsett, M. B.: *Ovarian physiology: relationship between plasma LH and steroidogenesis by the follicle and corpus luteum; effect of HCG.* J. Clin. Endocr. 29:1157, 1969.
 21. Cortés-Gallegos, V.; Weisz, J., y Lloyd, C. W.: *Effect of LH on progesterone (P) and 4-pregnen-20 α -ol-3-one (20 α OHP) production by non-luteal ovarian tissue.* Excerpta Med. Third International Congress of Endocrinology 208:83, 1968.
 22. Cortés-Gallegos, V., y Lloyd, C. W.: *Niveles de progesterona, 17 α -bidroxiprogesterona y 20 α -bidroxiprogesterona en el plasma de la vena del ovario poliquístico de la rata.* Mem. IX Reunión Anual, Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología. 1969, p. 109.
 23. Cortés-Gallegos, V.; McCracken, J. A.; Lloyd, C. W., y Weisz, J.: *Progesterin production by the ovary of the testosterone sterilized rat treated with an ovulatory dose of LH, and the normal proestrous rat.* Endocrinology 89: 878, 1971.
 24. Savard, K.; Marsch, J. M., y Rice, B. F.: *Steroid sex hormones, gonadotropins and ovarian steroidogenesis.* Rec. Progr. in Horm. Res. 21:285, 1965.
 25. Baird, D. T., y Guevara, A.: *Concentration of unconjugated estrone and estradiol in peripheral plasma in nonpregnant women throughout the menstrual cycle, castrate and post-menopausal women and in men.* J. Clin. Endocr. 29:149, 1969.