

La investigación de la biología de la reproducción en el Instituto Mexicano del Seguro Social

I. BIOQUIMICA DEL TRACTO GENITAL MASCULINO

ALEJANDRO REYES-FUENTES,
MARÍA EUGENIA CHAVARRÍA-OLARTE y
RAÚL MARTÍNEZ-ZAGUILÁN

Actualmente uno de los problemas más importantes que enfrenta la humanidad es regular su propia fertilidad. La aparición y desarrollo de los anticonceptivos administrados por vía bucal y de los dispositivos intrauterinos, en los años '60, y su aceptación inicial, hicieron que se lograran perspectivas halagadoras de regular racionalmente la

Presentado en sesión ordinaria de la Academia Nacional de Medicina, celebrada el 27 de octubre de 1982.

Recibido: 3 de noviembre de 1982.
Aceptado: 28 de febrero de 1983.

Todos los autores. División de Bioquímica, Unidad de Investigación Biomédica, Centro Médico Nacional, Instituto Mexicano del Seguro Social.

fertilidad humana, si bien la manifestación de sus efectos colaterales indeseables, la elevada proporción de mujeres que ha abandonado el uso de los dispositivos intrauterinos y la pobre aceptación de los progestágenos de larga duración, han generado la necesidad de desarrollar alternativas a tales métodos anticonceptivos.

La participación del varón en cuanto a compartir la responsabilidad de planear la familia con su pareja es limitada, ya que actualmente sólo dispone para tal efecto de la abstinencia periódica, del *coitus interruptus*, del uso del preservativo o bien de la vasectomía.

La investigación en el campo de la biología del tracto genital masculino, mediante la integración de los conocimientos bioquímicos, endocrinológicos y fisiológicos acerca de la formación, maduración, adquisición y preservación de la capacidad fertilizante del espermatozoide humano, plantea perspectivas para la regulación de la fertilidad en el varón mediante el diseño de agentes anticoncep-

tivos hormonales y no hormonales, que sean eficientes, seguros, de fácil aplicación, reversibles y susceptibles de ser empleados por un número mayor de individuos que los métodos actuales.

Célula de Leydig

La interacción eficiente de la hormona luteinizante (LH) con el sitio receptor específico, parece depender de un efecto sinérgico de prolactina, hormona de crecimiento, insulina y la prostaglandina E_1 , debido a que estos agentes hormonales participan en la iniciación y regulación de la biosíntesis, mantenimiento y recambio de este sitio receptor en la superficie de la célula de Leydig.¹ Esta interacción induce la activación de la adenilil ciclasa, con la consecuente modificación de los niveles de monofosfato cíclico de adenosina (AMPc) en compartimientos específicos de esta célula, estrechamente ligados con el proceso esteroideogénico.²

Las proteínas-quinasas estimuladas por la LH catalizan la fosforilación de proteínas intracelulares, lo que da como resultado la síntesis del ácido ribonucleíco y proteínas, mediante una serie de eventos citoplasmáticos y nucleares.² Estas proteínas parecen estar relacionadas con la transformación de los ésteres de colesterol a su forma libre. La prolactina y la prostaglandina E_1 también participan en la regulación del equilibrio dinámico entre estas dos formas de colesterol.¹ Dentro de las mitocondrias el colesterol libre es hidroxilado y convertido a pregnenolona ($\Delta-5P$), la cual pasa de la mitocondria al retículo endoplásmico liso, en donde entra a la vía Δ^4 o Δ^5 de la esteroideogénesis, dependiendo esto de la especie.³ En la rata inmadura, la vía 5α -pregnana y androstano culmina con la síntesis de 5α -androstano- 3α , 17β -diol, por medio de una 3α -óxido-reductasa, a diferencia de lo que ocurre en la rata adulta, en la que es la testosterona el principal metabolito.¹

La interacción eficiente de la LH con el sitio receptor específico en la membrana plasmática de la célula de Leydig, con la consecuente activación de la adenilil ciclasa, que genera la cascada de eventos moleculares que culminan con la secreción de esteroides, es susceptible de ser interferida por la misma LH, como ha sido demostrado en ratas y ratones machos con tumores feminizantes del testículo.^{4,5}

Las células de Leydig, al estar expuestas a concentraciones elevadas de LH, manifiestan un desacoplamiento del receptor de la adenilil ciclasa en diversos sitios de la superficie celular. Se cree que este desacoplamiento sea mediado por una fosforilación de los componentes membranales de esta célula.¹ Por otra parte, los receptores para LH, tanto los unidos como los no unidos, son internalizados por endocitosis, mediante un proceso que involucra síntesis de proteínas. Las vesículas resultantes migran a la vecindad de los lisosomas, en donde la hormona unida y posiblemente también el receptor son degradados.⁴ Se ha sugerido que la prolactina inhibe este proceso de internaliza-

ción, ejerciendo su efecto aparentemente sobre el sitio de ruptura y síntesis de los receptores.⁶ A estas concentraciones de LH también se estimula la actividad de la fosfodiesterasa, incrementando la degradación de AMPc a $5'$ -AMP.¹

Después de la estimulación intensa de las células de Leydig por LH, el incremento resultante en los niveles intracelulares de andrógenos y estrógenos puede activar, vía translocación del complejo esteroide-receptor al núcleo, una influencia inhibitoria sobre la enzima C17-20 liasa con la concomitante acumulación intracelular de progesterona, 17α -hidroxiprogesterona, pregnenolona y 17α -hidroxipregnenolona.⁷

Por otra parte, la demostración autorradiográfica y bioquímica de la existencia de receptores en la célula de Leydig para testosterona y 17β -estradiol, facilitará en un futuro próximo la mejor comprensión de la participación conjunta de hormonas peptídicas y esteroideas en los mecanismos moleculares que inician y regulan la esteroideogénesis en estas células.

Célula de Sertoli

La hormona estimulante del folículo (FSH) circulante se une a receptores específicos en las células de Sertoli, con una afinidad (Kd) del orden de $10^{-11}M$;⁸ estos receptores están localizados principalmente en la parte basal de la célula de Sertoli. La interacción activa la adenilil ciclasa, la cual es dependiente de iones magnesio y también de guanilil nucleótidos. Los niveles basales de AMPc intracelulares no sólo dependen de la actividad de la adenilil ciclasa, sino también de la actividad de varias isoenzimas de fosfodiesterasas, de las cuales una es dependiente de calcio.⁹ El incremento intracelular de AMPc activa a las proteínas-quinasas dependientes de este nucleótido con la subsecuente fosforilación de substratos intracelulares, lo que se traduce en las diferentes expresiones de la función de la célula de Sertoli.¹

La capacidad de síntesis y secreción, conjugada con la dinámica de los complejos de unión funcionales entre las células adyacentes de esta misma estirpe, lo cual tiene como resultante la iniciación y la progresión de los procesos de espermatogénesis y espermiogénesis, así como la formación del líquido del túbulo seminífero, son probablemente las funciones más importantes de esta célula.^{10,11} El líquido intratubular es diferente, en su composición bioquímica y hormonal, del plasma sanguíneo. Entre las proteínas secretadas se incluye a la proteína fijadora de andrógenos (ABP) y al activador de plasminógeno, que ha sido relacionado con la progresión de la espermatogénesis en los compartimientos adluminales intercelulares y en las etapas finales de la espermiogénesis.^{1,11}

Esta célula también secreta inhibina, un polipéptido que parece estar involucrado específicamente en el sistema de retroalimentación negativa de FSH, así como factores hipotéticos reguladores de la meiosis, las chalonas, que regulan la población de espermatogonias.^{1,12}

La célula de Sertoli es un sitio de actividad esteroideogénica. No obstante que no sintetiza andrógenos *de novo*, posee capacidad para metabolizar tanto andrógenos como progestinas, así como para aromatizar andrógenos.¹³

Por otra parte se acepta generalmente que la interacción de los andrógenos con la célula de Sertoli es necesaria para que se complete el proceso de espermatogénesis. Esta aseveración se basa en la observación de que si a ratas macho recién hipofisectomizadas se les administra una terapia sustitutiva con andrógenos, la diferenciación espermatogénica continúa.¹⁴ Asimismo, después de que en estas ratas hipofisectomizadas se manifiesta la regresión testicular, la administración conjunta de FSH y testosterona reestablece la espermatogénesis.¹⁴ Los receptores para andrógenos en esta célula han sido caracterizados y de acuerdo con sus propiedades fisicoquímicas son similares a los de las glándulas accesorias del tracto genital masculino.¹

Así pues, la respuesta de la célula de Sertoli y la célula de Leydig a las hormonas tróficas y esteroideas no debe continuar siendo considerada simplemente como una función de los niveles de las hormonas estimuladoras, sino como la expresión de una interacción compleja entre la célula blanco y la hormona, en donde la primera es también un determinante importante de la respuesta celular.

Este crecimiento logarítmico del conocimiento integral de la conjunción de aspectos estructurales, fisiológicos, endocrinológicos y bioquímicos de la función testicular, ha permitido no solamente el vislumbrar los posibles niveles de patología subcelular en individuos infértiles, sino también el que las perspectivas en el diseño de estrategias hormonales y no hormonales para perturbar específicamente los procesos de espermatogénesis y espermiogénesis, sin efectos colaterales indeseables, se contemplen en un futuro próximo como alternativa a los métodos actuales para regular la fertilidad en el varón.

Maduración epididimaria

Una vez concluida la espermiogénesis, el espermatozoide es transportado aislado o bien en grupos, mediante las contracciones de la cápsula testicular y de los túbulos seminíferos. Se ha comunicado que estas contracciones son inducidas por prostaglandinas e inhibidas por agonistas β -adrenérgicos, adenosina, inhibidores de fosfodiesterasas, AMPc y db-AMPc.² A este proceso se suma tanto la presión del líquido de la *rete testis*, como la actividad ciliar de los conductos eferentes, lo que facilita el agrupamiento y transporte de las células hasta la porción inicial del conducto epididimario (*caput*).¹⁵ De esta manera se inicia el transporte en este órgano, requisito esencial en todas las especies de mamífero estudiadas, incluyendo al hombre, para que estas células adquieran la capacidad de penetrar al óvulo y fertilizarlo.

El epitelio epididimario está integrado por una sola capa de células, las cuales descansan sobre una

lámina basal. Estas células han sido clasificadas en cuatro grupos: principales, basales, con halo y claras. Su distribución en las diferentes regiones anatómicas de este órgano no es homogénea, pero se debe señalar que son las células principales y las células claras las que forman los complejos funcionales que participan en los procesos de biosíntesis, secreción y absorción.¹⁶

Estudios realizados por Reyes y col.¹⁷ utilizando secreciones y espermatozoides de la cauda del epidídimo humano, indican que su volumen ($140 \pm 37 \mu\text{l}$) representa la vigésima o quincuagésima parte del volumen que ingresa a la cabeza de este órgano en 24 horas, ya que en los conductos eferentes y en la porción inicial del túbulo epididimario se reabsorbe entre 50-90 por ciento del volumen del líquido con que emergen los espermatozoides del testículo, dependiendo de la especie de mamífero de que se trate.¹⁷ Se ha sugerido que esta reabsorción se lleva al cabo mediante un proceso de micropinocitosis, acoplado con el transporte activo tanto de cationes como de aniones, el cual es distinto a lo largo de todo el túbulo.^{18,19} El metabolismo de agua y electrolitos se regula de manera diferente en los diferentes segmentos anatómicos (*caput*, *corpus*, *cauda*) de este órgano, que proveen y mantienen un microambiente particular de iones inorgánicos (Na^+ , K^+ , Zn^{+2} , Ca^{+2}), significativamente diferente de la composición observada en el plasma seminal,^{17,20} que es indispensable para la realización adecuada del proceso de maduración.

La absorción y secreción activa del ion hidrógeno en la parte proximal (*caput*) y distal (*cauda*) de este órgano, explica la diferencia de pH entre el líquido testicular (7,3) y del microambiente epididimario (6,4 a 6,85 en la cauda). Este líquido es además ligeramente hiperosmolar: 400 (*caput*) y 340 (*cauda*) mOsm/kg de agua.* Los iones inorgánicos sodio, potasio, cloruro, bicarbonato y fosfato contribuyen con 100 mOsm/kg, aproximadamente, mientras que las glicoproteínas específicas y los ácidos orgánicos secretados por el epidídimo: glicerilfosforilcolina, carnitina, inositol, lactato y ácidos siálicos, así como los aminoácidos glutamato y glutamina, hacen la contribución faltante para la osmolalidad final antes señalada.^{19,20} Por lo tanto, la composición bioquímica de este microambiente está determinada y regulada por: 1) la presencia del espermatozoide; 2) la composición de líquido testicular y 3) la acción, sobre el epitelio epididimario, de los andrógenos provenientes tanto del líquido testicular como de la sangre que irriga los diferentes segmentos anatómicos del órgano en cuestión.²⁰

Prasad y col.²¹ han propuesto la existencia de un umbral diferencial androgénico en el tracto genital masculino, basados en estudios que demostraron que en animales castrados, la terapia sustitutiva con dosis adecuadas de testosterona o dihidrotestosterona en cricetos, ratas y primates, es suficiente para preservar el peso y la actividad secre-

* mmol/l en el Sistema Internacional de Unidades.

tora de las glándulas accesorias, no sucediendo lo mismo con el funcionamiento normal del *caput* y de la *cauda* del epidídimo, particularmente en relación con el establecimiento de un microambiente adecuado para la maduración del espermatozoide en este órgano. Esta sensibilidad diferencial implica ostensiblemente que la cauda del epidídimo es el segmento anatómico-funcional con mayor requerimiento androgénico.

Con la finalidad de estudiar y establecer la interrelación existente entre la actividad metabólica diferencial de los segmentos anatómicos del epidídimo y la participación del espermatozoide y los andrógenos a este respecto, Brooks estableció la siguiente estrategia utilizando a la rata macho adulta fértil como modelo experimental: ligadura de los conductos eferentes con la finalidad de no permitir el paso de las secreciones testiculares, impidiendo también el paso de los espermatozoides y por otra parte castración, respetando tanto al paquete neurovascular como al epidídimo.²²⁻²⁴ Sus resultados indican que el tejido epididimario (*caput* y *cauda*) de las ratas castradas tuvo un peso seco mayor, una menor proporción de proteína soluble y cantidades menores de fosfolípidos, ácido ribonucleico y fósforo soluble en ácido,²³ como se esperaría de un tejido en el cual las células contienen pocas membranas reticulares y ejercen una actividad sintética reducida. En ambos segmentos la concentración de ácido desoxirribonucleico epididimario aumentó después de la castración.²³ La multiplicación de la concentración de ácido desoxirribonucleico por el peso del tejido indica que su contenido total en el tejido epididimario disminuyó aproximadamente 25 por ciento y que la involución del epidídimo se debe principalmente a una reducción del citoplasma celular más que a una disminución en el número de células. El mismo Brooks demostró en el epidídimo que las actividades de hexocinasa, fosfofructocinasa, piruvatoquinasa y otras enzimas glicolíticas claves en esta vía de regulación metabólica son modificadas específicamente por el estado androgénico del animal.²² La determinación de estas actividades enzimáticas indicó que el flujo máximo de potencial al través de la secuencia glicolítica fue significativamente mayor en el epidídimo mantenido con andrógenos (ligado en el conducto eferente), comparado con el privado de andrógenos (animales castrados).

Las reservas de sustratos productores de energía se mantienen en el epidídimo del animal castrado sin tratamiento, debido a que las concentraciones de lípidos totales y de glucógeno no parecen ser modificadas por el estado androgénico del animal.²³ Asimismo, el estudio del cociente respiratorio en condiciones aeróbicas, permite señalar que una gran proporción de la reserva de energía en este órgano se deriva de la oxidación de lípidos.²⁴

Por otra parte, estudios histoquímicos han demostrado que la castración induce cambios celulares importantes en el epidídimo de la rata.²⁵ En el epidídimo del ratón y del conejo, la eliminación de andrógenos ocasiona una pérdida del retículo endoplásmico liso, una reducción importante en el tamaño del aparato de Golgi y un aumento en

la concentración de ribosomas libres.^{26,27} Estas estructuras subcelulares se restauran en su mayor parte por la terapia sustitutiva. Las investigaciones bioquímicas de Brooks complementan estos estudios subcelulares y permiten aseverar que el epidídimo privado de andrógenos es un órgano que involuciona y que tiene una actividad sintética, secretora y de absorción reducida.

Los espermatozoides de diferentes especies de mamífero, incluyendo al humano, adquieren la capacidad de fertilizar al óvulo durante su paso por el tercio medio del cuerpo del epidídimo.²⁸ La permanencia del espermatozoide en cualquier región del epidídimo *per se* es suficiente para inducir cambios en el patrón de movilidad, pero no para iniciar el desarrollo de la habilidad fertilizante, la cual requiere estrictamente la interrelación de los espermatozoides con el microambiente de los distintos segmentos epididimarios, condiciones que como se ha enfatizado, dependen de la concentración adecuada de andrógenos en este órgano.²⁸

La maduración del espermatozoide en el epidídimo involucra cambios notables en estas células, fundamentalmente de orden bioquímico, morfológico y fisiológico, como por ejemplo: 1) estabilización de diferentes estructuras espermáticas mediante la oxidación progresiva de grupos SH;²⁹ 2) modificaciones en el metabolismo energético;³⁰ 3) cambios en el patrón de la movilidad;³¹ 4) disminución del contenido de sialoproteínas y fosfolípidos en el espermatozoide.³² Es concebible que cualquier modificación de estos indicadores mediante la utilización de agentes hormonales y no hormonales, interfiera con la integridad estructural y funcional del espermatozoide y por lo tanto con su capacidad fertilizante.³³

Semen: Espermatozoide — Plasma seminal

La expresión final de la función testicular consiste en la integración estructural y funcional de los espermatozoides, los cuales al conjugarse con las secreciones de la cauda del epidídimo, la próstata, las glándulas bulbouretrales y las vesículas seminales durante el proceso de eyaculación, constituyen el semen en todas las especies animales. En esta asociación dinámica espermatozoide-plasma seminal ambas partes tienen un papel muy importante dentro de los eventos que culminan con la fertilización, ya que los espermatozoides deben ser estructural y funcionalmente íntegros y por lo tanto metabólicamente activos, para lograr fertilizar a la gameta homóloga; por lo tanto, el plasma seminal debe tener las características biofísicoquímicas adecuadas para proveer a los espermatozoides con las sustancias necesarias para su activación.

Como se sabe, el estado quiescente del espermatozoide en el epidídimo se modifica de manera abrupta durante la eyaculación, debido a que estas células experimentan cambios importantes en su capacidad metabólica, así como en su patrón de movilidad, los cuales están modulados por una in-

teración compleja de los componentes bioquímicos y hormonales del plasma seminal.³⁴

Entre los componentes bioquímicos más importantes se encuentran los iones, como el sodio, el potasio, el calcio y el zinc;³⁵ los nucleótidos cíclicos de adenosín y guanosín monofosfato;¹⁷ substratos como la fructosa y la glucosa;³⁶ proteínas que se adsorben a la membrana espermática, como por ejemplo la recién descrita "proteína de la movilidad progresiva"³⁷ o bien el factor descapacitante,³⁸ glicoproteínas aisladas tanto de las secreciones del epididimo como del plasma seminal de diferentes especies de mamífero.

Además de la presencia de andrógenos, existen en el plasma seminal otros componentes hormonales como la prolactina, la cual fue recientemente introducida a la biología de la reproducción como un "ionóforo biológico" que facilita la interacción o el transporte de cationes divalentes, principalmente calcio, al interior de los espermatozoides;³⁹ y las prostaglandinas, las cuales parecen participar en algunos aspectos del metabolismo espermático mediante la inducción de cambios en las propiedades membranales de estas células.⁴⁰

Actualmente el análisis del semen se basa fundamentalmente en la evaluación de las características estructurales y dinámicas de los espermatozoides; sin embargo, el plasma seminal en un líquido biológico de fácil disponibilidad que permite, mediante un análisis de sus componentes bioquímicos y hormonales, determinar la eficiencia funcional de las glándulas accesorias, principalmente de la próstata y de las vesículas seminales.

En la porción inicial del eyaculado está la mayor proporción de los espermatozoides y fundamentalmente las secreciones de la próstata caracterizadas por contener fosfatasa ácida. En las últimas porciones del eyaculado aparecen las secreciones de las vesículas seminales, identificadas por su elevado contenido de fructosa.⁴¹

A pesar de que la morfología de los espermatozoides es prácticamente similar en todas las fracciones del líquido seminal, su viabilidad y su movilidad son significativamente diferentes, siendo menores en las fracciones finales.⁴² Esta diferencia se debe a la presencia de algún (os) factor (es) en la secreción vesicular que tiene(n) un efecto nocivo en las funciones espermáticas y algún (os) factor (es) en el líquido prostático, que protege (n) a los espermatozoides de los inhibidores de la secreción vesicular, y a la presencia, en esta secreción, de algunos otros factores que estimulan la movilidad de los espermatozoides (catecolaminas, kininas y poliaminas).⁴³

Se han publicado revisiones extensas de las características bioquímicas y hormonales del plasma seminal de diferentes especies de mamífero, incluyendo al humano,^{35,36,41} motivo por el cual este espacio lo dedicaremos a la participación de algunos componentes bioquímicos del plasma seminal, tanto en la movilidad, como en el metabolismo espermático y consecuentemente en la capacidad fertilizante de esta célula.

El zinc es uno de los cationes divalentes del plasma seminal que participa en la regulación del

metabolismo y la movilidad del espermatozoide humano. El contenido de Zn del plasma seminal humano es de 1.7 mmol/l ($3.5 \pm 1 \mu\text{Eq/ml}$) y en el espermatozoide de $2.5 \pm 0.24 \mu\text{g}/10^8$ células.⁴⁴ Algunos estudios dinámicos han permitido establecer que la incubación de los espermatozoides humanos en presencia de EDTA, histidina y cisteína en una concentración 6mM, en experimentos por separado, induce la liberación de 75 por ciento del Zn en estas células, con el consecuente aumento, tanto en el consumo de oxígeno como en la movilidad.⁴⁴ La liberación de Zn inducida por los agentes quelantes indujo también un aumento significativo en la utilización de glucosa exógena, así como una disminución significativa en el contenido de fosfolípidos endógenos.⁴⁵

Estos datos han sido relacionados con la capacidad fertilizante de los espermatozoides humanos, ya que se ha encontrado que la concentración de este catión divalente en los espermatozoides de individuos infértiles es aproximadamente el doble de la encontrada en los espermatozoides de individuos fértiles.⁴⁶

Otro de los componentes bioquímicos del plasma seminal es la sulfhidrilo oxidasa. La presencia de esta enzima en el plasma seminal se debe a la actividad secretora de las vesículas seminales;⁴⁷ esta enzima regula el estado de óxido-reducción de los grupos SH en la superficie espermática. Estos grupos funcionales, además de su participación en el mantenimiento de la estructura normal de la membrana, están involucrados en el transporte activo de iones y de substratos, en el funcionamiento e interacción celular durante el tránsito del espermatozoide en el tracto genital femenino (endometrio y epitelio de la trompa de Falopio), así como en la interacción de esta célula con la gámeto femenina.^{29,48}

Como se ha mencionado anteriormente, durante el proceso de la eyaculación el espermatozoide experimenta un cambio súbito en la movilidad, la cual se hace vigorosa, unidireccional y progresiva, conjuntamente con un cambio en su estado energético.

En los últimos años, diferentes investigadores han estudiado la participación de los andrógenos, substratos endógenos (fosfolípidos) y exógenos (lactato), nucleótidos cíclicos (AMPc y GMPc), inhibidores de fosfodiesterasas y calcio, todos ellos componentes de las diferentes secreciones con las que los espermatozoides están en contacto, tanto en el tracto genital masculino como durante su transporte hacia el sitio de la fertilización, como parte de los mecanismos moleculares que inician y regulan el metabolismo y la movilidad de estas células.^{30,31,49}

Recientemente se ha descrito la presencia de prolactina inmunorreactiva en semen, moco cervical y líquido folicular humano, y se ha señalado que la prolactina induce un incremento de la concentración intracelular de AMPc y la utilización de fructosa por el espermatozoide humano.^{39,50} Asimismo se ha señalado que aumenta la actividad de las ATPasas dependientes de Na^+ y K^+ y el metabolismo oxidativo en esta célula.⁵¹ Esta hormona ade-

nohipofisaria se encuentra en el plasma seminal en concentraciones significativamente mayores que las encontradas en el suero sanguíneo de individuos espermáticos, sanos y fértiles (40-50 y 6-9 ng/ml respectivamente). Se ha señalado que las modificaciones en su concentración en el semen, ya sea hiperprolactinemia o hipoprolactinemia, están relacionadas con alteraciones en la fertilidad masculina.^{39,43}

La prolactina se adiciona al plasma seminal en el momento de la eyaculación, ya que la concentración de esta hormona encontrada en el líquido del epidídimo humano (cauda) ($7,1 \pm 2$ ng/ml), es significativamente menor que la concentración de prolactina encontrada en el plasma seminal obtenido ya sea de individuos espermáticos o vascetomizados.

Recientemente se ha comunicado que la prolactina facilita la fijación o el transporte de calcio en el espermatozoide humano,³⁹ siendo este efecto significativamente mayor en el espermatozoide de la cauda de epidídimo, en donde la incubación en presencia de 50 ng de prolactina/ml durante 30 minutos indujo una duplicación de la fijación de calcio, en relación con la incubación en ausencia de la hormona (2,2 nmolas y 0,95 nmolas de Ca/10⁸ espermatozoides respectivamente). En los espermatozoides eyaculados, el incremento en la fijación y/o transporte de calcio después de incubar en las condiciones anteriores, fue de solamente 1,3 veces en relación con el control (0,29 nmolas de Ca/10⁸ espermatozoides). Se ha señalado que este influjo de calcio en el espermatozoide va acompañado por una disminución en las concentraciones intracelulares de magnesio y zinc.⁴³

Recientemente se ha relacionado al incremento en la concentración de calcio en el espacio extramitocondrial, con un aumento en el porcentaje de espermatozoides móviles y la triplicación en el consumo de oxígeno por estas células,⁵² también se ha demostrado que el espermatozoide quiescente de epidídimo inicia y mantiene su movilidad en presencia de calcio, AMP cíclico y prolactina.^{31,36}

Los datos anteriores y la diferencia en la concentración de calcio entre el líquido de la cauda de epidídimo ($1,35 \pm 0,1$ mmol/l) y el plasma seminal ($5,4 \pm 0,2$ mmol/l), permiten sugerir que la fijación o transporte de calcio, aunado a incremento en el contenido de AMP cíclico en el espermatozoide, participan en el mecanismo que induce el cambio súbito en metabolismo y movilidad que experimenta el espermatozoide humano durante el proceso de eyaculación.

La mejor comprensión de los mecanismos bioquímicos involucrados en los procesos de espermátogenesis, maduración epididimaria y eyaculación, permitirá planear una estrategia más racional para poder interferir o facilitar selectiva y específicamente los aspectos biofísicoquímicos que integran estos procesos, con la finalidad de regular la fertilidad en el varón. Asimismo, estos conocimientos formarán parte de la infraestructura básica necesaria, tanto para elucidar los posibles niveles de patología molecular implicados en el individuo

infértil, así como para criopreservar la gameta masculina en mejores condiciones que las actuales.

REFERENCIAS

1. Purvis, K. y Hansson, V.: *Hormonal regulation of spermatogenesis. Regulation of target cell response*. Int. J. Androl. 3(Supl.):81, 1981
2. Sanborn, B. M.; Heindel, J. J. y Robinson, G. A.: *The role of cyclic nucleotides in reproductive processes*. Ann. Rev. Physiol. 42:37, 1980.
3. Eik-Nes, K. B.: *Biosynthesis and secretion of testicular steroids*. En: *Handbook of Physiology*, Greep, R. O. y Astwood, E. B. (Eds.) Washington, American Physiological Society. 1975, vol. V, p. 95.
4. Ascoli, M. y Puett, D.: *Degradation of receptor-bound human choriogonadotropin by murine Leydig tumor cells*. J. Biol. Chem. 253:4892, 1978.
5. Hansson, V.; Jahnsen, T.; Purvis, K.; Andersen, D. y Birnbaumer, L.: *LH/hCG responsive adenylyl cyclase in rat testis and testes from testicular feminized male (tfm) rats and mice: Desensitization by homologous hormone*. Int. J. Androl. 3:703, 1980.
6. Zipf, W. B.; Payne, A. H. y Kelch, R. P.: *Prolactin, growth hormone and luteinizing hormone in the maintenance of testicular luteinizing hormone receptors*. Endocrinology 103:595, 1978.
7. Cigorraga, S. B.; Dufau, M. L. y Catt, K. J.: *Regulation of luteinizing hormone receptors and steroidogenesis in gonadotropin-desensitized Leydig cells*. J. Biol. Chem. 253:4297, 1978.
8. Means, A. R. y Vaitukaitis, J.: *Peptide hormone-receptors: specific binding of 3H-FSH to testis*. Endocrinology 90:39, 1972.
9. Means, A. R.; Dedman, J. R.; Tindall, D. J. y Welsh, M. J.: *Hormonal regulation of Sertoli cells*. Int. J. Androl. 2(Supl.):403, 1978.
10. Fawcett, D. W.: *Ultrastructure and function of the Sertoli cell*. En: *Op. cit.* en 3, p. 21.
11. Steinberger, A. y Steinberger, E.: *The Sertoli cells*. En: *The testis*. Johnson, A. D. y Gomes, W. R. (Eds.). Nueva York, Academic Press. 1977, vol. IV, p. 371.
12. Waites, G. M. H.: *Fluid secretion*. En: *Op. cit.* en 11, p. 91.
13. Ewin, L. y Brown, B. L.: *Testicular steroidogenesis*. En: *Op. cit.* en 11, p. 239.
14. Hansson, V.; Weddington, S. C.; Naess, O.; Attramadal, A.; French, F. S.; Kotite, N. y Nayfeh, S. N.: *Testicular androgen binding protein (ABP)-A parameter of Sertoli cell secretory function*. En: *Hormonal regulation of spermatogenesis*. French, F. S.; Hansson, V.; Ritzen, E. M. y Nayfeh, S. N. (Eds.). Nueva York, Plenum Press. 1975, p. 323.
15. Bedford, J. M.: *Maturation, transport, and fate of spermatozoa in the epididymis*. En: *Op. cit.* en 3, p. 303.
16. Hamilton, D. W.: *Structure and function of the epithelium lining the ductus deferens, ductus epididymis, and ductus deferens in the rat*. En: *Op. cit.* en 3, p. 259.
17. Reyes, A.; Chavarría, M. E. y Rosado, A.: Datos no publicados.
18. Levine, N. y Marsh, D. J.: *Micropermeability studies of the electrochemical aspects of fluid and electrolyte transport in individual seminiferous tubules, the epididymis and the vas deferens in rats*. J. Physiol. 213:557, 1971.
19. Hinton, B. T.: *The epididymal microenvironment. A site of attack for a male contraceptive?* Invest. Urol. 18:1, 1980.
20. Howards, S.; Lechenc, C. y Vigersky, R.: *The fluid environment of the maturing spermatozoon*. En: *The spermatozoon*. Fawcett, D. W. y Bedford, J. M. (Eds.). Baltimore, Urban & Schwarzenberg. 1979, p. 35.
21. Prasad, M. R. N.; Rajalakshmi, M.; Gupta, G. y Kar-kum, T.: *Control of epididymal function*. J. Reprod. Fertil. 18(Supl.):215, 1973.
22. Brooks, D. E.: *Control of glycolytic enzymes by androgens in the rat epididymis*. J. Endocr. 71:355, 1976.

23. Brooks, D. E.: *The androgenic control of the composition of the rat epididymis determined by efferent duct ligation or castration*. J. Reprod. Fert. 49:383, 1977.
24. Brooks, D. E.: *Androgenic regulation of metabolic pathways in the rat epididymis*. Biol. Reprod. 18:629, 1978.
25. Cavazos, L. F.: *Effects of testosterone propionate on histochemical reactions of epithelium of rat ductus epididymis*. Anat. Rec. 132:209, 1958.
26. Hamilton, D. W.; Jones, A. L. y Fawcett, D. W.: *Cholesterol biosynthesis in the mouse epididymis and ductus deferens: a biochemical and morphological study*. Biol. Reprod. 1:167, 1969.
27. Orgebin-Crist, M. C. y Davies, J.: *Functional and morphological effects of hypophysectomy and androgen replacement in the rabbit epididymis*. Cell Tiss. Res. 148:183, 1974.
28. Orgebin-Crist, M. C.; Danzo, B. J. y Davies, J.: *Endocrine control of the development and maintenance of sperm fertilizing ability in the epididymis*. En: *Op. cit.* en 3, p. 319.
29. Reyes, A.; Mercado, E.; Goicoechea, B. y Rosado, A.: *Participation of membrane sulphydryl groups in the epididymal maturation of human and rabbit spermatozoa*. Fertil. Steril. 27:1452, 1976.
30. Voglmaier, J. K.: *Metabolic changes in spermatozoa during epididymal transit*. En: *Op. cit.* en 3, p. 437.
31. Hoskins, D. D.; Brandt, H. y Acott, T. S.: *Initiation of sperm motility in the mammalian epididymis*. Fed. Proc. 37:2534, 1978.
32. Bernal, A.; Torres, J.; Reyes, A. y Rosado, A.: *Presence and regional distribution of sialyl transferase in the epididymis of the rat*. Biol. Reprod. 23:290, 1980.
33. Reyes, A. y Chavarría, M. E.: *Interference with epididymal physiology as possible site of male contraception*. Arch. Androl. 7:159, 1981.
34. Mitchell, J. A.; Nelson, L. y Hafez, E. S. E.: *Motility of spermatozoa*. En: *Human semen and fertility regulation in men*. Hafez, E. S. E. (Ed.), Saint Louis, The C. V. Mosby Company, 1976, p. 83.
35. Mann, T.: *Biochemistry of semen*. En: *Op. cit.* en 3, p. 461.
36. Mann, T. y Lutwak-Mann, C.: *Male reproductive function and semen*. Berlin, Springer-Verlag, 1981.
37. Acott, T. S. y Hoskins, D. D.: *Bovine sperm forward motility protein: partial purification and characterization*. J. Biol. Chem. 253:6744, 1978.
38. Reyes, A.; Oliphant, G. y Brackett, B. G.: *Partial purification and identification of a reversible decapacitation factor from rabbit seminal plasma*. Fertil. Steril. 26:148, 1975.
39. Reyes, A.; Parra, A.; Chavarría, M. E.; Goicoechea, B. y Rosado, A.: *Effect of prolactin on the calcium binding and/or transport of ejaculated and epididymal human spermatozoa*. Fertil. Steril. 31:669, 1979.
40. Mercado, E.; Villalobos, M.; Domínguez, R. y Rosado, A.: *Differential binding of PGE-1 and PGF-2 to the human spermatozoa membrane*. Life Sci. 22:429, 1978.
41. Eliasson, R. y Lindholmer, C.: *Functions of male accessory genital organs*. En: *Op. cit.* en 34, p. 44.
42. Eliasson, R. y Lindholmer, C. H. R.: *Distributions and properties of spermatozoa in different fractions of split ejaculates*. Fertil. Steril. 23:252, 1972.
43. Rosado, A.; Delgado, N. M.; Huacuja, L. y Hernández, O.: *Role of seminal plasma and sperm fertilizability*. En: *Instrumental insemination*. Hafez, E. S. E. y Semm, K. (Eds.). La Haya, Martinus Nijhoff, 1982, vol. 8, p. 35.
44. Huacuja, L.; Sosa, A.; Delgado, N. M. y Rosado, A.: *A kinetic study of the participation of zinc in human spermatozoa metabolism*. Life Sci. 13:1883, 1973.
45. Delgado, N. M.; Huacuja, L.; Pancardo, R. M. y Rosado, A.: *Modification of human sperm metabolism by the induced release of intracellular zinc*. Life Sci. 16:1483, 1975.
46. Lindholmer, C. y Eliasson, R.: *In vitro release and uptake of zinc and magnesium by human spermatozoa*. Int. J. Fert. 19:56, 1974.
47. Chang, T. S. K. y Zirkin, B. R.: *Distribution of sulphydryl oxidase activity in the rat and hamster male reproductive tract*. Biol. Reprod. 17:745, 1978.
48. Reyes, A.; Mercado, E. y Rosado, A.: *Inhibition of capacitation and of the fertilizing capacity of rabbit spermatozoa by blocking membrane sulphydryl groups*. En: *Recent advances in human reproduction*. Campos da Paz, A.; Drill, V. A.; Hayashi, M.; Rodríguez, W. y Schally, A. V. (Eds.). Amsterdam, Excerpta Medica, 1975, p. 321.
49. Reyes, A.; Chavarría, M. E. y Rosado, A.: *Interference with spermatozoa capacitation*. En: *Clinics in andrology*. Cunningham, G. R.; Schill, W. B. y Hafez, E. S. E. (Eds.). La Haya, Martinus Nijhoff, 1980, vol. 5, p. 132.
50. Gwatkin, R. B. L.: *Human follicular fluid*. En: *Biology of the ovary*. Motta, P. M. y Hafez, E. S. E. (Eds.). La Haya, Martinus Nijhoff, 1980, p. 209.
51. Sheth, A. R.; Gunjkar, A. N. y Shah, G. V.: *Effect of LH, prolactin and spermine on ATPase activity of human spermatozoa*. Andrologia 11:11, 1979.
52. Peterson, R. N. y Freund, M.: *Relationship between motility and the transport and binding of divalent cations to the plasma membrane of human spermatozoa*. Fertil. Steril. 27:1301, 1976.

II. BIOQUIMICA DEL TRACTO GENITAL FEMENINO

JUAN JOSÉ HICKS *

La investigación en biología de la reproducción, tanto a nivel básico como clínico, ha sido en los últimos veinte años uno de los campos de la ciencia que más se han desarrollado. Este impulso tiene una explicación, en términos de los esfuerzos que al nivel mundial se realizan para intentar controlar la explosión demográfica.

Dentro de las ciencias básicas, es sin lugar a duda la bioquímica la que mayor información ha proporcionado, tanto para suplementar la plataforma de conocimientos que conduzca al diseño de nuevos métodos anticonceptivos como para conocer la etiología y los mecanismos moleculares involucrados en los diferentes casos de infertilidad y esterilidad en el ser humano.

Se presentará a continuación una revisión de la aportación bioquímica al conocimiento del funcionamiento del tracto genital de la hembra, análisis que por sí solo resaltará la contribución del grupo mexicano de bioquímica de la reproducción al conocimiento mundial de esta área.

Dadas las características morfofuncionales de los tejidos del tracto genital de la hembra, es pertinente analizar dos aspectos de manera concomitante. Por un lado, el funcionamiento y constitución molecular de los tejidos que lo integran y por otro, las características fisicoquímicas, así como la composición biomolecular de las secreciones del tracto reproductor de la hembra.

* Académico numerario. División de Biología de la Reproducción. Unidad de Investigación Biomédica. Centro Médico Nacional. Instituto Mexicano del Seguro Social.

Cuadro 1. Procesos fisiológicos que se verifican en el tracto genital de la hembra.

Organo	Proceso	Referencias
Vagina	I Recepción del semen	1, 5
Utero	II Primeras etapas de la capacitación espermica	59
	III Diferenciación del sitio de implantación	22, 23, 24, 33, 56, 62, 81
	IV Implantación	56, 58, 82
	V Embarazo	
Trompa de Falopio	VI Transporte del óvulo	85
	VII Capacitación del espermatozoide	46, 47, 48, 49, 89
	VIII Fertilización	90
	Adhesión Penetración de la zona pelúcida Pérdida de la corona radiada	91
	IX Protección inmunológica del cigoto	93
	X Transporte del huevo	85
	XI Primeras etapas de la diferenciación del cigoto	60

En el cuadro 1 se enuncian los procesos biológicos que se verifican en el tracto genital femenino, indicándose el sitio fisiológico en el cual se lleva a cabo cada uno de estos fenómenos.

A continuación se considerará la participación funcional de los diferentes órganos que constituyen el tracto genital de la hembra:

Vagina

En tanto que la embriogénesis y las características histológicas de la vagina han sido estudiadas extensivamente, existe poca información en lo concerniente a los eventos bioquímicos que ocurren en este órgano. Esta falta de información pudiera deberse a que la función de la vagina en la reproducción ha sido considerada exclusivamente como la de ser sitio de depósito del semen, sin considerar la posible interacción de este órgano con ese líquido y por supuesto con el espermatozoide.

La vagina es un tejido endócrino, blanco, accesible anatómicamente y que permite la expresión fisiológica de diversos efectos hormonales, de manera muy similar al tejido uterino.^{1,2}

A pesar de que en pacientes sometidas a terapia hormonal anticonceptiva se presentan modificaciones en las características morfofuncionales de la vagina, no es factible fundamentar, con base en esos cambios el posible mecanismo de acción anticonceptivo.³ Sin embargo, cuando se analiza la posible participación de la vagina en el efecto anticonceptivo de los llamados agentes de barrera (espermicidas tópicos, jaleas, óvulos y otros), que contienen en su mayoría mercurio a una concentración de 400 microgramos, resulta que este órgano pudiese estar expuesto seriamente a efectos tóxicos causados por tales anticonceptivos espermicidas, que seguramente afectarán los sistemas metabólicos de las células vaginales. Este posible efecto tóxico no ha sido adecuadamente estudiado, por la imposibilidad ética de tomar biopsias de vagina

sin tener una plena justificación médica, persistiendo por lo tanto la interrogante sobre la magnitud nociva que pudiesen tener estos anticonceptivos.

Recientemente se ha demostrado que algunos compuestos órgano-mercuriales utilizados como anticonceptivos son capaces de penetrar el epitelio vaginal.⁴ En el epitelio vaginal de la coneja existe un transporte de alanina a través de sus células, mediante un mecanismo muy especializado.⁵ Este transporte se lleva al cabo en ausencia de un gradiente de concentración y no se ve influido por los cambios hormonales del ciclo reproductor, si bien no ocurre en animales castrados. Tales mecanismos órgano-específicos plantearon nuevas perspectivas para la anticoncepción, considerándose factible el desarrollo de algunos dispositivos intravaginales.

Cérvix

Esta estructura anatómica adquiere particular interés por la producción de secreciones mucoides, habiéndose considerado por varios años que la modificación fisicoquímica del moco cervical inducida por diversos agentes anticonceptivos pudiese explicar el mecanismo de acción de estas sustancias.^{6,7}

Moco cervical

La existencia de moco en el canal cervical de la hembra de muchos mamíferos podría interpretarse como la presencia de una barrera que impide la libre comunicación entre la cavidad peritoneal y el medio externo, ya que estas secreciones viscoelásticas constituyen un filtro mecánico y bioquímico que impide la libre comunicación entre vagina y cavidad uterina. Su eficacia como barrera es variable durante el ciclo menstrual, ya que presenta modificaciones hormonodependientes en su composición y en sus características físico-químicas y bioquímicas. En la mujer es abundante, claro, alcalino y favorable para la penetración espermática durante la etapa preovulatoria del ciclo o bajo la administración de estrógenos, mientras que durante el periodo postovulatorio es escaso en volumen, opaco, menos alcalino o incluso ácido, aumentando en él la cantidad de leucocitos, por lo que es poco favorable para la penetración del espermatozoide.

Martínez Manautou y col.⁸ basados en el estudio de biopsias endometriales, longitud del ciclo y visualización culdoscópica del ovario en pacientes que utilizaban clormadinona como agente anticonceptivo, informaron que la ovulación ocurre en aproximadamente 60 por ciento de las pacientes. Esto sugiere inhibición en la migración del espermatozoide a través del moco cervical como el mecanismo de acción, punto de vista que ha sido parcialmente apoyado por otros hallazgos experimentales en pacientes tratadas con norgestrel⁹ y con megestrol.¹⁰ Sin embargo, en la actualidad se

considera que si bien se presentan modificaciones importantes en el moco cervical, capaces de alterar el transporte del espermatozoide humano, no son suficientes para explicar el mecanismo de acción anticonceptiva de este tipo de esteroides. El espermatozoide humano es una célula relativamente resistente a modificaciones bioquímicas y fisicoquímicas en su microambiente, requiriéndose cambios drásticos en el mismo, como es el caso de modificaciones en la concentración iónica de cationes divalentes como es el caso del calcio y del zinc,¹¹ así como de otros metales pesados que tienen un efecto espermaticida.

Agua y electrolitos. A pesar de que desde 1954 ha sido comunicada la presencia de sodio, potasio, calcio y magnesio en el moco cervical, el estudio sistemático que permita analizar el contenido y función de los electrolitos del mismo sólo ha recibido atención limitada. La hidratación y la deshidratación de este líquido se presentan en forma regular y predecible durante el ciclo menstrual, con una importante participación de los iones de sodio, calcio y cloro.¹² Durante el ciclo menstrual de la mujer, el moco cervical presenta diferentes grados de hidratación, correspondiendo con el momento de la ovulación un aumento en su contenido de sodio, el cual, debido a su capacidad de solvatación, facilita también la máxima hidratación. Ninguno de los otros iones estudiados presentan en la mujer una correlación precisa con el momento de la ovulación,¹³ en tanto que en la vaca el ion cloro se correlaciona con la hidratación del moco cervical.¹²

En la mucovideosis,¹⁴ padecimiento en el que disminuye el contenido de agua del moco cervical, se ha sugerido que la infertilidad que se presenta en mujeres afectadas podría explicarse por la deshidratación del moco cervical. En efecto, se requiere que su contenido de agua sea de 93 a 95 por ciento para que sea favorable la migración del espermatozoide y en estas pacientes la hidratación es menor de 80 por ciento. Por otro lado, al analizarse el patrón de electrolitos en el moco cervical en estas pacientes, se demostró que a la mitad del ciclo menstrual, la concentración de sodio es diez veces menor de lo normal.

Proteínas. El constituyente mucoso del líquido cervical es una glicoproteína (mucina) con un alto peso molecular, del orden del 4×10^6 , constituida en 75 y 80 por ciento por carbohidratos,¹⁵ que se separa en dos fracciones: una denominada "de baja migración" y otra "de alta migración". Utilizando el isoelectroenfoque ha sido posible el detectar cinco bandas diferentes el día de la ovulación.¹⁶ En cuanto a los carbohidratos que se encuentran unidos a las proteínas, destacan los *n*-acetil aminoazúcares. La disminución de la viscosidad del moco cervical en los días cercanos a la ovulación se correlaciona con aumento del número de moléculas de fucosa unidas a la proteína, concomitante con disminución en el *n*-acetil neuramínico (ácido siálico), así como de la proporción de hidroxiaminoácidos (serina y treonina) en

la cadena polipeptídica, conduciendo esto último a disminución en el número de enlaces O-glicosídicos. Si se considera que la unión intramacromolecular entre las diferentes mucinas se lleva a cabo por medio del calcio, que establece puentes entre dos ácidos siálicos, es de presumir que al disminuir el número de residuos del carbohidrato durante la fase preovulatoria, el número de enlaces intermoleculares disminuya también y como consecuencia, se reduzca la viscosidad. Por otro lado se ha demostrado que sustancias que reaccionan con los grupos SH (cisteína), pueden disminuir la viscosidad del moco cervical *in vitro*, por lo que se supone que los puentes disulfuro tengan una importante participación en el mantenimiento de la estructura del moco cervical.

La composición de las proteínas del moco cervical ha sido comparada con la del líquido vaginal de mujeres hysterectomizadas;¹⁷ ambas secreciones contienen las siguientes proteínas: albúmina, alfa-1-antitripsina, alfa-2-haptoglobina, alfa-2-macroglobulina, beta-lipoproteína, orosomucoide, seruloplasmina, proteína de Bence-Jones así como las inmunoglobulinas G, A y M. En cambio, ni fibrina ni proteína C reactiva se encuentran en el líquido vaginal, pero sí están presentes en el moco cervical.

La albúmina es la proteína que se encuentra en mayor concentración en el moco cervical (17.2%), siendo la IgG la globulina más abundante.¹⁸ Por otro lado, dado que se presenta una significativa correlación, comparable con la del plasma sanguíneo, entre los niveles de IgG y albúmina de ambas secreciones, se ha sugerido que ambas proteínas se originan de un transudado. Durante el postparto inmediato ocurre un aumento en los niveles de IgG en el moco cervical, pero la IgG, que es una inmunoglobulina característica de las secreciones (saliva, calostro y otros), no se encuentra en cantidades importantes en el moco cervical ni sufre fluctuaciones durante el postparto.

Entre otros componentes protéicos que se han identificado en el moco cervical, destaca la presencia de algunas hormonas como la prolactina,¹⁹ cuya función en esta secreción pudiera correlacionarse con la posible activación del metabolismo del espermatozoide recién eyaculado.²⁰ El gameto masculino de pacientes infértiles presenta una respuesta disminuida a la activación por prolactina.²¹ Entre las enzimas del moco cervical destaca la anhidrasa carbónica,²² la cual disminuye durante la fase progestacional de la mujer, debiendo tener una importante participación en la regulación del pH del moco cervical.

Endometrio

Es precisamente en este tejido del tracto reproductor en donde se han llevado a cabo la mayor parte de los estudios histológicos, ultraestructurales y bioquímicos, ya que la obtención de biopsias de este tejido no implica una limitación ética o técnica.

De esta manera se ha estudiado la interacción

de diferentes agentes anticonceptivos, ya sea sistémicos (hormonas) o locales (dispositivos), que por diferentes mecanismos inhiben el proceso de implantación o modifican las características estructurales y funcionales del endometrio, de tal manera que a pesar de haberse llevado al cabo este proceso, el tejido endometrial sea incapaz de mantener el embarazo.²²⁻²⁴ En contraste, también ha sido en este tejido donde se han realizado los estudios más importantes acerca de los aspectos etiológicos de diferentes tipos de infertilidad.^{25,26}

Simultáneamente con el análisis de las características bioquímicas del endometrio se considerarán las modificaciones inducidas por diferentes anticonceptivos, así como las que ocurren en casos de infertilidad.

Dispositivos intrauterinos (DIU). La composición bioquímica del endometrio en presencia de dispositivos intrauterinos ha sido motivo de estudios numerosos y contradictorios. Se han descrito modificaciones en la concentración de glucógeno,²⁷ despolimerización de mucopolisacáridos²⁸ y depósito de calcio,²⁹ pero tales cambios no han podido correlacionarse adecuadamente con el factible mecanismo bioquímico.

En presencia de un DIU (asa de Lippes) hay disminución en la concentración de ácido ribonucleico (RNA) endometrial en ambas fases del ciclo menstrual, lo que es compatible con baja actividad biosintética de macromoléculas.^{29,30} Joshi y Sujan-Tejuja³¹ han comunicado un incremento en la síntesis de (RNA) durante la fase proliferativa en pacientes portadoras de un DIU, en un momento demasiado anticipado a los cambios endometriales necesarios para la implantación (disincronía).³² En el día 17 del ciclo en la mujer, las concentraciones de RNA, proteínas y nucleótidos se encuentran bajas en relación al momento preciso de la implantación (cuadro 2).^{31,33}

Las concentraciones de fucosa y de ácido siálico como constituyentes de las membranas celulares del endometrio se encuentran bajo control hormonal, aceptándose su estricta participación en los procesos reproductivos.³⁴ Es necesaria una disminución en la concentración de ácido siálico y de otras cargas de superficie para permitir la interacción del cigoto al sitio de implantación.^{23,24} La modificación de la concentración de estos carbohidratos en el endometrio pudiese ser una buena posibilidad para alterar la implantación. Los DIU modifican la concentración de carbohidratos.²⁹ En apoyo a lo antes expuesto, Cuatrecasas e Illiano han demostrado que la concentración de ácido siálico membranal es una expresión de algunas respuestas hormonales. La relación siálico/fucosa se encuentra modificada en presencia de un DIU (cuadros 3 y 4).²⁰

Recientemente se ha demostrado que la liberación local de progesterona proveniente de DIU (10 µg/día) no afecta el desarrollo embrionario del embrión de coneja^{35,36} explicándose un mecanismo de acción a nivel endometrial. Utilizando sistemas continuos de liberación de progesterona y comparándolos con placebos, se demostró que es impor-

Cuadro 2. Composición bioquímica del endometrio humano.

Constituyente *	Fase proliferativa		Fase secretora
	\bar{X} (7)	\bar{X} (7)	P
DNA (μg)**	4.130	8.560	N.S.
RNA (μg)	0.490	0.600	N.S.
Proteínas (μg)	40.00	64.80	0.001
Calcio (μg)	0.10	0.14	N.S.
Magnesio (μg)	0.034	0.027	N.S.
Sodio (μg)	15.20	14.13	0.001
Potasio (μg)	10.54	11.12	0.001
Acido siálico (μg)	0.105	0.378	N.S.
Fucosa (μg)	0.454	0.412	N.S.
Fucosa/Acido siálico	4.996	1.992	0.010

N.S. = No significativo.

* Expresado en microgramos de DNA.

** Expresado en mg de peso seco.

Cuadro 3. Efecto del dispositivo intrauterino sobre la composición bioquímica del endometrio humano.

Constituyente *	(Fase proliferativa).		
	Control	DIU inerte	T de cobre
RNA (μg)	0.490	0.338**	0.30**
Proteínas (μg)	40.00	37.80	43.8
Calcio (μg)	0.10	0.50 **	
Magnesio (μg)	0.034	0.039	
Sodio (μg)	15.20	13.00	
Potasio (μg)	10.54	11.82	
Acido siálico (μg)	0.105	0.242	
Fucosa (μg)	0.454	0.790	
Fucosa/Acido siálico	4.996	5.727**	

* Expresado en microgramos de DNA.

** P < 0.05 cuando se compara con el grupo control I.

Cuadro 4. Efecto del dispositivo intrauterino sobre la composición bioquímica del endometrio humano.

Constituyente *	(Fase secretora).		T de cobre
	Control	DIU inerte	
	\bar{X}	\bar{X}	
RNA (μg)	0.600	0.428**	0.37**
Proteínas (μg)	64.80	60.60	30.01**
Calcio (μg)	0.14	0.36 **	
Magnesio (μg)	0.027	0.030	
Sodio (μg)	14.13	16.13	
Potasio (μg)	11.12	10.18	
Acido siálico (μg)	0.378	0.644**	0.14**
Fucosa (μg)	0.412	0.750**	
Fucosa/Acido siálico	1.992	5.668**	

* Expresado en microgramos de DNA.

** $P < 0.05$ cuando se compara con el control.

tante inclusive la localización del sistema de liberación, ya que fue 30 por ciento más eficiente cuando se colocó en la parte alta del útero de la coneja que cuando se situó en el extremo vaginal; al removerse tanto el DIU como el placebo se recuperó la fertilidad, por lo cual debe considerarse que se trata de un efecto anticonceptivo local y reversible.³⁷

Considerando el posible mecanismo de este sistema liberador de progesterona, se ha sugerido que el efecto directo y más importante debe ser sobre el endometrio, pasando a un segundo término la posible inhibición de la capacitación.³⁸ Dado que el aumento en el sangrado menstrual es frecuente en la mujer que utiliza dispositivos intrauterinos, ha sido determinada la actividad fibrinolítica que se puede inducir por este tipo de sistemas, demostrándose que el DIU liberador de progesterona no incrementa la actividad fibrinolítica del endometrio.³⁹ Esta actividad fibrinolítica aparece como un fenómeno hemostático debido a los microtraumatismos causados por el dispositivo, esta explicación que ha sido apoyada por la observación clínica de que la administración por vía bucal de inhibidores de la fibrinólisis como el ácido épsilon-aminocaproico o del ácido tramexámico disminuye la magnitud del sangrado menstrual; sin embargo el mecanismo parece estar mediado por otro sistema.⁴⁰

Composición iónica. Experimentalmente se ha demostrado que el níquel tiene una acción oxitócica y que los niveles séricos del mismo se elevan durante el estadio de labor en el humano, pudiendo influir en la separación de la placenta y contribuir a la preparación del sangrado por atonía en el periodo postparto.

La concentración de níquel fue medida por absorción atómica en el suero colectado de 67 mujeres.⁴¹ En mujeres embarazadas los niveles de níquel son menores a 60 por ciento del de mujeres en trabajo de parto.⁴²

El efecto que el cobre proveniente de un DIU ejerce sobre el endometrio humano fue comunicado inicialmente por Hagenfeldt^{43,44} y Hernández y col.⁴⁵ quienes demostraron que este catión se deposita en el tejido endometrial, intercambiándose por zinc tisular, el cual incrementa en el líquido uterino. En cuanto a la distribución subcelular, se demostró que el cobre se deposita preferentemente en el núcleo y la fracción microsomal, lo que se correlaciona con su importante interferencia en la biosíntesis de macromoléculas.⁴⁶

Por otro lado, Gwatkin y Williams demostraron que norgestrel, clormadinona y noretinodrel *in vitro* son capaces de impedir la fertilización del óvulo de coneja, inhibiendo en el espermatozoide el denominado proceso de capacitación,^{46,47} el cual fue demostrado como prerequisite para la fertilización en el humano por Hicks y col.^{48,49} hace varios años. Este grupo demostró la inhibición *in vitro* de la capacitación por lavados uterinos provenientes de pacientes portadoras de un DIU liberador de progesterona.⁵⁰ La inhibición de la capacitación pudiera ser uno de los más adecuados métodos anticonceptivos.

Esteroides anticonceptivos. Tanto la terapia combinada como la secuencial inducen modificaciones ultraestructurales en el endometrio humano, mismas que son similares a la apariencia histológica que caracteriza a la fase secretora, a excepción de la ausencia de las típicas glándulas secretoras y mitocondrias gigantes que presenta el tejido nor-

mal. Los cambios detectables por la metodología bioquímica parecen proporcionar una mayor información, particularmente las modificaciones en el patrón de glicoproteínas, con aumento del ácido siálico en la fase proliferativa y disminución en la secretora. Este carbohidrato es, como ya se mencionó, estrógeno-dependiente, incrementando su concentración en el endometrio durante la fase proliferativa, para decrecer durante la fase progestacional.

De los resultados obtenidos de los estudios metabólicos en el endometrio de mujeres tratadas con noretindrona, realizados por nuestro grupo, no fue posible demostrar cambios metabólicos endometriales de magnitud suficiente que permitieran explicar el efecto anticonceptivo. Sin embargo Boveris,⁵² utilizando un derivado de la 19-nortestosterona, demostró que este esteroide es capaz de inhibir el transporte de electrones, interaccionando por lo menos en dos sitios diferentes de la cadena respiratoria: uno más sensible, localizado en la vecindad de la región NADH-flavoproteína y otro entre los citocromos b y c; esta acción afecta la conservación de la energía en el primer sitio de fosforilación, pudiendo ser afectado también el segundo.^{53,54}

Considerando algunas actividades metabólicas del tejido endometrial en relación con el metabolismo de estrógenos,⁵⁵ se ha revelado la presencia de la enzima guayacol peroxidasa, que oxida los estrógenos desactivándolos. Esta enzima ha sido demostrada en el endometrio humano y el moco cervical, teniendo como característica fundamental el ser inhibida *in vitro* por estrógenos y especialmente por catecol-estrógenos. Al cuantitarse su actividad en el moco cervical humano durante el ciclo menstrual, se comprobó que en la mitad del ciclo su actividad es menor, por lo cual ha sido propuesta como una prueba para predecir la ovulación.

Infertilidad

Se ha demostrado en estudios bioquímicos realizados en biopsias de endometrio obtenidas de mujeres con infertilidad idiopática,²⁵ que en todos estos casos se encontraban alteradas varias enzimas de la glicólisis, en especial la piruvato cinasa (disminuida en 23 de estos casos) y la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, que estuvo incluso ausente en el tejido endometrial en 9 casos, sugiriéndose con base en estos resultados que en algunos casos de esterilidad primaria hay como característica fundamental un defecto en el metabolismo de carbohidratos del endometrio. Por otro lado, se había demostrado en 1973 que existe una relación directa entre la disminución de la utilización de glucosa, del consumo de oxígeno y de algunas actividades enzimáticas en mujeres en que va disminuyendo la fertilidad debido a su acercamiento a la menopausia, lo cual plantea como posibilidad una falta de receptividad del endometrio a las activi-

dades hormonales, así como falta de biosíntesis de estas enzimas, ya que la terapia sustitutiva no logra restablecer el metabolismo endometrial a las condiciones basales. Pedrón y col.²⁵ estudiaron diez mujeres con infertilidad cuya etiología era desconocida y que presentaban como característica común que las concentraciones plasmáticas de esteroides sexuales y de gonadotrofinas eran similares a las de mujeres fértiles, además de que los estudios ginecológicos, al ser normales, no habían permitido establecer un diagnóstico. El metabolismo endometrial en la fase proliferativa fue normal cuando se comparó con el grupo control, mientras que el metabolismo secretor fue deficiente o menor cuando se comparó con ese mismo grupo. Hubo disminución en la actividad del ciclo de las pentosas en el grupo infértil en ambas fases del ciclo. Basados en el hecho de que la administración de 5 µg de estradiol en una dosis simple es capaz de elevar la concentración de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa endometrial y como consecuencia el ciclo de las pentosas en ratas, Pedrón y col.²⁶ utilizaron terapia sustitutiva administrando etinil estradiol por un lado y citrato de clomifén por otro al grupo de pacientes infértiles antes mencionado, demostrando que si bien con esta terapia se incrementa la actividad del ciclo de las pentosas, no es capaz de mejorar la eficiencia energética en general (glicólisis) ni de resolver el problema de la infertilidad, por lo cual es factible que se requiera otro tipo de terapéutica para lograr la fertilidad en este grupo de pacientes. En el cuadro 4 se presentan algunas características metabólicas del endometrio humano de pacientes infértiles y se comparan con un grupo control de mujeres fértiles.

Finalmente, los importantes hallazgos experimentales comunicados hasta la actualidad en relación con el modo de acción de los diversos anticonceptivos, señalan la inducción de modificaciones bioquímicas que van desde la posibilidad de provocar modificaciones compatibles con lesiones precancerosas hasta la posibilidad prácticamente inocua de interferir con la implantación.^{56,57}

Líquidos uterinos

Durante las diversas fases del ciclo reproductivo de las diferentes hembras de mamífero se producen secreciones que se acumulan en el lumen uterino, y que al igual que el resto de las secreciones genitales presentan continuamente modificaciones en sus características bioquímicas (volumen, viscosidad, concentración y variedad de sus constituyentes).

Dado que una de las funciones primordiales que se llevan a cabo en la cavidad uterina es la implantación (cuadro 1), es evidente que el *milieu* es decisivo en la realización de este proceso.

En todas las especies estudiadas, incluyendo al hombre, la ovulación se asocia con la producción de secreciones de baja viscosidad, abundantes y con un alto contenido de proteínas.⁵⁸ La función

física de estas secreciones es dilatar el *lumen* uterino, permitiendo así que el espermatozoide pueda progresar hacia la unión útero-tubaria. Por otro lado, en cuanto a su función fisiológica, se ha considerado que mientras el gameto masculino está suspendido en estos líquidos, se inducen las primeras etapas de la capacitación.⁵⁹

Durante el embarazo temprano, el útero produce un segundo tipo de secreciones, las cuales sirven para mantener e inducir la actividad del blastocisto en las etapas previas a la implantación, estimulando el crecimiento embrionario.⁶⁰

Si bien es evidente la regulación hormonal de las características de las secreciones uterinas, en la actualidad se considera que el blastocito preimplantado influye de manera determinante sobre las actividades secretoras del endometrio. Este aspecto se encuentra apoyado en la observación de que en la mujer la cantidad de proteínas liberadas hacia el *lumen* uterino durante la fase lútea, en los ciclos en que no hay embarazo, es mínima.⁵⁹ Se requiere la presencia del blastocisto para lograr una actividad secretora total en el útero humano.

A continuación se analizarán los principales constituyentes del líquido uterino.

Proteínas

Las secreciones uterinas se integran por proteínas de origen sérico que son transudadas hacia el *lumen*, así como de proteínas sintetizadas y secretadas por el tejido endometrial. En el caso de las primeras, se ha demostrado que hasta 90 por ciento de las macromoléculas totales de los líquidos uterinos de coneja son de origen sérico, presentando la rata una proporción menor. A diferencia de lo anterior, las diversas proteínas uteroespecíficas aparecen fundamentalmente asociadas al embarazo temprano, requiriéndose para su biosíntesis y secreción, de la participación sinérgica de estrógenos y progesterona.³³

La aparición de proteínas de origen endometrial en las secreciones uterinas se presenta desde que se inicia el transporte del óvulo, incrementándose paralelamente al desarrollo del huevo preimplantado. Diversos autores han considerado que pudiesen ser esenciales "para el crecimiento o diferenciación del embrión", presentando modificaciones en sus características, en casos de implantación tardía.⁶¹ Entre las proteínas uteroespecíficas destaca de manera predominante la uteroglobina,^{23,62} que es secretada por el epitelio glandular, debido a una estimulación inducida por progesterona que activa la síntesis de blastocinina a nivel transcripcional. Las características fundamentales de la uteroglobina han sido descritas recientemente por Collado y col.⁶² Torkkeli y col. han comunicado la presencia, en la coneja, de una proteína de origen pulmonar, que tiene las mismas características químicas e inmunológicas que la uteroglobina, difiriendo exclusivamente en que su síntesis es inducida por corticosteroides⁶³ y no por progesterona, como es el caso de la de origen uterino.⁶²

Si bien la uteroglobina es una proteína en que se induce su síntesis en respuesta a la concentra-

ción de progesterona, también se ha descrito una proteína (IP) que se correlaciona con la administración de estrógenos. Se requiere, sin embargo, la interacción sinérgica y secuencial de ambas hormonas esteroides, ya que sólo se puede obtener un patrón de proteínas similares a las que se encuentran durante el quinto día de embarazo en la rata,⁶³ cuando a animales ovariectomizados se les administran como terapia sustitutiva, ambas hormonas. Cuando se proporciona exclusivamente progesterona, no se sintetizan proteínas de alto peso molecular.⁶¹

Estas proteínas pudiesen influir sobre el metabolismo del embrión, al unirse a receptores membranales y así iniciar una serie de eventos que conducirán a aumento en la síntesis de RNA, DNA y proteínas, así como a una modificación en los niveles de nucleótidos cíclicos.⁶⁴

La mayoría de las proteínas de las secreciones uterinas (de 55 a 60%), son de bajo peso molecular (15-70 000) y sólo un pequeño porcentaje de más de 100 000, como es el caso de la alfa-macroglobulina y la beta-m-macroglobulina.

Enzimas

Las glucosidasas del líquido uterino han sido relacionadas con el proceso de implantación. En la vaca, se ha descrito la presencia de beta-n-acetil glucosaminidasa, beta-n-acetil galactosaminidasa y alfa-fucosidasa, siendo su actividad mayor a la del plasma sanguíneo del mismo animal.⁶⁵ Estas mismas enzimas presentan una actividad pobre en las secreciones humanas. No son hormono-dependientes,⁶⁶ por lo que se ha considerado que su función debe relacionarse con el tipo de placentación, ya que en el humano es hemocorial, ocurriendo aproximadamente el día 7 de embarazo, mientras que en la vaca, este fenómeno se presenta el día 30 y su placentación es sindesmocorial, aceptándose que las glicosidasas actúan sobre el embrión humano y no sobre el endometrio.

El papel funcional de estas enzimas está aún por ser dilucidado, ya que hemos demostrado en la rata que existe un cambio en la población de carbohidratos del sitio de implantación y que si se bloquean algunos de ellos, no se verifica la implantación.⁶⁷ Este cambio en los carbohidratos de superficie en la diferenciación de la superficie del sitio de implante se puede explicar por la acción de este tipo de enzimas.

Aminoácidos libres

La concentración de alfa-aminoácidos en las secreciones genitales varía en las diversas especies estudiadas, así como en función de las diversas fases del ciclo sexual. Exhibe regulación endocrina⁵⁹ y presenta un notorio incremento en su concentración durante los primeros días del embarazo.

El blastocisto de mamífero es incapaz de absorber las proteínas necesarias para su desarrollo, por lo que requiere utilizar compuestos nitrogenados

de bajo peso molecular (aminoácidos), los cuales una vez absorbidos, son convertidos en proteínas embrionarias.⁶⁸ La cantidad relativa existente en el líquido uterino no siempre corresponde a las necesidades requeridas por el blastocisto. Así por ejemplo, la alanina que se encuentra en abundancia, no tiene efecto importante sobre el crecimiento del blastocisto *in vitro*. En cambio, la histidina, metionina, fenilalanina, treonina y tirosina, que se encuentran en pequeñas cantidades en los líquidos genitales, son esenciales para su desarrollo embrionario, siendo regulada hormonalmente su concentración.⁶⁹

Carbohidratos

Entre los metabolitos esenciales que requieren las células con el fin de mantener su metabolismo oxidativo, destacan de manera preponderante la glucosa, la cual, en el caso del líquido uterino, presenta fluctuaciones en su concentración durante el ciclo sexual en las diferentes especies estudiadas. Así por ejemplo, en la mujer, alcanza su máxima concentración entre los días 14 y 16 del ciclo menstrual, reflejándose el aumento incluso en el moco cervical.⁷⁰

La presencia de fructosa en las secreciones del tracto reproductor ha sido siempre una interrogante para el estudioso de la biología de la reproducción y las secreciones uterinas no escapan de la presencia de esta cetohexosa, la cual se encuentra en una concentración de 6 a 20 mg/100 ml, teniendo una tendencia a aumentar su concentración en la fase postovulatoria, razón por la que es posible considerar la importancia que pudiese tener como sustrato durante la preimplantación.^{70,71}

Se ha demostrado que la glucosa es el carbohidrato que se encuentra en mayor concentración en los líquidos genitales de la rata, coneja, vaca y oveja. En la puerca existe una concentración mayor de fructosa en la fase tardía del estro, la cual se ha relacionado como necesaria para suplir la baja concentración de fructosa en el plasma seminal y permitir que el espermatozoide de esta especie animal pueda concluir la fertilización.⁷²

Composición iónica

Entre las características más importantes referentes a la composición iónica de estas secreciones, destaca la relación de concentraciones sodio-potasio, habiéndose demostrado que una alta concentración de potasio en el líquido uterino de la rata se presenta al tiempo de la implantación (45.8 mmol/l) o el pseudoembarazo (46.2 mmol/l),⁷³ mientras que durante el ciclo estral la concentración es de 35.13 mmol/l. De manera similar, en el líquido uterino humano el potasio se encuentra a mayor concentración en la fase lútea, cuando se compara con la fase proliferativa. Sin embargo, a pesar de estos cambios tan importantes en la con-

centración de sodio y potasio, es difícil por el momento poder establecer una clara correlación con el proceso de implantación, ya que a pesar de haberse comunicado modificaciones importantes en la relación sodio-potasio durante los procesos reproductores, los diversos autores presentan datos muy contradictorios;⁷⁴ se acepta sin embargo la clara participación hormonal en la regulación de las concentraciones de sodio y potasio. En animales ovariectomizados, el 17 β -estradiol induce secreción de sodio, potasio y agua hacia el *lumen* uterino, mientras que la progesterona causa reabsorción de las sustancias.⁷⁵

La concentración de zinc en el endometrio de la cierva se mantiene constantemente alto durante el proceso de implantación tardía, mientras que en los líquidos uterinos presenta una concentración uniformemente baja. Parece prevalecer un interesante proceso de retención del catión, mientras que el calcio tiene en el endometrio un aumento significativo durante el proceso de implantación tardía, teniendo una respuesta similar el líquido uterino.⁷⁶ Sin embargo, la participación del calcio y del zinc en el proceso de implantación no ha sido claramente estudiada, sabiéndose solamente que la presencia de metales divalentes que puedan competir con los sitios moleculares del calcio o del zinc, como es el caso del cobre proveniente de dispositivos, puede provocar inhibición en el proceso de implantación al alterar el medio iónico del líquido uterino.⁷⁶ Por otro lado, se ha demostrado que el metabolismo del zinc endometrial se encuentra bajo el control de la progesterona, ya que en la mujer y en la coneja el zinc alcanza su máxima concentración durante la fase lútea, mientras que la regresión del cuerpo lúteo se asocia con la disminución en la concentración de zinc endometrial.

La función del zinc en el endometrio no es bien conocida por el momento, pero se ha sugerido que pudiera desempeñar un importante papel en la unión de hormonas esteroides y particularmente el 17 β -estradiol a la proteína receptora en el endometrio. Una pequeña parte del zinc puede ser incorporada en algunas enzimas zinc-dependientes, como es el caso de la anhidrasa carbónica, debiendo existir un estricto control en el transporte de zinc del endometrio hacia el *lumen* uterino, ya que altas concentraciones de zinc intraluminal, inhiben la implantación del blastocisto.⁷⁷ En cuanto al catión calcio, se ha considerado que los valores altos observados durante la fase de rápido crecimiento embrionario, pudieran asociarse con el aumento en la vascularidad y el edema que se presenta en el útero en ese momento.

Hormonas

Entre las características de composición química más importantes del líquido uterino durante el embarazo, se encuentran las altas concentraciones de calcio, prostaglandina F_{2a} (PGF_{2a}) y de progesterona.⁷⁸ En la oveja y en algunos subprimates se

produce una sustancia luteolítica de origen uterino que ha sido identificada como PGF_2 .

El 17β -estradiol es capaz de inducir la liberación de $\text{PGF}_{2\alpha}$, mientras que la indometacina la inhibe, sugiriéndose que el mecanismo mediante el cual los estrógenos incrementan la liberación de prostaglandinas involucra una síntesis *de novo* de la hormona y que no se trata únicamente de un fenómeno de liberación. El embrión es capaz de producir moléculas inhibitorias de la liberación de esta prostaglandina.

En 1977, Sharma y Garg⁸⁰ demostraron que la administración de 17β -estradiol es capaz de inducir un aumento en la concentración de prostaglandinas uterinas, aun en la rata ovariectomizada. La significación de este aumento no es clara, ya que en la rata las prostaglandinas de tipo E aumentan la permeabilidad capilar, mientras que las del tipo F son vasoconstrictoras, disminuyendo la permeabilidad.⁸¹ En los experimentos antes mencionados se elevan ambas ante la administración de estrógenos, considerándose que aunque existe aumento en su concentración, la proporción en que son liberadas al líquido uterino es diferente y que pueden, de esa manera ejercer un mecanismo de control sobre los procesos de permeabilidad en el útero al momento de la implantación, pudiendo incluso relacionarse con el mecanismo que permite la reacción del azul de pontamina, misma que se utiliza en la detección del sitio de implantación.⁸² Por otro lado, aun en ausencia del embarazo, se presentan fluctuaciones importantes en las concentraciones de prostaglandinas en los líquidos uterinos de la vaca,⁸³ coincidiendo los valores más altos con el periodo de luteolisis.

En cuanto a la concentración de hormonas esteroideas, como ya se ha mencionado anteriormente en la coneja la progesterona presenta niveles tan altos como 68 ng/l, el día 4-5 del pseudoembarazo, mientras que en ese momento la concentración plasmática es de 10.6 ug/l.⁸⁴ La progesterona es transportada por la uteroglobina hacia el embrión, en el cual se aromatiza y se transforma en estrógenos, los cuales deben participar en el estímulo luteotrófico, pudiendo desempeñar también un importante papel como signo local del blastocisto al endometrio.²³

Si bien el líquido uterino es indispensable para que se lleve a cabo la implantación, en los días posteriores a este proceso se modifican sus características bioquímicas, tornándose hostil para el embrión que para entonces no se hubiese implantado. En la actualidad no se ha aislado la molécula responsable de este efecto.

Trompa de Falopio

El oviducto de mamífero ha sido considerado de manera tradicional como la porción del tracto genital femenino que tiene como función primordial permitir el transporte del espermatozoide hacia el sitio de fertilización, así como del óvulo ya fertilizado hacia la cavidad uterina, siendo de interés para el clínico el diagnosticar las características de

permeabilidad tubaria, con el fin de considerar la posible etiología de casos de infertilidad.

Una vez captado el óvulo proveniente del ovario, es transportado primero hacia el sitio de fertilización y posteriormente el cigoto resultante a la cavidad uterina. El tiempo de transporte es similar en las diferentes especies de mamífero. En el caso de la mujer se caracteriza por una retención en el ampulla (aproximadamente 72 horas), seguido de un tránsito rápido al través del istmo, siendo liberado en la cavidad uterina aproximadamente 80 horas después de la puesta ovular⁸⁵ (fig. 1). La participación de los cilios del epitelio tubario en el transporte del cigoto humano es muy discutible, a pesar de que la esterilización quirúrgica (salpingoclasia) o incluso la anticoncepción utilizando DIU's diversos se acompaña a largo plazo de pérdida de las células ciliadas. Mujeres con el síndrome de inmovilidad ciliar son fértiles; este síndrome se acompaña de bronquitis, rinitis y sinusitis frecuentes y se debe a la falta de dineína ciliar (síndrome de Kartagener). El aumento o disminución del óvulo o del cigoto pudiere ofrecer perspectivas anticonceptivas promisorias.

Líquido tubario

Se analizarán brevemente las funciones que se presentan en el cuadro I y posteriormente se estudiará la composición bioquímica del líquido tubario.

Capacitación

El espermatozoide, al ser eyaculado, inicia su transporte hacia el oviducto ejerciendo su primer interacción con las células de la mucosa uterina, las cuales presentan modificaciones metabólicas que han sido consideradas como el inicio de la diferenciación endometrial de la preimplantación.^{59,86} A su vez, en el gameto masculino se inicia la aparición de modificaciones morfológicas y funcionales, mismas que al ser concluidas en su totalidad, permitirán al espermatozoide fertilizar el óvulo. A este proceso, que se inicia en el endometrio y que se completa en el oviducto, se le denomina "capacitación",^{46,47} requiriéndose evidentemente la presencia del líquido tubario, el cual facilitara el transporte del gameto masculino y asegurara el mantenimiento de la viabilidad del espermatozoide en el oviducto, proporcionando características fisicoquímicas adecuadas, así como sustratos (glucosa, lactato y piruvato).⁸⁷

Fertilización

Una vez que el espermatozoide ha sido capacitado se presenta el primer estadio de la fertilización, que es la unión del espermatozoide a receptores específicos de la zona pelúcida, considerándose que este fenómeno es independiente de factores tubarios, ya que es posible inducir esta adhesión, utilizando como vehículo un medio sintético como es

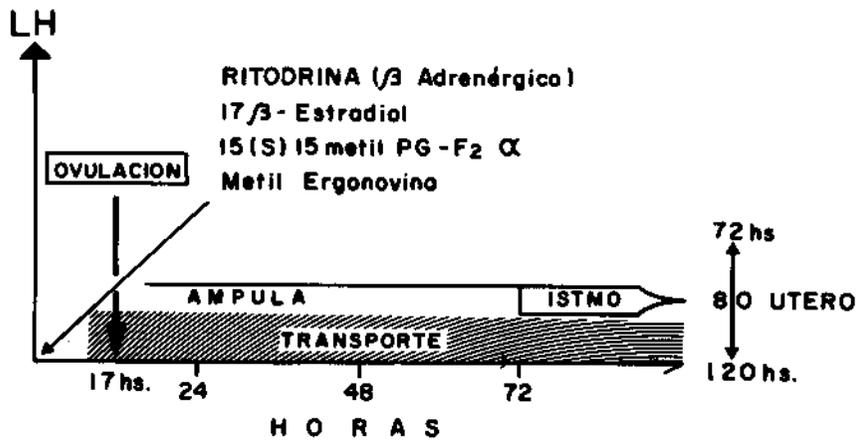


Fig. 1. En el humano la ruptura del folículo ovárico ocurre 17 horas después del pico de LH, iniciándose el transporte del óvulo o del cigoto en casos de fertilización. El transporte presenta una fase lenta (ámpula) que dura aproximadamente 72 horas y una rápida (istmo) que dura cerca de 8 horas. La modificación en el transporte, acelerándolo (menos de 72 h) o retardándolo (más de 120 h) son incompatibles con la implantación, ya que el medio uterino no es propicio. El uso de las sustancias indicadas en la figura no modifica el transporte.

neja parece ser un factor dializable y termoestable, que ha sido identificado como bicarbonato,⁹¹ el cual aumenta en el líquido tubario inmediatamente después a la ovulación. Por otro lado, Collado y col.⁶⁹ han demostrado que la presencia del espermatozoide en el tracto genital de la coneja induce un incremento en la actividad de las isoenzimas B y C de la anhidrasa carbónica endometrial, cuya acción catalítica permite un aumento en la concentración de bicarbonato y como consecuencia, facilita la posibilidad de que la corona radiada sea desprendida por este factor tubario.

Algunos autores han considerado que la presencia del embrión, así como los diferentes estadios de su desarrollo, se asocian con un cambio en la naturaleza de las secreciones tubarias. En la coneja, por ejemplo, se ha demostrado que al presentarse el embarazo, se secreta una molécula que facilita el desarrollo embrionario, mientras que cuando no hay embarazo, existe en la secreción tubaria un inhibidor de este proceso, el cual es estrógeno-dependiente, requiriéndose su remoción de los líquidos tubarios.⁹² Una molécula similar ha sido demostrada en la ratona. La participación fisiológica precisa de este inhibidor no es clara; sin embargo, se ha sugerido que sirven para retardar los eventos iniciales de la diferenciación después de la fertilización, lo cual permite una adecuada sincronía entre el desarrollo endometrial y el transporte del huevo.

Protección del cigoto

Otra posible función de las secreciones oviductales se relaciona con la protección del cigoto ante la respuesta inmunomaterna. Utilizando la prueba de inhibición de la roseta, se ha demostrado la aparición de un factor inmunosupresor en el suero de la ratona, seis horas después del coito.⁹³ Es indudable que concentraciones significativas de este factor no pueden ser producidas por el huevo en diferenciación, por lo cual se acepta que es sintetizado por el oviducto en respuesta a la presencia del cigoto, la cual también puede inducir au-

el M-199 enriquecido con albúmina serobovina.⁸⁸ La etapa subsiguiente de penetración de la zona pelúcida por el espermatozoide parece estar influida directamente por las secreciones oviductales, las cuales inducen en el gameto masculino la reacción acrosomal, que permite la exposición de una enzima que se encuentra en la membrana interna del acrosoma y tiene actividad trípica (acrosina).⁸⁹ Esta enzima cataliza la lisis de la zona pelúcida, facilitando el paso del espermatozoide. Utilizando inhibidores de esta enzima, es posible inhibir la fertilización, tanto *in vitro* como *in vivo*.⁹⁰

En varias especies animales se ha demostrado la presencia, en las secreciones tubarias, de inhibidores de la actividad proteolítica. En el mono se han identificado un total de seis inhibidores, de los cuales dos de ellos se originan por transudación del plasma sanguíneo. La posible participación fisiológica de estos inhibidores pudiera ser la de impedir la fertilización en los estadios del ciclo alejados de la ovulación, impidiendo que se presente una asincronía entre la fertilización y la implantación. Por otro lado, también puede considerarse que estas sustancias disminuyen el riesgo de fertilización de óvulos viejos, evitando de esta manera la presencia frecuente de anomalías genéticas.

Otro evento fisiológico asociado con la fertilización en que se acepta la participación de las secreciones tubarias, es aquel que se relaciona con la pérdida de la corona radiada. En el caso de la co-

mento en la incorporación de timidina en el oviducto de la ratona, estableciéndose así una interacción huevo-oviducto similar a la que se presenta entre el espermatozoide y el endometrio.^{58,56}

Dependiendo de las diversas condiciones fisiológicas, las secreciones oviductales presentan clínicamente cambios en volumen y viscosidad, así como en la concentración de sus constituyentes. Entre las modificaciones fisicoquímicas que ocurren durante la preimplantación, se presentan modificaciones en el contenido de electrolitos, carbohidratos, aminoácidos, mucosustancias, proteínas, ácidos nucleicos y hormonas, siendo estos cambios característicos en las distintas especies animales.⁹⁴

En lo que respecta al pH del fluido oviductal, también se han descrito diferencias importantes, incluso entre las diferentes porciones del oviducto, en el que se presenta disminución en el gradiente de pH del infundíbulo hacia el istmo oviductal.

Composición química

Al analizarse la composición química del líquido oviductal humano, se ha podido demostrar que el líquido tubario se forma debido a una continua secreción del epitelio, así como a transudación a partir del sistema vascular,⁹⁵ siendo muy similar al plasma sanguíneo en el contenido de iones; en contraste, el contenido total de aminoácidos es cuatro veces menor en el líquido oviductal, en el que se ha demostrado la presencia de 23 aminoácidos libres,⁹⁶ existiendo linealidad en el transporte de los mismos a partir del plasma sanguíneo. Los aminoácidos neutros parecen exhibir facilitación en su transporte después de la ovulación, no conociéndose el significado preciso de esta observación.

Presentando características similares de transporte, han sido comunicadas las concentraciones de glucosa, piruvato y lactato,⁹⁷ demostrándose que la enzima lactato deshidrogenasa se encuentra presente en el líquido tubario, regulando de manera importante las concentraciones de piruvato y lactato.

Los niveles de prostaglandina $F_{2\alpha}$ han sido medidos por radioinmunoensayo en diversas regiones del oviducto de la coneja,⁹⁷ considerándose que influye de manera muy importante en el transporte del huevo, estableciéndose un equilibrio entre las concentraciones de las prostaglandinas F y E. En la mujer, la concentración de prostaglandina $F_{2\alpha}$, es diez veces mayor en el líquido oviductal (5.0 ng/l) que en el plasma (0.5 ng/l).²⁰ Su localización es muy particular, ya que se encuentra en la superficie del epitelio oviductal antes de la ovulación y en la lámina propia después de la misma, pudiendo correlacionarse con los hallazgos de Croxatto y col.⁸⁵

Entre otras moléculas que pueden ser utilizadas como sustratos para el huevo y para el espermatozoide, se ha demostrado la presencia de colina y glicerofosforilcolina, así como de la esterasa, responsable de liberar a la primera molécula.⁹⁸

Proteínas. A pesar de que la mayor parte de estas

macromoléculas provienen del plasma sanguíneo se ha podido demostrar, utilizando técnicas electroforéticas, que el líquido oviductal presenta una composición proteínica muy diferente a la del plasma sanguíneo.⁸⁶ Sin embargo, la excepción parece estar representada por la albúmina y la transferrina, que presentan proporciones y características similares al suero.

Por otro lado, se ha descrito una proteína de forma cónica que se encuentra tanto en el líquido uterino como en el oviductal, teniendo como disparidad que su síntesis está regulada de manera distinta, siendo los estrógenos los inductores en el caso del líquido oviductal y la progesterona para el del uterino. Se desconoce hasta el momento la posible participación o función que pudiera tener en el proceso reproductivo.⁹⁰

Al analizar las características de las proteínas transudadas, se ha demostrado que no existe cambio en la concentración de ellas en función a la influencia hormonal, presentando únicamente cambios aparentes en el contenido total que se pueden explicar fundamentalmente por disminución en el contenido de agua, debido al efecto de la progesterona.⁹⁹

Hormonas. Como se ha mencionado anteriormente, la motilidad tubaria se encuentra regulada por prostaglandinas, las cuales influyen directamente sobre el transporte del cigoto. Sin embargo, es pertinente ampliar algunos aspectos relacionados con esta función, ya que la presencia, en los líquidos tubarios, de hormonas ováricas, ha permitido incorporar nuevos elementos en la regulación de la motilidad tubaria y como consecuencia, del transporte del huevo. En la actualidad se consideran tres tipos de moléculas relacionadas con este proceso: prostaglandinas, hormonas ováricas y neurotransmisores¹⁰⁰ (fig. 1).

Después de la ovulación se presenta en el líquido tubario un incremento en las concentraciones de estrona, testosterona y progesterona, concomitante con una disminución en los niveles de 17β -estradiol y de androstenediona.¹⁰⁰ Por otro lado, al compararse la concentración de estos esteroides en plasma sanguíneo y en el líquido tubario, los niveles en oviducto son mayores en más de diez veces.¹⁰⁰ Con base en estos resultados, se considera que debe existir un mecanismo de transporte activo que permita el que los esteroides se concentren en el líquido oviductal, debiendo participar en varias de las funciones reproductoras que se suscitan en el oviducto.

La participación de los esteroides sexuales en la regulación del transporte del óvulo en la trompa, ha sido motivo de particular interés para considerar perspectivas anticonceptivas, al través de retardar el transporte y como consecuencia la llegada del blastocisto a la cavidad uterina. De esta manera la implantación no se llevaría al cabo. Por otro lado, acelerando el transporte sería factible que el blastocisto llegara prematuramente a la cavidad uterina y que por lo tanto, las condiciones ambientales no sean propicias para la implantación. Recientemente se ha demostrado que los es-

trógenos ejercen una acción directa en el oviducto durante el transporte del embrión, demostrándose que el día 4 del embarazo en la rata se presenta una elevación de los niveles plasmáticos de estrógenos, concomitante con un aumento en los receptores nucleares a estas hormonas, que se presentan cuatro a cinco horas antes de que el primer huevo alcance la cavidad uterina (fig. 1). La concentración estrogénica es tres veces mayor a la concentración basal, retornando a los niveles basales cuando 30 por ciento de los cigotos ha alcanzado la cavidad uterina, lo cual implica que se debe a un efecto directo sobre receptores a estrógenos en la trompa de Falopio.¹⁰¹

Siendo la endocrinología y la ginecología expresiones a nivel clínico del funcionamiento bioquímico, matizados de componentes diagnósticos y terapéuticos, es indudable que el avance en el conocimiento de la fisiología molecular del tracto genital femenino redundará en mejores perspectivas en el diagnóstico y tratamiento de la infertilidad idiopática, así como diseño de mejores métodos anticonceptivos.

REFERENCIAS

- Davies, J.: *Comparative embryology*. En: *Cellular biology of the uterus*. Wynn, R. M. (Ed.). Appleton-Century-Crofts. 1967, p. 13.
- Reynolds, S. R. M.: *Perspective*. En *Op. cit.* en 1, p. 1.
- Kartzman, P. A. y Larson, D. L.: *Effect of estradiol on metabolism of vaginal tissue*. En: *The steroids molecular mechanisms*. McKernz, K. W. (Ed.), Nueva York, Meredith Corp. 1971, p. 107.
- Hicks, J. J. y Pedrón, N.: *Métodos de regulación de la fertilidad. Cambios bioquímicos endometriales*. Ginec. Obstet. Méx. 35:611, 1974.
- Hajjar, J. J. y Mroch, A. M.: *Alanine transport across in vitro rabbit vagina*. Contraception 19:387, 1979.
- Gibor, Y.; Cohen, M. R. y Scomegna, A.: *Effect of continuous administration of small doses of chlormadinone acetate on the cervical mucus and post-coital test*. Fertil. Steril. 20:572, 1969.
- Gutiérrez-Nájar, A.; Giner-Velázquez, J. y Martínez-Manautou, J.: *Role of cervical mucus in contraception with the continuous chlormadinone acetate method*. En: *Advances in planned parenthood*. (Vol. 4). Sobrero, A. y Lewit, E. (Eds.). Amsterdam, Excerpta Medica Foundation. 1969, p. 97.
- Martínez-Manautou, J.; Cortéz, V.; Giner, J.; Aznar, R.; Casasoia, J. y Rudell, H. W.: *Low dose progesterone as an approach to fertility control*. Fertil. Steril. 17:49, 1969.
- Moghissi, K. S. y Marks, C.: *Effects of microdose norgestrel on endogenous gonadotropic and steroid hormones. Cervical mucus properties, vaginal cytology and endometrium*. Fertil. Steril. 22:424, 1971.
- Lebech, P. E.; Svendsen, P. A. y Ostergaard, E.: *The effect of small dose of megestrol acetate on the cervical mucus*. Int. J. Fertil. 15:65, 1970.
- Rosado, A.; Hicks, J. J.; Martínez-Zedillo, G.; Bondani, A. y Martínez-Manautou, J.: *Inhibition of human sperm motility by calcium and zinc ions*. Contraception 2:259, 1970.
- Lamond, D. R. y Shanahan, A. G.: *Chemical changes in cervical mucus from normal and ovariectomized cows treated with hormones*. Biol. Reprod. 1:335, 1969.
- Kopito, L. E.; Kosasky, H. J.; Sturgis, S. H.; Lieberman, B. L. y Shwachman, H.: *Water and electrolytes in human cervical mucus*. Fertil. Steril. 24:499, 1973.
- Kopito, L. E.; Kosasky, H. J. y Shwachman, H.: *Water and electrolytes in cervical mucus from patients with cystic fibrosis*. Fertil. Steril. 24:512, 1973.
- Gibbons, R. A. y Mattner, P.: *Some aspects of the chemistry of cervical mucus*. Int. J. Fertil. 11:366, 1966.
- Wetzel, V.; Sturm, G. y Daume, E.: *Gel isoelectric focusing experiments in the mucus of human midcycle cervical mucus*. Fertil. Steril. 25:15, 1974.
- Raffi, R. O.; Moghissi, K. S. y Sacco, A. G.: *Proteins of human vaginal fluid*. Fertil. Steril. 28:1345, 1977.
- Tjokronegoro, A. y Sirisinha, A.: *Quantitative analysis of immunoglobins and albumin in secretions of female reproductive tract*. Fertil. Steril. 26:413, 1975.
- Sheth, A. R.; Vaidya, R. A. y Raiker, R. S.: *Presence of prolactin in human cervical mucus*. Fertil. Steril. 27:397, 1976.
- Velázquez-Ramírez, A.; Vilar-Rojas, C. y Hicks, J. J.: *Similar effects of prolactin and dbcAMP upon human spermatozoa metabolism*. Int. J. Androl. 3:23, 1980.
- Peulrón, N. y Giner, J.: *Effect of prolactin on the glycolytic metabolism of spermatozoa from infertile subjects*. Fertil. Steril. 29:428, 1978.
- Hicks, J. J.: *La regulación de la implantación como método anticonceptivo*. GAC. Méd. Méx. 116:318, 1980.
- Hicks, J. J.: *Regulación endócrina de la implantación del cigoto de mamífero*. GAC. Méd. Méx. 117:510, 1981.
- Vilar-Rojas, C.; Ruiz de Chávez, I.; González-Angulo, A. y Hicks, J. J.: *Inhibition of implantation by the intrauterine administration of phospholipases in the rat*. Contraception 25:107, 1981.
- Pedrón, N.; Aznar, R. y Hicks, J. J.: *Oxidative metabolism of the human endometrium. I. Idiopathic primary sterility*. Infertility 1:259, 1978.
- Pedrón, N.; Aznar, R. y Hicks, J. J.: *Oxidative metabolism of human endometrium. II. Effect of clomiphene and ethynyl estradiol*. Infertility 2:165, 1979.
- Joshi, S. G.: *Effects of an intrauterine foreign body on glycogen accumulation and lysosomal enzyme activity in rat uterus*. J. Reprod. Fertil. 19:170, 1969.
- Halla, H. H.; Sedlis, A.; Chabon, I. y Stone, M.: *Effect of intrauterine stainless steel ring on endometrial structure and function*. Am. J. Obstet. Gynecol. 93:1031, 1965.
- Rosado, A.; Hicks, J. J.; Aznar, R. y Martínez-Manautou, J.: *Effect of the intrauterine contraceptive device upon the biochemical composition of human endometrium*. Am. J. Obstet. Gynecol. 114:88, 1972.
- Rosado, A.; Hicks, J. J.; Aznar, R. y Correu, S.: *Cambios bioquímicos producidos en el endometrio humano por el dispositivo intrauterino*. X Reunión An. Soc. Méx. Nutr. y Endocrinol. 1970, p. 389.
- Joshi, S. G. y Suján-Tejuja, S.: *Biochemistry on the human endometrium in users of the intrauterine contraceptive device*. Fertil. Steril. 20:98, 1969.
- Milgrom, E.; Atger, M.; Perrot, M. y Bauliém, E. E.: *Progesterone in uterus and plasma. VI. Uterine progesterone receptors during the estrus cycle and implantation in the guinea pig*. Endocrinology 90:1071, 1972.
- Gil-Recasens, M. E.; Collado, M. L. y Hicks, J. J.: *Nuevos conceptos relacionados con la implantación. II. Reacción decidual*. Ginec. Obstet. Méx. 44:211, 1978.
- Salazar-Rubio, M.; Gil-Recasens, M. E.; Hicks, J. J. y González-Angulo, A.: *Estudio citoquímico de alta resolución de la mucosa uterina de la rata en sitios previos al contacto entre blastocisto y endometrio*. Arch. Invest. Méd. (Méx.), 11:117, 1980.
- Hudson, R.; Hemphill, P. y Tillson, S. A.: *Preclinical evaluation of intrauterine progesterone as a contraceptive agent. I. Local contraceptive effects and their reversal*. Contraception 17:465, 1978.
- Hudson, R.; Pharriss, B. B. y Tillson, S. A.: *Preclinical evaluation of intrauterine progesterone as a contraceptive agent. III. Embryology and toxicology*. Contraception 17:489, 1978.
- Tillson, S. A.; Hudson, R.; Swisher, D. y Leong, P.: *Preclinical evaluation of intrauterine progesterone as a contraceptive agent. II. Possible mechanisms of action*. Contraception 17:475, 1978.
- Rosado, A.; Hicks, J. J.; Aznar, R. y Mercado, E.: *Intrauterine contraception with the progesterone-T device*.

- Interference with the metabolic activity and capacitation of spermatozoa. *Contraception* 9:39, 1973.
39. Liedholm, P.; Sjöberg, N. O.; Srivastava, K. y Astedt, B.: *No increase of the fibrinolytic activity of the human endometrium by progesterone-releasing IUD (Progestasert®)*. *Contraception* 17:531, 1978.
 40. Pedrón, N.; Lozano, M. y Aznar, R.: *Tratamiento de la hipermenorrea con ácido mefenámico en mujeres usuarias de DIU's*. XIX Reunión Anual AMEFRH. Chapala. 1982.
 41. Rubanyi, G. y Balogh, I.: *Effect of nickel on uterine contraction and ultrastructure in the rat*. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 142:1016, 1982.
 42. Rubanyi, G.; Birtalan, I.; Gergely, A. y Kovach, A. G. B.: *Serum nickel concentration in women during pregnancy, during parturition, and post partum*. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 143:167, 1982.
 43. Hagenfeldt, K.; Plantín, O. y Diczfalusy, E.: *Trace elements in the human endometrium*. *Acta Endocrinol.* 65:541, 1970.
 44. Hagenfeldt, K.: *Intrauterine contraception with the copper-T device. I. Effect on trace elements in the endometrium, cervical mucus and plasma*. *Contraception* 6:37, 1972.
 45. Hernández, O.; Aznar, R.; Hicks, J. J.; Ballesteros, L. M. y Rosado, A.: *Subcellular distribution of trace metals in the normal and in the copper treated human secretory endometrium*. *Contraception* 11:451, 1975.
 46. Chang, M. C.: *Fertilizing capacity of spermatozoa deposited into the fallopian tubes*. *Nature (London)* 168:697, 1951.
 47. Austin, C. R.: *Observation on the penetration of the sperm into the mammalian egg*. *Aust. J. Sci. Res. Ser. B* 4:581, 1951.
 48. Hicks, J. J.; Martínez-Manautou, J.; Pedrón, N. y Rosado, A.: *Metabolic changes in human spermatozoa related to capacitation*. *Fertil. Steril.* 23:172, 1972.
 49. Hicks, J. J.; Pedrón, N. y Rosado, A.: *Modifications of human spermatozoa glycolysis by cyclic adenosine monophosphate (cAMP), estrogens and follicular fluid*. *Fertil. Steril.* 23:886, 1972.
 50. Rosado, A.; Hicks, J. J.; Aznar, R. y Mercado, E.: *Intrauterine contraception with the progesterone-T device*. *Contraception* 9:39, 1973.
 51. Cappola, J. A. y Ball, S. L.: *Uterine sialic acid in relation to ovarian steroids*. *Steroids* 8:345, 1966.
 52. Boveris, A. y Stoppan, A. O. M.: *Inhibition of electron and energy transfer in mitochondria by VTnor-ethynyltestosterone acetate*. *Arch. Biochem. Biophys.* 141:641, 1970.
 53. Vallejos, R. H. y Stoppan, A. O. M.: *Site-specific effects of steroids on mitochondrial metabolism*. *Biochem. Biophys. Acta* 131:295, 1967.
 54. Aleksandrowicz, Z.; Swierclynski, J. y Zelewski, L.: *Effect of progesterone on respiration and oxidative phosphorylation*. *Eur. J. Biochem.* 31:300, 1972.
 55. Tshibris, J. C. M.; Thomason, J. L.; Kunigk, A.; Khan-Dawood, F. S.; Kirschner, C. V. y Spellacy, W. N.: *Guaiacol peroxidase levels in human cervical mucus: a possible predictor of ovulation*. *Contraception* 25:59, 1981.
 56. Hicks, J. J. y Guzmán-González, A. M.: *Inhibition of implantation by intraluminal administration of concanavalin A in mice*. *Contraception* 20:129, 1979.
 57. Worth, A. J. y Boyer, D. A.: *A case control study into the possible effects of birth control pills on pre-clinical carcinoma of the cervix*. *J. Obstet. Gynecol. Brit. Comm.* 79:673, 1972.
 58. Hicks, J. J. y Collado, M. L.: *Nuevos conceptos relacionados con la implantación. IV. Función del moco cervical y el fluido endometrial*. *Ginec. Obstet. Méx.* 46:51, 1979.
 59. Collado, M. L.; Castro, G. y Hicks, J. J.: *Effect of spermatozoa upon carbonic anhydrase activity of rabbit endometrium*. *Biol. Reprod.* 20:747, 1979.
 60. Hicks, J. J. y Gil-Recasens, M. E.: *Características morfológicas y funcionales del cigoto de mamífero durante la preimplantación*. *Ginec. Obstet. Méx.* 47:275, 1980.
 61. McCarthy, S. M.; Foote, R. H. y Maurer, R. R.: *Embryomortality and altered uterine luminal proteins in progesterone treated rabbits*. *Fertil. Steril.* 28:101, 1977.
 62. Collado, M. L.; Gil-Recasens, M. E.; Castro-Osuna, G. y Hicks, J. J.: *Nuevos conceptos relacionados con la implantación. I. Periodo de preimplantación*. *Ginec. Obstet. Méx.* 44:63, 1978.
 63. Torkkeli, I.; Krusius, T. y Janne, O.: *Uterine and lung uteroglobins in the rabbit. Two similar proteins with differential hormonal regulation*. *Biochem. Biophys. Acta* 544:578, 1978.
 64. Vilar-Rojas, C.; Castro-Osuna, G. y Hicks, J. J.: *Cyclic AMP and cyclic GMP in the implantation site of the rat*. *Int. J. Fertil.* 27:56, 1982.
 65. Surani, M. A. H.: *Hormonal regulation of proteins in the uterine secretion of ovariectomized rats and the implications for implantation and embryonic diapause*. *J. Reprod. Fert.* 43:411, 1975.
 66. Roberts, G. P. y Parker, J. M.: *An investigation of enzymes and hormone-binding proteins in the luminal fluid of the bovine uterus*. *J. Reprod. Fert.* 40:305, 1974.
 67. Roberts, G. P.; Parker, J. M. y Henderson, S. R.: *Proteins in human uterine fluid*. *J. Reprod. Fert.* 48:153, 1976.
 68. Jaszczak, S. y Hafez, E. S. E.: *Free amino acids in uterine and blastocoelic fluids in the rabbit as affected by ovarian steroids*. *Int. J. Fertil.* 17:191, 1972.
 69. Jaszczak, S.; Hafez, E. S. E.; Moghissi, K. S. y Kurrie, D. A.: *Concentration gradients of amino acids between the uterine and blastocoelic fluid in the rabbit*. *Fertil. Steril.* 23:504, 1972.
 70. Jaszczak, S. y Hafez, E. S. E.: *Endocrine control of free amino acids content in uterine fluid in pregnant rabbits*. *Acta Endocrinol.* 70:409, 1972.
 71. Douglas, C. P.; Garrow, J. S. y Pugh, E. W.: *Investigation into the sugar content of endometrial secretion*. *J. Obstet. Gyn.* 77:891, 1970.
 72. Aitken, R. J.: *Uterine secretion of fructose in the roe deer*. *J. Reprod. Fert.* 46:439, 1976.
 73. Haynes, N. B. y Lamming, G. E.: *The carbohydrate content of sow uterine flushings*. *J. Reprod. Fert.* 14:335, 1967.
 74. Clemetson, C. A. B.; Kim, J. K.; Mallikarjuneswara, V. R. y Wilds, J. H.: *The sodium and potassium concentrations in the uterine fluid of the rat at the time of implantation*. *J. Endocr.* 54:417, 1972.
 75. Tantayaporn, P.; Mallikarjuneswara, R.; De Carlo, S. J. y Clemetson, A. B.: *The effects of estrogen and progesterone on the volume and electrolyte content of the uterine luminal fluid of the rat*. *Endocrinology* 95:1034, 1974.
 76. Clemetson, C. A. B.; Verma, U. L. y De Carlo, S. J.: *Secretion and reabsorption of uterine luminal fluid in rats*. *J. Reprod. Fert.* 49:183, 1977.
 77. Aitken, R. J.: *Calcium and zinc in the endometrium and uterine flushings of the roe deer (Capreolus capreolus) during delayed implantation*. *J. Reprod. Fert.* 40:333, 1974.
 78. Fujimoto, S. y Sundaram, K.: *The source of progesterone in rabbit blastocysts*. *J. Reprod. Fert.* 52:231, 1978.
 79. Harrison, R. B.; Poyser, H. y Poyser, N. L.: *Production, chemical composition and prostaglandin F_{2α} content of uterine fluid in pregnant sheep*. *J. Reprod. Fert.* 43:61, 1976.
 80. Sharma, S. C. y Garg, S. K.: *Measurement of prostaglandin E and F in the uterine tissue and uterine fluid of ovariectomized rats treated with various doses of oestradiol-17-β*. *J. Reprod. Fert.* 51:119, 1977.
 81. Kennedy, T. G.: *Prostaglandins and increases endometrial vascular permeability resulting from the application of an artificial stimulus to the uterus of the rat sensitized for the decidual cell reaction*. *Biol. Reprod.* 20:560, 1969.
 82. Gil-Recasens, M. E.; Collado, M. L. y Hicks, J. J.: *Nuevos conceptos relacionados con la implantación. III. Características bioquímicas*. *Ginec. Obstet. Méx.* 44:491, 1978.
 83. Lamothe, P.; Bousquet, D. y Guay, O.: *Cyclic variation of F prostaglandins in the uterine fluids of the cow*. *J. Reprod. Fert.* 50:381, 1977.
 84. Fowler, R. E.; Johnson, M. H.; Walters, D. E. y Pratt, H. P.: *The progesterone and protein composition of rabbit uterine flushings*. *J. Reprod. Fert.* 46:427, 1976.

85. Croxatto, H. B.; Ortiz, M. E.; Díaz, S.; Hess, R.; Balmaceda, J. y Croxatto, H.: *Studies on the duration of egg transport by the human oviduct. II. Ovum location at various intervals following luteinizing hormone peak.* Am. J. Obstet. Gynecol. 132:629, 1978.
86. Hicks, J. J.: *Effect of spermatozoa on the incorporation of precursors into endometrial macromolecules.* Reproduction 5:59, 1981.
87. Leese, H. J. y Aldrige, S.: *The movement of pyruvate, lactate and lactate dehydrogenase into rabbit oviductal fluid.* J. Reprod. Fert. 56:619, 1979.
88. Gwatkin, R. B. L.: *Fertilization mechanisms in man and mammals.* Nueva York, Plenum Press, 1977.
89. Yanaginachi, R. y Teichman, R. J.: *Cytochemical demonstration of acrosomal proteinase in mammalian and avian spermatozoa by a silver proteinase method.* Biol. Reprod. 6:87, 1972.
90. Zaneveld, L. J. D.; Robertson, R. T.; Kesler, M. y Williams, W. L.: *Inhibition of fertilization in vivo by pancreatic and seminal plasma trypsin inhibitors.* J. Reprod. Fert. 25:387, 1971.
91. Zamboni, L.; Hongsanand, H. y Mastroianni, L., Jr.: *Influence of tubal secretion on rabbit tubal ova.* Fert. Steril. 16:117, 1965.
92. Killie, J. W. y Hammer, C. E.: *The influence of oviductal fluid on the development of one-cell rabbit embryos in vitro.* J. Reprod. Fert. 35:415, 1973.
93. Morton, H.; Hegh, V. y Clunic, G. J. A.: *Immunosuppression detected in pregnant mice by rosette inhibition test.* Nature 249:459, 1974.
94. Hicks, J. J.: *Nuevos conceptos relacionados con la implantación. V. Función de los fluidos tubario y folicular.* Ginec. Obstet. Méx. 46:379, 1979.
95. Ammon, D.; Serr, D. M. y Czarnobilsky, B.: *Chemical composition of human oviduct fluid.* Fertil. Steril. 24:435, 1973.
96. Leese, H. J.; Aldrige, S. y Jeffries, K. S.: *The movement of amino acids into rabbit oviductal fluid.* J. Reprod. Fert. 56:623, 1979.
97. Swtantarta, S. O.; Keneth, T. K.; Thomas, B. T. y Lippes, J.: *Prostaglandins in the human fallopian tube.* Fertil. Steril. 25:250, 1974.
98. Iritani, A.; Gomes, W. R. y Vandemark, N. L.: *Secretion rates and chemical composition of oviduct and uterine fluids in ewes.* Biol. Reprod. 1:72, 1969.
99. Oliphant, G.; Bowling, A.; Ludeman, A. E.; Keen, S. y Randall, P. A.: *The permeability of rabbit oviduct proteins present in the serum.* Biol. Reprod. 18:516, 1978.
100. Wu, C. H.; Mastroianni, L. y Mikhail, G.: *Steroid hormones in monkey oviductal fluid.* Fertil. Steril. 28:1250, 1977.
101. Fuentealba, B.; Vera, R.; Nieto, M. y Croxatto, H. B.: *Changes in nuclear estrogen receptor level in the rat oviduct during ovum transport.* Biol. Reprod. 27:12, 1982.

ESTE SIMPOSIO CONSTA ADEMÁS DE LOS SIGUIENTES TRABAJOS:

- III. Periodos críticos hormonales y la regulación de la fertilidad. *Vicente Cortés-Gallegos.*
- IV. Aportaciones a la planificación familiar. *Alfredo J. Gallegos.*
- V. Conclusiones. *Amador González Angulo.*

Estos artículos aparecerán en el número 5, correspondiente al mes de mayo, del presente volumen 119 de la GACETA MÉDICA DE MÉXICO.