

# ESTUDIO HISTOQUIMICO DEL CICLO ENDOMETRIAL NORMAL EN LA MUJER COLOMBIANA\*

*Dr. Alberto Duarte-Contreras M.D.\*\**

## I - Introducción

La histoquímica es uno de los métodos más valiosos tanto en la investigación de la función endometrial normal como en el estudio del endometrio patológico y en la pesquisa de respuesta de órganos efectores a sustancias estimulantes o depresoras endógenas o exógenas.

A la investigación histoquímica se debe el prodigioso avance alcanzado últimamente en el conocimiento de la fisiología de tan importante complejo glándulo estromal cual es el endometrio, conocimiento que se ha consolidado con la aparición de la microscopía electrónica.

Algunos patólogos y ginecólogos, después del extraordinario trabajo de Noyes en 1950 sobre la morfología del endometrio en un ciclo normal (21), sostienen que el estudio histológico es suficiente de por sí para dilucidar todos los problemas endometriales tanto funcionales como orgánicos. Afortunadamente, a nuestro modo de ver, este criterio tiene cada día menos adeptos. Pero es lógico pensar que el estudio histoquímico endometrial no se puede tomar aislado del morfológico, con el cual corre parejas, ni en alteraciones orgánicas o funcionales, ni en respuestas de órganos efectores a elementos exó-

genos así sean biológicos, físicos o químicos.

Bien conocidos por nosotros son los trabajos de Arzac (1), de Atkinson (3) (4), de Botella y Nogales (5), de Boutselis (9), de McKay (20), de Vázquez (25) como los mejores en la literatura extranjera. En lo que concierne a nuestra bibliografía nacional, aparte de la tesis de grado de Rafael y Antonio Támara (24), no conocemos estudio diferente a uno presentado por nosotros al primer Simposio Colombiano de Investigaciones Hormonales - Esteroides Sexuales, suficientemente divulgado (12).

Nos hemos propuesto investigar el ciclo histoquímico endometrial de la mujer colombiana, de acuerdo a nuestras posibilidades, con miras a estudiar luego la respuesta de los efectores a sustancias hormonales exógenas. Y al presentar el resultado de nuestras investigaciones, queremos también hacer, de manera concomitante, un análisis del significado fi-

---

\* Trabajo presentado al VIII Congreso Colombiano de Obstetricia y Ginecología. Manizales, diciembre 4 de 1969.

\*\* Médico Jefe del Departamento de Gineco Obstetricia del Hospital San Juan de Dios. Cúcuta.

siológico de los elementos histoquímicos que hemos estudiado.

## II - Material y Métodos

Estudiamos 286 ciclos normales en 56 pacientes del Hospital San Juan de Dios y de nuestra clientela particular, procedentes de diferentes regiones del país, todas ellas fértiles, con una edad que oscila entre los 18 y los 36 años. Ninguna de estas pacientes había recibido en su vida tratamientos hormonales. Todas normorreicas y sin patología ginecológica aparente.

Tomamos las biopsias con la cureta de Novak en los dos tercios superiores del útero, conocidos como parte funcional endometrial, en días 8, 12, 15, 17, 19, 22, 24, 26 y 27 del ciclo.

Hicimos la coloración del carmín de Best y el PAS para la investigación del glucógeno. El PAS-azul de alcian para los mucopolisacáridos ácidos, y el Gomori para las glicerofosfatasa alcalinas.

## III - Hallazgos

Con muy pocas variantes los patrones obtenidos en la mayoría de los ciclos estudiados son los siguientes:

### 1º CARBOHIDRATOS.

#### A. GLUCOGENO.

De las sustancias hidrocarbonadas el polisacárido más abundante es el glucógeno, cuyo significado ha sido estudiado y discutido apasionadamente (6) (7) (8) (18) (19) (22).

Para investigar el glucógeno en los tejidos se usa desde 1906 el carmín amoniacal de Best, aun cuando hasta la fecha se desconoce el mecanismo íntimo de esta reacción, motivo

por el cual Pearse le llama "método empírico" (23): ello hace que tienda a ser abandonada hoy en día y que en su reemplazo se emplee cada vez con mayor frecuencia el método del PAS de McManus y Hotchikss (ácido peryódico Schiff).

El glucógeno hace un verdadero ciclo endometrial hormono-dependiente.

Durante la primera semana no se observa glucógeno en el endometrio; cuando lo llegamos a encontrar está localizado siempre en la luz glandular y se debe a influjo hormonal del ciclo anterior.

En las postrimerías de la segunda semana, días 12 y 13, pueden apreciarse algunos leves indicios de glucógeno hacia la basal del epitelio, lo que se puede explicar bien porque antes de la ovulación se producen mínimas cantidades de progesterona en el folículo maduro (26) o bien por la acción o la aplicación de estrógenos a altas dosis o por tiempo prolongado (25).

Al iniciarse la fase progestacional, tercera semana, se constituye una vacuola en el polo basal de las células (Fig. 1) cargada de material glucogénico (Fig. 2). Este glucógeno va emigrando en los siguientes días (18 a 20) hacia el polo mundial celular al mismo tiempo que los núcleos se van desplazando hacia la base (Fig. 3). Y en los días 21 y 22 está localizado en su totalidad sobre el polo mundial celular (Fig. 4).

Y finalmente en la cuarta semana se vierte todo el glucógeno dentro de la luz glandular junto con otros elementos de secreción (Fig. 5).

Las células del estroma endometrial también se cargan de glucógeno bajo el efecto de la progesterona, y

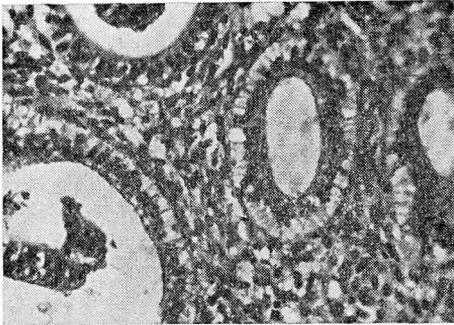


FIGURA 1 - H. E. 43 X

Glándulas del comienzo de la tercera semana, con los núcleos rechazados hacia el polo mundial, vacuolas subnucleares. Endometrio inicialmente secretor.

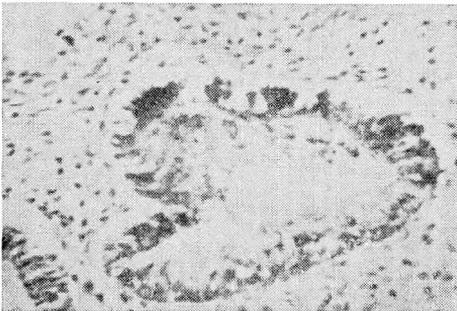


FIGURA 2 - PAS. 43 X

Las vacuolas de la Figura 1 están intensamente cargadas de glucógeno.



FIGURA 3 - PAS. 87 X

El glucógeno va pasando rápidamente hacia el polo mundial y va rechazando los núcleos hacia el polo basal celular. Se observan los núcleos exactamente en el centro de las células en su migración hacia la basal.

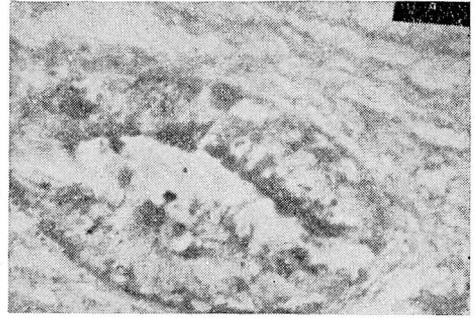


FIGURA 4 - PAS. 87 X

Se observa el glucógeno en el polo mundial celular.

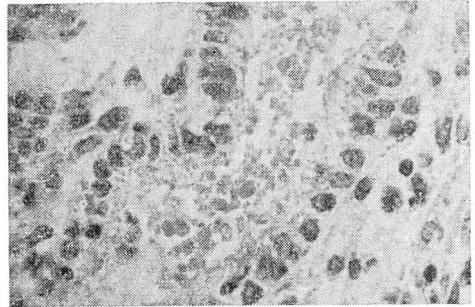


FIGURA 5 - PAS. 43 X

Secreción de glucógeno en la luz glandular.

así en la fase secretora, hacia el final, podremos encontrar finos granos en las células que han experimentado reacción pseudodecidual (Fig. 6).

El tejido decidual es muy rico en glucógeno tanto en las células deciduales como en el epitelio glandular, y en cantidad muy superior al que se encuentra en la fase premenstrual.

#### Interpretación fisiológica del glucógeno endometrial

De las funciones bioquímicas endometriales, sin duda alguna, la gluopoyesis es la de mayor importancia, tanto más cuanto que este glucógeno

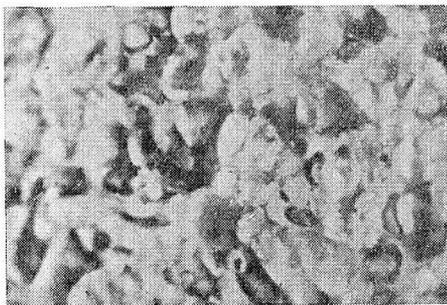


FIGURA 6 - PAS. 87 X

Glucógeno en el estroma en abundante cantidad. Se aprecian células muy grandes llenas de glucógeno.

tiene por finalidad primordial la implantación y nutrición del huevo.

El glucógeno es una sustancia que caracteriza la fase progestacional, vale decir, es característico de la acción de la progesterona.

Algunos autores han observado glucógeno en endometrio de mujeres castradas dos horas después de la inyección de progesterona, como también después de la inyección de desoxicorticosterona y aún de la cortisona (6).

También hay quienes aceptan la posibilidad de que las glándulas endometriales elaboren glucógeno en ausencia del cuerpo lúteo (26).

Si en una cuarta semana no encontramos glucógeno en la luz glandular y por el contrario lo hallamos persistente en el epitelio y en el estroma, tenemos una prueba histológica de gestación temprana (6).

Podemos también encontrar endometrios secretores pero insuficientemente transformados con ausencia o con gran escasez de glucógeno; en ellos está seriamente comprometida la fecundidad (7). Botella y colabo-

radores han demostrado que la carencia de glucógeno en la secreción

glandular impide la nidación del blastocito en el endometrio, ya que la función primordial del glucógeno glandular es nutrir al blastocito; el glucógeno de las células deciduales del estroma nutre los conceptos ya anidados con trofoblasto desarrollado (8). En esta premisa estriba la necesidad de estudiar tanto el glucógeno como las enzimas y demás sustancias endometriales, indispensables para la nutrición histiotrofa, tanto en la secreción glandular como en el estroma, pero siempre en concordancia con el estado morfológico tisular característico a un determinado día del ciclo.

#### B. MUCOPOLISACARIDOS.

Son carbohidratos para cuyo estudio se han empleado diferentes métodos de coloración, todos ellos a partir del PAS. Nosotros hemos empleado el PAS-azul de alcian o alcian blue, con el cual los mucopolisacáridos ácidos se tiñen en color azul violáceo y los neutros en color rosa.

Durante toda la fase proliferativa no se observan en el tejido glandular, pero en cambio se aprecia una buena cantidad de mucopolisacáridos ácidos en la capa funcional del estroma y coincide su aparición con los días de máximo edema estromal (Fig. 7).

En el comienzo de la fase secretora encontramos en cantidad cada vez mayor los mucopolisacáridos neutros en el epitelio glandular y los ácidos en la secreción (Fig. 8).

Y hacia el final del ciclo encontramos una elevación máxima de los ácidos en la luz glandular (Fig. 9). En esta fase también observamos mu-

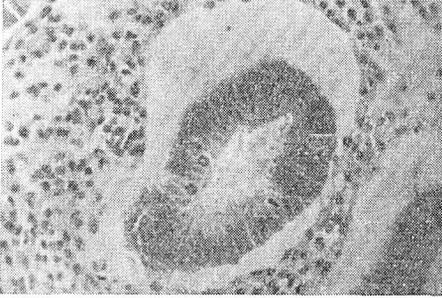


FIGURA 7 - PAS-azul alcian. 43 X

Endometrio de segunda semana. Se observan mucopolisacáridos ácidos en el estroma (obsérvese una sombra periglandular; en la preparación en colores es muy nítido el azul característico).



FIGURA 8 - PAS azul alcian. 43 X

Se aprecian mucopolisacáridos ácidos en el epitelio y neutros en la secreción glandular.

copolisacáridos en el estroma: aparecen primero los neutros y luego, en mayor cantidad los mucopolisacáridos ácidos.

En el estroma los mucopolisacáridos ácidos se localizan alrededor de las arterias espirales y los neutros se encuentran incluidos en el citoplasma celular. Su presencia en el estroma aumenta considerablemente cuando hay reacción decidual, llenando aún los finos intersticios intercelulares lo que ayuda a resaltar los límites de las células en estas preparaciones. Y en las vellosidades coriales se pueden encontrar en los citoplasmas de las células claras que componen el estrato de Langhans. Los mucopolisacáridos en el estroma se encuentran preferencialmente en la zona funcional del endometrio, zona que merced a la acción del ácido hialurónico retiene agua en los intersticios y se edematiza.

### Significado fisiológico de los mucopolisacáridos endometriales

Como carbohidratos que son, poseen funciones similares a las del glucógeno. Constituyen un método

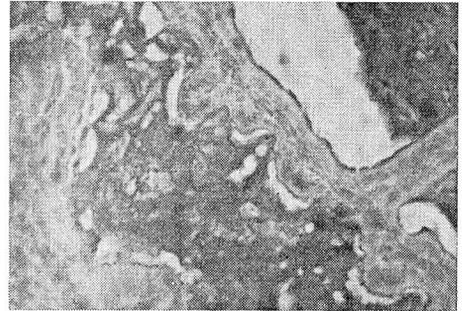


FIGURA 9 - PAS. azul alcian. 97 X

Se observa gran cantidad de mucopolisacáridos ácidos en la luz glandular.

valioso para el diagnóstico del momento del ciclo y del funcionamiento endometrial, y de manera preferencial para el estudio de la normalidad estromal.

### 2º ENZIMAS.

#### Glicerofosfatasa alcalina

Desde 1912 se dio a conocer la presencia, en diferentes tejidos, de una enzima capaz de intervenir en el metabolismo intermedio de las nucleoproteínas, mucoproteínas, lípidos y carbohidratos facilitando la hidrólisis de sus ésteres fosfóricos en

un medio alcalino; esta enzima es la glicero fosfatasa alcalina (3) (9) (20).

Después de trabajos ininterrumpidos de investigación se pudo demostrar la localización de esta enzima por diversas técnicas, siendo la más empleada la de Gomori pura o con algunas variantes (13) (16).

Esta enzima localizada desde el comienzo de la fase proliferativa hasta la mitad de la fase secretora en el citoplasma de las células epiteliales inclusive en las de la porción basal, y no en los núcleos. Se ha comprobado por estudios bioquímicos que cuando se encuentra en los núcleos se debe a contaminación ya que esta fracción nuclear de fosfatasa no posee actividad alguna (14) (15).

Al principio de la fase proliferativa la hemos encontrado en la porción apical del epitelio glandular (Fig. 10).



FIGURA 10 - 97 X. Gomori.

Glándula de segunda semana que tiñe intensamente al Gomori en su epitelio y con muy escasa secreción positiva también al Gomori.

Luego, bajo el efecto de los estrógenos aumenta progresivamente hasta ocupar todo el protoplasma. No se observa en las células del estroma pero sí se le puede localizar en los endotelios capilares de acuerdo al es-

tímulo estrogénico. La escasa secreción glandular que podemos encontrar en el lumen al final de la fase proliferativa es muy rica en esta enzima, motivo por el cual nos da positividad para el Gomori (Fig. 11).

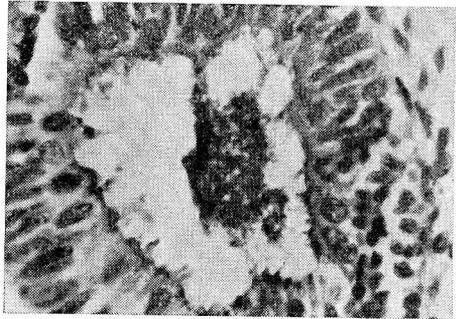


FIGURA 11 - Gomori. 97 X

Glándula del final de la segunda semana con abundante secreción en el lumen, positiva al Gomori.

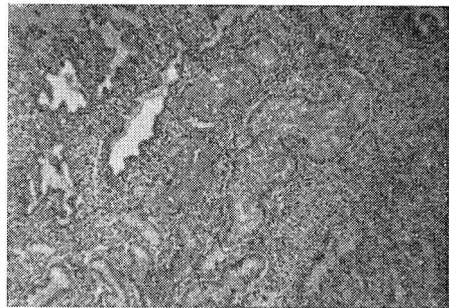


FIGURA 12 - Gomori. 10 X

Glándulas de tercera semana con secreción de fosfatasa alcalina.

Al iniciarse la fase progestacional, tercera semana, y merced a la acción de la progesterona, se vierte de manera progresiva en el lumen glandular (Figs. 12 y 13). Y a medida que avanza esta fase, cuarta semana, disminuye hasta desaparecer tanto en el epitelio como en el lumen glandular



FIGURA 13 - Gomori. 97 X

Una glándula de la Figura 12 a mayor aumento, llena de fosfatasa alcalina en su lumen.

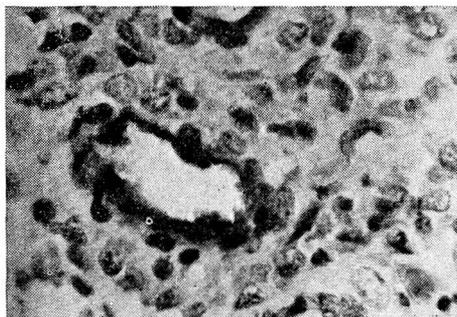


FIGURA 14 - Gomori. 97 X

Depósito de fosfatasa alcalina en endotelio vascular en una cuarta semana del ciclo.

y quedar solamente en el endotelio de los capilares (Fig. 14).

Sóloamente se encuentra en los dos tercios superiores del endometrio y no aparece en la porción basal.

La administración de estrógenos va seguida de un aumento considerable de la fosfatasa alcalina endometrial; y la administración de cualquier sustancia progestacional actúa como inhibidora (10) (17).

### Papel fisiológico de la fosfatasa alcalina endometrial

Se considera que esta enzima facilita el transporte de sustancias a través de las membranas celulares.

Hay varias hipótesis sobre su acción fisiológica:

1ª Como tiene un ciclo inverso al del glucógeno, se cree que puede estar involucrada en su síntesis ya que para que se efectúe la polimerización de la glucosa es indispensable la presencia de fosfatos (1), o sea es precursora del metabolismo del glucógeno.

2ª Se le ha atribuido una posible influencia en los procesos de creci-

miento ya que al liberar ión fosfato toma parte muy activa en la síntesis de los ácidos nucleicos (1). Hipótesis ésta que se sustenta en que la curva tanto de ácido ribonucleico como la de glicero fosfatasa alcalina en los tejidos es muy similar así se estudie por métodos bioquímicos como histoquímicos (20).

3ª McGay y colaboradores sostienen que al pasar el endometrio de proliferativo a secretor "hay un cambio en la acumulación energética de la forma de proteínas y fosfatasa alcalina a carbohidratos en forma de glucógeno, por lo cual la enzima disminuye al aumentar el glucógeno" (25).

Su ciclo está determinado por los estrógenos y su estudio es de gran valor ya que nos permite decir con exactitud la fecha del ciclo en que se encuentra el endometrio; ello la hace de gran utilidad en el diagnóstico de la ovulación, del estado funcional del cuerpo amarillo y de las fases progestacionales insuficientes y retardadas (7).

En los ciclos retardados encontramos fosfatasa alcalina, lo que impli-

ca o atraso o alteración en el metabolismo del glucógeno; o bien podremos encontrar secreción simultánea de glicero fosfatasa alcalina y de glucógeno, lo que indica que hay alteraciones en el metabolismo celular que impiden la nidación y facilitan, tal vez, los abortos menstruales y los abortos espontáneos tempranos.

Corner supone que los depósitos de fosfatasa endometrial son específicos de la acción de la LH (11).

Como siempre se observa abundancia de fosfatasa alcalina alrededor de los vasos de neoformación, es lógico que la encontremos a lo largo de todo el ciclo aun cuando en mayor cantidad en la cuarta semana ya que la neoformación vascular es una de las características de este período. Pero la aparición de vasos teñidos en su endotelio en esta época no indica que el acúmulo enzimático fosfatásico obedezca a la acción de la progesterona, sino simplemente a que hay un mayor desarrollo de vasos espirales, y bien sabemos la riqueza de fosfatasas que poseen estos tejidos de neoformación.

Se ha sugerido la hipótesis de que los efectores de la acción hormonal son las enzimas pero se ha dificultado la obtención de pruebas precisas al respecto.

Por último deberos recordar que las enzimas son proteicas y por lo tanto cualquier agente que desnaturalice las proteínas o dificulte o altere la respiración celular es casi ineludible que su acción debe referirse directa o indirectamente a las enzimas.

#### IV - Conclusiones

Al analizar los hallazgos histoquímicos endometriales en una serie de 56 mujeres colombianas, no hemos

observado diferenciación alguna con los datos reportados por autores extranjeros en pacientes de diferentes razas, costumbres y localización geográfica.

#### V - Resumen

Se investiga la histoquímica endometrial (glucógeno, mucopolisacáridos y glicero fosfatasa alcalina) en doscientos ochenta y seis ciclos normales correspondientes a cincuenta y seis mujeres colombianas cuya edad oscila entre los 18 y los 36 años.

Se hace un estudio del significado fisiológico de las sustancias investigadas.

Se dan conclusiones.

#### Summary

Endometrial histochemistry (glucogen, mucopolysaccharids and glycerine alkaline phosphatase) is studied in two hundred and eighty-six normal cycles corresponding to fifty-six colombian women, aged from eighteen to thirty-six.

A study is made of the physiological significance of the substances investigated.

Conclusions are made.

#### VI - BIBLIOGRAFIA

- 1 ARZAC, J. P. and BLANCHET, E. Alkaline phosphatase and glycogen in human endometrium. *J. Clin. Endocr.* 8: 315, 1948.
- 2 ARZAC, J. P. Histoquímica de los carbohidratos. *Rev. Mex. Lab. Clin.* 4: 27, 1952.
- 3 ATKINSON, W. B. and ENGLE, E. T. Studies on endometrial alkaline phosphatase during the human menstrual cycle and in the hormone treated monkey. *Endocrinol.* 40: 327, 1947.
- 4 ATKINSON, W. B. En "Menstruation and its disorders" dir. por E. T. Engle. Ed. Charles Thomas, Springfield, Illinois, pág. 3, 1950.

- 5 BOTELLA, J. y NOGALES F. Rev. Franc. Gynec. 52: 411, 1957.
- 6 BOTELLA, J. Cambios histoquímicos en el ciclo endometrial. En Endocrinología de la mujer. Cuarta edición. Ed. Científico-Médica, Barcelona. Pág. 222, 1966.
- 7 BOTELLA, J. Histoquímica endometrial. Op. citada, pág. 468.
- 8 BOTELLA, J. Composición histoquímica del endometrio e implantación. Op. citada, p. 338.
- 9 BOUTSELIS, J. G., DE NEET, J. C., ULLERY, J. C. and GEORGE, O. T. Histochemical and cytological observations in the normal human endometrium. I. Histochemical observations in the normal human endometrium. Obstet. Gynec. 21: 423, 1963.
- 10 CONNELL, E. B., SEDLIS, A. and STONE, M. L. Endometrial enzyme histochemistry in oral contraceptive therapy. Fertil. Steril. 18: 35, 1967.
- 11 CORNER, G. W. En menstruation and its disorders. Ed. Charles C. Thomas, Springfield, Illinois, 1950.
- 12 DUARTE-CONTRERAS, A. y URIBE-BOTERO, G. Endometrio en ciclos libres post terapia ovulostática administrada a largo plazo. Rev. Colomb. Obst. Gin. 19: 235, 1968.
- 13 GARCIA FERNANDEZ, A. Estudio experimental de dos métodos histoquímicos para fosfatasa alcalina. Tesis recepcional. Esc. Nal. C. Quím. U. N. A. Méx., 1955.
- 14 GAUTRAY, P. J. and col. Biochemical determination of alkaline phosphatase activity in the human endometrium during the menstrual cycle. Am. J. Obstet. Gynec. 118: 104, 1969.
- 15 GEORGIEV, G. P. The nucleus. In Enzyme Cytology. Roodyn, D. B. Acad. Press, New York, 1967.
- 16 GOMORI, G. Microscopic histochemistry. Principles and practice. Univ. of Chicago Press. Chicago, Ill, pág. 175, 1952.
- 17 HESTER, L. L. Jr., KELLETT, W. W., SPICER, S., WILLIAMSON, H. O. and PRATT-THOMAS, H. R. Effects of a sequential oral contraceptive on endometrial enzyme and carbohydrate histochemistry. Am. J. Obstet. Gynec. 102: 771, 1968.
- 18 HUCHES, E. C., JACOBS, R. D., RUBULIS, A. and HUSNEY, R. M. Carbohydrate pathways of the endometrium. Effects on ovarian growth. Am. J. Obst. Gynec. 85: 594, 1963.
- 19 LILLIE, R. D. Histopathologic technic and practical histochemistry. Third Ed. McGraw-Hill Ed. Chap. 14, pág. 497, 1965.
- 20 McKAY, D. G., HERTIC, A. T., BARVAWILL, W. A. and VELARDO, J. T. Histochemical observation on the endometrium. I. Normal endometrium. Obstet. Gynec. 8: 22, 1956.
- 21 NOYES, R. W., HERTIG, A. T. and ROCK, J. Dating the endometrial biopsy. Fertil. Steril. 1: 3, 1950.
- 22 PEARSE, E. Histochemistry. Third Ed. Vol. I. J. A. Churchill, Ltd. Ed. Chap. 10. pág. 296, 1968.
- 23 PEARSE, E. Op. cit. pág. 366.
- 24 TAMARA, R. y TAMARA, A. El glucógeno endometrial. Estudio histoquímico. Tesis doctoral dirigida por Vergara-Támara, R. U. Javeriana. Inédita. 1963.
- 25 VAZQUEZ, E. Histoquímica del endometrio normal y patológico. Libro conmemorativo del primer centenario. Volumen I. Academia Nacional de Medicina. México. pág. 288, 1964.
- 26 VAZQUEZ, J. J. Estudio morfológico e histoquímico del endometrio normal y patológico. Tesis doctoral. Trabajos del Instituto Cajal. Invest. Biol. 56: 113, 1964.