



11262
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS
SEDE CENTRO MÉDICO NACIONAL

"EFECTO DE LA TERAPIA DE REEMPLAZO
ESTROGENICA EN MUJERES POSTMENOPAUSICAS
SOBRE LAS CONCENTRACIONES DE
DEHIDROEPIANDROSTERONA SULFATADA E
INSULINA"

P R E S E N T A :

DRA. LOURDES BASURTO ACEVEDO

TUTOR:

DR. ARTURO ZARATE TREVIÑO



UNIDAD DE INVESTIGACIÓN MÉDICA EN ENFERMEDADES ENDÓCRINAS
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DEL CENTRO MÉDICO NACIONAL
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

2003

A



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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

**TESIS
CON
FALLA DE
ORIGEN**



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
MAESTRIA EN CIENCIAS MEDICAS
SEDE CENTRO MEDICO NACIONAL

**"EFECTO DE LA TERAPIA DE REEMPLAZO ESTROGENICA EN
MUJERES POSTMENOPAUSICAS SOBRE LAS CONCENTRACIONES
DE DEHIDROEPIANDROSTERONA SULFATADA E INSULINA"**

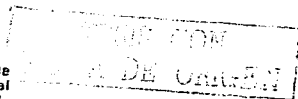
DRA. LOURDES BASURTO ACEVEDO

**TUTOR:
DR. ARTURO ZARATE TREVIÑO**

UNIDAD DE INVESTIGACION MEDICA EN ENFERMEDADES ENDOCRINAS,
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DEL CENTRO MEDICO NACIONAL,
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la
UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el
contenido de mi trabajo recepcional.

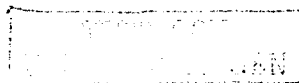
NOMBRE: Lourdes Basurto Acevedo
FECHA: 29/01/2015
FIRMA: [Firma]



B

INDICE

		Página
1.1	RESUMEN	1
1.2	ABSTRACT	2
2.	ANTECEDENTES	3
2.. 1	Estrógenos e Insulina	5
2.. 2	Dehidroepiandrosterona sulfatada	7
2.. 3	DHEAS y estrógenos	9
2.. 4	DHEAS e insulina	13
3.	JUSTIFICACIÓN	17
4.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	18
5.	HIPÓTESIS	19
6.	OBJETIVOS	20
7.	SUJETOS, MATERIAL Y MÉTODOS	21
7.1	Diseño	21
7.2	Lugar de estudio	21
7.3	Universo de trabajo	21
7.4	Criterios de Selección	22
7.5	Definición de las variables	24
7.6	Descripción general del estudio	26
7.7	Cálculo del tamaño de muestra	31
8.	Análisis estadístico	32
9.	Aspectos éticos	34
10.	Recursos	35
11.	RESULTADOS	36
11.1	Tablas	41
11.2	Gráficos	48
12.	DISCUSIÓN	55
13.	CONCLUSIÓN	62
14.	BIBLIOGRAFÍA	64



15	ANEXOS	73
15.1	Anexo 1	73
15.2	Anexo 2	74
15.3	Anexo 3	80
15.4	Anexo 4	84



EFFECTO DE LA TERAPIA DE REEMPLAZO ESTROGENICA SOBRE LOS NIVELES DE DEHIDROEPIANDROSTERONA SULFATADA E INSULINA EN MUJERES POSTMENOPAUSICAS. Basurto L, Zárate A.

Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Endocrinas, Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional, Instituto Mexicano del Seguro Social.

Objetivo: Identificar en mujeres posmenopáusicas el efecto la terapia estrogénica de reemplazo (ERT) sobre las concentraciones de DHEAS y si la reducción de insulina producida por la terapia de reemplazo influye sobre la DHEAS.

Material y Métodos: 34 Mujeres posmenopáusicas e hysterectomizadas, con edad de 45 a 55 años, fueron tratadas por 3 meses con 50 µg estradiol transdérmico /día. En la etapa basal y al final del estudio se midieron las concentraciones de DHEAS, 17 β-estradiol, insulina y ACTH.

Resultados: El 17β-estradiol incrementó de 11.5 ± 7.4 a 47.9 ± 19.5 pg/mL ($p < 0.001$) y la insulina disminuyó de 26.9 ± 14.8 a 20.2 ± 8.0 µUI/mL ($p < 0.01$), la DHEAS no se modificó. El 17 β-estradiol presentó una correlación inversa con la insulina ($r = -0.284$, $p < 0.01$). La glucemia de ayuno no se modificó con la ERT, pero la relación glucosa/insulina (G/I) incrementó de 4.19 ± 1.71 a 5.20 ± 2.43 ($p < 0.001$). El análisis de regresión múltiple señaló que la ACTH y el 17 β-estradiol influyeron sobre la DHEAS en la etapa basal ($R^2 = 0.46$), y durante la ERT la insulina influye sobre la DHEAS sólo en mujeres con $IMC > 25$.

Conclusiones: En mujeres postmenopáusicas la ERT reduce las concentraciones de insulina y aumenta su sensibilidad. La regulación de la DHEAS es compleja, en este estudio no se demostró que el estradiol transdérmico administrado a dosis fisiológicas modifique la DHEAS, pero es probable, que en mujeres con sobrepeso las variaciones de la insulina participen en la regulación de la DHEAS.



EFFECT OF POSTMENOPAUSAL ESTROGEN REPLACEMENT ON CIRCULATING DHEAS AND INSULIN. Basurto L, Zárate A.

Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Endocrinas, Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional, Instituto Mexicano del Seguro Social.

Objective: To determine the effect of estrogen replacement therapy (ERT) on dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS) level and interactions of insulin and DHEAS in postmenopausal women.

Material and Methods: 34 hysterectomized and postmenopausal women aged 45-55 years, received three months transdermal 17 β -estradiol. DHEAS, 17 β -estradiol, insulin and ACTH levels were measured before and after study.

Results: 17 β -estradiol increased after ERT (11.5 ± 7.4 to 47.9 ± 19.5 pg/mL ($p < 0.001$) and insulin decreased significantly (26.9 ± 14.8 a 20.2 ± 8.0 μ UI/mL ($p < 0.01$), and DHEAS did not changed significantly. A negative correlation was obtained between 17 β -estradiol and insulin ($r = -0.284$, $p < 0.01$). The relation glucose/insulin increased from 4.19 ± 1.71 to 5.20 ± 2.43 ($p < 0.001$). A multivariate linear regression identified ACTH and 17 β -estradiol as the most important variables to predict DHEAS levels at baseline and insulin to predict DHEAS after treatment in women with $IMC > 25$.

Conclusions: Menopausal ERT decreased circulating insulin levels and increased insulin sensitivity. In this study, the use of transdermal 17 β -estradiol at dose considered physiologic had no effect on DHEAS levels. However, insulin levels might modulate the production of DHEAS in obese women.

ANTECEDENTES

Durante la menopausia se presentan cambios fisiológicos que pueden afectar la calidad de vida de la mujer. Los estrógenos son hormonas que influyen no sólo en sistema reproductivo, sino que participan en diferentes funciones como el metabolismo óseo, la absorción de nutrientes, la memoria y la función cardiovascular (1-3). Así, el hipoestrogenismo afecta múltiples sistemas fisiológicos que conducen a una significativa morbilidad en la tercera etapa de la vida de la mujer.

La terapia hormonal de reemplazo (THR) con estrógenos o con la combinación estrógenos-progestinas, desempeña un papel importante para reducir algunos de los efectos negativos. La THR persigue como objetivos aliviar los síntomas que aparecen al descender las concentraciones de estrógenos en la circulación y evitar las complicaciones que se presentan a largo plazo por el hipoestrogenismo.

La THR disminuye el riesgo de cáncer colon y el de fractura hasta en el 33% de los casos (4-6). Por el contrario, la terapia estrogénica prolongada por más de 2 años se asocia a un aumento del riesgo de cáncer endometrial en mujeres no hysterectomizadas y un aumento mínimo en el riesgo de cáncer mamario (6-8).

El efecto de la terapia estrogénica sobre la sintomatología del climaterio y la prevención de la osteoporosis se ha demostrado tanto para la vía oral como para la transdérmica. Uno de los inconvenientes para el uso de estradiol por vía oral es su baja absorción por la mucosa gástrica, siendo necesario administrarlo en forma conjugada o micronizada (9). Una vez que el estradiol pasa a la circulación llega al hígado, donde se transforma en estrona por la 17 β -esteroides deshidrogenasa; la estrona tiene menor potencia biológica que el estradiol, por ello se tiene que administrar por vía oral una dosis relativamente mayor de estradiol para lograr el efecto terapéutico deseado. En su paso por el hígado, los estrógenos interactúan con sus receptores en los hepatocitos induciendo la síntesis de diversas proteínas como la globulina transportadora de esteroides sexuales (SHBG). Otro inconveniente de la terapia por vía oral es su liberación a la circulación en concentraciones elevadas 2 a 6 horas después de la ingestión, para luego disminuir gradualmente a concentraciones muy bajas hasta la dosis siguiente. En contraste, el estradiol por vía transdérmica se libera en forma continua y sostenida y se evita el paso primario por el hígado (9-11).

EL parche contiene al 17 β -estradiol en forma de gel en una base alcohólica, una matriz que funciona como un reservorio del estradiol que se libera en una cantidad predeterminada y relativamente constante. Una vez aplicado el parche, el nivel de 17 β -estradiol se estabiliza 4 a 8 hs después, alcanzando con

los parches de 25 μg una concentración sérica máxima de 30 a 40 pg/mL y de 38 a 62 pg/mL con los parches de 50 μg (11-12).

Los efectos adversos se presentan de manera similar para las vías de administración oral y transdérmica. El estradiol transdérmico llega a producir en menos del 5% de los casos distensión mamaria, cefalea, retención hídrica, náusea, incremento ponderal y depresión. A nivel local, el estradiol produce eritema transitorio, prurito y ocasionalmente dermatitis de contacto (9).

ESTRÓGENOS E INSULINA

El hipostrogenismo durante la etapa posmenopáusica se ha relacionado con alteraciones en el metabolismo de los carbohidratos y de la sensibilidad a la insulina. En las mujeres posmenopáusicas se ha observado un incremento de las concentraciones séricas de insulina y de la glucemia, comparativamente a mujeres premenopáusicas, lo cual sugiere que la transición de la menopausia promueve un estado de resistencia a la insulina, particularmente en población susceptible (13). Diferentes factores como la edad, el peso, la distribución corporal de la grasa, y otros como el estilo de vida (tabaquismo, ingesta de alcohol, actividad física, paridad, educación) explican parcialmente las variaciones de la glucemia y la insulina durante la menopausia, pero la participación de muchos otros factores aún no se ha aclarado (14).

El estudio Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions (PEPI) en donde se investigó la tolerancia a la glucosa a largo plazo con distintos esquemas de reemplazo con estrógenos orales solos y en combinación con progestágenos, demostró que la terapia estrogénica disminuye las concentraciones de insulina y glucosa de ayuno; sin embargo, el efecto de las progestinas es controvertido e incluso puede ser adverso (15-16).

La administración tanto de estrógenos como de progestágenos incrementa la secreción de insulina, pero estas últimas aumentan además la resistencia a la insulina, mientras que los estrógenos probablemente la reducen (17). La terapia estrogénica de reemplazo atenúa también la acumulación central del tejido adiposo lo cual se encuentra relacionado con la resistencia a la insulina (18).

En varios ensayos que han utilizado distintos tipos y dosis de estrógenos se ha corroborado la disminución en la concentración de insulina; sin embargo, el efecto sobre la sensibilidad a la insulina probablemente es dependiente de la dosis. A dosis moderadas los estrógenos pueden incrementar la sensibilidad a la insulina y a dosis mas elevadas pueden tener el efecto opuesto (14-15, 19-20). El 17 β -estradiol transdérmico reduce también la insulinemia, incluso se ha señalado que esta reducción es superior a la producida por lo estrógenos orales (13-14, 21-23).

Raudaskoski y cols. encontraron que el 17- β estradiol transdérmico mejoraba un 22% la sensibilidad a la insulina en comparación a un 3.6% de la combinación estradiol transdérmico más levonorgestrel (22). El incremento de la sensibilidad a la insulina en mujeres posmenopáusicas bajo terapia de reemplazo ha sido corroborado por diferentes técnicas que incluyen la pinza hiperinsulinémica euglicémica (14,19, 21-24).

En otros estudios los resultados han sido similares, por lo que se puede concluir que los estrógenos en general y particularmente el estradiol transdérmico, pueden reducir las concentraciones de insulina y mejorar la sensibilidad, siendo este efecto más relevante en las pacientes posmenopáusicas hiperinsulinémicas (21).

DEHIDROEPIANDROSTERONA SULFATADA (DHEAS)

Además del hipoestrogenismo, el envejecimiento del sistema endocrino se manifiesta por la disminución en la producción de otras hormonas esteroides, una de estas es la dehidroepiandrosterona sulfatada (DHEAS).

La dehidroepiandrosterona (DHEA) y su derivado sulfato, la DHEAS, son los esteroides más abundantes en el humano (Fig. 1); la DHEAS se secreta

principalmente por la zona reticular de la corteza suprarrenal en respuesta a la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) y circula en grandes cantidades transformándose lentamente a DHEA, que tiene una depuración más rápida (25-26).

En la etapa intrauterina los niveles de DHEAS se encuentran muy elevados, después del nacimiento la zona fetal de la corteza adrenal involuciona y la DHEAS disminuye a niveles imperceptibles hasta la adrenarquia, a partir de entonces aumenta progresivamente hasta alcanzar su máximo nivel alrededor de los 25 años, para después disminuir gradualmente durante las siguientes etapas hasta aproximadamente el 50% en la sexta década de la vida (27-28).

Los mecanismos responsables de la declinación de la DHEAS con la edad no son claros. Una de las explicaciones es la reducción en la capacidad enzimática para la biosíntesis de andrógenos adrenales por disminución de la expresión de la 17,20-desmolasa (29). A diferencia de lo que sucede en mujeres jóvenes, en las senescentes la respuesta de la vía $\Delta 5$ de la esteroidogénesis a la ACTH se ha reportado selectivamente disminuida, en comparación con la vía $\Delta 4$ (Fig. 2). La disminución de la respuesta $\Delta 5C19$ puede producirse por la reducción de la masa celular en la zona reticular de la corteza adrenal, la alteración de la actividad enzimática (P450c17) o por una reducción en la respuesta a la ACTH endógena (30-31). En apoyo a ello, se han observado alteraciones como son una menor distribución de la

sulfotransferasa y adelgazamiento de la zona reticular en la adrenal senescente en comparación a la de los adultos jóvenes (26,31).

La disminución de la DHEAS se ha asociado con diferentes procesos y enfermedades del envejecimiento, mientras que un mayor incremento de su concentración en las etapas avanzadas de la vida se relaciona a mayor longevidad (32).

En diferentes trabajos clínicos y experimentales se ha observado que la disminución de la DHEAS puede predisponer a enfermedad cardiovascular ateromatosa (33-34), obesidad (35), aumentar el riesgo de carcinogénesis (36), y alterar la función inmune (37-38). Se ha sugerido que la DHEAS puede ser un marcador individual y estar bajo un control de herencia parcial, por lo que puede considerarse un componente medible de las variaciones individuales en el proceso de envejecimiento (27, 39-40).

DHEAS Y ESTRÓGENOS

No obstante que la DHEAS inicia su descenso antes de la menopausia, varias investigaciones han sugerido que el hipoestrogenismo de la etapa posmenopáusica puede adicionalmente suprimir a los andrógenos adrenales. Aún se desconocen algunos de los aspectos en la regulación de biosíntesis de



los andrógenos adrenales y de los mecanismos por los que los estrógenos pueden alterar su secreción. Las explicaciones propuestas son por alteración de factores hipotálamo-hipofisarios, por modulación directa de la biosíntesis adrenal y por alteración del catabolismo y depuración de los esteroides adrenales (30,41).

Los mecanismos de respuesta a la administración de estrógeno son complejos. En la corteza adrenal de varias especies animales incluyendo los primates, se ha señalado la presencia de receptores de estrógenos por lo que es probable que estos puedan ser reguladores fisiológicos importantes de la esteroidogénesis adrenal (42-44). In vitro, se ha demostrado el efecto inhibitorio del 17 β -estradiol sobre la actividad 3 β HSD (3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa) en las células de la glándula suprarrenal del humano (42). Además del efecto sobre la glándula adrenal otra acción probable es a nivel hipotálamo-hipofisario (45). En animales de experimentación, se ha observado que la testosterona y su aromatización a estrógenos, regulan el RNA mensajero de las neuronas hipotalámicas (45-46).

A nivel clínico se han efectuado diferentes estudios para valorar el efecto de la terapia estrogénica sobre la DHEAS (44,47-49). En mujeres con disgenesia gonadal se ha informado que la terapia estrogénica incrementa las concentraciones de DHEAS, sugiriéndose también como mecanismo una reducción secundaria de la actividad de la 3 β HSD (44).

En mujeres ooforectomizadas o posmenopáusicas los resultados de los ensayos han sido contradictorios. Algunos trabajos señalan que la terapia estrogénica por vía oral no afecta la función adrenal (47), mientras que otros reportan un incremento de la concentración de DHEAS a valores similares a las de las mujeres en etapa reproductiva (47,49-50). También se ha encontrado una relación directa entre el incremento de la DHEAS y la dosis utilizada de estrógenos (47).

Al contrario, Casson y cols. utilizaron como terapia de reemplazo estradiol micronizado por vía oral y observaron un descenso de la DHEAS (51). En este trabajo se alcanzó una concentración sérica promedio de estradiol 117 pg/mL, que es superior a la de los otros trabajos señalados previamente. En otro ensayo se administró estradiol transdérmico en mujeres mayores de 54 años, se valoró la respuesta de los andrógenos adrenales a la administración aguda de ACTH y no se observaron cambios en la concentración de la DHEA, pero la DHEAS no se midió (28).

En la cohorte del Rancho San Bernardo (52) un análisis transversal demostró que las mujeres bajo THR presentaban una concentración inferior de DHEAS en comparación a las mujeres sin terapia de reemplazo; sin embargo, en este estudio la edad de las mujeres variaba en un amplio intervalo (50 a 79 años) y no se definió ni la dosis ni la duración de la THR. Otro aspecto de este trabajo

es que el estudio hormonal se realizó en muestras que habían permanecido congeladas por espacio de 13 a 17 años, lo cual es probable que afecte la precisión del ensayo de DHEAS (41,52).

Las diferencias en los resultados de estos trabajos, probablemente puede ser explicada por los diferentes diseños, grupos de pacientes, edades, tipo, dosis y tiempo de la THR y otras variables que no fueron controladas como el IMC.

DHEAS E INSULINA

El control de la secreción de los andrógenos adrenales continúa siendo un enigma. Durante largo tiempo se postuló la existencia de una hormona estimuladora de los andrógenos, pero aún no se dispone de las pruebas que lo demuestren. Uno de los factores que puede modificar la secreción de estos esteroides es la insulina.

El efecto de la insulina sobre los niveles de DHEAS se ha investigado por diferentes métodos y técnicas que inducen un estado de hiperinsulinemia aguda exógena o endógena. En hombres y mujeres premenopáusicas se ha señalado que la hiperinsulinemia inducida produce una correlación inversa con la concentración de DHEAS, no obstante en otros grupos de población con características particulares como obesidad u ovarios poliquísticos los resultados

han sido variables (53-54). Por otra parte, es probable que este efecto dependa de las concentraciones de insulina y sólo se presente cuando estas están elevadas.

Se ha sugerido también que las variaciones en la respuesta tienen relación a la funcionalidad ovárica: la infusión de insulina a niveles fisiológicos incrementa la DHEA en mujeres ooforectomizadas pero no en mujeres en etapa reproductiva y con función gonadal normal (18,54-55).

En un estudio efectuado en una pequeña muestra de mujeres posmenopáusicas, utilizando una pinza hiperinsulinémica, no se observó modificación en la concentración de DHEAS (55). En cambio, en un análisis transversal de la cohorte del Rancho San Bernardo, se presentó una correlación directa entre las concentraciones de DHEAS e insulina en mujeres posmenopáusicas sin sustitución y se señaló que las mujeres con mayores concentraciones de DHEAS presentan mayor intolerancia a la glucosa (14). Estos últimos resultados concuerdan con la observación en varios ensayos terapéuticos, que la administración de dosis bajas de DHEAS no produce efecto sobre la resistencia a la insulina (56-57).

Aunque muchos estudios han investigado el efecto de la insulina sobre la secreción de DHEAS, los resultados han sido variables debido a diferencias en el género, ambiente hormonal y utilización de técnicas y métodos como la pinza

hiperinsulinémica y el estímulo con carga de glucosa en los que el corto período de exposición y la vida media prolongada de la DHEAS dificultan la interpretación. (55-57). Por ello resulta de interés investigar la interacción entre la insulina y la DHEAS en la etapa posmenopáusica en pacientes sometidas a terapia estrogénica.

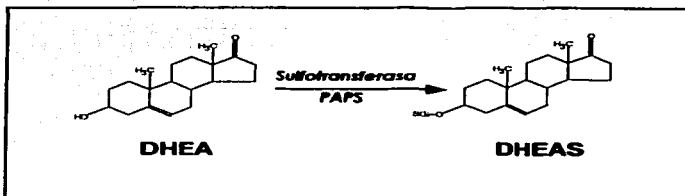


Fig.1. Estructura química de la dehidroepiandrosterona (DHEA) y su conversión a sulfato de DHEA (DHEAS) por acción de la sulfotransferasa y del cofactor 3'-fosfoadenosina 5'-fosfosulfonato (PAPS).

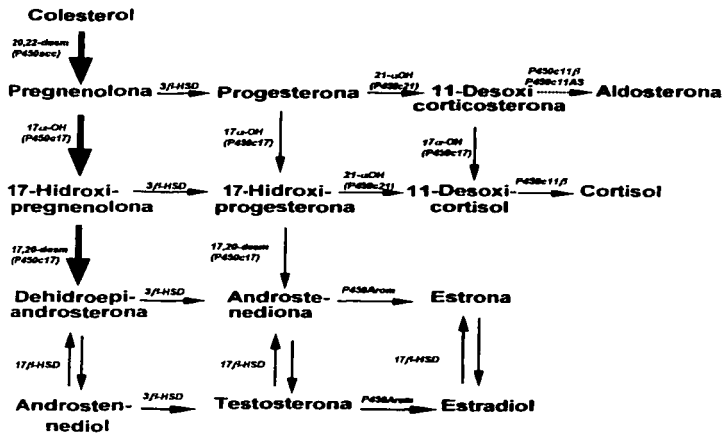


Fig. 2. Esteroidogénesis

20,22-desm: 20,22-desmolasa; 17 α -OH: 17 α -hidroxilasa; 17,20-desm: 17,20-desmolasa; 17 β -HSD: 17 β -hidrogenasa; 3 β -HSD: 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa; 21- α -OH: 21-hidroxilasa; P450c11 β : 11 β -hidroxilasa; P450c11AS: 18-hidroxilasa, 18-oxidasa; P450Arom: 18-aromatasa.

JUSTIFICACION

Durante la última década, la esperanza de vida ha aumentado y con ello el número de mujeres que se encuentran en la etapa posmenopáusica, por lo que resulta trascendente estudiar los procesos fisiológicos de esta etapa. La posmenopausia representa un modelo fisiológico para estudiar la relación entre estrógenos, DHEAS e insulina.

El efecto de la terapia estrogénica de reemplazo sobre la DHEAS tiene importancia clínica al considerar las evidencias que señalan la participación de esta hormona en diversos procesos del envejecimiento. Algunos de los efectos de la terapia estrogénica en sistemas como el cardiovascular, pueden ser explicados parcialmente por modificación del metabolismo intermedio y alteración de hormonas como la insulina y los esteroides adrenales.

Este estudio nos permitirá estimar si la terapia estrogénica a dosis fisiológicas participa en la regulación de la DHEAS e insulina, que contribuyen indirectamente en procesos tan importantes como el metabolismo de los carbohidratos.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los mecanismos que controlan la secreción de DHEAS son aún inciertos; el hipostrogenismo de la etapa postmenopáusica es un factor que puede contribuir a la reducción de los niveles de esta hormona. Sin embargo aún no se conoce con precisión si la THR incrementa la secreción de la DHEAS, si bien se han realizado múltiples ensayos clínicos utilizando THR en mujeres posmenopáusicas, los estudios no se han enfocado a resolver esta cuestión y en algunos trabajos se han presentado divergencias, debido probablemente a la utilización de preparados estrogénicos y dosis diversas y a la medición de la respuesta en distintas edades y etapas de la vida.

Las preguntas planteadas en este estudio fueron:

1. ¿ En mujeres posmenopáusicas, la terapia de reemplazo con estradiol transdérmico reduce las concentraciones de insulina ?
2. ¿ La terapia de reemplazo con estradiol transdérmico incrementa las concentraciones de DHEAS?
3. ¿ La disminución de las concentraciones de insulina durante la terapia de reemplazo, afecta las concentraciones de DHEAS ?

HIPOTESIS

- La terapia de reemplazo con estradiol transdérmico en mujeres posmenopáusicas disminuye las concentraciones de insulina.
- La terapia de reemplazo con estradiol transdérmico en mujeres posmenopáusicas incrementa las concentraciones de DHEAS.
- La disminución de la insulinemia inducida por la terapia de reemplazo, se asocia al incremento de la DHEAS.

OBJETIVOS

1. Medir las concentraciones séricas de insulina y DHEAS antes y durante la terapia estrogénica de reemplazo en mujeres posmenopáusicas.
2. Identificar si existe asociación entre las concentraciones de DHEAS e insulina en mujeres posmenopáusicas bajo terapia estrogénica.

MATERIAL Y METODOS

Diseño del estudio:

Ensayo clínico tipo antes-después.

Universo:

Mujeres en etapa posmenopáusicas.

Lugar de la Investigación:

Se efectuó en la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Endocrinas, Hospital de Especialidades del CMN. IMSS. A esta unidad acudieron pacientes del Hospital de Especialidades, del Hospital de Cardiología y de los diferentes programas de Fomento a la Salud en el Centro Médico Nacional; así como de los diferentes Hospitales Generales en la delegación administrativa.

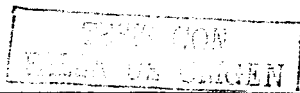
Criterios de Selección:

Criterios de Inclusión:

- Mujeres de 45 a 55 años de edad con histerectomía y ooforectomía previas.
- Hipoestrogenismo demostrado por estradiol sérico inferior a 20 pg/mL y FSH superior a 30 mUI/mL.

Criterios de No Inclusión:

- Pacientes con diabetes mellitus.
- Pacientes bajo la administración de medicamentos que alteren la tolerancia a la glucosa.
- Pacientes con patología mamaria.
- Antecedentes de trombosis vascular, tromboflebitis o tromboembolismo.
- Pacientes con índice de masa corporal (IMC) superior a 30.
- Pacientes con hipertensión arterial, hiperuricemia e hiperlipidemia severa.
- Pacientes con insuficiencia hepática.



Criterios de eliminación:

- Pacientes sin apego al tratamiento o que presentaron efectos adversos a la administración de estrógenos (Anexo 1).
- Pacientes que realizaron un cambio intenso y prolongado en la actividad física.
- Pacientes que manifestaron deseo de suspender el tratamiento.

DEFINICION DE LAS VARIABLES

Predictiva:

Terapia estrógenica de reemplazo (TER)

Definición conceptual: es la administración de estrógenos con fines sustitutivos en mujeres cuya funcionalidad ovárica ha cesado.

Definición operacional: es la administración de 17 β -estradiol transdérmico en mujeres posmenopáusicas, a dosis diaria de de 50 μ g.

Tipo: variable cualitativa nominal monotónica.

Escala de medición: cualitativa nominal.

De desenlace:

Concentración sérica de DHEAS

Definición conceptual: Es la medición del esteroide adrenal predominante en la circulación.

Definición operacional: Es la determinación de los niveles séricos de DHEAS efectuados mediante quimoluminiscencia (QLA), los

valores de referencia en mujeres posmenopáusicas son de 20 a 250 ng/mL.

Tipo: variable cuantitativa continua.

Escala de medición: cuantitativa de razón

Concentración sérica de insulina

Definición conceptual: Medición de los niveles de insulina en suero.

Definición operacional: Es la determinación de los niveles séricos de insulina efectuada por radioinmunoensayo (RIA), con valores de referencia de 5 a 25 $\mu\text{U/mL}$.

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Escala de medición: cuantitativa de razón.

Concentración sérica de 17 β -estradiol.

Definición conceptual: Medición de los niveles de 17 β -estradiol en suero.

Definición operacional: Es la determinación de los niveles séricos de 17 β -estradiol efectuada por radioinmunoensayo (RIA).

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Escala de medición: cuantitativa de razón.

Otras variables:

IMC (Índice de masa corporal)

Definición conceptual: índice que se utiliza para evaluar el grado de sobrepeso y obesidad.

Definición operacional: Se determina dividiendo el peso en kilogramos entre la talla medida en metros y elevada al cuadrado.

Un valor inferior a 25 se considera normal.

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Escala de medición: cuantitativa de razón.

Concentración de ACTH

Definición conceptual: es la medición de los niveles de la hormona hipofisaria ACTH que controla la secreción de esteroides adrenales.

Definición operacional: es la determinación de los niveles séricos de ACTH efectuada por QLA, con valores de referencia de 1 a 20 pg/mL.

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Escala de medición: cuantitativa de razón



Relación glucosa/insulina:

Definición conceptual: La relación glucosa/insulina se considera un índice para valorar la sensibilidad a la insulina.

Definición operacional: es la división en términos absolutos de la concentración sérica de glucosa entre la concentración sérica de insulina.

Tipo de variable: cuantitativa continua.

Escala de medición: cuantitativa de razón.



DESCRIPCION GENERAL DEL ESTUDIO:

Visita Inicial:

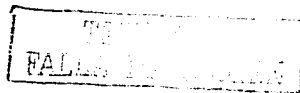
A las participantes que cumplieron con los criterios de selección, al iniciar el estudio se les efectuó una revisión clínica que incluyó la medición del peso, talla, aplicación del cuestionario de Green (58) y la toma de una muestra sanguínea para las siguientes determinaciones: glucosa, colesterol, triglicéridos y determinaciones hormonales.

Terapia de reemplazo:

A las participantes se les administró durante tres meses 17 β -estradiol por vía transdérmica utilizando parches disponibles comercialmente (Ginedisc 50), con los que se obtiene una dosificación diaria de estradiol de 50 μ g. Los parches se recambiaban cada 72 horas.

Visitas subsecuentes:

Cada 2 semanas se evaluaron la tolerancia a la terapia estrogénica, la presencia de efectos adversos y se verificó la colocación del parche de estradiol transdérmico. Al finalizar los tres meses de tratamiento se repitieron las determinaciones de laboratorio efectuadas en la etapa basal.



Muestra biológica:

A las participantes se les tomó una muestra de sangre venosa entre 7:30 y 8:30 h., después de un ayuno de al menos 10 horas y con 15 minutos de reposo previo a la punción venosa. La sangre se recolectó en tres tubos, uno con EDTA y otros dos sin anticoagulantes. La muestra se centrifugó a 1500 rpm durante 5 minutos, a una temperatura de 4 C; el suero y plasma se separaron y dividieron en alícuotas de 500 μ l y permanecieron almacenadas a -35 C hasta la realización de los ensayos hormonales.

Las determinaciones se efectuaron en el laboratorio de la Unidad de Investigación Médica de Enfermedades Endocrinas, de acuerdo a los protocolos específicos y con las condiciones de control de calidad que se han señalado previamente (59-61). Los métodos tienen una precisión y exactitud adecuada, con coeficientes de variación (CV) intra e inter-ensayo menores al 10% (Tabla 1).

Técnicas de Laboratorio:

Las determinaciones de FSH, LH, ACTH, DHEAS y cortisol se hicieron por inmunoanálisis enzimático automatizado por quimioluminiscencia (QLA), en el equipo IMMULITE de Diagnostic Products Corporation (Los Angeles, USA), con reactivos de la misma firma comercial, utilizando para la ACTH la técnica inmunométrica y para DHEAS el método competitivo. Las mediciones de estradiol e insulina se efectuaron por



radioinmunoanálisis (RIA) de fase sólida, con reactivos de los laboratorios CIS-biointernacional (Gif-sur-Yvette, Francia) (Anexo 2).

Enmascaramiento de la medición del desenlace:

Todas las muestras fueron procesadas y analizadas por la misma química. La química estuvo cegada en las determinaciones, habiendo recibido los tubos etiquetados con un número, ignorando a quien pertenecían. En su caso, los resultados se leían en forma computarizada a través del equipo y lector de RIA y del equipo IMMULITE.

Medición del apego al tratamiento

El apego al tratamiento se determinó mediante:

- a) Valorando la disminución de la sintomatología por hipoestrogenismo, utilizando la escala de climaterio de Green (anexo 3)(58).
- b) Contando el número de parches no aplicados.
- c) Midiendo las concentraciones séricas de estradiol durante la TER.

Se consideró como APEGO AL TRATAMIENTO cuando las participantes cumplieron con los siguientes criterios:

- a) Disminución del 30% o más del puntaje de la Escala de Green.
- b) Aplicación de más del 95% de los parches.
- c) Incremento superior a 30 pg/mL del estradiol sérico.

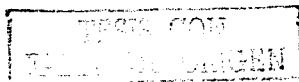


Cálculo del tamaño de muestra:

Se utilizó la fórmula para cálculo del tamaño de muestra para comparación de medias(62):

$$n = \left[\frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta})\sigma}{\mu_1 - \mu_0} \right]^2$$

con una valor de $z = \pm 1.96$ para α de 0.05 en dos colas, y valor de z para β de -1.645 de dos colas para obtener una potencia del 90% y detectar una diferencia de al menos 30 ng/mL en la concentración sérica de DHEAS (50). Así $n = 27$, más 20% de pérdidas durante el seguimiento, requiriéndose incluir al estudio a 33 participantes.



ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Recolección de datos

Se diseñó y evaluó la hoja de recolección de datos.

Organización de los datos:

Se ordenaron por distribución de frecuencias simples y de intervalo.

Presentación de los datos:

Se presentan en tablas y gráficos.

Estadística descriptiva:

El análisis estadístico se realizó en el programa SPSS versión 10.

Se determinó el tipo de distribución de los variables utilizando las pruebas de Kolomogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk, que señalaron el cumplimiento de las premisas de normalidad.

A cada variable se le efectuó medidas de tendencia central y de dispersión, media y desviación estándar (M y DE).



Estadística Inferencial:

Para establecer las diferencias en las concentraciones hormonales antes y después del tratamiento, se aplicó la prueba *t* de Student para grupos dependientes, y para establecer las diferencias entre los grupos con alto y bajo apego y con IMC bajo y alto, se utilizó la prueba de *t* Student para grupos independientes. La asociación entre las variables se determinó efectuando la prueba de correlación de Pearson. Se realizó un análisis de regresión lineal múltiple para establecer la contribución de las diferentes variables predictoras sobre la variable dependiente (DHEAS).

Significado estadístico

Se consideró significativo un valor de $p < 0.05$.



CONSIDERACIONES ETICAS

El presente trabajo se realizó bajo los lineamientos que rigen y reglamentan los proyectos de investigación en humanos, mismos que están definidos en la Declaración de Helsinki por la Organización Mundial de la Salud, con su revisión posterior en Tokio.

El procedimiento terapéutico administrado a las participantes es el que está indicado habitualmente. La THR con estrógenos en pacientes menopáusicas es por definición un tratamiento de reemplazo, por lo que en mujeres adecuadamente seleccionadas no se presentan efectos adversos de consideración.

Este estudio se realizó en mujeres histerectomizadas por lo que solo se requirió la administración 17- β estradiol, no siendo necesario por ello la administración de un progestágeno.

Todas las participantes estuvieron informadas de las ventajas y probables efectos adversos y firmaron carta de consentimiento informado (*anexo 4*).

Este protocolo fue aprobado previamente por el Comité de Investigación del Hospital de Especialidades del CMN con número de registro 99-716-0108.

RECURSOS

Recursos Humanos.

Los médicos, químicos e investigadores de la Unidad de Investigaciones de Enfermedades Endocrinas del IMSS.

Recursos Materiales.

El equipo y material de laboratorio de la misma unidad.

Recursos Financieros.

El estudio se realizó con el apoyo parcial de la Coordinación de Investigación Médica del IMSS a través del Fondo de Fomento a la Investigación (FOFOI-IMSS) con número *FP-0038/950*.

Este estudio también contó con apoyo de la subdirección de postgrado del CONACYT a través de una beca de manutención.



RESULTADOS

Características generales

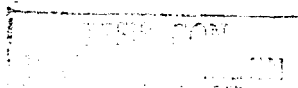
En el estudio se incluyeron 42 participantes cuyas características iniciales se presentan en la Tabla 2. La confirmación de menopausia se realizó por incremento de las concentraciones séricas de FSH y disminución del 17 β -estradiol a 11.5 ± 7.7 pg/mL (M \pm DE).

Tolerancia a la terapia

La ERT fue bien tolerada por todas las participantes, sólo en un caso se observó una reacción eritematosa en el sitio de colocación del parche, por lo que se indicó a la paciente la suspensión de la terapia.

Los efectos adversos fueron mínimos, 12 mujeres reportaron tensión mamaria, calificada por las pacientes como tolerable y cuya intensidad fue reduciéndose conforme transcurrió el estudio.

En 7 participantes no se corroboró apego al tratamiento ya que las concentraciones de 17 β -estradiol no aumentaron conforme a los criterios establecidos, no obstante que en 4/6 se redujo la sintomatología climatérica.



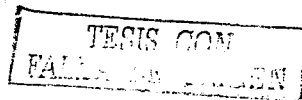
Respuesta hormonal

Debido a que la intención de este ensayo clínico era explicativa, para el análisis estadístico sólo se consideraron las 34 participantes con apego confirmado al tratamiento.

En la Tabla 3 se muestran las modificaciones de las concentraciones hormonales con el tratamiento, el 17 β -estradiol incrementó a una concentración de 47.09 ± 19.05 pg/mL. El aumento de la DHEAS no tuvo relevancia significativa ni la reducción de la ACTH post-tratamiento (Gráfica 1).

La insulina presentó una reducción significativa de 26.90 ± 14.8 a 20.2 ± 8.0 μ UI/mL, lo que correspondió a un 24.9% de los valores basales. La prueba de asociación entre el 17 β -estradiol y la insulina mostró una correlación inversa ($r = -0.284$, $p < 0.01$) (Gráfica 2).

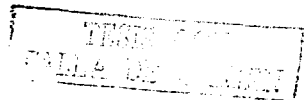
Como grupo de comparación, se utilizaron los resultados de las participantes sin apego o que suspendieron el tratamiento ($n = 7$). El grupo de estudio presentó además de un mayor incremento en las concentraciones séricas de 17 β -estradiol ($p < 0.001$), reducción de las concentraciones séricas de insulina ($p < 0.05$); en cambio, no se observaron diferencias en las concentraciones de DHEAS ni de la ACTH (Tabla 4).



El análisis bivariado de todos los resultados, tanto basales como post-terapia, reveló una correlación baja entre las concentraciones de DHEAS y las de 17 β -estradiol ($r = 0.254$, $p < 0.05$) y entre DHEAS y ACTH ($r = 0.204$, $p < 0.05$); entre la DHEAS y la insulina no se observó asociación (Gráfica 3). En la etapa basal, se mantuvo una correlación de la DHEAS tanto con el 17- β -estradiol ($r = 0.421$, $p < 0.05$), como con la ACTH ($r = 0.521$, $p < 0.05$); en tanto que, bajo tratamiento sólo se presentó una correlación negativa con la insulina ($r = -0.314$, $p < 0.05$).

En base al IMC se establecieron 2 estratos tomando como punto de corte 25. La respuesta estrogénica fue similar para ambos grupos (Tabla 5). La concentración de insulina fue superior tanto en la etapa basal como post-ERT en mujeres con IMC > 25 y la ACTH post-ERT fue también superior en este grupo de participantes.

Por su parte, la interrelación hormonal difirió de manera notable, en el grupo de mujeres con IMC > 25 se presentó una correlación entre la DHEAS y ACTH ($r = 0.521$, $p < 0.01$) sólo en la etapa basal (Gráfica 4). En contraste, en mujeres delgadas la DHEAS y el 17 β -estradiol mostraron una correlación elevada tanto en la etapa basal ($r=0.785$, $p=0.001$) como durante la etapa sustitutiva ($r=0.764$, $p=0.006$); en mujeres con IMC > 25 no existió asociación entre estas dos hormonas (Gráfica 5).



La relación entre la DHEAS e insulina también fue diferente entre el grupo de pacientes delgadas y obesas. Durante la terapia se observó una correlación inversa ($r = -0.646$, $p < 0.01$) en las mujeres con IMC < 25 , en tanto que en mujeres IMC > 25 la correlación fue positiva ($r = 0.625$, $p = 0.004$) (Gráfica 6).

Análisis Multivariado

El análisis de regresión múltiple se utilizó para valorar la influencia de las concentraciones de ACTH, 17β -estradiol e insulina sobre la DHEAS. Se efectuaron tres modelos. En el primer modelo se estableció con los valores hormonales pre-tratamiento, la variable dependiente fue la DHEAS y las variables predictoras las otras tres hormonas (Tabla 6). Este modelo predijo el 46% de la variación hormonal. La ACTH y el 17β -estradiol influyen significativamente en la concentración de DHEAS, de acuerdo al valor del coeficiente estandarizado beta, la función de la primera es de mayor importancia.

El segundo modelo se estableció bajo los mismos supuestos teóricos, pero utilizando los valores post-ERT, para este caso el análisis no reveló influencia significativa de ninguna de las variables explicatorias.

En consideración a las diferencias en las pruebas de correlación observadas con el IMC, se estableció un tercer modelo para el análisis de regresión

múltiple, seleccionando los resultados de las participantes con IMC superior a 25. De manera similar se consideró la DHEAS como variable dependiente y como predictoras a la insulina y 17 β -estradiol y ACTH. A partir de este modelo únicamente se observó influencia de la insulina sobre la DHEAS. El 38% de la variabilidad en la DHEAS se explica por este modelo (Tabla 7).

Sensibilidad a la Insulina

Durante el ensayo no se observó variación relevante en el peso corporal de las participantes (62.5 ± 9.7 Kg inicial vs 62.8 ± 10.0 Kg final, $p = 0.79$). La glucemia de ayuno tampoco se modificó durante el tratamiento, pero la relación glucosa/ insulina (G/I) sí incrementó de 4.19 ± 1.71 a 5.20 ± 2.43 ($p < 0.001$). Se calculó el índice de sensibilidad a la insulina en el grupo de pacientes delgadas y con sobrepeso, el grupo de mujeres con IMC < 25 presentó un aumento de este índice de 6.52 ± 2.22 a 10.44 ± 5.46 ($p=0.007$), el incremento en el grupo con IMC > 25 no obtuvo relevancia estadística (4.46 ± 1.34 a 4.91 ± 0.79) (Gráfica 7).

Tabla 1. Control de calidad de los inmunoensayos.

HORMONA	SENSIBILIDAD	PRECISIÓN		EXACTITUD RECUPERACIÓN (%) (M ± DE)
		CV (%) Intra-ensayo	CV (%) Inter-ensayo	
FSH	0.6 mUI/mL	3.5	6.3	100.6 ± 4.6
LH	1.2 mUI/mL	3.7	6.8	98.6 ± 2.9
17β-Estradiol	10 pg/mL	4.1	8.6	97.2 ± 5.4
Insulina	3.6 μUI/mL	5.7	7.3	97.8 ± 4.2
ACTH	8 pg/mL	3.2	6.5	97.4 ± 5.3
DHEAS	30 ng/mL	4.5	5.8	101.5 ± 3.7



Tabla 2. Características de las participantes (n:41) al inicio del estudio.

	Media \pm DE
Edad (años)	50.1 \pm 3.6
IMC (kg/m ²)	25.3 \pm 3.8
Estradiol (pg/mL)	11.5 \pm 7.7
LH (mUI/mL)	37.7 \pm 18.8
FSH (mUI/ml)	59.6 \pm 23.4
Glucosa (mg/dL)	88.7 \pm 8.1
Colesterol (mg/dL)	213.1 \pm 29.0
Triglicéridos (mg/dL)	197.3 \pm 88.2



Tabla 3. Concentraciones hormonales séricas antes y después de la ERT (n=34).

	Basal (M ± DE)	Post-ERT (M ± DE)	p
Estradiol (pg/mL)	11.5 ± 7.4	47.9 ± 19.05	0.001
Insulina (μU/mL)	26.9 ± 15.25	20.2 ± 8.0	0.01
DHEAS (ng/mL)	68.3 ± 40.7	71.8 ± 56.5	NS
ACTH (pg/mL)	19.5 ± 12.4	14.4 ± 5.9	NS

p: valor de probabilidad para todas las hormonas.

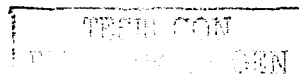


Tabla 4. Valores hormonales ($M \pm DE$) entre el grupo de mujeres con ERT y el grupo de comparación.

		Grupo de estudio (n: 34)	Grupo de comparación (n: 7)	p*
Estradiol (pg/mL)	Basal	11.5 \pm 7.7	14.5 \pm 5.3	NS
	Post-ERT	47.9 \pm 19.5	13.6 \pm 14.7	0.001
DHEAS (ng/mL)	Basal	68.0 \pm 40.7	81.4 \pm 71.0	NS
	Post-ERT	71.8 \pm 60.8	71.0 \pm 39.0	NS
Insulina (mUI/mL)	Basal	26.9 \pm 15.2	28.0 \pm 5.2	NS
	Post-ERT	20.2 \pm 8.0	23.0 \pm 2.1	0.05
ACTH (pg/mL)	Basal	19.15 \pm 12.9	15.0 \pm 2.8	NS
	Con-ERT	14.4 \pm 5.9	16.5 \pm 0.7	NS

*p: Grupo de estudio con ERT vs grupo de comparación.



Tabla 5. Respuesta hormonal en relación al índice de masa corporal.

		IMC < 25 (n: 13)	IMC > 25 (n: 21)	p*
Estradiol (pg/mL)	Basal	12.7 ± 9.8	10.5 ± 4.7	NS
	Post-ERT	56.4 ± 45.4	55.2 ± 50.3	NS
DHEAS (ng/mL)	Basal	61.2 ± 41.0	71.9 ± 40.0	NS
	Post-ERT	69.0 ± 57.5	78.7 ± 16.9	NS
Insulina (mUI/mL)	Basal	18.5 ± 16.9	31.1 ± 5.2	0.02
	Post-ERT	15.2 ± 6.1	23.4 ± 6.9	0.001
ACTH (pg/mL)	Basal	18.8 ± 5.38	20.2 ± 15.4	NS
	Post-ERT	12.7 ± 3.5	16.9 ± 8.5	0.052

*p: Grupo con IMC < 25 vs. grupo IMC > 25.

Tabla 6. Modelo de regresión lineal múltiple en la etapa basal (n=34).

	Coeficientes no estandarizados		Coeficiente estandarizado Beta	t	p
	B	E.E.			
Constante	-0.173	20.273		-0.009	0.993
Insulina	0.385	0.552	0.106	0.698	0.492
ACTH	1.761	0.514	0.516	3.425	0.002
Estradiol	2.342	0.800	0.441	2.926	0.007

* *Enter*, procedimiento de inclusión de todas las variables.

Variable dependiente: concentración de DHEAS.

$R^2 = 0.460$ $F = 6.826$ ($p < 0.002$)

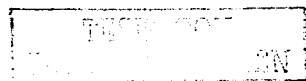


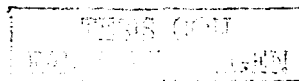
Tabla 7 . Modelo de regresión lineal múltiple (Enter)* en mujeres con IMC > 25.

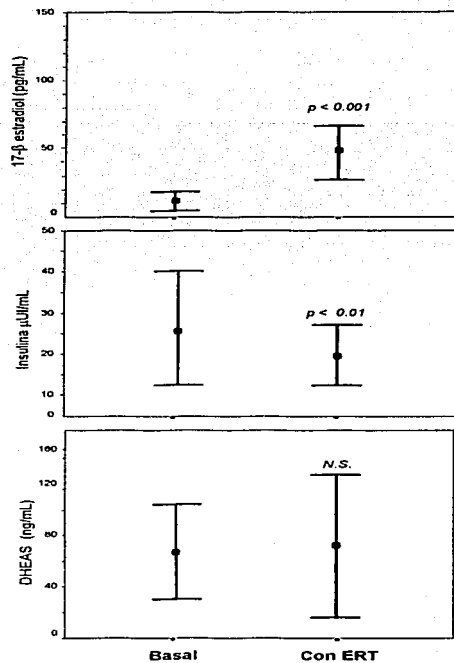
	Coeficientes no estandarizados		Coeficiente estandarizado Beta	t	p
	B	E.E.			
Constante	-61.584	70.951		-0.868	0.401
Insulina* *	5.914	2.221	0.610	2.663	0.020
ACTH **	0.784	2.442	0.099	0.321	0.753
Estradiol **	-0.186	0.373	-0.149	-0.498	0.627

Variable dependiente: concentración de DHEAS post-tratamiento.
 $R^2 = 0.378$

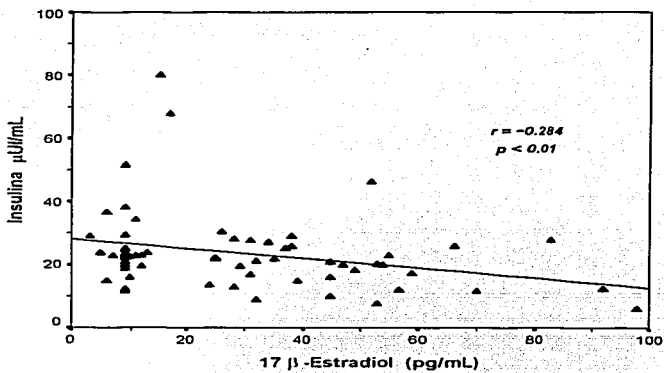
* Enter, procedimiento de inclusión de todas las variables.

** Concentraciones séricas post-tratamiento.

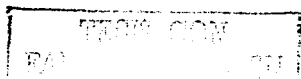


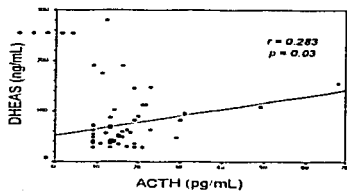
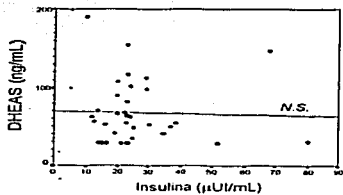
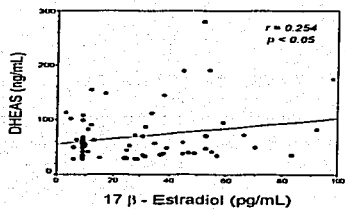


Gráfica 1. Concentraciones hormonales antes y durante la ERT.

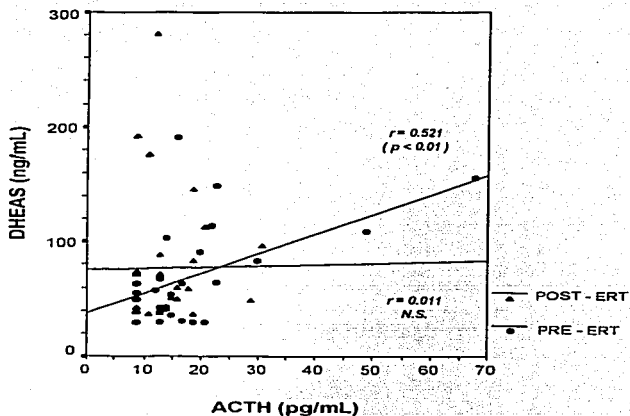


Gráfica 2. Correlación entre insulina sérica y 17β-estradiol.

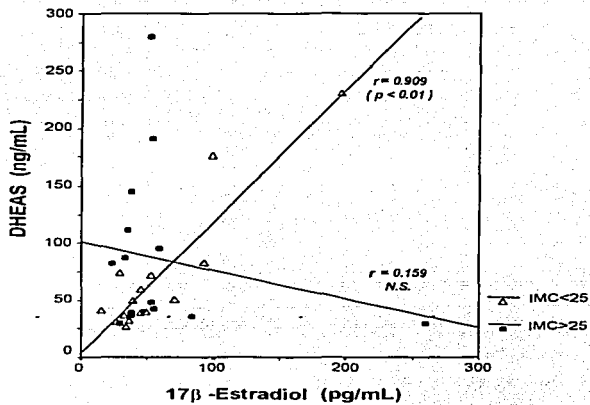




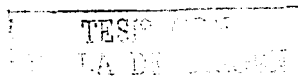
Gráfica 3. Correlación entre DHEAS con 17- β estradiol, insulina y ACTH.

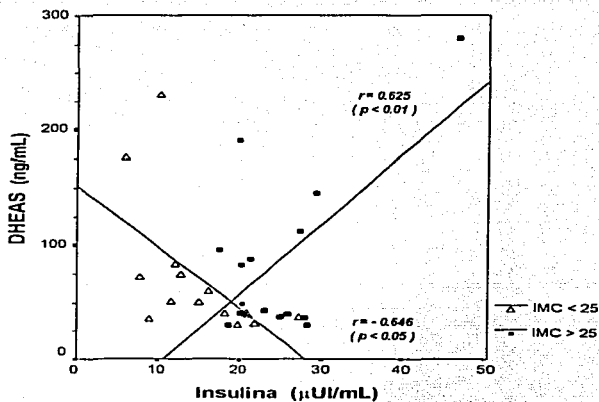


Gráfica 4. Correlación entre las concentraciones séricas de DHEAS y ACTH durante la etapa basal y post-tratamiento.



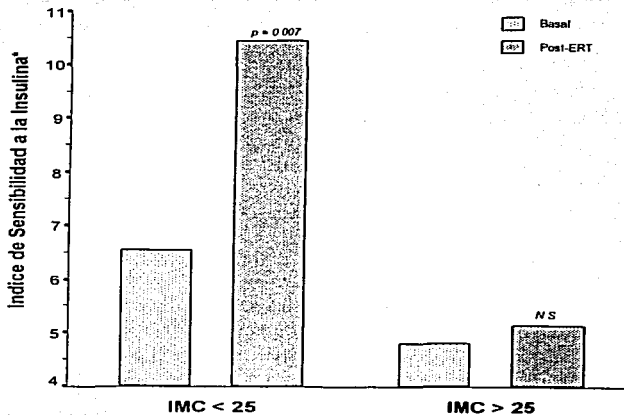
Gráfica 5. Correlación entre las concentraciones séricas de DHEAS y estradiol durante la etapa post-ERT en mujeres con IMC inferior (Δ) y superior a 25 (\bullet).





Gráfica 6. Correlación entre las concentraciones séricas de DHEAS e insulina durante la etapa post-ERT en mujeres con IMC inferior (Δ) y superior a 25 (\bullet).





* Índice de sensibilidad a la insulina = (1/glucosa de ayuno x insulina de ayuno) x 10000

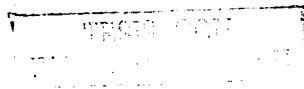
Gráfica 7. Incremento del índice de sensibilidad a la insulina post-ERT en mujeres delgadas y no delgadas.

TESIS CON
FALLA DE CUBRIMIENTO

DISCUSIÓN

A partir de diferentes investigaciones se ha sugerido que los estrógenos participan en la regulación de la esteroidogénesis. La primera de estas observaciones fue la demostración de receptores de estrógenos en la corteza adrenal de los primates (49). Otras observaciones fueron por una parte, la asociación entre hipoestrogenismo y adrenopausa; y por la otra, la demostración de la acción de la terapia estrogénica sobre la actividad de las enzimas del citocromo P450C17 que dirigen la biosíntesis de los andrógenos adrenales (29).

Previamente se habían realizado algunos estudios con terapia estrogénica por vía oral; no obstante, se consideró conveniente realizar este ensayo, utilizando la vía transdérmica, que permitiría valorar un efecto estrogénico en forma más próxima a la fisiológica, gracias a la absorción intacta de la molécula de estradiol y a la obtención de concentraciones séricas similares a las de la fase folicular temprana de un ciclo menstrual normal con esta terapia. Otra característica de este estudio es que se realizó en mujeres con antecedente de ooforectomía, con lo cual se evitó una posible influencia de los andrógenos ováricos.



En contraste a algunos trabajos en donde se había encontrado que la administración oral de estrógenos conjugados o de etinil-estradiol incrementaban las concentraciones de andrógenos adrenales a través de un aumento de la actividad de la enzima 3 β HSD y 17,20 ligasa (42,50); en este trabajo, no se logró demostrar alguna modificación significativa de la concentración de DHEAS con el estradiol transdérmico. Los resultados de este trabajo coinciden con el de Slayden y cols (51), que demostraron en mujeres bajo terapia de reemplazo con estradiol transdérmico, no se altera la respuesta aguda de los andrógenos adrenales a la ACTH.

Por otra parte, en el trabajo de Casson y cols (51) se encontró que la administración de estradiol micronizado por vía oral produce un efecto opuesto sobre DHEAS. Comparativamente las concentraciones séricas de 17 β -estradiol alcanzadas en ese trabajo fueron superiores a las del presente trabajo, 117 vs. 47 pg/mL. Además del tipo de compuesto estrogénico, ya en algunos estudios se había señalado que el efecto sobre DHEAS podría variar por la dosis (47,63).

Como se ha señalado, los estrógenos pueden actuar directamente a nivel adrenal. A dosis suprafsiológicas los estrógenos pueden bloquear la actividad de la 3- β HSD, como ocurre durante la etapa fetal; mientras que a dosis fisiológicas similares a las de la terapia de reemplazo, se ha encontrado un incremento de la expresión del RNA mensajero de esta enzima en células

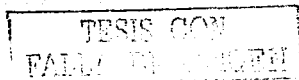


humanas aisladas de las capas reticular y fascicular (64). Este dato podría explicar la disminución de la DHEAS que se ha señalado en algunos trabajos (51). El efecto de dosis menores de reemplazo como es el caso del presente trabajo se desconoce.

Otra explicación que Casson y cols. (51), sugieren para el descenso de DHEAS, es el efecto de la terapia estrogénica sobre la testosterona, ya que esta hormona tiene una acción trófica sobre la secreción de los andrógenos adrenales (65). La terapia de reemplazo puede inducir el descenso de la testosterona a través de un aumento de la concentración de la globulina transportadora de los esteroides sexuales y de una disminución de las gonadotropinas (SHBG) y de su efecto sobre el estroma ovárico. Este efecto no se manifestaría en mujeres ooforectomizadas.

En consecuencia, las diferencias en la respuesta de DHEAS en el presente trabajo podrían explicarse primero, por las ausencia del paso hepático del estradiol transdérmico en comparación con los estrógenos orales, ya que estos promueven un incremento significativo de la SHBG (23); y segundo, por el antecedente de ooforectomía de las mujeres en este estudio.

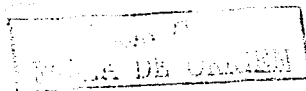
En algunos de los otros trabajos señalados se utilizaron además del compuesto estrogénico, la combinación con progestágenos. Las progestágenos afectan a la insulina y no está determinado su efecto sobre DHEAS. En este trabajo se



evitó una posible interferencia al administrarse sólo la terapia con 17 β -estradiol a mujeres histerectomizadas. Además para reducir la influencia de la edad sobre las concentraciones de DHEAS e insulina, este estudio se realizó en mujeres de 45 a 55 años de edad. En otros trabajos el intervalo de edad ha sido más amplio (41, 51-52).

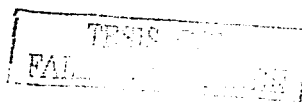
Se ha observado, por otra parte que durante la menopausia se presentan alteraciones en el metabolismo de los carbohidratos y de la sensibilidad a la insulina por la deficiencia estrogénica. La hiperinsulinemia y la resistencia a la insulina contribuyen en el riesgo cardio-vascular por su asociación a diferentes condiciones como la aterogénesis, hipertensión, incremento de triglicéridos, disminución de las HDL2 e incremento del inhibidor del activador del plasminógeno-1. La THR transdérmica reduce los niveles de insulina de manera similar a la vía oral (17,23).

En este trabajo, la terapia de reemplazo con estradiol transdérmico redujo la concentración de insulina. Aunque no fue el objetivo de este estudio investigar el efecto de la THR sobre la resistencia a la insulina, se encontró que durante la terapia estrogénica aumentó significativamente la razón glucosa/insulina (G/I). Se ha considerado que este índice es un método imperfecto para valorar la sensibilidad a la insulina (66), especialmente cuando se compara con la pinza hiperinsulinémica o el modelo mínimo (67-68). Sin embargo, en sujetos sanos la glucosa de ayuno se mantiene en límites fisiológicos gracias a los



mecanismos que regulan la secreción de insulina y la producción hepática de glucosa. Bajo estas condiciones, una elevación en las concentraciones de insulina de ayuno se corresponde con un incremento de la resistencia a la insulina (66,69). Por ello, en sujetos no diabéticos, la razón G/I se considera un proxy de la sensibilidad a la insulina. Así, los resultados de este trabajo son consistentes con estudios previos que han demostrado que en mujeres posmenopáusicas, la terapia estrógenica reduce las concentraciones de insulina de ayuno y mejora la sensibilidad a la insulina.

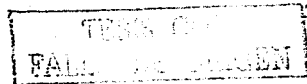
La sensibilidad a la insulina se evaluó también utilizando el "índice de sensibilidad a la insulina", calculado con el recíproco de la concentración de insulina y multiplicado por la glucemia y posteriormente por 10 000, de acuerdo al método de Stutter (70). Un nivel alto de este índice indica mayor sensibilidad a la insulina. En el trabajo se observó que las mujeres con IMC > 25 no modifican significativamente su índice de sensibilidad a la insulina con la terapia estrogénica; en las pacientes delgadas se presentaba un incremento de este índice de 6.52 a 10.44. La determinación de este índice nos permitió contrastar estos resultados con los del trabajo epidemiológico de González C y cols. (71) de un grupo poblacional de la Ciudad de la México. El índice de sensibilidad a la insulina en el trabajo de González C y cols. fue superior al de este estudio, ya que se trata de individuos con menor edad, mayor actividad física y menos IMC.



En el trabajo de Gonzalez y cols. se establecieron dos grupos, el primero de mujeres posmenopáusicas y el segundo de mujeres premenopáusicas o con THR. El índice de sensibilidad a la insulina en este último grupo fue 12.9 ± 12.4 que se puede considerar similar a 10.4 ± 5.4 de las mujeres con ERT e IMC < 25 del presente trabajo: la variación mínima de los valores probablemente se explique por una edad menor en las mujeres del trabajo de González y cols. (42.0 vs. 50.1 años).

Se ha señalado que en mujeres normales durante la etapa reproductiva, los incrementos fisiológicos de insulina podrían reducir la secreción de la DHEAS (54); no obstante, cuando se trata de mujeres coorrectomizadas como las de este estudio, pueden presentarse variaciones, ya que el ovario es un sitio para estimular la producción de andrógenos por insulina (55).

En el presente trabajo se presentaron algunas diferencias en la respuesta hormonal de pacientes con IMC elevado. Una de las características de la acumulación del tejido adiposo abdominal es el incremento de la actividad androgénica. Se ha encontrado que las concentraciones de DHEAS se relacionan de manera inversa al IMC de mujeres premenopáusicas, los pacientes con incremento de IMC son incapaces de regular la producción y depuración de la de DHEAS (72), se requieren más estudios para identificar la respuesta de DHEAS en la etapa posmenopáusica.

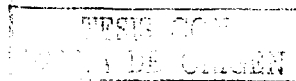


En este trabajo se observó en mujeres con IMC > 25 una influencia de la insulina sobre la DHEAS. En pacientes con obesidad y particularmente obesidad abdominal, pueden existir alteraciones en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la liberación de CRH y ACTH (73-74). También se ha informado, que la respuesta del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA) con estímulos alimentarios diferentes, varía por la distribución del tejido adiposo (75). Entre otros, la insulina puede ser un factor que participa en la regulación de este eje. Fruehwald-Schultes B y cols. (76), utilizaron la técnica de la pinza hiperinsulinémica euglicémica para estudiar el papel de la hiperinsulinemia en la regulación del eje HPA, encontraron un incremento de la respuesta de la ACTH, lo que sugería un efecto estimulante de la insulina sobre el eje; sin embargo se requieren más estudios en sujetos obesos y en etapa posmenopáusica para poder establecer conclusiones definitivas.



CONCLUSION

- La regulación de los andrógenos adrenales es muy compleja, en ciertas condiciones clínicas como lo etapa posmenopáusica, existe una divergencia entre las concentraciones plasmáticas de ACTH y la secreción de DHEAS, lo que ha llevado a considerar la existencia de otros factores reguladores. En este estudio, en donde se controló la edad en un intervalos estrecho, se evitó la interferencia de los andrógenos ováricos y de la administración de progestágenos; se demostró que el uso del estradiol transdérmico en dosis consideradas fisiológicas no modifica las concentraciones de DHEAS.
- La terapia estrogénica por vía transdérmica disminuye las concentraciones de insulina y mejora la sensibilidad a la insulina a nivel tisular.
- El efecto benéfico de la terapia estrogénica sobre la insulinemia no demostró influencia en la secreción de DHEAS. Con excepción del grupo de mujeres obesas, en donde se observó que las concentraciones de insulina influyen sobre la DHEAS.



- La respuesta de la DHEAS a la terapia estrogénica probablemente depende del peso corporal, la dosis y la vía de administración.

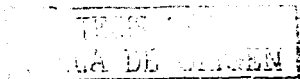
REFERENCIAS BIBIOGRAFICAS

1. Wise PM, Krajinak KM, Kashon ML. Menopause: The aging of multiple pacemakers. *Science* 1996; 273: 67-70.
2. Vyas S, Gangar K. Postmenopausal oestrogens and arteries. *Br J Obstet Gynecol* 1995; 102:942-46.
3. Sherwin BB, Carson LE. Estrogen and memory in women. *J Soc Obstet Gynaecol Can* 1997; 19 (Suppl) 7-13.
4. Consensus Opinion. A decision tree for the use of estrogen replacement therapy or hormone replacement therapy in postmenopausal women: Consensus opinion of the North American Menopause Society. *Menopause* 2000; 7:76-86.
5. Grady D, Herrington D, Bittner V, Blumenthal R, Davidson M, Hlatky M, Hsia J, Hulley S, Herd A, Khan S, Kristin Newby L, Waters D, Vittinghoff E, Wenger N. Cardiovascular disease outcomes during 6.8 years of hormone therapy. Heart and estrogen-progestin replacement study follow-up (HERS II). *JAMA* 2002; 288:49-57.
6. Writing group for the Women's Health Initiative investigators. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women. Principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* 2002; 288:321-333.
7. Persson I, Berghkvist L, Lindgreen C, Yuen J. Hormone replacement therapy and major risk factors for reproductive cancers, osteoporosis, and cardiovascular diseases: evidence of confounding by exposure characteristics. *J Clin Epidemiol* 1997; 50:611-618.
8. Oger E, Scarabin PY. Traitment hormonal substitutif de la ménopause et risque d'accident vasculaire cérébral. *Ann Endocrinol (Paris)* 1999; 60:232-41.

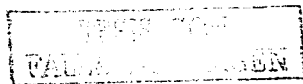


9. Jewelewicz R. New developments in topical estrogen therapy. *Fertil Steril* 1997; 67: 1-12.
10. Keating FS, Manassiev N, Stevenson JC. Maximizing the use of HRT: focus on hysterectomised women. *Current Med Res* 1999; 15:290-97.
11. Padwick ML, Endacott J, Whitehead MI. Efficacy, acceptability and metabolic effects of transdermal estradiol in the management of postmenopausal women. *Am J Gynecol* 1985; 152:108 5-1091.
12. Powers MS, Schenkel I, Darley PE, Good WR, Balestra JC, Place VA. Pharmacokinetics and pharmacodynamics on transdermal dosage forms of 17 β -estradiol comparison with conventional oral estrogens used for hormone replacement. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 152: 1099-1106.
13. Berger GM, Naidoo J, Gounden N, Gouws E. Marked hyperinsulinaemia in postmenopausal, healthy indian (asian) women. *Diabet Med* 1995; 12:788-795.
14. Barrett-Connor E, Schrott HG, Greendalke G, Kritz-Silverstein D, Espeland MA, Stern MP, Bush T, Perlman JA. Factors associated with glucose and insulin levels in healthy postmenopausal women. *Diabetes Care* 1996; 19:333-40.
15. Espeland MA, Hogan PE, Fineberg SE, Howard G, Schrott H, Waclawiw MA, Bush TL. Effect of postmenopausal hormone therapy on glucose and insulin concentrations. PEPi investigators. Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions. *Diabetes Care* 1998; 21:1589-95.
16. Duncan AC, Lyall H, Roberts RN, Petrie JR, Perera MJ, Monaghan S, Hart DM, Connel JM, Lumsden MA. The effect of estradiol and a combined estradiol-progestagen preparation on insulin sensitivity in healthy postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*; 1999; 84:2402-07.
17. Stevenson JC, Preoudler AJ, Walton C, Godsland IF. HRT mechanisms of action: carbohydrate. *Int J Fertil Menopausal Stud* 1994; 39:50-55
18. Tchernof A, Calles-Escandon J, Sites CK, Poehlman ET. Menopause, central body fatness, and insulin resistance: effects of hormone-replacement therapy. *Coron Artery Dis* 1998; 9:503-11.

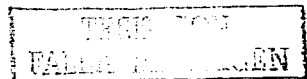
19. Wu J, Bi Y, Wang H. The effects of ethinyl estradiol on glucose metabolism in postmenopausal women. (Abstract) *Chung Hua Fu Chan Ko Tsa Chih* 1997; 32:528-531.
20. Lindheim SR, Buchanan TA, Duffy DM, Vijod MA, Kojima T, Stanczyk FZ, Lobo RA. Comparison of estimates of insulin sensitivity in pre- and postmenopausal women using the insulin tolerance test and the frequently sampled intravenous glucose tolerance test. *J Soc Gynecol Invest* 1994; 2:150-154.
21. Cucinelli F, Paparella P, Soranna L, Barini A, Clinque B, Mancuso S, Lanzone A. Differential effect of transdermal estrogen plus progestagen replacement therapy on insulin metabolism in postmenopausal women: relation to their insulinemic secretion. *Eur J Endocrinol* 1999; 140: 215-23.
22. Raudaskoski T, Tomas C, Laatikainen T. Insulin sensitivity during postmenopausal hormone replacement with transdermal estradiol and intrauterine levonorgestrel. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1999; 78:540-545.
23. Cagnacci A, Soldani R, Carriero PL, Paoletti AM, JE, Fioretti, Melis GB. Effects of low doses of transdermal 17 beta-estradiol on carbohydrate metabolism in menopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 78:4:1396-1400.
24. Colacurci N, Zarccone R, Mollo A, Russo G, Passaro M, de Seta L, de Francis P. Effects of hormone replacement therapy on glucose metabolism. *Panminerva Med* 1998, 40:28-21.
25. Baulieu EE. Dehydroepiandrosterone (DHEA): the fountain of youth. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:59-64
26. Endoh A, Kristiansen SB, Casson P, Buster JE, Hornsby PJ. The zona reticularis is the site of biosynthesis of dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone sulfate in the adult human adrenal cortex resulting from its low expression of 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:3558-3565.



27. Orentreich N, Briand JL, Vogerlman JH. Age changes and sex differences in serum dehydroepiandrosterone sulfate concentrations through adulthood. *J Clin Endocrinol Metab* 1984; 59: 551-55.
28. Slayden SM, Brabbe L, Bae S, Potter HD, Azziz R, Parker CR. The effect of 17 β -estradiol on adrenocortical sensitivity responsiveness, and steroidogenesis in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:519-24.
29. Liu CH, Laughlin GA, Fisher UG, Yen SC. Marked attenuation of ultradian and circadian rhythms of dehydroepiandrosterone in postmenopausal women; evidence for a reduced 20,27-desmoloase enzymatic activity. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 71:900-906.
30. Luisi S, Tonetti A, Beranrdi F, Casarosa E, Florio P, Montaeoleone P, Gremignani R, Petraglia F, Luisi M, Genazzani A. Effect of acute corticotrophin releasing factor on pituitary-adrenocortical responsiveness in elderly women and men. *J Endocrinol Invest* 1998; 23:449-53.
31. Parker CR, Slayden S, Azziz R, Crabbe L, Hines A, Boots L, Bae S. Effect of aging on adrenal function in the human: responsiveness and sensitivity of adrenal androgens and cortical to adrenocorticotrophin in premenopausal and postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 48-54.
32. Ravaglia G, Forti P, Maioli F, Boschi F. The relationship of dehydroepiandrosterone sulfate to endocrine-metabolic parameters and functional status in the oldest-old. Results from an Italian study on healthy free-living over-ninety-years-olds. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:1173-1178.
33. Barrett-Connor E, Khaw KT, Yen SC. A prospective study of dehydroepiandrosterone sulfate, mortality, and cardiovascular disease. *N Engl J Med* 1986; 325:1519-24.
34. Mitchell LE, Sprecher DL, Borecki IB, Rice T, Laskaszerwski PM. Evidence for an association between dehydroepiandrosterone sulfate and non-fatal, premature myocardial infarction in males. *Circulation* 1994; 89: 89-93.



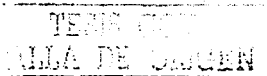
35. Abadie JM, Wright B, Correa G, Browne ES, Porter JR, Svec F. Effect of dehydroepiandrosterone on neurotransmitter levels and appetite regulation on the obese Zucker rat. *Diabetes* 1993; 42:662-669.
36. Ebeling P, Koivisto VA. Physiological importance of dehydroepiandrosterone. *Lancet* 1994; 343:1479-1481.
37. Okabe T, Haji M, Talauamago R, Adachi M, Imasaki K, Kurimoto I, Watanabe I, Nawata H. Up-regulation of high-affinity dehydroepiandrosterone binding activity by dehydroepiandrosterone in activated human T lymphocytes. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80:2993-2996.
38. Hennebold JD, Daynes RA. Regulation of macrophage dehydroepiandrosterone sulfate metabolism by inflammatory cytokines. *Endocrinology* 1994; 135:67-75.
39. Rotter JL, Wong FL, Lifrak ET. A genetic component to the variation of dehydroepiandrosterone sulfate. *Metabolism* 1985; 34:731-36.
40. Thomas G, Frenoy N, Legrain S, Sebag R, Baulieu EE, Debuire B. Serum dehydroepiandrosterone sulfate levels as an individual marker. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 9:12723-1276.
41. Tazuke S, Khaw KT, Chir MBB, Barrett-Connor E. Exogenous estrogen and endogenous sex hormones. *Medicine* 1992;71: 44-51.
42. Byrne GC, Perry YS, Winter JSD. Steroid inhibitory effects upon human adrenal 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase activity. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 62: 413-418
43. Hirst JJ, West NB, Brenner RM, Novy MJ. Steroid hormone receptors in the adrenal glands of fetal and adult rhesus monkeys. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75:3078-14.
44. Lucky AW, Marynick SP, Rebal RW. Replacement oral ethinyl estradiol therapy for gonadal dysgenesis: growth and adrenal androgen studies. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1979; 91: 519-28.



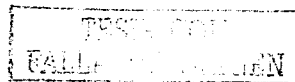
45. Chowen JA, Argente J, Vician L, Clifton DK, Steiner RA. Proopiomelanocortin messenger RNA in hypothalamic neurons is increased by testosterone through aromatization to estradiol. *Neuroendocrinology* 1990; 52: 582-88.
46. Cheung S, Hammer RP: Gonadal steroid hormone regulation of proopiomelanocortin gene expression in arcuate neurons that innervate the medial preoptic area of the rat. *Neuroendocrinology* 1995; 62:283-92.
47. Lobo R, Goebelsman U, Brenner PF, Mishell DR. The effects of estrogen on adrenal androgens in oophorectomized women. *Am J Obstet Gynecol* 1982; 142: 472-78.
48. Lee PA, Kowarski A, Migeon C, Blizar RM: Lack of correlation between gonadotrophin and adrenal androgens levels in gonadal children. *J Clin Endocrinol Metab* 1975; 40: 664-69.
49. Cumming D, Rebar RW, Hopper BR, Yen SSC. Evidence for an influence of the ovary on circulating dehydroepiandrosterone sulfate levels. *J Clin Endocrinol Metab* 1982; 54: 1069-75.
50. Fonseca E, Velázquez S, Basurto L, Saucedo R, Zárate A. Hormone replacement therapy increases circulating ACTH/dehydroepiandrosterone sulfate in menopause. *Maturitas* 2001; 39: 57-62.
51. Casson PR, Elikind-Hirsch K, Buster JE, Hornsby P; Carson SA, Snabes MC. Effect of postmenopausal estrogen replacement on circulating androgens. *Obstet Gynecol* 1997; 90:995-98.
52. Barret-Connor E, Ferrara A. Dehydroepiandrosterone, Dehydroepiandrosterone sulfate, obesity, waist-hip ratio, and noninsulin-dependent diabetes in postmenopausal women: The Rancho Bernardo Study. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 59-64.
53. Ferrara A, Barret-Connor E, Wingard DL, Edelstein SL. Sex differences in insulin levels in older adults and the effect of body size, estrogen replacement therapy, an glucose tolerance status. The Rancho Bernardo Study. *Diabetes Care* 1995; 18:220-25.



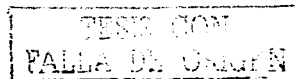
54. Diamond MP, Grainger DA, Laudano AJ, Starick-Zych K, De Fronzo RA. Effect of acute physiological elevations of insulin on circulating androgen levels in nonobese women. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 72:883-887.
55. Stuart CA, Nagamani M. Insulin infusion acutely augments ovarian androgen production in normal women. *Fertil Steril* 1990; 54:788-792.
56. Nestler JE, Clore JN, Strauss III JF, Blackard WVG. The effects of hyperinsulinaemia on serum testosterone, progesterone, dehydroepiandrosterone sulfate, and cortisol levels in normal women and in a woman with hyperandrogenism, insulin resistance and acanthosis nigricans. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 64: 180-84.
57. Mortola JF, Yen SSC. The effects of oral dehydroepiandrosterone on endocrine-metabolic parameters in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 71:696-704.
58. Green JG. Constructing a standard climacteric scale. *Maturitas* 1998; 29:25-31.
59. Fonseca ME, Masonn M, Galván R, Pascoe D, Ochoa R, Hernández M, Zárate A. Evaluation of an immunoenzymometric assay (IEMA), using automatic system for determination of luteinizing hormone and follicle stimulating hormone. *Arch Med Res* 1997; 28:1-5.
60. Fonseca ME, Mendoza C, Velásquez S, Ruiz M, Zárate A. Validación analítica de la medición de la hormona luteinizante por inmunoensayo enzimático automatizado y detección por quimioluminiscencia. *Bioquímica* 1999; 24:11-16.
61. Fonseca E, Ochoa R, Galván R, Hernández M, Mercado M, Zárate A. Increased serum levels of growth hormone and insulin-like growth factor-1 associated with simultaneous decrease of circulating insulin in postmenopausal women receiving hormone replacement therapy. *Menopause* 1999; 6:56-60.
62. Dawson-Saunders B, Trapp RG. Estimación y comparación de medias. En: *Bioestadística Médica*. Ed El Manual Moderno México DF, 2ª. Edic 1997, p.119-146.



63. Rose DP, Fern M, Liskowski L, Milbrath JR. Effect of treatment with estrogen conjugates on endogenous plasma steroids. *Obstet Gynecol* 1977; 49:80-82.
64. Casson PR, Endoh A, Buster JR, Hornsby PJ: Physiologic estrogen enhances 3 β ol hydrosteroid dehydrogenase (type II 3 β -HSD) and 17 α P450 (P450c17) m RNA (abstract). *J Soc Gynecol Invest* 1996; 3: 116A.
65. Polderman KH, Gooren LJG, Van der Veen EA. Testosterone administration increases adrenal response to adrenocorticotropin. *Clin Endocrinol* 1994; 450: 595-601.
66. Legro RS, Finegood D, Dunaif A. A fasting glucose to insulin ratios is a useful measure of insulin sensitivity in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 2694-98.
67. Zárate A, Hernández M, Tene CE. Impacto clínico de la resistencia a la insulina y la relación con la prevención de diabetes mellitus. *Gac Méd Méx* 1998; 134: 647-49.
68. Quon MJ. Limitations of the fasting glucose to insulin ratio as an index of insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 4615-17.
69. Ferraninni E, Mari A. How to measure insulin sensitivity. *J Hypertens* 1998; 16:895-906.
70. Sluiter WJ, Erkelens DW, Terpstra P. Glucose tolerance and insulin release, a mathematical approach. *Diabetes* 1975; 25: 245-49.
71. Sowers M., Gonzalez C, Stern MP, Fox C, Mitchell, BD. Relationships between physical activity, insulin levels and lipids in non-diabetic low income residents of Mexico City: The Mexico City Diabetes Study. *Arch Med Res* 1995; 26:133-40.
72. De Pergola G, Fiagulli VA, Garruti G, Cospite MR, Giorgino F, Cignarelli, Giorgino R. Low dehydroepiandrosterone circulating levels in premenopausal obese women with very high body mass index. *Metabolism* 1991; 40: 187-90.
73. Pasquali R, Biscotti D, Spinucci G, Vicennati V, Genazzani AD, Sgarbi L, Casimiri F. Pulsatile secretion of ACTH and cortisol in premenopausal



- women: effect of obesity and body fat distribution. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1998; 48: 603-12.
74. Vicennati V, Pasquali R. Abnormalities of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in nondepressed women with abdominal obesity and relations with insulin resistance : evidence for a central and peripheral alteration. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 4093-48.
75. Vicennati V, Ceroni L, Gagliardi L, Gambineri A, Pasquali R. Response of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis to high-protein/fat and high-carbohydrate meals in women with different obesity phenotypes. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 3984-88.
76. Fruehwald-Schultes B, Kern W, Born J, Fehm HL, Peters A. Hyperinsulinemia causes activation of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 84: 3041-46.



Anexo 1

EFFECTOS ADVERSOS DE LA TERAPIA CON ESTRADIOL TRANSDERMICO**Piel:**

Eritema y prurito en el sitio de aplicación,
dermatitis por contacto
prurito y exantema generalizado
Melasma.

Aparato Gastrointestinal:

Náusea
Cólico
Flatulencia

Aparato Cardiovascular:

Aumento de la presión arterial
Aumento del retorno venoso
Tromboflebitis en casos aislados

Sistema Nervioso Central:

Cefalea
migraña
Vértigo

Glándula mamaria:

Turgencia
Secreción mamaria
Tensión mamaria

Otros:

Modificaciones en el peso



Anexo 2.**TECNICAS DE LABORATORIO**

Los inmunoensayos han ganado popularidad, tanto en la práctica clínica como en la investigación, debido a su gran sensibilidad¹, precisión, exactitud, versatilidad, sencillez y bajo costo. Durante mucho tiempo, el radioinmunoanálisis (RIA) fue el método de elección para la cuantificación de hormonas; sin embargo, en los últimos años, los inmunoensayos han evolucionado notablemente, gracias al uso de los anticuerpos monoclonales que permiten contar con inmunoensayos más específicos, así como por la introducción de diferentes tipos de marcadores en sustitución de los radioisótopos, surgiendo nuevos inmunoensayos como los métodos inmunoenzimáticos, las técnicas con detección fluorométrica y la quimioluminiscencia (QLA). El uso de los inmunoensayos se ha facilitado y extendido desde la aparición de estuches de reactivos preparados y distribuidos por diversos laboratorios y más recientemente por el avance de la tecnología que ha permitido contar con los inmunoanalizadores.

RADIOINMUNOENSAYO

Los ensayos de unión competitiva como el RIA son un grupo de métodos analíticos *in vitro* basados en la unión reversible no covalente de una molécula pequeña o ligando con unproteína de unión específica. La técnica de RIA así como el análisis de radioreceptores se basan en la evaluación del grado de unión de una sustancia radiomarcada con una anticuerpo o proteína receptora respectivamente; en donde la proteína u hormona a cuantificar compiten por unirse con la marcada radiactiva. Todos los radioinmunoensayos son métodos de unión a proteínas específicas, en los que el punto esencial es la unión

reversible de un compuesto S^* a la proteína específica. De acuerdo a la ley de acción de masas se puede establecer:



Las proteínas de unión son: proteínas séricas, receptores de hormonas o anticuerpos (Ac). Para la estimulación radioinmunológica de un compuesto Sx (antígeno) son usados Ac específicos contra este compuesto. La adición de cierta cantidad limitada del Ac a un exceso de antígeno (Ag) marcado Sx^* , resulta en determinado momento en un equilibrio, donde parte de las moléculas del antígeno están unidas a los Ac y el resto está libre, debido a que los sitios de unión están limitados.

Un requisito para la aplicación analítica de Ac al RIA es que las moléculas radiactivas Sx^* y las no marcadas del compuesto Sx no difieran en sus propiedades inmunoquímicas y en su capacidad de unión al Ac.



Cuando un exceso de moléculas de antígeno no marcadas y radiactivas Sx^* + Sx están mezcladas, compiten por lo sitios disponibles de una cantidad definida de anticuerpo. Si mayor cantidad de antígeno Sx no marcado es adicionado, una menor cantidad de moléculas radiactivas de Ag marcado se unirán a los anticuerpos y por lo tanto más de las de las moléculas presentes estarán en el estado libre.

Cuando una muestra contiene una cantidad constante de anticuerpo y de antígeno radioactivo, entonces la porción unida de Sx^* es inversamente proporcional a la cantidad adicionada de Ag no marcado. Para una cantidad dada de Ag resulta una cierta relación "Ag libre/ Ag unido" la cual puede ser calculada como un porcentaje de Sx^* libre o como un porcentaje de unión (%B). La cantidad real del compuesto Sx en la muestra por cuantificar puede ser calculada por comparación con la curva estándar elaborada con concentraciones conocidas de Sx.

Los ensayos radioinmunológicos comprenden las siguientes etapas:

1. Extracción del compuesto Sx de orina o de plasma en caso necesario, aunque en la actualidad solamente algunas hormonas requieren ser extraídas, para la mayoría de las hormonas se utiliza suero o plasma directamente sin extraer (10-200 μ l).
2. Adición de una cantidad definida de moléculas radiactivas del compuesto Sx.
3. Adición de una cantidad definida de Ac específico contra el compuesto Sx.
4. Incubación.
5. Separación de moléculas libres y unidas al Ac del compuesto Sx.
6. Medición de la porción libre radiactiva o de la unida al Ac y cálculo del porcentaje de unión.

QUIMIOLUMINISCENCIA

Quimioluminiscencia es el fenómeno por el cual se obtiene energía luminosa a partir de una reacción química. La reacción se lleva a cabo entre la fosfatasa alcalina (enzima) y el fosfato de adamantil dioxetano, que es una sustancia orgánica con características luminiscentes cuando se encuentra en un estado

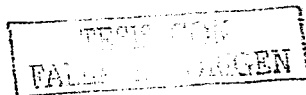


electrónicamente excitado. En la reacción luminogénica, el sustrato (dioxetano) es desfosforilado produciendo un anión intermedio inestable por la fosfatasa alcalina presente en la fase sólida. Este anión inestable emitirá un fotón, con el fin de re-estabilizarse de nuevo.

La reacción de quimioluminiscencia que efectúa el sistema de Immulite consiste en que la fosfatasa alcalina conjugada se une al Ac (dentro de la unidad de prueba) durante la reacción inmunológica. La cantidad de fosfatasa alcalina capturada es proporcional (o inversamente proporcional) a la concentración del analito en la muestra del paciente. Una vez que la unidad de prueba se ha lavado, el sustrato luminógeno adicionado a la unidad de prueba, que es entonces transferido en la cadena del luminómetro. Diez minutos después, la unidad de prueba llega al tubo fotomultiplicador, donde la luz generada por la reacción luminogénica se mide.

El inmunoanalizador "Immulite" es un sistema automatizado de Diagnostic Products Corporation (Los Angeles, CA, USA) diseñado para realizar inmunoensayos enzimáticos de tipo competitivo o inmunométrico. La identificación de los reactivos y muestras de pacientes se realiza mediante un código de barras para evitar errores de identificación. El instrumento pipetea las muestras y los reactivos, incuba el sistema, separa las fracciones del ensayo y efectúa los lavados necesarios, en forma totalmente automatizada, realizando las lecturas en el luminómetro del propio instrumento, para finalmente reportar la concentración de los diferentes analitos en cada una de las muestras.

¹ Sensibilidad bioquímica. Capacidad de un análisis para detectar la concentración mínima del analito.



Determinación de **DEHIDROEPIANDROSTERONA SULFATADA** en el analizador automatizado para inmunoensayos enzimáticos con detección por quimioluminiscencia (IMMULITE) de Diagnostic Products Corporation (Los Angeles, CA, USA).

La determinación de la DHEAS se realiza por un inmunoensayo quimioluminiscente de fase sólida, utilizando un anticuerpo policlonal específico para DHEAS. La muestra a analizar con el conjugado de fosfatasa alcalina-DHEAS, se introducen simultáneamente al equipo y se incuban por 30 minutos, agitando en forma intermitente. Durante este lapso, la DHEAS de la muestra compite con el conjugado DHEAS-enzima, por un número limitado de sitios de unión. El conjugado de enzima no unido se elimina mediante un lavado y después se adiciona el sustrato para su incubación por 10 minutos. Este sustrato quimioluminiscente es un ester fosfato de adamantil dioxetano, que sufre hidrólisis en presencia de la fosfatasa alcalina formándose un compuesto intermedio inestable, que produce una emisión de luz sostenida, esta es medida por el luminómetro.

El procedimiento consiste en:

1. Calibrar el equipo de IMMULITE siguiendo las indicaciones del programa que especifica el equipo.
2. Colocar los reactivos para determinación de DHEAS en el carrusel de reactivos del equipo y presionar GO.
3. Programar al equipo para realizar la curva estándar de DHEAS.
4. Colocar en la copa un estándar de al menos 100 μ L.
5. Presionar GO para iniciar el análisis.



Determinación de **INSULINA** por RIA de fase sólida utilizando estuches comerciales de CIS bio International (Gif-Sur-Yvette, Francia).

1. Reconstituir el liofilizado (I^{125} -Insulina) con 5 mL de agua destilada.
2. Colocar la solución en un recipiente de vidrio de 125 mL. Lavar tres veces con la solución buffer. Adicionar la solución buffer restante en el recipiente de 125 mL. Homogeneizar suavemente.

Grupos de tubos		CPM	B/Bo x 100	Concentración (μ U/mL)
T		33807	—	
Std. 0	0 μ UI/mL	14548	100	
Std. 1	5.5 μ UI/mL	11556	79.4	
Std. 2	15 μ UI/mL	9317	64.0	
Std. 3	35 μ UI/mL	6742	46.3	
Std. 4	70 μ UI/mL	5081	34.9	
Std. 5	175 μ UI/mL	2832	19.5	
Std. 6	310 μ UI/mL	2036	14.0	
Control 1		7559	51.9	28
Control 2		4016	27.6	105

3. Repartir 100 mL de estándar de control o de las muestras en los tubos correspondientes revestidos de anticuerpos anti-insulina.
4. Adicionar 1 mL de I^{125} -Insulina previamente diluida, en todos los tubos.
5. Mezclar el contenido de los tubos en un aparato de tipo vortex. Incubar 18 a 20hs a 18 – 25°C después de haber recubierto los tubos con parafilm.
6. Eliminar la solución por aspiración (excepto los tubos T).
7. Adicionar 4 mL de agua destilada (excepto los tubos T).
8. Aspirar los tubos (excepto los tubos T).



9. Medir la radioactividad de cada tubo revestido utilizando un contador gamma calibrado para I^{125} .



Determinación de 17- β ESTRADIOL por RIA de fase sólida utilizando estuches comerciales de Diagnostic Products Corporation (Los Angeles, CA, USA).

1. Etiquetar dos tubos de polipropileno para las cuentas totales y dos para el enlace no específico.
2. Con los tubos del estuche cubiertos con el anticuerpo, etiquetar 14 tubos para los estándares por duplicado de la A a la G, etiquetar también por duplicado los tubos cubiertos con el anticuerpo para los controles y las muestras de los pacientes.

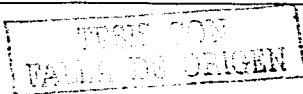
Estándar	pg/mL	pMol/mL
A	0	0
B	20	73
C	50	184
D	150	551
E	500	1836
F	1800	6608
G	3600	13216

3. Pipetear 100 μ L del calibrador cero A a los tubos de enlace no específico y a los A, y 100 μ L de cada estándar del B al G a sus tubos correspondientes.
4. Pipetear 100 μ L de cada control y muestras de pacientes a sus tubos correspondientes. Pipetear directamente al fondo del tubo.
5. Adicionar 1.0 MI de I^{125} estradiol a cada tubo y agitar.
6. Incubar durante 3 horas a temperatura ambiente.
7. Decantar todos los tubos excepto el de las cuentas totales.
8. Contar la radioactividad de cada tubo en un contador gamma durante 1 minuto.



Determinación de LH y FSH en el analizador automatizado para inmunoensayos enzimáticos con detección por quimioluminiscencia (IMMULITE) de Diagnostic Products Corporation (Los Angeles CA, USA).

1. Calibrar el equipo de IMMULITE siguiendo las indicaciones del programa que especifica el equipo.
2. Colocar los reactivos para determinación de LH y FSH en el carrusel de reactivos del equipo y presionar GO.
3. Programar al equipo para la realización de la curva estándar de LH y FSH.
4. Colocar al menos 100 μ L del estándar bajo de LH en cada copa para estándar y 100 μ L del estándar alto de LH en una copa para estándar.
5. Realizar el mismo procedimiento con los dos estándares de FSH.
6. Presionar GO para iniciar el análisis.
7. Cuando ya se obtiene la curva de calibración por el equipo se procede a correr las muestras y controles. Se colocan al menos 100 μ L de estas muestras a sus copas correspondientes y se colocan en el equipo.



Determinación de ACTH en el analizador automatizado para inmunoensayos enzimáticos con detección por quimioluminiscencia (IMMULITE) de Diagnostic Products Corporation (Los Angeles, CA USA).

Toma de la muestra:

La determinación de ACTH se realiza mediante un ensayo quimioluminescente utilizando anticuerpos monoclonales. La ACTH se mide directamente sobre el plasma obtenido con EDTA. La muestra sanguínea se recolecta en tubos plásticos enfriados y se depositan en un baño de hielo. La separación del plasma se realiza en una centrifuga en frío.

El procedimiento consiste en:

1. Calibración del equipo de IMMULITE siguiendo las indicaciones del programa que especifica el equipo.
2. Colocación de los reactivos en el carrusel de reactivos del equipo y presionar GO.
3. Programar al equipo para la realización de la curva estándar.
4. Colocar de 100 μ L del estándar bajo de ACTH en cada copa para estándar y 100 μ L del estándar alto en otra copa para estándar.
5. Presionar GO para iniciar el análisis.
6. Cuando ya se obtiene la curva de calibración por el equipo se procede a correr las muestras y controles. Se colocan al menos 100 mL de estas muestras a sus copas correspondientes y se colocan en el equipo.

Anexo 3
Escala de Climaterio de Green*

Nombre: _____
Núm. De Filiación: _____ **Fecha:** _____

Sintoma	Ausente	Leve	Modera- do	Severo	Registro (0-3)
1. Latidos rápidos o fuertes del corazón					
2. Sensación de tensión o nerviosismo					
3. Dificultad para conciliar el sueño					
4. Excitabilidad					
5. Ataques de pánico					
6. Dificultad de concentración					
7. Sensación de cansancio o falta de energía					
8. Pérdida de interés en las cosas					
9. Sensación de infelicidad o depresión					
10. Accesos de llanto					
11. Irritabilidad					
12. Sensación de mareo o debilidad					
13. Presión o tensión en la cabeza o en el cuerpo					
14. Sensación de adormecimiento u hormigueo en el cuerpo					
15. Dolor de cabeza					
16. Dolores musculares y articulares					
17. Pérdida de la sensibilidad en las manos o pies					

18. Dificultad para respirar					
19. Bochornos					
20. Sudación nocturna					
21. Pérdida de interés en el sexo					
Psicológica (1 - 11) =	<input type="text"/>			Ansiedad (1 -6) =	<input type="text"/>
Somática (12 - 18) =	<input type="text"/>			Depresión (7-11) =	<input type="text"/>
Vasomotora (19 - 20) =	<input type="text"/>			Sexual (21) =	<input type="text"/>

- Greene JG. Construcción de una escala climaterica estándar. J Climateric and Postmenopause 1998; 29:25-31.



Anexo 4

HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Nombre:	_____
Número de Filiación:	_____
Dirección:	_____
Teléfono:	_____

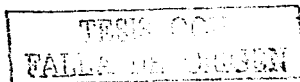
Título del estudio: **"EFECTO DE LA TERAPIA DE REEMPLAZO ESTROGENICA EN MUJERES POSTMENOPAUSICAS SOBRE LOS NIVELES DE DEHIDROEPIANDROSTERONA SULFATADA E INSULINA"**

Numero de Registro en el Comité de Investigación: **99-716-0108.**

Lugar de Realización: **Unidad de Investigación en Enfermedades Endocrinas, Hospital de Especialidades del CMN, IMSS.**

Acepto participar en el proyecto de investigación *"Efecto de la terapia de reemplazo estrogénica en mujeres posmenopáusicas sobre los niveles de dehidroepiandrosterona sulfatada e insulina"*

Se me ha informado que el principal propósito de esta investigación es estudiar los cambios producidos por la terapia estrógenica de sustitución en la menopausia sobre las hormonas dehidroepiandrosterona e insulina. La primera de estas hormonas se relaciona con los procesos del envejecimiento y la insulina es una hormona involucrada en control de los azúcares en el organismo. También se me ha explicado que el tratamiento habitual para la



menopausia consiste en la restitución de estrógenos y en este caso se utilizará un tipo de estrógeno idéntico al que producían mis ovarios antes de que se presentara la menopausia.

Estoy enterada que para valorar el tratamiento, los procedimientos que me realizarán consistirán en una entrevista, la exploración clínica y la toma de una muestra de sangre de aproximadamente 10 cc. Esta toma se efectuará antes y durante el tratamiento con estrógenos el cual durará 3 meses. Durante el tratamiento acudiré a consultas cada 2 semanas.

Como beneficios de este estudio tendré los que produce la terapia de restitución con estrógenos, que son principalmente reducción de los síntomas y del riesgo para enfermedades degenerativas en el hueso, corazón y cerebro.

Además de las de las visitas médicas y de la toma de muestras sanguíneas, se ha hecho de mi conocimiento que los riesgos del tratamiento están relacionados con la administración por periodos prolongados a más de 2 años. Una de cada 20 pacientes puede manifestar durante este tratamiento, una reacción local de tipo irritativo o alérgico.

Los médicos investigadores han contestado personalmente, a mi entera satisfacción, todas las preguntas respecto a este estudio y se han comprometido a mantenerme informada oportunamente de mis resultados y de los que se obtengan de esta investigación.

La participación en el estudio es completamente voluntaria. Podré participar o retirarme del estudio en cualquier momento sin perder los beneficios a los que tengo derecho. El médico responsable tiene el derecho de finalizar mi participación si considera que es en mi beneficio, por conveniencia de mi salud o en el caso de que yo no cumpliera con las instrucciones del estudio.

En caso de que presente cualquier evento adverso o si tuviera preguntas sobre este estudio podré comunicarme directamente con la Dra. Lourdes Basurto o el Dr. Arturo Zárate en la Unidad de Investigación o al teléfono 5627-6913.

Basándome en lo anterior, acepto voluntaria y libremente mi participación en esta investigación, por lo que firmo el presente, reteniendo una copia de este.

Nombre de la paciente: _____

Firma: _____

Nombre del testigo: _____

Fecha: _____



**Gracias a la subdirección de apoyo al postgrado del
Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.
Num. de registro de becario: 137761.**

TESIS CON
VALORACION EN