PROGESTERONA Y PREGNANDIOL

Dr. Fernando Cardona Arango

Dr. Hebert Aristizábal Bustamante

INTRODUCCION

Todo progreso científico en el campo endocrinológico que permita una dosificación más simple, rápida y exacta de una hormona, ya sea en su forma activa circulante, ya sea en su metabolito de excreción, trae como consecuencia lógica un mayor conocimiento de la fisiología y de la patología del organismo en relación con esa hormona, y por consiguiente dichas dosificaciones serán otra valiosa ayuda que tendrá el clínico para saber el estado endocrino de su paciente.

En el campo de la obstetricia y la ginecología, los recientes avances en la dosificación del pregnandioli han permitido que su fiel valoración se ponga más al alcance del clínico y que realmente puedan emitirse nuevos conceptos en relación con la progesterona, pues los amplios límites de ayer de las cifras normales en el ciclo menstrual y el embarazo se han reducido hoy a un mínimo con la eliminación de los cromógenos por medios cromatográficos, y así las cifras actuales de la pregnandioliuria expresan conceptos tan definidos y precisos que hacen posibles y aún necesarios, la elaboración de más estudios sobre la progesterona pura en esta época de los progestágenos sin-

téticos orales de gran acción progestacional.

Nos referiremos en el presente trabajo primero a algunas consideraciones químicas y biológicas sobre el metabolismo de la progesterona, luego comentaremos una nueva técnica cromatográfica que logra la dosificación del pregnandioli en la orina, y finalmente nos ocuparemos de las cifras normales del pregnandioli en el ciclo menstrual, en el embarazo y en la amenaza de aborto.

CONSIDERACIONES QUIMICAS Y BIOLOGICAS SOBRE EL METABOLISMO DE LA PROGESTERONA

a) **Metabolismo:** La progesterona segregada por el ovario y la suprarrenal, así como la placentaria y la de origen exógeno es inactivada a nivel del hígado en donde se efectúa su reducción y conjugación y se elimina como pregnandioli por la orina y las materias fecales.

El primer paso en su metabolismo (23) se efectúa en el grupo delta 4, 3 ceto; tomando un hidrógeno (H) en el carbón 5, y suprimiendo el doble enlace del carbón 4, y así la - **4 Pregnen-3,20 Diona** - progesterona - se transforma en - **Pregnan-3,20 Diona** y **Alopregnan 3, 20 Diona** - de-

Ona - al cambiar en el carbón 3 su función cetona - O por la función alcohol - OH. Esta - **Pregnan 3 Alfa Ol**
20 Ona - puede tener su origen no sólo de la progesterona que acabamos de anotar, sino también de la desoxicorticosterona o cortexona.

La **Pregnan 3,20 Diona** - se transforma en - **Pregnan 3 Alfa, Ol 20**

CUADRO Nº 1 - Esquema del metabolismo de la cortexona y de la progesterona hasta los productos finales que se encuentran en la orina. (Documento Geigy). (23)

comunmente llamados - **Pregnandiol**
y **Alopregnandiol** - y más genérica-
mente aún - **Complejo Pregnandiol**.

La proporción normal de **Alopreg-nandiol a Pregnandiol** es de 2/2 (1). En esquema ésta es la vía que sigue la progesterona en su metabolismo hasta llegar al pregnandiol, y ya hemos visto como éste puede tener su origen en la desoxicorticosterona y aún como lo demuestran los estudios de Arcos y colaboradores (2) con hidrógeno 3 y carbón 14 marcados puede proceder de la pregnenolona. Sin embargo para el médico que estudia la pregnandioluria de su paciente, la dosificación precisa de es-

te esteroide tiene un gran significado clínico pues sus precursores cuando son diferentes a la progesterona no llegan a producir más de 0.01 miligramos en la diuresis de 24 horas, y esta pequeña cifra no alcanza a modificar el concepto expresado por la dosificación hormonal.

b) **Cantidad de eliminación:** Si bien es cierto que los principales metabolitos de la progesterona se eliminan en forma de pregnandiol y alopregnandiol, no podemos obtener en las dosificaciones urinarias más que unas cantidades muy pequeñas que oscilan según los autores y las técnicas de un 1% a un 30%. Con la técnica cromatográfica de Waldi hicimos varias experiencias para de-

terminar la cantidad de pregnandiol que obteníamos al aplicar diferentes dosis de progesterona en solución oleosa y en forma de capronato de 17 alfa-hidroxi-progesterona, en pacientes sin ciclos menstruales (con agenesias ováricas, o menopáusicas, u ovariectomizadas) y aun en pacientes masculinos. Los resultados fueron los siguientes:

En cuatro pacientes sin ciclos menstruales aplicamos una solución oleosa de 100 miligramos de progesterona por vía intramuscular y efectuamos dosificaciones del pregnandiol urinario diariamente hasta encontrar de nuevo las cifras de las dosificaciones previas (Cuadro Nº 2).

CUADRO Nº 2

Pregnandiol urinario obtenido de 100 Miligramos de Progesterona Parenteral .
En 4 pacientes sin ciclos menstruales. Promedio 8.9 Miligramos de Pregnandiol .

DÍAS	PACIENTE Nº 1	PACIENTE Nº 2	PACIENTE Nº 3	PACIENTE Nº 4	
0	0.01	0.01	0.01	0.01	Mlgrs. de Pregnandiol
100 Mlgs de Progesterona	0.01	0.01	0.01	0.01	
1	1.7	3.8	2.00	1.9	
2	1.8	2	3.0	2.9	
3	2.8	2.3	1.8	2.6	
4	0.9	0.4	0.8	1.1	
5	0.5	0.7	0.6	0.7	
6	0.1	0.6	0.2	0.2	
0	0.01	0.01	0.01	0.01	
	7.8-	9.8-	8.4-	9.4-	

PROMEDIO 8.9 MLGRS.

CUADRO Nº 2 - Pregnandiol urinario obtenido en 4 pacientes sin ciclos menstruales, a las cuales se les aplicó 100 miligramos de Progesterona.

Como era lógico de esperar las eliminaciones no fueron constantes día a día pues en su absorción influye mucho las circunstancias locales de la inyección. La suma de los miligramos de pregnandiol nos dió como cifra máxima 9.8 y como mínima 7.8; el promedio fué de 8.9 miligramos.

Podemos decir que en general se obtienen 9 miligramos de pregnandiol, más menos 1 miligramo (sic) por cada 100 miligramos de progesterona que se inyecta.

Con el fin de comprobar una vez más esta constancia entre la proges-

terona y el pregnandioli hicimos en 4 pacientes eumenorreicas dosificaciones en la fase progestacional y observamos que, la cifra máxima fué de 20.3 miligramos, y la mínima de 15.2 miligramos, para un promedio en las cuatro pacientes de 17.7 miligramos

de pregnandioli; de acuerdo con los datos anteriores esta cifra corresponde a una producción aproximada de 200 miligramos de progesterona por ciclo, cifra que sabemos por pruebas de terapia sustitutiva en endometrio, es real. (Cuadro N° 3).

CUADRO N° 3

Pregnandioli urinario en la fase progestacional de 4 pacientes eumenorreicas. Promedio total: 17.7 MLGRS. de Pregnandioli.

DÍAS	PACIENTE N° 1	PACIENTE N° 2	PACIENTE N° 3	PACIENTE N° 4	MLGRS.
11	001	001	001	001	
12	003	001	001	001	
13	009	001	001	001	
14	01	018	008	001	
15	05	024	03	02	
16	08	04	06	05	
17	12	10	08	07	
18	17	14	12	10	
19	20	18	14	12	
20	25	23	18	14	
21	28	25	23	16	
22	22	20	25	18	
23	20	17	18	22	
24	15	12	14	18	
25	12	11	13	14	
26	10	08	12	09	
27	08	07	11	04	
28	005	01	01	01	
	2030	1742	1788	1520	

PROMEDIO 17.7 MLGRS.

CUADRO N° 3 - Cifras de pregnandioli urinario en 4 pacientes eumenorreicas. Dosificaciones diarias del día 11 al día 28 de los ciclos. Promedio = 17.7 miligramos.

Y para completar el estudio en lo referente a las cantidades de eliminación, hicimos dosificaciones en 4 hombres, aplicando en dos de ellos inyecciones intramusculares de progesterona en solución oleosa y en los otros dos aplicando inyecciones intramusculares de capronato de 17 alfa hidroxiprogestero.

Los resultados nos muestran que en los hombres a los cuales les aplicamos la forma de capronato de 17 alfa hidroxiprogestero en dosis de 250 miligramos, eliminaron en promedio 5.3 miligramos de pregnandioli más menos 0.1 miligramo. Es decir obtuvimos 2.1 miligramo de pregnandioli por cada 100 miligramos de progesterona. Y en los hombres a los

cuales les aplicamos 100 miligramos de progesterona pura obtuvimos en promedio 2.1 miligramos de pregnandioli. (Cuadro N° 4).

Estas cifras difieren en forma clara y franca de la constante de 9 miligramos de pregnandioli, por cada 100 miligramos de progesterona encontrada en las mujeres. En nuestro concepto este hecho se puede explicar si tomamos como base los trabajos de Davis y Plotz (3) con CO₂ marcados, quienes demostraron que hay una fácil transformación de la progesterona en esteroides de 19 átomos de carbón y de una estructura muy probable androgénica, además Dorfman (4) explica en forma esquemática como es posible que la

CUADRO Nº 4

Pregnandiol urinario obtenido en 4 hombres a los cuales se les aplicó capronato 17 α -Hidroxiprogesterona y progesterona

DIAS	PACIENTE Nº1	PACIENTE Nº2	PACIENTE Nº3	PACIENTE Nº4
100 Mlgrs de 17 α Hidroprogesterona				100 Mlgrs de Progesterona
0	0.01	0.01	0.01	0.01
1	1.1	1.2	2.0	1.8
2	0.9	1.0	0.2	0.2
3	0.6	0.8	0.01	0.01
4	0.5	0.4	0.01	0.01
5	0.4	0.4		
6	0.4	0.4	2.2	2.0
7	0.4	0.4		
8	0.4	0.4		
9	0.5	0.4		
10	0.01	0.01		
TOTAL	5.2	5.4		
PROMEDIO: 2.1 MLGRS. DE PREGNANDIOL POR CADA 100 MLGRS. DE PROGESTERONA				
PROMEDIO: 2.1 MLGRS. DE PREGNANDIOL POR CADA 100 MLGRS. DE PROGESTERONA				

CUADRO Nº 4 - Pregnandiol urinario en 4 hombres, a los cuales se les aplicó progesterona. Se obtuvo 2.1 miligramos de pregnandiol por cada 100 miligramos de progesterona.

progesterona se transforme en 17 α -hidroxiprogesterona y luego en delta 4 androsten-3, 17 diona y luego en testosterona.

Pensamos nosotros que analizando las cifras de eliminación del pregnandiol en hombres a los cuales les hemos aplicado una cantidad determinada de progesterona, podremos valorar la actividad funcional de las células de Leydig, por la propiedad que estas células tienen de transformar la progesterona en compuestos androgénicos y así en los pacientes con una insuficiencia hormonal testicular se eliminarán cifras mayores de pregnandiol que las encontradas en los hombres normales, es decir la cantidad total de pregnandiol se inclinará más hacia las cifras femeninas de los 9 miligramos por cada 100 miligramos de progesterona, que hacia las cifras masculinas de los 2.1 miligramos de pregnandiol por cada 100 miligramos de progesterona, pues las células de Leydig de estas góna-

das no podrán sino transformar parcialmente la progesterona en compuestos androgénicos y entonces una mayor cantidad de progesterona se metabolizará a pregnandiol.

Teniendo como base que un hombre adulto normal elimina, con esta prueba dinámica, 2.1 miligramos de pregnandiol cuando se le inyecta 100 miligramos de progesterona en solución oleosa, aplicamos en dos pacientes con hipofunción hormonal testicular 100 miligramos de progesterona, e hicimos dosificaciones diarias de pregnandiol urinario hasta encontrar las cifras de las dosificaciones previas a la inyección. (Estos dos pacientes son homosexuales y a ellos les habíamos efectuado un estudio de la actividad androgénica gonadal, por medio del fraccionamiento cromatográfico de los 17 cetoesteroides y ambos presentan una disminución marcada de la eliminación de androsterona y etiocolanolona, que revela la hipofunción hormonal testicular).

La cantidad de pregnandioli dosificada fue de 11.2 en el primer paciente y de 12.5 en el segundo, lo que nos muestra que las células de Ley-

dig de estos enfermos no habían transformado la progesterona en compuestos androgénicos. (Cuadro N° 5).

CUADRO N° 5

Pregnanliol urinario obtenido en 2 hombres homosexuales con hipofunción hormonal testicular demostrada por fraccionamiento de 17 cetoesteroides. Se les aplicó 100 Miligramos de Progesterona.

	<u>DÍAS</u>	<u>PACIENTE N°1</u>	<u>PACIENTE N°2</u>
100 MLGRS DE 178	0	0.01	0.01 MLGRS.
HIDROXIPROGESTE-	1	7.1	4.2 "
RONA	2	4.0	4.3 "
	3	0.1	1.8 "
	4	0.01	1.3 "
	5	0.01	0.9 "
	6	—	0.01 "
TOTAL		11.2	12.5

CUADRO N° 5 - Pregnanliol urinario en 2 hombres con hipofunción hormonal testicular, a los cuales se les aplicó 100 miligramos de progesterona. Se obtuvo 11.2 y 12.5 miligramos de pregnandioli.

Para confirmar más esta prueba dinámica, estudiamos un paciente azoospermico con biopsia testicular

(Fig. N° 1) que muestra una detención de la espermatogénesis en el epitelio germinativo y en quien pre-

FIGURA N° 1 - Biopsia testicular que muestra detención de la espermatogénesis en el epitelio germinativo.

sumimos también una ligera hipofunción hormonal gonadal por una cifra baja de 17 cetoesteroides totales en la orina de 24 horas, de 10,5 miligramos.

En este paciente al aplicar 100 miligramos de progesterona en solución oleosa por vía intramuscular ob-

tuvimos 3.4 miligramos de pregnandioli urinario, esta cifra se encuentra 1.3 miligramos por encima de los datos que hemos obtenido en los hombres normales estudiados, y concuerda con la presunción que teníamos de una ligera hipofunción hormonal testicular. (Cuadro Nº 6).

CUADRO Nº 6

Pregnandioli urinario en un hombre azoospermico por detención de la espermatogénesis, con posible hipofunción hormonal gonadal. Se le aplicó 100 miligramos de Progesterona.

<u>DIAS</u>	<u>PACIENTE</u>
0	0.01
1	0.9
2	1.1
3	0.4
4	0.9
5	0.1
6	0.01
	3.4 TOTAL

CUADRO Nº 6 - Pregnandioli urinario en un hombre azoospermico por detención de la espermatogénesis, con posible hipofunción hormonal gonadal. Se le aplicó 100 miligramos de progesterona, se obtuvo 3.4 miligramos de pregnandioli.

La consideración de los casos anteriores nos inclina a pensar una vez más en la efectividad, de la dosificación del pregnandioli en hombres a los cuales se les aplicó progesterona, como una prueba dinámica para valorar la actividad hormonal del testículo. Y creemos que esta prueba tiene también su aplicación en el campo de la endocrinología ginecológica, pues nos puede ayudar al estudio de la actividad hormonal del ovario, en lo referente a su producción de hormonas androgénicas, como en los hiperandrogenismos de las células del hilio y de las células te-

c) **Tiempo de eliminación:** Para el estudio sobre el tiempo de eliminación de la progesterona en solución oleosa, hicimos en 4 pacientes dosificación del pregnandioli urinario después de aplicar 100 miligramos de progesterona. Encontramos que en promedio un 80% del pregnandioli se obtenía en la diuresis de los tres primeros días; además pudimos observar que las cifras de pregnandioli permanecieron seis días por encima de las dosificaciones previas a la inyección. Estos datos concuerdan con las experiencias de Plotz (5) quien usando progesterona con carbonos marcados encontró al 7º día cifras inferiores al 1% (Cuadro Nº 7).

CUADRO N° 7

Promedio del tiempo y la cantidad de eliminación de 100 Miligramos de Progesterona aplicados a cuatro pacientes.

CUADRO N° 7 - Promedio del tiempo y la cantidad de eliminación de 100 miligramos de progesterona aplicados a 4 pacientes.

Para investigar el tiempo de eliminación del capronato de 17 alfa hidroxiprogesterona, hicimos en cuatro pacientes la aplicación de 250 miligramos intramuscularmente y encontramos, que en promedio el máximo de eliminación se halló en el día 1º; que su descenso se hacía en forma gradual y uniforme y que al 10º día las cifras de eliminación son iguales a las iniciales. Estas experiencias revelan valores semejantes a los hallados por Plotz (5) quien al 10º día encontró cifras inferiores al 1%, usando progesterona con carbonos marcados. (Cuadro N° 8).

En nuestro concepto estas gráficas de eliminación son de gran ayuda para la clínica, pues nos muestran por métodos bioquímicos precisos el tiempo exacto de acción de las soluciones oleosas puras de progesterona y la de los capronatos de 17 alfa hidroxiprogesterona y no ya los métodos aproximados que se observan a través de los órganos efectores como son los cambios morfológicos de la

colpocitología funcional y de la mucosa endometrial.

Existen estados patológicos en donde los conceptos generales sobre la biología de la progesterona y su metabolismo se encuentran alterados como en las hiperplasias suprarrenales; en estos casos las dosificaciones estáticas y las pruebas dinámicas inyectando progesterona son de gran ayuda para confirmar o esclarecer el diagnóstico. Lo anterior lo podemos ratificar con el siguiente caso que hemos estudiado:

C. S. de 29 años, soltera, con glándula mamaria de escaso desarrollo, hipertriosis y vello de distribución androide, con clitoris peniforme de unos 3 centímetros, no se aprecia cavidad vaginal, al tacto rectal útero pequeño y anexos normales con acentuada oligo o hipomenorrea a través del seno urogenital, cromatina sexual oral de 40%; 17 cetosteroides 31 miligramos en la diuresis de 24 horas, 17 hidroxisteroides 5 miligramos, pregnandiol de 5 miligramos y pregnandiol de 1 miligramo. Se diagnosticó hiperplasia suprarrenal congénita y

CUADRO Nº 8

Promedio del tiempo y la cantidad de eliminación de 250 Miligramos de Capronato de 17 alfa Hidroxiprogesterona aplicadas a cuatro pacientes.

CUADRO Nº 8 - Promedio del tiempo y la cantidad de eliminación de 250 miligramos de capronato de 17 alfa hidroxiprogesterona aplicados a 4 pacientes.

se trató con prednisona y se corrigió quirúrgicamente la malformación externa; posteriormente se hizo eumenorreica, creció su glándula mamaria y contrajo matrimonio pudiendo tener relaciones sexuales normales, actualmente se halla en el quinto mes de gestación. Es obvio que el diagnóstico en este caso no se hizo por la sola dosificación del pregnandiol pero su resultado de 5 miligramos efectuado en medio de una amenorrea de 7 meses, fué una ayuda más en la confirmación de la hiperplasia suprarrenal.

COMENTARIOS SOBRE LA TÉCNICA PARA LA DOSIFICACION DEL PREGNANDIOL DE WALDI

Han sido muchas las técnicas que se han descrito para la dosificación del prenandiol desde que Marrian (6) en 1929 logró identificarlo en la orina de mujeres embarazadas. Entre los métodos utilizados el procedimiento de Vening y Browne (7) descrito en 1937 logra la dosificación de la sal sódica de glicuronato de pregnandiol por métodos gravimétricos, y

posteriormente se le han hecho modificaciones a la técnica dosificando por colorimetría el ácido glucurónico del extracto.

Otro tipo de dosificación es el ideado en 1941 por Astwood y Jones (8) que logra por ebullición de la orina en medio ácido la extracción y purificación y luego la dosificación por método gravimétrico. Han sido logradas posteriores modificaciones en la extracción por medio de la beta-glucuronidasa y reacción colorimétrica con el ácido sulfúrico. Estas técnicas tenían evidentemente utilidad clínica, pero su significado era más cualitativo que cuantitativo pues las cifras de recuperación oscilaban entre el 1% y el 30%, y así los márgenes entre lo fisiológico y lo patológico eran tan difusos que las cifras obtenidas en una determinación carecían de valor para los autores como nos lo anota Williams (9), especialmente en las interpretaciones en el ciclo menstrual o en la etapa inicial del

embarazo en donde son tan esenciales las dosificaciones que revelen fielmente los estados de hipoluteinismo.

El advenimiento de las técnicas cromatográficas ha permitido que hoy en día poseamos unos procedimientos tan exactos, que con razonable seguridad puedan darse las cifras de pregnandiol en la diuresis de 24 horas. Estos estudios se iniciaron con Kloppe en 1955 (10) trabajando con cromatografías en columna y 8 nuevas técnicas se han creado con este procedimiento en estos 10 años.

En 1958 Eberlein (11) creó una nueva técnica cromatográfica en papel y en capa delgada de silicagela, y en 1962 Staub (12) y Waldi (13) crearon sus técnicas para dosificar pregnandiol basados en la cromatografía en capa delgada de Stall (14).

La técnica de Waldi (13) con la que elaboramos este trabajo en esencia consta de una ebullición de 20 cc. de orina obtenida de la diuresis de 24 horas a la cual se le agrega ácido clorhídrico, luego se extrae el pregnandiol con ciclohexano y se purifica con lavados con soda y agua, que se seca con sulfato de sodio anhidro; se evapora a baja temperatura preferiblemente al vacío y se disuelve el residuo en 0.5 ml. de cloroformo; de aquí se toma la muestra que se aplica en la placa de capa delgada de silicagela y se "elulle" en una solución de cloroformo-acetona, obteniendo así el fraccionamiento cromatográfico del pregnandiol y las otras sustancias cromógenas; finalmente se desarrolla color con ácido o-fosfórico y ácido fosfomolibdico frente a soluciones patrones conocidas. (Cuadro N° 9).

CUADRO N° 9.

Esquema para la dosificación del Pregndiol urinario Tec. de Waldi.

CUADRO N° 9 - Esquema de la dosificación del pregnandiol urinario, según la técnica de Waldi.

Este procedimiento de Waldi cumple con los requisitos exigidos por la clínica al poderse demostrar en él,

los cuatro factores que componen el "criterio de credibilidad" de una técnica, ya expuestos por Dicsfaluzy

(15). Analizaremos a continuación estos cuatro factores de precisión, exactitud, sensibilidad y especificidad, según nuestra propia experiencia.

a) Precisión: Se dice que una técnica es precisa cuando existe una variación mínima en dosificaciones replicadas. La prueba de ello la podemos

obtener en análisis duplicados. Con la técnica de Waldi hicimos 5 dosificaciones duplicadas para investigar hasta donde este método de dosificación del pregnandiol urinario cumplía con el criterio de precisión. Pudimos observar que la diferencia máxima fué de 0.2 miligramos en la diuresis de 24 horas. (Cuadro Nº 10).

CUADRO Nº 10

Resultados de 5 dosificaciones duplicadas de Pregnan diol urinario y las variaciones encontradas. Máxima variación 0.2 Miligramos.

MUESTRA	1ª DOSIFICACION	2ª DOSIFICACION.	VARIACION
Nº 1	3.0 MLGRS/24 H.	3.1 MLGRS/24 H.	0.1 MLGRS.
Nº 2	1.4 "	1.4 "	0.0 "
Nº 3	0.15 "	0.10 "	0.05 "
Nº 4	0.2 "	2.2 "	0.0 "
Nº 5	1.7 "	1.9 "	0.2 "

CUADRO Nº 10 - Dosificaciones duplicadas de pregnandiol urinario en 5 muestras y las variaciones obtenidas. Máxima variación 0.2 miligramos.

Por lo tanto podemos afirmar que para los fines de interpretación clínica esta técnica es precisa, ya que más o menos 0.2 miligramos es inferior a las variaciones que pudiésemos interpretar como hiper o hipoliteinismo en un caso dado.

b) Exactitud: Se dice que una técnica es exacta cuando existe consonancia de las medidas obtenidas, con los valores verdaderos. La prueba de ello la podemos obtener utilizando métodos de recuperación. Con la técnica de Waldi analizamos 6 muestras diferentes de orina y en ellas hicimos de a dos dosificaciones, la primera para conocer la pregnandioluria de la muestra estudiada, y la segunda para conocer cuanto pregnandiol se recuperaba en esta segunda muestra a la cual le habíamos agregado 100 gamas de pregnandiol. Observamos que la recuperación má-

xima fué de 93 gamas y la mínima de 87 gamas. Analizando estos resultados vemos que el promedio de recuperación es del 90.5% (Cuadro Nº 11).

Como dato curioso comenta Waldi en su técnica que cuando se hacen pruebas de recuperación utilizando agua destilada para la hidrólisis ácida en vez de orina, se destruye en la elaboración del proceso de un 65% a un 70% del pregnandiol agregado a la muestra, y por razones aún no estudiadas la orina protege al pregnandiol de esta destrucción, y así trabajando con orina en vez de agua destilada es posible recuperar un 90% de la cantidad agregada. Nosotros hicimos esta experiencia en 4 oportunidades y con agua destilada solo pudimos recuperar un 40% del pregnandiol que habíamos adicionado a la muestra.

CUADRO N° 11

Valores de recuperaciones en 6 dosificaciones de Pregnandiol urinario, promedio de recuperación 90.5%

MUESTRA	DOSIFICACION PREVIA	DOSIFICACION CON 100 GAMAS DE PREGNANDIOL
1ª	1 GAMA	93 GAMAS
2ª	1 "	88 "
3ª	1 "	92 "
4ª	1 "	91 "
5ª	1 "	89 "
6ª	1 "	94 "

PROMEDIO DE RECUPERACION 90.5%.

CUADRO N° 11 - Dosificaciones de pregnandiol urinario, en 6 muestras diferentes, antes y después de agregar 100 gamas de pregnandiol a cada una de ellas. Promedio de recuperación 90.5%.

c) Sensibilidad: Se dice que una técnica es sensible cuando es mínima la cantidad detectable que difiere significativamente de cero. La prueba de ello lo podemos obtener con experiencias de recuperación en muestras con niveles bajos. Como base para estudiar la sensibilidad encontramos que un grupo de orinas estudiadas tenía siempre una cantidad aproximada de 10 gamas en la diuresis de 24 horas. Para investigar si era posible dosificar cantidades me-

nores de estas 10 gamas, hicimos con la técnica de Waldi en 4 casos diluciones de esas orinas y pudimos constatar, que cantidades menores de 10 gamas no pudieron ser detectadas. De donde podemos afirmar que la mínima cantidad detectable en la diuresis de 24 horas es de 10 gamas y por lo tanto para fines de interpretación clínica esta técnica cumple ampliamente los requerimientos de sensibilidad. (Cuadro N° 12).

CUADRO N° 12

Dosificación de Pregnandiol urinario en orinas con 10 gamas en la Diuresis de 24 horas, y en diluciones acuosas de éstas orinas

MUESTRA	DOSIFICACION
N° 1 PURA	0.01 MILIGRAMO
N° 1 DILUCION AL 80 %	MENOS DE 0.01 MLGRS. PERO NO DOSIFICABLE
N° 1 DILUCION AL 50 %	NEGATIVO.
N° 2 PURA.	0.01 MILIGRAMOS.
N° 2 DILUCION AL 80 %	POSITIVO PERO NO DOSIFICABLE.
N° 2 DILUCION AL 50 %	NEGATIVO

CUADRO N° 12 - Dosificación de Pregnandiol urinario en orinas con 0.01 miligramos en diuresis de 24 horas, y los resultados de las diluciones acuosas de estas orinas.

d) Especificidad: Se dice que una técnica es específica cuando las sumas de las evidencias físicas, químicas, y biológicas indican identidad. La prueba de ello lo podemos obtener con estimación de algunas constantes físicas y características biológicas y químicas. Con la técnica de Waldi hicimos varias dosificaciones con esteroides patrones conocidos como el pregnandiol, el pregnantriol, el alo-pregnantriol, la estrona, el estriol, el estradiol, y la androsterona. Pudimos comprobar que estos esteroides tienen un "RF" constante en la "elución" con acetona-cloroformo, en la proporción 1 a 9 y que al "correr" la mezcla en la placa de capa

delgada de silicagela hasta una altura de 10 centímetros y desarrollar color con ácido o-fosfórico y ácido fosfomolibdico, el pregnandiol se encuentra a 4.1 centímetros de su punto inicial, el pregnantriol a 3.1 centímetros, el alo-pregnantriol a 6.0 centímetros. La estrona, a 10.0 el estriol, a 1.3 y el estradiol a 9.0 centímetros, y la androsterona a 8.5 centímetros. Por lo tanto la evidencia física del "RF" constante de la "elución", sumada a la química del color obtenida en presencia de los ácidos mencionados, nos permiten afirmar que esta técnica es específica, y por consiguiente tendrán valor clínico sus dosificaciones. (Fig. Nº 2).

FIGURA Nº 2 - Color desarrollado con ácido ó-fosfórico y ácido fosfomolibdico en placa de silicagela después de "elución" en acetona cloroformo (1 a 9) hasta 10 centímetros por los siguientes esteroides: 1 = pregnandiol, 2 = pregnantriol, 3 = alo-pregnantriol, 4 = estrona, 5 = estriol, 6 = estradiol, 7 = androsterona, y 8 = muestra de orina.

La técnica de Waldi posee una serie de condiciones favorables que enumeraremos a continuación y que en nuestro concepto la hacen ideal para nuestro medio. Son ellas:

1º) Cumple con los requisitos analizados del "criterio de credibilidad", que son la base fundamental de toda buena técnica y que hacen posible la aplicación en la clínica de las cifras encontradas en la diuresis, y más concretamente en los valores subnormales.

2º) Es una técnica rápida que puede efectuarse en 3 horas, lo que hace posible que en determinados casos se puedan hacer controles diarios de la pregnandioloria.

3º) Después de montada la técnica es posible que las dosificaciones sean efectuadas por técnicas de laboratorio, claro está con supervigilancia y control de un médico, o de un bioquímico.

4º) Los reactivos de una dosificación no tienen un costo superior a los \$ 20,00.

5º) El material empleado puede usarse numerosas veces y su desgaste es mínimo, su costo inicial es de unos \$ 5.000,00.

6º) Las cifras obtenidas son de fácil interpretación clínica, y

7º) Los guarismos de la pregnandioloria permanecen reales cuando la paciente toma progestógenos del tipo nor-esteroides, pues estos últimos no se eliminan en forma de pregnandioloria (24).

ANÁLISIS DE LAS CIFRAS DE PREGNANDIOL URINARIO EN EL CICLO MENSTRUAL, EL EMBARAZO Y LA AMENAZA DE ABORTO

Ciclo Menstrual

Las técnicas antiguas para dosificar el pregnandioloria urinario, los estudios bioquímicos y morfológicos del endometrio y la citología exfoliativa vaginal, nos indicaban que el pregnandioloria iniciaba su ascenso de eliminación a partir del día 14 del ciclo y que este curso declinaba uno o dos días antes de la menstruación.

Cuando Kloppe (16) montó su técnica cromatográfica para la dosificación del pregnandioloria en 1957, mostró que el máximo de eliminación se encontraba hacia la mitad de la fase luteínica y que luego las cifras descendían en forma paulatina.

Nosotros hicimos estudios en 4 pacientes eumenorreicas y encontramos, al sacar una gráfica con el promedio de las 4 pregnandiolorias, con esta técnica de Waldi que el máximo de eliminación se encontraba en el día 21 del ciclo. Nuestras gráficas difieren de las de Kloppe (16) en cuanto a los miligramos diarios y así en la fase estrogénica nuestras cifras son de 0.01 miligramos en cambio el promedio de Kloppe es de 1.2 miligramos. En la fase progestacional nuestras cifras promedio no pasan de 2,3 miligramos, en cambio para Kloppe las cifras máximas llegan a más de los 4 miligramos diarios. En nuestro concepto estas diferencias en la cantidad de eliminación se deben a una mayor depuración técnica. (Cuadro N° 13).

Tomando como base estas cifras de la fase progestacional hicimos en 6 pacientes con historia clínica que nos indicaba insuficiencia luteínica, dosificaciones seriadas y encontramos que en tres de ellas no se apreciaba curva ascendente lo que nos revela ciclos anovulatorios y en las otras

CUADRO Nº 13

Pregnandiol urinario en el ciclo menstrual.
Gráfica de Kloppe—un caso— (En línea)
Gráfica nuestra Promedio de 4 casos (En puntos).

tres pacientes las cifras de eliminación de pregnandiol nos muestran claramente los hallazgos típicos de la insuficiencia luteínica parcial con

curvas que revelan ovulación pero cuya cantidad total de pregnandiol se encuentra muy inferior a la media normal nuestra. (Cuadro Nº 14).

CUADRO Nº 14

Pregnandiol urinario en 3 pacientes con insuficiencia luteínica.
Curva de la media normal nuestra. (Línea gruesa)

Consideramos que en el estudio del ciclo menstrual, estas dosificaciones tienen una gran aplicación clínica, pues no solo nos revelan la existencia de estados de hipofunción luteínica sino que nos orienta con las dosis terapéuticas en casos de terapia sustitutiva, en especial en problemas de desequilibrio estrógeno-progesterona como en las mastosis y en los trastornos de nidación.

Embarazo

Muchas han sido las curvas que se han publicado de la eliminación de pregnandioli en el embarazo y todas ellas expresan cifras que se encuentran muy por encima de las obtenidas con las nuevas y depuradas técnicas. Ramírez Soto, Castelazo Ayala y col. (17), presentaron en 1964 una curva de pregnandioli en el embarazo

utilizando la técnica cromatográfica de Goldzieher y Nakameva (18) en donde las cifras aparentemente muy bajas son en todo semejantes a las que hemos obtenido con la técnica de Waldi.

Queremos hacer énfasis en las cifras del principio del embarazo en las cuales ni en los 11 casos estudiados por Ramírez y Castelazo (17) ni en los 10 casos estudiados por nosotros, se obtuvieron cantidades mayores de los 5 miligramos de pregnandioli en las primeras 6 semanas de la gestación. Hemos tenido oportunidad de efectuar en dos pacientes dosificaciones 48 horas antes del parto y hemos encontrado que su eliminación es muy baja, de 3.2 y 4 miligramos en la diuresis de 24 horas. (Cuadro N° 15).

CUADRO N° 15

Pregnandioli urinario en el embarazo normal (Gráfica de Ramírez y Col)
Dosificaciones nuestras. (En puntos).

CUADRO N° 15 - Pregnandioli urinario en el embarazo normal. Gráfica de Ramírez y col. Dosificaciones nuestras. (En puntos).

En otros dos casos hicimos dosificaciones 24 horas antes del parto y encontramos cifras de 1.2 y 1.5 miligramos en la diuresis de 24 horas.

Prácticamente las dosificaciones que hicimos en las diferentes semanas del embarazo nos mostraron concordancia con la curva obtenida por

Ramírez Col. cifras de embarazos normales. Consideramos que la mayor utilidad de la dosificación de la pregnandioluria en las diferentes semanas de la gestación, la tenemos en la patología del embarazo relacionada con el aborto de origen hormonal, en estos casos la dosificación nos revela la presencia de una insuficiencia en la producción de progesterona y nos orienta en la dosis diaria requerida de dicha hormona en la terapia sustitutiva; además nuevos campos de investigación se vislumbran con el estudio de la pregnandioluria en el terreno de la toxemia gravídica como lo anota Watteville (19).

Amenaza de Aborto

Basados en los trabajos de Karnaky (20) sobre la acción del estilbestrol en el aborto habitual y en los estudios de los Smith (21) sobre la acción de los estrógenos oxidados sobre el trofoblasto, y en la prueba citológica de Watteville (22) de la acción hormonal prostestacional del benzoato de estradiol en las amenazas de aborto, hicimos un estudio de 13 casos con cuadro clínico de amenazas de aborto tratados con etinil estradiol y los resultados fueron los siguientes:

a) Un grupo de 5 pacientes con cuadro clínico de franca amenaza de aborto presentaron un pregnandiol urinario inicial que no llegó a los 2.0 miligramos en las 24 horas. En unos pocos casos esta cifra subió menos de 0.5 miligramos en los primeros días, pero luego a pesar de la terapia con dosis de 0.4 miligramos de etinil estradiol diarios, estas cifras bajaron hasta 0.1 miligramos de pregnandiol y terminaron en aborto. Uno de los casos clínicamente evolucionó en forma satisfactoria sin hemorragia ni contracciones, pero el

pregnandiol persistió en 0.01 miligramos diarios y su final fué un aborto frustrado confirmado a los 4 meses de iniciada la gestación.

b) Un grupo de tres pacientes con sintomatología de amenaza de aborto pero con cifras iniciales de pregnandiol superiores a los 2.5 miligramos en la diuresis de 24 horas, fué tratado con dosis no superiores a los 0.2 miligramos de etinil estradiol por día. En estos casos observamos que las cifras de pregnandiol subían con respecto a la dosificación inicial pero no llegaron estas pacientes en un tiempo prudencial de tres semanas a las cifras medias normales del embarazo. Una terapia posterior y más intensa fué necesaria para alcanzar las cifras normales del pregnandiol indicadas en la curva de Ramírez y col. (17).

c) Un grupo de 5 pacientes con sintomatología de amenaza de aborto y con cifras iniciales de pregnandiol superiores a los 2.5 miligramos diarios, fué tratado con dosis de 0.4 miligramos de etinil estradiol por día y encontramos que en 4 casos las cifras llegaron a los niveles de la media normal y que la sintomatología de amenaza desapareció. Controles posteriores indican que estos embarazos bajo punto de vista clínico y de la eliminación del pregnandiol urinario continúan su curso normal.

El conjunto de enfermas estudiadas con amenaza de aborto de origen hormonal, nos induce a las siguientes consideraciones:

1º) Las amenazas de aborto con cifras de pregnandiol por debajo de los 2.0 miligramos en la diuresis de 24 horas, son de mal pronóstico.

2º) Las dosis de 0.2 miligramos de etinil estradiol por día son insuficientes para el tratamiento de la

amenaza de aborto de origen hormonal.

3º) La terapia estrogénica con dosis de 0.4 miligramos por día de etinil estradiol es efectiva en las amenazas de origen hormonal.

4º) La terapia estrogénica en las amenazas de aborto de origen hormonal aumenta la producción de progesterona endógena, como lo prueban los controles del pregnandiol urinario.

RESUMEN

Se hacen algunas consideraciones biológicas sobre la progesterona y el pregnandiol y se presenta una prueba dinámica para valorar la actividad androgénica de las gónadas. Se analiza la técnica cromatográfica de Wal-di para la dosificación del pregnandiol urinario bajo el punto de vista del "Criterio de credibilidad". Se presentan las curvas normales del pregnandiol urinario en el ciclo menstrual y el embarazo y los hallazgos en la amenaza de aborto de tipo hormonal, con terapia estrogénica.

BIBLIOGRAFIA

- 1 BILBAO A., FILGUEIRA F., ARDANAZ J., PINTO B.: Ausencia de pregnandiol en la orina de los pacientes con insuficiencia hepática grave. *Rev. Clin. Esp.* 93: 366-372, 1964.
- 2 ARCOS M., GURDIPE E., WIELE R. L. V., LIEBERMAN S.: Precursors of urinary pregnandiol and their influence on the determination of the secretory rate of progesterone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 24: 237-245, 1964.
- 3 DAVIS M. E., PLOTZ J.: The Metabolism of progesterone and its clinical use in pregnancy. *Recent. Progr. in Hormone Res.* N. Y. 13: 347-379, 1957.
- 4 DORFMAN R. I.: Metabolism of androgens, estrogens and corticoids. *Amer. J. Med.* 21,5: 679-687, 1956.
- 5 PLOTZ E. J.: *Deutsche Endokrinologen. Tagung, Kiel.* 1959.
- 6 MARRIAN G. F.: Chemistry of oestrin; preparation from urine and separation from unidentified solid alcohol. *Biochem. J.* 23: 1090-1098, 1929.
- 7 VENNING E. H., BROWNE J. B. L.: Studies on corpus luteum function; urinary excretion of sodium pregnandiol glucuromidate in human menstrual cycle. *Endocrinology*, 21: 711-821, 1937.
- 8 ASTWOOD E. B., JONES G. F. S.: Simple method for quantitative determination of pregnandiol in human urine. *J. Biol. Chem.* 137: 397-407, 1941.
- 9 WILLIAMS R. H. *Tratado de Endocrinología.* 887. Salvat Ed. Barcelona 1959.
- 10 KLOPPER A. I., MICHIE E. A., BROWN J. B.: A method for the determination of urinary pregnandiol. *J. Endocr. Lond.* 12 (3): 209-219, 1955.
- 11 EBERLEIN W. R., BONGIOVANNI A. M.: A paper chromatographic method for the measurement of pregnandiol in urine. *J. Clin. Endocr. Metab.* 18 (3): 300-308, 1958.
- 12 STAUB M. C., GAITAN E., DINGMAN J. F.: A simple method for the determination of urinary pregnandiol and pregnanetriol by glass fiber paper chromatography. *J. Clin. Endocr.* 22: 87-92, 1962.
- 13 Einfache quantitative Schnellbestimmung von Pregndiol auf Dünnschichtplatten zum Frühschwangerschaftsnachweis und zur Überwachung des Cyclus bei der Frau. *Klin. Wschr.* 40: 827-830, 1962.
- 14 STAHL E.: Thin-layer chromatography 11. Standardization, detection, documentation and application. *Chemiker. Ztg.* 82: 323-329, 1958.
- 15 DICSFALUZY E.: Chemical determination of oestrogens in the urine. *Acta Endocr. Kbh.* 24 (Suppl. 31): 11-26, 1957.
- 16 KLOPPER A. I.: The excretion of pregnandiol during the normal menstrual cycle. *J. Obst. Gyn. Brit. Empire* 64: 504-511, 1957.
- 17 RAMIREZ SOTO E., CASTELAZO AYALA L., CORRAL GALLARDO J., ALTAMIRANO M.: *Memorias V Reunión anual Soc. Mex. Nutr. Endocr.* 31, 1964.

- 18 GOLDZIEHER J. W., NAKAMEUA G.: A clinical method for the determination of urinary pregnanediol and pregnanetriol. *Acta Endocr. (Koben havn)* 41: 371-380, 1962.
- 19 WATTEVILLE H.: Pregnandiol determinations in the clinic and in research. *J. Clin. Endocr.* 11: 251-266, 1951.
- 20 KARNAKY J. K.: Use of stilbestrol for treatment of threatened and habitual abortion and premature labor; preliminary report. *South M. J.* 35: 838-847, 1942.
- 21 SMITH O. W., SMITH G. V. S., HURWITZ D.: Increased excretion of pregnanediol in pregnancy from diethylstilbestrol with special reference to prevention of late pregnancy accidents. *Am. J. Obst. Gynec.* 51: 411-415, 1946.
- 22 WATTEVILLE H.: Valoración de las pruebas de laboratorio en la conducta clínica terapéutica del aborto. *Memorias del III Congreso Mexicano de Obst. y Gynec.* 35, 1958.
- 23 Documenta Geigy Tablas científicas, 195. Impreso por la Sociedad Alianza de Artes Gráficas (S.A.D.A.G.). Barcelona. 1958. (Traducido de la reimpresión, revisada, de la quinta edición alemana).
- 24 LITTER M.: *Farmacología*. 968. Ed. "El Ateneo". Buenos Aires, 1964.