

00524
168

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

**"MODIFICACION DEL EJE SOMATOTROPICO DE LA
ETAPA REPRODUCTIVA A LA POSMENOPAUSIA".**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA**

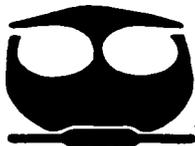
**P R E S E N T A :
MIRIAM ENRIQUETA RUIZ ALBARRAN**



**EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA**

AÑO 2003

MEXICO, D.F.





Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

JURADO ASIGNADO

Presidente
Vocal
Secretario
1er. Suplente
2°. Suplente

Prof. LAURA PENICHE VILLALPANDO
Prof. MARIA DEL SOCORRO ALPIZAR RAMOS
Prof. MARIA EUGENIA FONSECA YERENA
Prof. RICARDO RODRÍGUEZ SAENZ
Prof. RAUL LUGO VILLEGAS

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN MÉDICA EN ENFERMEDADES ENDOCRINAS
DEL HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DEL C. M. N. SIGLO XXI DEL
I. M. S. S.



ASESOR: DRA. MARIA EUGENIA FONSECA YERENA



SUSTENTANTE: MIRIAM ENRIQUETA RUÍZ ALBARRÁN

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

NOMBRE: Miriam Enrique Ruíz Albarrán

Ruiz Albarrán

FECHA: 17-02-10-2003

FIRMA: 

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Arturo Zárate Treviño
Por permitir la realización de esta tesis.

A la Dra. Ma. Eugenia Fonseca Yerena
Por su dirección, asesoría, amistad y cariño.

A mis sinodales por su apoyo y asesoría.
Q.F.B. Laura Peniche V. y la Q.F.B. Ma. Del Socorro Alpizar R.

***"A todo el personal de la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades
Endocrinas por su colaboración sin la cual no hubiera sido posible la
realización de este trabajo"***

Dedico este trabajo muy especialmente

A mi hijo **Carlos Arturo** que es el motivo de vida más grande que Dios medió.

A mis padres y hermanos
por su eterno apoyo

A la **Q. B. P. Silvia Velázquez M.**, por el cariño y la confianza que Ud. me tiene, por ser el ángel que Dios puso en mi camino para que me diera aliento cuando más lo necesitaba, por que siempre me ha escuchado y jamás me ha juzgado, por que siempre me hizo sentir importante para Ud; muchas gracias por todo **Silvis**

A la **Q. F. B. Dalia Pascoé L** y la **Q. F. B. Silvia Arzate T.**
Por todos sus consejos, apoyo y el cariño,
que sólo unas amigas como Uds. saben dar,
siempre estarán en mi pensamiento y en mi corazón.

A todas las personas que
que ya no están presentes (†)
pero que recuerdo con mucho cariño.

A mis amigos, maestros y compañeros con los cuales compartí momentos inolvidables de mi vida.
En especial a mi gran amiga y confidente **Ofelia Sánchez**

LISTA DE ABREVIATURAS

Ab	Anticuerpo (*)
AB*	Anticuerpo con marca radioactiva (*)
Ag	Antígeno (*)
E1	Estrona
E2	17-β estradiol
E3	Estriol
EEC	Estrógenos equinos conjugados
FSH	Hormona folículo estimulante (*)
GH	Hormona de crecimiento (*)
GH-RH	Hormona liberadora de hormona de crecimiento (*)
HDL	Lipoproteína de alta densidad (*)
HPL	Lactógeno placentario humano (*)
HRT	Terapia de reemplazo hormonal (*)
IGF-I	Factor de crecimiento insulinoide o somatomedina -C (*)
IGF-II	Factor de crecimiento insulinoide II (*)
IGFs	Factores de crecimiento insulinoide (*)
LDL	Lipoproteína de baja densidad (*)
LH	Hormona luteinizante (*)
LH-RH	Hormona liberadora de hormona luteinizante (*)
LP a	Lipoproteína (a)
SERM_s	Moduladores selectivos de los receptores de estrógenos (*)

Siglas en Ingles (*)

INDICE

Lista de abreviaturas

	Páginas
1. Introducción	3
2. Antecedentes	7
2.1 Menopausia y síndrome climatérico	7
2.2 Eje somatotrópico	9
2.3 Factores de crecimiento	13
2.4 Insulina	16
2.5 Fisiología ciclo menstrual	18
2.6 Terapia de reemplazo hormonal (HRT)	20
2.7 Terapia con estrógenos	21
3. Material y métodos	25
4. Resultados	28
5.-Discusión	37
6. Conclusiones	38
7. Bibliografía	40
8. Apéndice	47

1. Introducción.

El eje somatotrópico (GH e IGF-I) y el eje insulino-nutricional (insulina) constituyen dos sistemas hormonales que interactúan en varios niveles, principalmente en el crecimiento y metabolismo.

La función primaria de la hormona del crecimiento (GH) es estimular el crecimiento lineal ya que tiene potentes efectos mitogénicos en numerosos tejidos y diversas líneas celulares, por su acción anabólica induce la captación de aminoácidos y síntesis de proteínas e incremento de la masa ósea y muscular.

A diferencia de otras hormonas, la GH no tiene un tejido o célula blanco específicos. Esta hormona ejerce sus acciones biológicas, en particular sus efectos somatotrópicos y metabólicos, interactuando con un receptor que se expresa en todos los tejidos del organismo, aunque estos receptores predominan en hígado y cartílago de crecimiento.

La GH es secretada en las dos primeras horas después de iniciado el sueño, con una disminución en la frecuencia y en la amplitud pulsátil de GH al aumentar la edad. En personas jóvenes hay aumento de la actividad secretora de GH, las concentraciones de GH son mayores en mujeres que en hombres y menores en mayores de edad que en jóvenes, sin cambio significativo en su concentración diurna.

Los niveles séricos de GH se encuentran aumentados en la pubertad y estos declinan con la edad, atribuyéndose al proceso normal de envejecimiento.

Los niveles séricos de IGF-I disminuyen con la edad y la disminución en los pulsos de GH en el envejecimiento es por aumento en el tono somatostatinérgico, una disminución en la liberación por el hipotálamo de la hormona liberadora de GH(GH-RH), un aumento en la sensibilidad de la unidad hipotálamo- hipofisaria a la retroalimentación negativa a cargo de la IGF-I.

Los estrógenos pueden aumentar la secreción de GH, tanto en condiciones basales y en respuesta a estímulos como la administración de GH-RH o el ejercicio físico y también parecen interactuar con insulina, como se observa en las mujeres obesas con hiperinsulinemia y una concentración de estradiol baja.

Se ha demostrado que los estrógenos pueden regular la producción de GH regulando el factor de transcripción Pit -1 y además pueden inducir la expresión de IGF-I en el hígado y otros tejidos, independientemente de la acción de GH.

La insulina está relacionada con el eje somatotrópico por tener acción antagónica a la de la hormona de crecimiento, por modificar la secreción de IGF-I y sus proteínas de unión y por la interacción con sus receptores modulando así su acción biológica. La disminución en la actividad del eje somatotrópico durante el envejecimiento, trae como consecuencia importantes cambios en la composición corporal que incluyen principalmente una disminución en la fuerza física y la masa muscular y un aumento en la adiposidad.

Se desconoce que ocurre en el eje somatotrópico durante el climaterio y la menopausia, en respuesta al tratamiento con estrógenos. sin embargo algunas pacientes tratadas con estrógenos han disminuido la concentración de IGF-I y no hay datos sobre la secreción de insulina en la menopausia.

Justificación.

No se sabe con exactitud como influye la privación de estrógenos en la actividad del eje somatotrópico ni la respuesta a la HRT.

Su estudio es importante por las alteraciones que ocurren en la menopausia como debilidad muscular, osteoporosis, cansancio, falta de energía y cambios en el metabolismo de lípidos y proteínas que pueden estar relacionados a la deficiencia de GH y que podrían corregirse con la HRT.

Planteamiento del problema.

Se dice que en la menopausia, además de las alteraciones de las hormonas relacionadas a la función ovárica (FSH, LH, E2 y PRL) existen alteraciones en otros ejes endocrinos muy importantes como el eje somatotrópico (GH, IGF -I, e insulina). Esto puede estar condicionado por alteraciones en los mecanismos que regulan la secreción de las hormonas, como resultado de la pérdida de los estrógenos. Como ya se mencionó, la actividad de este eje trae como consecuencia importantes cambios metabólicos que contribuyen al deterioro de la calidad de vida de la mujer posmenopáusica.

Objetivos.

1. Medir los niveles de GH, IGF- I e insulina, en mujeres en edad reproductiva (grupo testigo) y en posmenopausicas.
2. Conocer el efecto de la HRT sobre la concentración de las hormonas que constituyen el eje somatotrópico.

HIPÓTESIS

Se espera que la disminución de los estrógenos en la menopausia origine una disminución en la síntesis y secreción de GH e IGF- I por lo que la terapia hormonal de reemplazo con estrógenos debe restaurar la actividad del eje somatotrópico.

METAS

Determinar la concentración de las hormonas que integran la función ovárica (LH, FSH, E2) en mujeres menopausicas, antes y después del tratamiento hormonal de reemplazo (HRT).

Determinar las concentraciones hormonales del eje somatotrópico (GH, IGF-I, e Insulina) antes y después de HRT.

2.- ANTECEDENTES

2.1 Menopausia y síndrome climatérico

La menopausia es el nombre que se utiliza para definir la ausencia de menstruaciones, secundaria a la pérdida natural de la función del ovario. La menopausia aparece en las mujeres en una edad promedio de 46 a 52 años.

La pérdida de la función gonadal se acompaña de cambios en la homeostasis del eje hipotálamo - hipófisis - ovario. Como en los casos de hipogonadismo - hipergonadotrópico, la menopausia se acompaña de síntomas y signos bien determinados que reciben el nombre de síndrome climatérico.¹

La menopausia determina notables cambios en la secreción hormonal. En comparación con la concentración normal de hormonas durante el ciclo menstrual la cuantificación de la hormona Foliculo Estimulante (FSH) durante la fase folicular en mujeres de edad avanzada está aumentada, y la síntesis de estradiol (E2) disminuida por la pérdida progresiva de la función del ovario.^{2, 3}

Una vez establecida la menopausia, ésta se caracteriza bioquímicamente por la concentración elevada de ambas gonadotropinas hipofisarias (FSH, LH) y una respuesta exagerada a la administración exógena de LHRH, lo que indica la pérdida del efecto inhibitorio modulador de los estrógenos a nivel de la unidad hipotálamo-hipofisaria. Es interesante señalar que aún a pesar de la ausencia del sustrato anatómico y bioquímico para la síntesis de estrógenos, las concentraciones circulantes de estrona son similares a las observadas en la perimenopausia o en la mujer de edad reproductiva, ya que su origen lo constituye la aromatización periférica de androstendiona, sintetizada por las células del estroma y del hilio ovárico así como las glándulas suprarrenales.

La presencia de irregularidades menstruales y ciclos de duración variable, es en la mayoría de los casos, el signo que anticipa la llegada de la menopausia.³ El climaterio es la etapa que va de la premenopausia a la posmenopausia, dura alrededor de 10 años y en él se presentan una serie de alteraciones y

manifestaciones clínicas que constituyen el síndrome climatérico, de las cuales las más frecuentes son:

- a) Síntomas vasomotores. También conocidos como "bochornos", son una de las principales manifestaciones en algunas mujeres climatéricas, duran algunos años, abarcando de la premenopausia la posmenopausia y se han relacionado con elevadas concentraciones de gonadotropinas circulantes.⁴
- b) Alteraciones psicológicas. Puede haber alteraciones en la conducta, angustia y depresión, observadas frecuentemente en mujeres posmenopausicas.⁵
- c) Alteraciones en la sexualidad. Aumento inicial de la libido, secundaria a la elevación de andrógenos de origen ovárico y posteriormente su disminución en la etapa posmenopausica.⁶
- d) Insomnio. Caracterizado por un deterioro progresivo en el patrón del sueño; que puede acentuarse con la edad.⁷
- e) Atrofia de la piel, mucosas y caída del cabello.
- f) Osteoporosis. La menopausia se encuentra íntimamente relacionada a la osteoporosis ya que la privación de estrógenos favorece y condiciona la pérdida del tejido óseo, aumentando el riesgo de fracturas de los huesos largos y por lo tanto, incapacidad física de las mujeres afectadas.⁸
- g) Cambio en el perfil de lípidos y lipoproteínas, con incremento del colesterol, LDL y disminución de las HDL y concentraciones elevadas de LP(a) que se vinculan con aterosclerosis.⁹
- h) Alteraciones genito-urinarias. Incontinencia urinaria, dispauremia, disuria, entre otras.¹⁰

Muchas de estas alteraciones derivan de la disminución de la acción de los estrógenos en numerosos aparatos y sistemas, donde los estrógenos actúan regulando la síntesis proteica. A partir de 1964 se ha comprobado que la mayoría de hormonas esteroides conocidas regulan la síntesis de proteínas específicas.

Por autorradiografía se ha demostrado que estas hormonas se localizan en los núcleos celulares de los tejidos efectoros. En el caso de los estrógenos se sabe que inducen la síntesis de numerosas proteínas como la colágena, la elastina y la síntesis de numerosas enzimas que participan en el metabolismo de neurotransmisores y receptores como los de la dopamina, vasopresina y progesterona entre otros, así como la síntesis de lipoproteínas de alta densidad (HDL).

Se ha mencionado que hormonas como prolactina (PRL) y hormona de crecimiento (GH) y algunos factores de crecimiento como el factor de crecimiento epidérmico (EGF) y IGF -I pueden ser inducidos por estrógenos y por lo tanto su secreción puede modificarse durante el climaterio.

2.2.- Eje somatotrópico

Es un eje de regulación hormonal constituido por la hormona de crecimiento (GH), el factor de crecimiento insulinoide (IGF - I) y sus proteínas de unión (IGF-BPs).

La hormona de crecimiento (GH) es un polipéptido constituido por una sola cadena de 191 aminoácidos con dos puentes disulfuro y con un peso molecular aproximado de 22,000 daltons, ^{11,12} es sintetizada y secretada por las células somatotropas de la adenohipófisis. El contenido de GH de una hipófisis normal humana, es aproximadamente de 3 a 7 mg y una vez liberada tiene vida media corta en circulación. Proviene de un péptido precursor de mayor tamaño que es el pre-GH (peso molecular de 28,000 daltons) que también llega a aparecer en la circulación, pero hasta la fecha parece carecer de importancia fisiológica.

Es probable que la hormona del crecimiento, la prolactina y el lactógeno placentario humano (hPL) que tienen gran homología estructural provengan de un gen ancestral común y aunque presentan diferencias en su estructura e importancia funcional intrínseca, siguen compartiendo propiedades lactógenas y somatotrópicas.¹³

En condiciones fisiológicas normales la GH humana es secretada durante el sueño nocturno, en respuesta a pulsos episódicos del factor liberador de GH (GRF o GH-RH) que controla la liberación de GH (péptido de origen hipotalámico); su secreción es disminuida por somatostatina péptido hipotalámico de carácter inhibitor.

La función primaria de la hormona del crecimiento o somatotropina es estimular el crecimiento lineal de los músculos y de los huesos, gran parte de esta acción estimulante del crecimiento es mediada por las somatomedinas, familia de péptidos pequeños producidos en el hígado¹⁴, estructuralmente relacionados a la insulina ó IGFs de los cuales el más importante es el factor de crecimiento similar a la insulina IGF -I ; él, a su vez puede actuar a nivel hipofisario e hipotalámico para controlar la secreción de GH por un proceso de retroalimentación negativa.

La hormona de crecimiento actúa a través de las somatomedinas, aumenta la síntesis proteica, estimula la captación de aminoácidos y acelera la transcripción y traducción de RNAm.¹⁴ Además la GH tiende a disminuir el catabolismo proteico movilizando las grasas que constituyen una fuente más eficaz de combustible, es decir, induce lipólisis y liberación de ácidos grasos, y estimula su conversión a acetil-CoA, compuesto clave para la obtención de energía. Este efecto de ahorro proteico puede constituir el mecanismo de mayor importancia, por el cual la GH estimula el crecimiento y desarrollo de los tejidos. Esta hormona también modifica el metabolismo de los carbohidratos disminuyendo la utilización y la captación de glucosa al interior de las células, por lo que tiene un efecto hiperglucemiante.¹⁵

Se conoce además que tanto los estrógenos, como los andrógenos son susceptibles de aumentar la síntesis de la hormona de crecimiento y su respuesta a los secretagogos por lo que GH aumenta a la pubertad, siendo la responsable

del crecimiento lineal acelerado que ocurre en esta etapa de la vida; su concentración es mayor en mujeres que en los hombres.

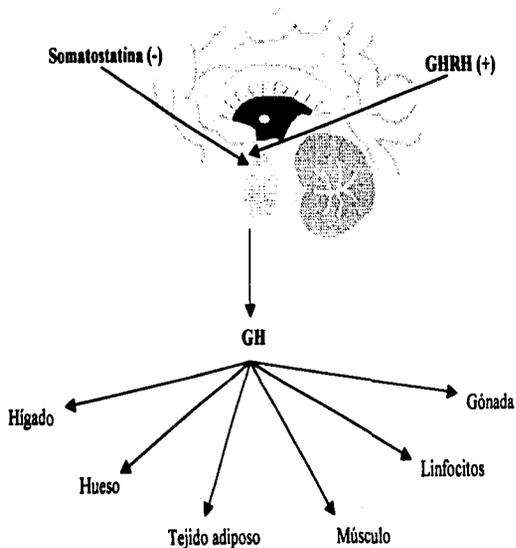
A diferencia de otras hormonas, la GH no tiene un tejido o célula blanco específicos. Esta hormona ejerce sus acciones biológicas, en particular sus efectos somatotrópicos y metabólicos, interactuando con un receptor que se expresa en todos los tejidos del organismo, aunque estos receptores predominan en hígado y cartilago de crecimiento. **Fig. 1**

La GH de los extractos hipofisarios y del plasma no es homogénea, está formada por una mezcla de variantes moleculares que difieren en su secuencia de aminoácidos, peso molecular y carga eléctrica debido a modificaciones efectuadas durante la traducción o post-translacionalmente; así como por su unión a proteínas e hidrólisis enzimática, lo que da origen a fragmentos, algunos de ellos con actividad hormonal. Esta variedad de formas moleculares determina la notable heterogeneidad molecular que presenta la GH.

El interés en la heterogeneidad de la hormona de crecimiento ha aumentado últimamente debido a que se observó que algunas de estas formas son biológicamente más activas que otras y que además ciertas actividades de la GH como la actividad promotora del crecimiento y su acción diabotogénica podían disociarse y estar confinadas a una variante molecular determinada.

El envejecimiento se caracteriza por una marcada disminución en la secreción de hormona de crecimiento.^{16,17} Esta disminución en la actividad del eje somatotrófico durante el envejecimiento trae como consecuencia cambios en la composición corporal entre los que se incluyen una disminución en la masa muscular y un aumento en la acumulación de adipositos.¹

Fig.1 Acciones biológicas de GH



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Respecto al eje somatotrópico insulino- nutricional (GH, IGF-I e insulina) en la menopausia, se ha reportado una disminución en la concentración de GH, que se ha atribuido al proceso de envejecimiento y no a la deficiencia estrogénica,^{19,20} por lo que es importante aclarar lo que en realidad ocurre, no solo respecto a la concentración de GH, sino también de IGF e insulina,^{21,22} ya que los cambios hormonales a nivel de estos ejes puede explicar porqué se presentan algunas de las alteraciones características de la etapa posmenopausica como debilidad muscular, cansancio, falta de energía, astenia, adinamia y los cambios metabólicos que favorecen la obesidad, la hipertensión arterial y la diabetes entre otras.²³ Si la falla de los estrógenos desencadena o favorece la aparición de esta problemática, su conocimiento y la aplicación de la terapia sustitutiva con estrógenos, podrían ser de gran utilidad para mejorar la sintomatología y la calidad de vida de la mujer climática.

La disminución de los pulsos de la hormona de crecimiento se ha explicado en base a: 1) Un aumento en la producción de la somatostatina, 2) Disminución de la hormona liberadora de hormona de crecimiento (GH-RH) en el hipotálamo, 3) Disminución en la sensibilidad del somatotropo hipofisiario a los estímulos para la secreción y 4) Un aumento en la sensibilidad de la unidad hipotálamo-hipofisiaria a la retroalimentación negativa por la IGF-I circulante (factor de crecimiento insulinoide - I, también conocido como somatomedina C). **Fig. 2**

2.3.- Factores de Crecimiento

Los factores de crecimiento se han agrupado en familias y dentro de cada familia los miembros están relacionados estructuralmente, por lo que algunos pueden interactuar con receptores similares o idénticos.

Los factores de crecimiento semejantes a la insulina conocidos como factores de crecimiento insulinoide (IGF) I y II , son péptidos de bajo peso molecular (7 kDa) que promueven la mitosis, el crecimiento y la diferenciación celular en gran

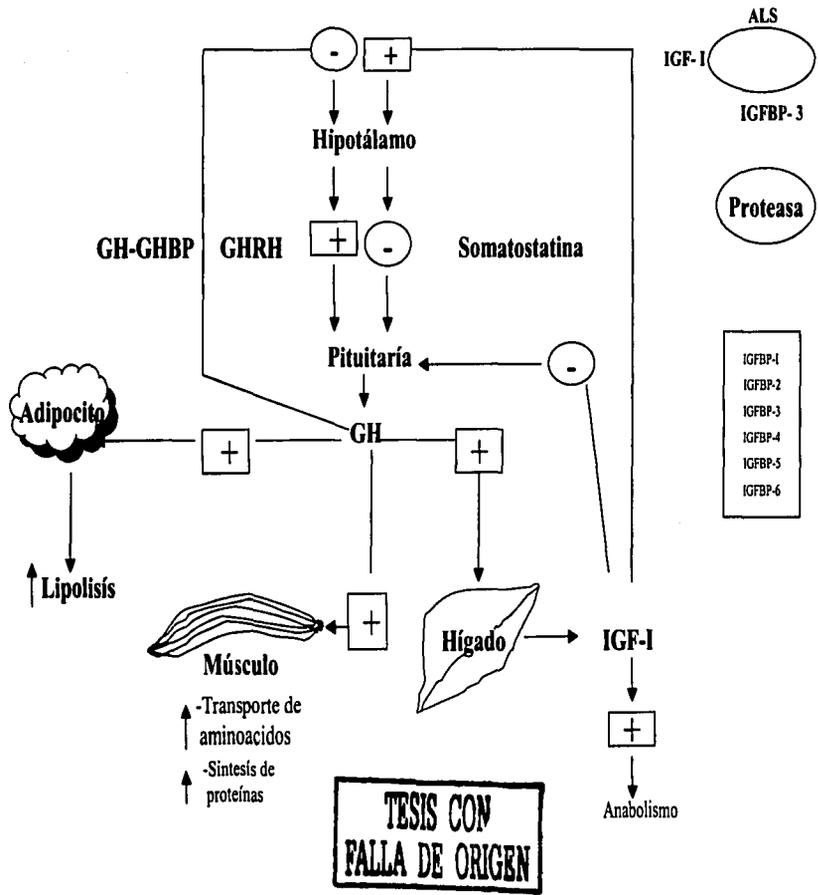
variedad de tejidos y líneas celulares como osteoblastos, condrocitos y adipositos, entre otras, tienen homología estructural con la insulina y una actividad biológica también similar,²⁴ como son el efecto anabólico y los efectos promotores del crecimiento a largo plazo. Actúan mediante la unión a receptores específicos de tipo I y II. IGF-I puede interactuar con los receptores de insulina, aunque con menos afinidad y también insulina puede ocupar los receptores de IGF-I. Los principales reguladores de la síntesis hepática de IGF-I son la hormona de crecimiento (GH) y los nutrientes y una vez sintetizada la IGF-I puede regular la concentración de GH por retroalimentación negativa actuando tanto a nivel hipotalámico como hipofisario.

Se sabe que los niveles de IGF -I disminuyen con la edad, probablemente como resultado de la disminución de GH y que pueden ser aumentados por la administración de estrógenos en mujeres posmenopausicas.²⁵

La acción de los IGFs es modulada por una familia de seis proteínas de unión conocidas como (IGF-BPs) cada una de ellas con diferente estructura y mecanismo de regulación. IGFBP3 es dependiente de GH / IGF-1, mientras que IGFBP-1 es modulada negativamente por la insulina, por lo que disminuye notablemente en los casos de hiperinsulinismo. La IGF - BP3 es la más abundante y la única que se combina con glicoproteínas como la subunidad ácido-lábil (ALS), para formar un complejo terciario con IGF-I ó IGF-II. Cada componente de este trímero es dependiente de la hormona de crecimiento. **Fig. 3**

Estas proteínas son importantes porque regulan la concentración de IGFs que circulan en forma libre limitando así su acción biológica, además mediante su unión a estas proteínas los IGFs aumentan su vida media y su estabilidad.

Fig. 2 Secreción de GH



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

2.4.- INSULINA

La Insulina es una hormona polipeptídica cuya síntesis, almacenamiento y secreción depende de la actividad de las células β de los islotes de Langerhans del páncreas, y ejerce sus efectos a nivel de múltiples procesos celulares.²⁶

Dada la multiplicidad de procesos sobre los que actúa la insulina se ha intentado clasificarlos en dos grupos. a) los que estimulan la síntesis de ADN se denominan efectos de crecimiento o somatotrópicos y b) los efectos metabólicos.

Entre los principales efectos metabólicos se encuentran los siguientes:

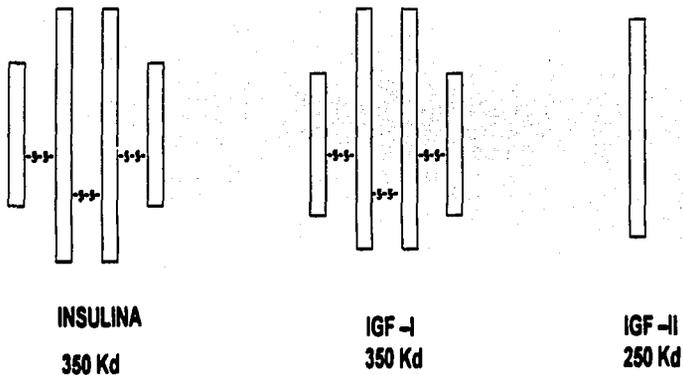
a) Acciones que estimula la insulina:

- Transporte y utilización de glucosa.
- Transporte de aminoácidos.
- Activa enzimas: Glucocinasa
- Glucogénesis, lipogénesis y síntesis de proteínas

b) Acciones que inhibe la insulina:

- Lipólisis
- Gluconeogénesis
- Glucogenólisis
- La enzima: Glucosa 1,6 –Di fosfatasa

Fig 3 RECEPTORES DE INSULINA Y SOMATOMEDINAS



La insulina es una hormona intimamente relacionada al eje somatotrópico ya que tiene acciones opuestas a las de GH (hormona antagónica) inhibiendo las acciones que estimula esta hormona como son la lipólisis, la gluconeogénesis y la glucogenólisis y además interfiere con las acciones de IGF –I, ocupando sus receptores y regulando la síntesis de IGF–BP1 por lo que su estudio es importante en relación al eje somatotrópico.

2.5.- Fisiología del ciclo Menstrual.

Las gonadotropinas hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH) son glucoproteínas formadas por dos cadenas polipeptídicas (α y β) a los que se encuentran unidas diversos grupos de carbohidratos. Tienen pesos moleculares aproximados de 29,000 y 32,000 daltones. Estas gonadotropinas son hormonas de la hipófisis anterior y su actividad biológica se regula por la liberación hipotalámica de LHRH.

La LH y FSH actúan en forma sinérgica en la mujer para inducir:

- Crecimiento de los ovarios y el establecimiento del ciclo menstrual a la pubertad.
- Biosíntesis de los estrógenos.
- La ovulación y la síntesis de progesterona.

La FSH es la principal causante del desarrollo folicular y su efecto aumenta por la acción del estradiol 17β y de la LH, hormona que regula la síntesis de los andrógenos como la testosterona (T) y la androstendiona ($\Delta 4$ A) que son los precursores de los estrógenos.

Dentro del tejido ovárico, están los folículos donde se hallan las células de la granulosa, capaces de convertir andrógenos tales como la androstendiona y la testosterona en estrógenos, por su importante actividad de aromatasa, enzima que es inducida por FSH; por otro lado en los folículos también se encuentran las

células de la teca, que poseen actividades de 17α -hidroxilasa y C17, 20 – desmolasa, enzimas necesarias para la formación de andrógenos. Las células de la teca son reguladas en su actividad enzimática por la LH²⁷ y las de la granulosa por FSH donde los andrógenos son convertidos a estrógenos.²⁸ Estos folículos sometidos a la acción previa de los estrógenos continúan su desarrollo, y la producción estrogénica. Además por estímulo de FSH se induce la aparición de los receptores para LH en las células de la teca; la cual es necesaria para que esta última pueda actuar y realizar sus funciones.

La hormona luteinizante (LH), actúa sobre el ovario induciendo:

- Un rápido crecimiento preovulatorio de uno o más folículos seleccionados.
- La ovulación.
- La transformación de las células de la granulosa en luteínicas, para la formación del cuerpo lúteo o cuerpo amarillo.
- La secreción de progesterona.

Las cantidades relativas de LH y FSH que secretan los gonadotropos como respuesta a los pulsos de secreción de LHRH, son modificadas por los esteroides gonadales. En el hombre y en la mujer los esteroides sexuales ejercen una regulación de retroalimentación negativa sobre la secreción de FSH y LH; cuando los niveles de los esteroides sexuales descienden como sucede en las mujeres a la menopausia o después de la castración en los hombres, se produce un marcado aumento de FSH y de LH. Esta inhibición o retroalimentación por los esteroides sexuales sobre la secreción de gonadotropinas se ejerce simultáneamente en la hipófisis y en el hipotálamo.

En las mujeres los esteroides sexuales también puede ejercer una retroalimentación positiva sobre la LH y FSH, como el efecto directo de estrógenos en la fase preovulatoria.²⁹

La progesterona es la hormona más abundante de los esteroides ováricos; es secretada por las células del cuerpo lúteo en la segunda fase del ciclo y también es importante para el control de la secreción de las gonadotropinas. Sin embargo su función principal es preparar el endometrio con un ambiente hormonal favorable para la implantación del ovocito, en caso de que ocurra la fecundación.

El ovario humano produce tres diferentes estrógenos que poseen como estructura común un anillo esteroidal de 18 átomos de carbono con un grupo fenólico en el C3 del primer anillo, que se denomina anillo "A", éstos son: estradiol (E2), estrona (E1) y estriol (E3) este último es en realidad un producto del catabolismo de los dos primeros que son las hormonas activas, en especial el 17β estradiol.

Todo compuesto con actividad estrogénica que entra a la circulación se metaboliza en el hígado y los compuestos degradados cambian sus propiedades biológicas, por lo general son inactivos y finalmente son eliminados por la orina.

2.6.- Terapia de reemplazo hormonal (HRT).

En la actualidad existe una gran diversidad de modalidades farmacológicas que permiten establecer tratamientos adecuados para cada mujer en particular y ya no es aceptable generalizar un solo tipo terapéutico. Incluso es ahora posible que una mujer con cáncer mamario pueda recibir terapia de reemplazo para que tenga la oportunidad de mejor calidad de vida.

Algunos de los beneficios de la HRT son disminuir las alteraciones somáticas y aminorar los cambios metabólicos, en especial la osteoporosis y la enfermedad cardiovascular.

Algunas mujeres que inician su tratamiento pronto lo abandonan, quizá por falta de orientación médica sobre la probable aparición de efectos indeseables como son: turgencia mamaria, sensación de plenitud abdominal y la reanudación del sangrado menstrual o irregularidad de éste, causas que generalmente influyen para suspenderlo.

La etapa de la menopausia es una etapa fisiológica asociada a cambios endocrinos en la que es necesario suplir la deficiencia hormonal gracias a los procedimientos químicos que han permitido desarrollar o sintetizar compuestos con estructura muy parecida a la de estrógenos ováricos con el objeto de hacerlos más potentes, más selectivos para diferentes tejidos o ser activos por diferentes vías de administración.

Se han obtenido compuestos estrogénicos no esteroideos de plantas o mediante síntesis química, que aunque no son esteroides sí poseen el anillo "A" con un grupo fenólico por lo que pueden interaccionar con el receptor de los estrógenos el compuesto estrogénico atraviesa pasivamente la membrana de la célula efectora y después de navegar en el citoplasma penetra al núcleo y se une con su receptor; éste le permite acoplarse a un segmento específico del DNA que se denomina "elemento que responde al estrógeno" y modifica la señal. El complejo hormona – receptor determina la transcripción de los genes que están programados para reconocer dicho complejo molecular. Cualquier obstáculo en el acoplamiento del estrógeno con su receptor nuclear impide su fijación con el segmento específico del DNA, lo que se ha aprovechado de manera experimental para obtener moléculas que selectivamente actúen o no sobre ciertos tejidos. Es decir, un compuesto se puede comportar como estrógeno en cierto tejido pero no en otro.

2.7.-Terapia con estrógenos.

Los estrógenos que se utilizan más frecuentemente en la sustitución hormonal pueden clasificarse de acuerdo a su estructura química en dos grandes grupos: estrógenos naturales y estrógenos sintéticos.

El inconveniente para el uso de E2 como terapia de sustitución es su baja absorción por la mucosa gástrica cuando se administra por vía oral, siendo necesario administrarlo en forma conjugada o micronizado.

Otra desventaja de la administración oral es que E2 una vez en circulación llega al hígado, donde es transformado a E1 por la 17 β -esteroide deshidrogenasa (HSD); la E1 tiene menor potencia biológica que E2, de ahí que tengan que administrarse dosis relativamente altas de E2 para lograr el efecto terapéutico deseado de (1 a 2mg). Así el principal estrógeno circulante después de administrar E2 es siempre E1.³⁰

Los estrógenos naturales incluyen el estradiol (E2), la estrona (E1), el estriol (E3) y sus conjugados, así como los estrógenos de origen equino. Estos se obtienen de la orina de yegua preñada y constituyen una mezcla heterogénea de compuestos. Incluyen los tres estrógenos clásicos E1, E2 y E3, de los cuales el sulfato de estrona (E1-SO₄), que no se produce en el humano, es el esteroide predominante (45%), conteniendo además otros estrógenos que tienen el anillo B insaturado, debido a la presencia de uno o dos dobles enlaces.

En la actualidad la dosis más utilizada de EEC para el tratamiento de los síntomas menopausicos es 0.625mg diarios por vía oral. Las concentraciones séricas de E2 que se alcanzan después de administrar esos compuestos, presentan variabilidad entre las diferentes dosis administradas oscilando de 60 a 120 pg/mL.³¹

Entre los más importantes estrógenos sintéticos que se recomiendan en la clínica se encuentran el etinil estradiol y su derivado C3 metilado y el ciclofenil éster, más conocidos como mestranol y quinesterol respectivamente; otros son el dietilestilbesterol derivado del estilbeno y los nuevos compuestos moduladores selectivos de los receptores de estrógenos (SERMs) como el tamoxifeno y el raloxifeno.³²

El etinil estradiol es un esteroide sintético caracterizado por presentar una cadena lateral de dos átomos de carbono con un triple enlace en posición 17 α y a diferencia del E2, es rápidamente absorbido por la mucosa intestinal después de administrarse por vía oral. Debido a su elevada potencia biológica, etinil E2 tiene

un marcado efecto en el metabolismo hepático, a igualdad de masa es 75 a 1000 veces más potente que los EEC, el estropipato de E1 y el E2 micronizado respecto a la síntesis de las proteínas hepáticas.³³

Se ha visto que el tamoxifeno puede reducir en cerca de 50% la recurrencia de cáncer mamario y que, usado en forma profiláctica, puede prevenirlo en mujeres consideradas de alto riesgo por contar con el antecedente de cáncer en familiares directos.³⁴

Los **SERMs** y en particular el raloxifeno que está desprovisto de efectos sobre la mama y el endometrio tiene una acción selectiva sobre los huesos,^{35,36} por lo que se usa en el tratamiento de la osteoporosis, pero tiene el inconveniente de que no alivia los síntomas vasomotores, ni corrige la falta de lubricación vaginal, por lo cual se tiene que combinar con un agente anticolinérgico para controlar los bochornos y con estriol vaginal para mejorar la mucosa. Se piensa que los SERMs protegen de trastornos cardiovasculares, la dislipoproteinemia, la osteoporosis y el deterioro físico y mental.³⁷ **Fig. 4**

Los efectos indeseables que antes se asociaban con ciertos compuestos estrogénicos, se pueden ahora evitar con el uso de estos fármacos que no son exactamente estrógenos, pero tienen utilidad en el tratamiento de las alteraciones climáticas según lo requiera cada mujer.³⁸

Los estrógenos pueden ser administrados además de la vía oral, por vía subcutánea, percutánea, intravenosa, intramuscular, parches transdérmicos, intranasal, transvaginal (cremas, óvulos, anillos silásticos).^{39,40} La administración de Estriol (E3), estrógeno de baja potencia biológica, se realiza en forma de cremas vaginales para mejorar la sintomatología urogenital en mujeres que no desean tomar HRT.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Diseño del estudio.

Es un estudio de antes – después, prospectivo comparativo y abierto. Se realizó en la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Endocrinas del Hospital de Especialidades del CMN Siglo XXI del IMSS en 50 mujeres posmenopausicas con edades entre los 46 a 65 años. Todas las mujeres participantes en el estudio dieron su consentimiento para ser incluídas en él.

Variable independiente: La concentración sérica de estradiol.

Variable dependiente: La concentración sérica de las hormonas: LH, FSH, GH, IGF- I e Insulina.

3.2.- Grupo de estudio.

Se incluyeron 50 mujeres de 46 a 65 años, sanas, sin antecedentes clínicos de importancia, no histerectomizadas, con menopausia establecida por lo menos 1 año antes de iniciar el estudio y sin haber recibido HRT con estrógenos por lo menos 6 meses antes de iniciar el estudio. Con niveles elevados de FSH y LH (>50 mUI / mL) y una concentración baja de estradiol (<30 pg / mL). Sin tener contraindicaciones para recibir estrógenos.

A cada una de las pacientes se le realizó una evaluación del estado hormonal que se llevó a cabo en el laboratorio de Endocrinología del Hospital de Especialidades del CMN Siglo XXI, antes y después de recibir la HRT.

3.3.- Grupo testigo.

Se formó por 20 mujeres sanas de 35 a 45 años con función ovárica normal y ciclos ovulatorios, confirmados por niveles de progesterona superiores a 5 ng/ mL durante la fase lútea. A estas mujeres se les tomó una muestra de sangre los días 12 y 14 del ciclo menstrual una sola vez, ya que no se les administró HRT.

3.4.- Terapia hormonal de reemplazo (HRT).

La HRT consistió en la administración de dos dosis diferentes de estrógenos conjugados (0.625 y 1.25 mg por vía oral) durante veintiún días, seguido de cinco días en los que se administró además el progestágeno clormadinona (4 mg diarios) repitiendo el esquema durante tres ciclos. En base a la dosis de estrógeno recibida por indicación médica, las mujeres posmenopáusicas se dividieron en dos grupos.

Grupo I. 25 pacientes recibieron 0.625 mg diarios de estrógenos conjugados (EC) por vía oral.

Grupo II. 25 pacientes recibieron 1.25 mg diarios de estrógenos conjugados, (EC) por vía oral.

En todos los casos en la forma indicada anteriormente.

3.5.- Material biológico

A todas las pacientes se les tomaron muestras de sangre venosa en la mañana de 7-9hs, con ayuno de 10 a 12 hrs. y un descanso previo de 15 minutos (basal). La sangre se tomó en jeringas siliconizadas y se coloca en tubos de vidrio conteniendo Aprotinina (Trasylol) como inhibidor enzimático para la preservación de las muestras. Una vez separado el suero por centrifugación, se tomaron alícuotas de 500uL para las diferentes hormonas y se almacenaron en congelación a -35° hasta el momento de realizar el estudio hormonal.

Al final del tratamiento se tomó una segunda muestra el día 21 del último ciclo antes de iniciar el progestágeno.

3.8.- Determinaciones hormonales.

Este estudio comprendió la cuantificación de:

- 1) Hormonas de la función ovárica (FSH, LH y E2)
- 2) Hormonas del eje somatotrópico (GH; IGF-I) e insulina

La cuantificación de las gonadotropinas hipofisarias (LH, FSH), GH e insulina se realizó por la técnica de Radioinmunoanálisis (RIA) de segundo anticuerpo, utilizando estuches comerciales de Clinical Assay (Stillwater Minnesota, USA), la determinación E2 por RIA de fase sólida con estuches de los laboratorios Bio Cis-Sorin International (Cedex Francia) y el IGF- I por método inmuno-radiométrico (IRMA) "tipo sandwich" que utiliza dos anticuerpos monoclonales con estuches de Diagnostic Systems Lab (DSL, Webster, Texas, USA).

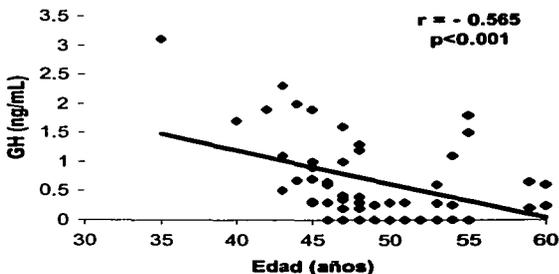
3.9.- Análisis Estadístico.

Los valores obtenidos en las mediciones hormonales se expresan como la media \pm la desviación estándar ($M \pm DE$) de las concentraciones.

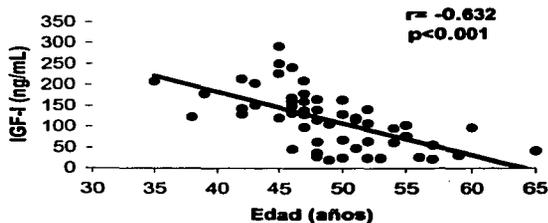
La comparación entre los grupos de estudio se realizó mediante la prueba t de student para muestras independientes y con un nivel de confianza de $p < 0.05$ y por análisis de varianza (ANOVA). La relación entre las hormonas estudiadas se estableció mediante el coeficiente de correlación de Pearson (r).

4.0.- Resultados

Al graficar los valores hormonales de todas las mujeres participantes en el estudio, incluidas las del grupo testigo, se observó que las hormonas del eje somatotrópico (**GH, IGF-I**) en relación a la edad, disminuyeron sensiblemente al ir aumentando la edad en especial, GH tuvo concentraciones muy bajas en la mayoría de las mujeres mayores de 50 años en comparación con las mujeres jóvenes (**Graf.1**); de manera similar, IGF-I también disminuyó con la edad (**Graf. 2**)

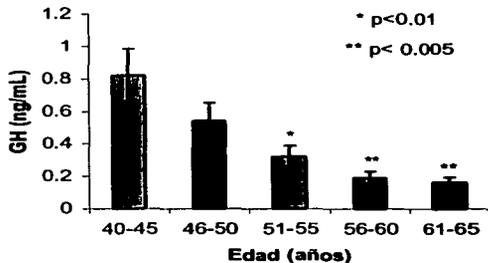


Gráfica 1

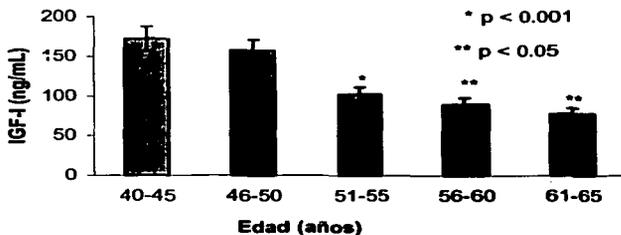


Gráfica 2

La concentración ($M \pm DE$) de estas hormonas (GH e IGF - I) obtenida al clasificar a las mujeres en grupo de cinco años de acuerdo a su edad, se muestran en la **Gráficas 3 y 4**, donde puede verse un marcado perfil descendiente de GH e IGF-I, con cifras mínimas en el grupo de mujeres mayores de 56 años.



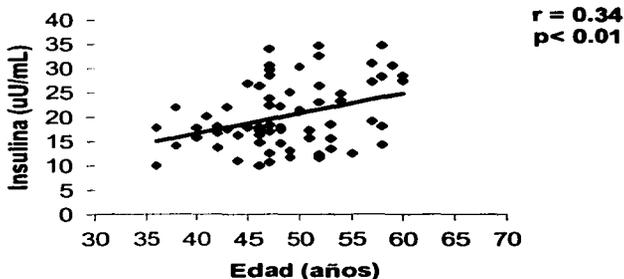
Gráfica 3



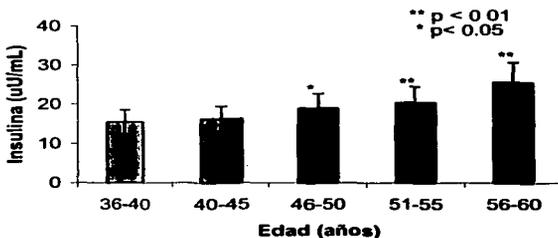
Gráfica 4

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

En contraste con los resultados anteriores, la insulina, otra de las hormonas metabólicas analizadas en el estudio, presentó una elevación moderada de su concentración ($p < 0.05$) al aumentar la edad de las mujeres con cambios significativos a partir de los 46 años y como puede verse en la **Gráfica 5** esta elevación tuvo una relación positiva con relación a la edad ($r = 0.336$) $p(0.05)$.



(a)

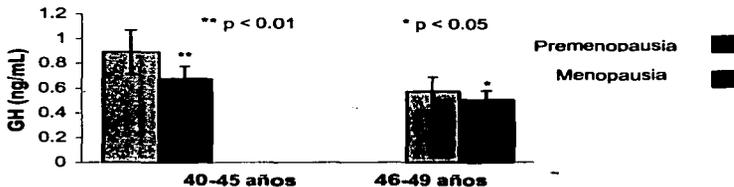


(b)

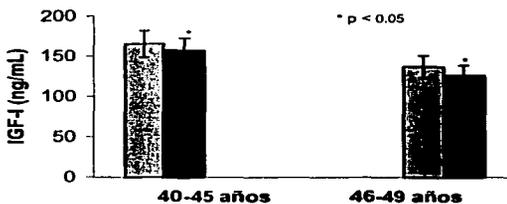
Gráfica 5

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

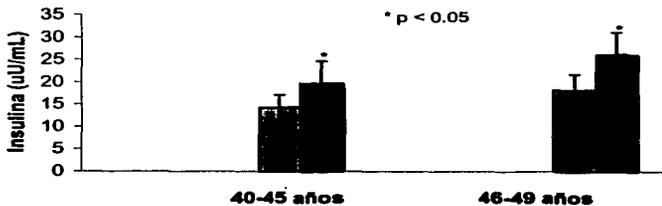
En las gráficas 6a, 6b, 6c se muestran las diferencias en las concentraciones de GH, IGF-I e insulina, entre las mujeres premenopausicas y menopausicas de la misma edad mostrando que los valores de las 2 primeras hormonas son menores en las mujeres menopausicas y los de insulina más elevadas.



6a



6b

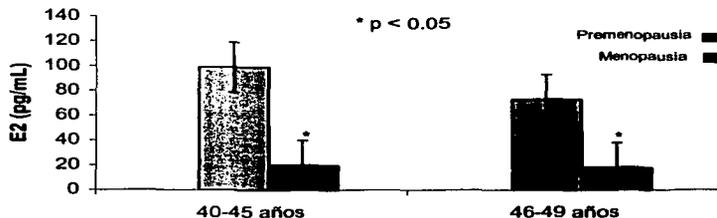


6c

Gráfica 6

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

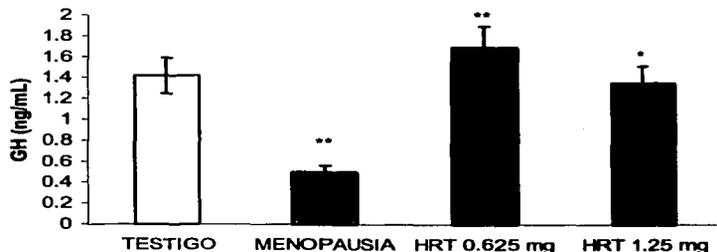
En la siguiente gráfica de barras se puede observar como desciende la concentración de los estrógenos a la menopausia en comparación con las mujeres premenopausicas de la misma edad.



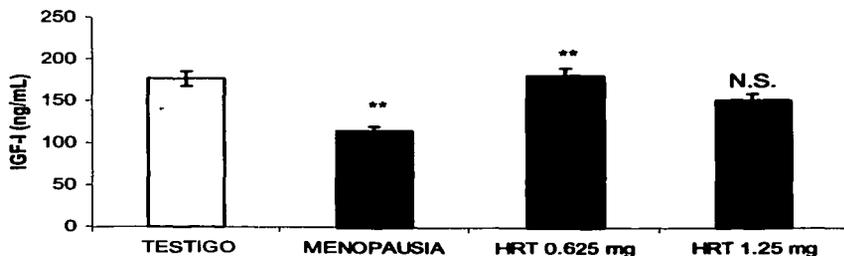
Gráfica 7

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Por otra parte en la **Gráfica 8 a y b** se muestran los niveles de GH e IGF-I en las mujeres normales ovulatorias en comparación con las mujeres menopausicas, así como el efecto de la HTR a las dos diferentes dosis utilizadas; observándose que las bajas concentraciones de GH e IGF-I que se tuvieron a la menopausia, aumentaron con el tratamiento a valores similares a los de las mujeres en edad reproductiva.



(a)



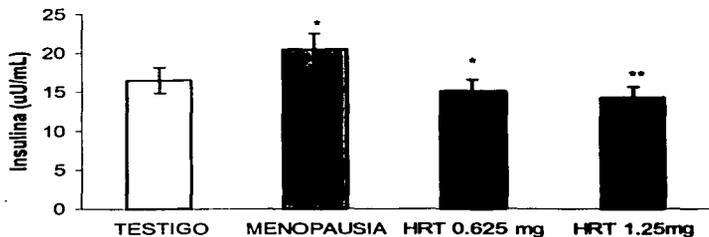
Gráfica 8

(b)

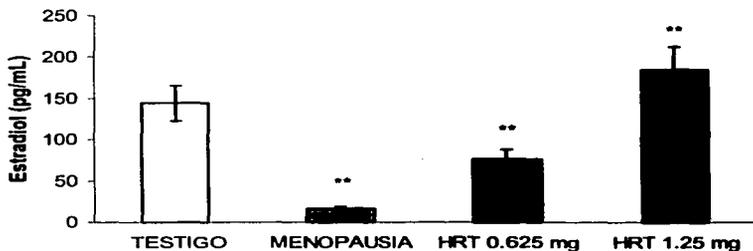
N.S.(no significativa) * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

En contraste, en la **Gráfica 9 a y b** la insulina elevada en la menopausia con el tratamiento con HRT, disminuyó y los valores de estradiol aumentaron como se esperaba a niveles fisiológicos normales similares a los del grupo testigo.



(a)



(b)

Gráfica. 9

* $p < 0.05$; ** $p < 0.001$

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

En la siguiente tabla se muestran las concentraciones hormonales de las mujeres menopausicas antes y después del tratamiento con HRT a las dos dosis ya mencionadas y con las que se hicieron las gráficas de barras antes descritas.

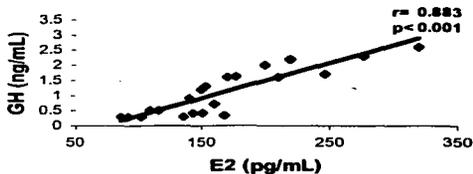
Tabla 1. Niveles hormonales en la menopausia pre y postratamiento con estrógenos

	Menopausia		
	Basal	HRT (0.625 mg)	HRT (1.25 mg)
GH (ng/mL)	0.5 ± 0.93	**1.69 ± 2.4	**1.35 ± 1.6
IGF-I (ng/mL)	121 ± 82	**181 ± 75	152.2 ± 81
INSULINA (μU/mL)	19.4 ± 2.3	* 16.4 ± 1.8	**14.2 ± 1.7
ESTRADIOL (pg/mL)	16.5 ± 6.2	**76.1 ± 15	**184 ± 86

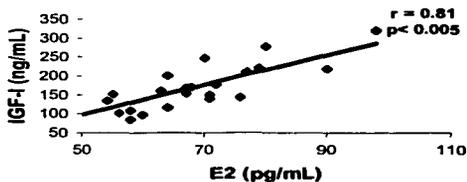
* $p < 0.05$

** $p < 0.001$

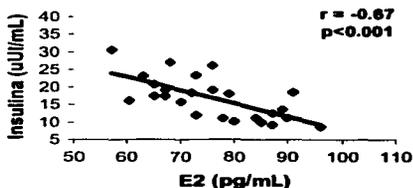
Finalmente, el estudio de correlación efectuado entre los niveles de GH, IGF-I e insulina con la concentración de estradiol a una dosis de 0.625 mg (Gráfica 10) a, b y c muestran que GH e IGF-I tienen una elevada relación lineal positiva altamente significativa ($p < 0.001$) con la concentración de E2, mientras que con la insulina la relación es inversa ($r = -0.67$ $p < 0.005$); los niveles fueron más elevados en las mujeres que tuvieron menor concentración de estrógenos.



(a)



(b)



(c)

Gráfica 10

5. Discusión.

Los resultados de este estudio confirman los hallazgos de estudios previos en los que se ha demostrado que en las mujeres posmenopausicas se modifican no sólo las concentraciones circulantes de FSH y LH, también otras hormonas adenohipofisarias como son PRL y GH.⁴⁷

Es un hecho bien conocido el notable incremento de los niveles de FSH y LH como resultado de la falla de la producción ovárica de estradiol y los mecanismos de retroalimentación negativa, sin embargo ha llamado la atención que en forma opuesta decrecen los niveles de las otras hormonas hipofisarias, la excepción es la tirotopina (TSH), que aparentemente no se modifica.⁴⁷

Asimismo se sabe que la administración de estrógenos o de HRT decrece los niveles elevados de FSH y LH, pero sólo recientemente se ha iniciado el estudio del efecto de la deficiencia de estrógenos y de la HRT sobre otras áreas hormonales.

Como ya se mencionó, la GH cumple importantes funciones metabólicas en el humano, por lo que su deficiencia puede contribuir a la pérdida del tejido muscular y la masa ósea y a la redistribución del tejido adiposo,^{46, 49} como ocurre en la etapa menopausica. Es una hormona cuya síntesis es inducida por estrógenos, por lo que al bajar la concentración de estradiol es lógico que disminuya la GH y en consecuencia la IGF-I.⁴⁸ Esto se demuestra por los bajos niveles de las dos hormonas observadas en este estudio en las mujeres menopausicas y por el hecho que la HRT puede revertir este efecto y restituir los valores a las cifras de las mujeres en edad reproductiva; lo que habla de la importancia de los estrógenos para la actividad del eje somatotrópico. Este efecto puede deberse a un incremento en la expresión de pit-1, el factor de la transcripción de la GH y de la producción de GHRH y a la supresión de somatostatina en el hipotálamo.^{47,49}

La IGF-I a su vez, es un importante factor de crecimiento para los osteoblastos, incrementando la síntesis de proteínas estructurales y la formación de la matriz ósea, por lo que su disminución puede participar en los mecanismos que

determinan la osteoporosis posmenopausica.⁴⁹ Además es un factor de crecimiento importante para la proliferación y diferenciación de los linfocitos favoreciendo la respuesta inmune.

Los niveles séricos de IGF-I disminuidos en la menopausia son un reflejo de la baja concentración de GH, pues como se sabe, la IGF-I es el producto de la acción de GH a nivel hepático.⁵¹

Las dos dosis de HRT lograron restituir ambas hormonas(GH e IGF- I) a valores similares a los que se observan en la edad reproductiva, lo que indica que es la deficiencia estrógenica más que la edad, la responsable del deterioro del eje somatotrópico. ⁵¹ Los resultados anteriores se consideran trascendentes por que se ha enfatizado que durante la senescencia se presenta un estado de deficiencia somatotrópica ("somatopausia") que es importante corregir debido al efecto metabólico positivo que se observa al restituir la actividad del eje somatotrópico.

En el caso de la insulina se encontró una moderada elevación en los niveles circulantes, lo que está de acuerdo con estudios previos en los que se ha encontrado que los niveles de glucosa e insulina aumentan con la edad y que en la posmenopausia se presenta cierto incremento de la resistencia periférica a la acción de la insulina.⁵⁰ Los resultados muestran también un efecto positivo de los estrógenos no reportado con anterioridad y es importante porque al disminuir la concentración de insulina disminuye el riesgo de la resistencia a la acción de la insulina, que es causa de deterioro metabólico y que favorece el aumento de peso o la obesidad, riesgo de hipertensión arterial y de dislipoproteinemia, así como de la enfermedad cardiovascular y promueve el desarrollo de diabetes mellitus. ⁵²

Existen evidencias experimentales que demuestran que los estrógenos pueden inducir la síntesis de IGF- I en tejidos como los osteoblastos, el ovario y el útero independientemente de la acción de GH.⁵³

6. Conclusiones

-Durante la menopausia se observaron niveles bajos de GH e IGF-I y niveles elevados de la insulina.

-Con HRT con EEC se obtuvo un aumento de GH e IGF- I en relación a la concentración de E2 restituyendo los valores hormonales a los que se observan en la edad reproductiva.

-En contraste los niveles aumentados de insulina descendieron con la HRT.

-Estos cambios representan un efecto positivo para contrarrestar el deterioro metabólico de la mujer posmenopausica disminuyendo el riesgo de osteoporosis, la enfermedad cardiovascular y la atrofia del sistema inmune, además de incrementar la fuerza física y la masa muscular, y la sensación de bienestar general lo que en conjunto determina una mejor calidad de vida para la mujer.

-Se observó que de las dos dosis habituales de HRT (0.625 y 1.25 mg), con la primera se obtiene el efecto bioquímico y metabólico favorable, por lo que se pueden reducir los efectos indeseables a mayores concentraciones.

-Finalmente, la administración de estrógenos como terapia hormonal de reemplazo, no solo corrige las alteraciones propias del hipoestrogenismo, sino que además tiene un efecto sobre otras hormonas que también se modifican durante la senescencia, como resultado probablemente de un desequilibrio endocrino secundario a la insuficiencia ovárica.

7. BIBLIOGRAFIA

- 1.-Zárate A, Mac Gregor C. Menopausia y Cerebro México: Editorial Trillas, 1997; 61-84.
- 2.-Limouzin - Lamothe MA, Mairon N, Joguee CBR. Quality of life after the menopause. Influence of hormonal replacement therapy. Amer J Obstret Gynecol 1994; 170-168.
- 3.-Santoro N, Brow JR, Adel T, Skurnich JH. Characterization of reproductive hormonal dynamics in the perimenopause. J Clin Endocrinol Metab 1996; 81: 1495-1501.
- 4.-Kronenberg F.Hut Flusheh: Epidemiology and Physiology. Ann NY Acad Sci.,1990; 592: 52-58.
- 5.-Fink F, Summer BE, Rosie R, Grace O, Quinn JP. Estrogen control of central neurotransmission effect on mood, mental state and memory. Cellular and molecular Neurobiology. 1996; 16: 325-344.
- 6.-Hunter M, Battersby R, Whitehead M.Relation Ship between psychological symptoms, somatic complains and menopausal status. Maturitas 1986; 8: 217-228.
- 7.-Shavers J. Giblin E, Lentz m, Lee K. sleep patterns and stability in perimenopausal women: preliminary results. Sleep 1988; 11: 556-561.
- 8.-Kanis JA. Estrogens, the menopause and osteoporosis. Bone 1996; 19: 1855-1905.
- 9.-Mattehews KA , Win RR, Kuller RH, et al. influence of the perimenopause on cardiovascular risk factors and symptoms of middle- age healthy women. Arch Intern Med 1994; 154: 2349-2355.

- 10.-Versi E. The bladder in menopause: lower urinary tract dysfunction during the climateric. *Curr Prob Obstet Ginecolfertl* 1994; 17: 193-232.
- 11.-Pfaff DW, Mc Carthy M, Schuwartz- GiblinS, Kow LH. Femele reproductive behavior En: Knobil E, Neill Jd, eds. *The Physiology of Reproduction* 1994; vol II: 107- 220.
- 12.-Drouva Sv, Laplante E, Kordon C. Effects of ovarian steroides on the estructurelase of LH-RH from medio basal hipothalamus. *Neuroendocrinology* 1983; 37: 336-341.
- 13.-Gittler Ma, Bairaclough CA. Stimulation of the Medollary A serotonergic System augments luteinizing hormone relase induced by medial preoptic nuclei stimulation. *Neuroendocrinology* 1988; 48: 351-359.
- 14.-Revisiões Bibliográficas para el Médico General Marzo 1999; vol.4: núm.1
- 15.-Greenspan F. *Endocrinología Básica y Clínica 2ª ed. El Manual Moderno, México* 1993; 152 y 351.
- 16.-Corpas E. Harman SH. Blackman HR. Human growth hormone and Human Aging *Endocr Rev.* 1993; 14: 20-39.
- 17.-Kelijman Age related Alterations of the grow hormone insulin like growth factor I axis. *J Am Geriatr Suc* 1991; 39: 295-307.
- 18.-Fryborg RA, John LA, Hill Sa, Oliveras PM, Barret Ej. Insulin and insulin-like grow factor I enhanced human Sketeal muscle anabolism during hyperaminoacidemia by different mechanisms, *J Clin Invest* 1995; 96: 1722-29.

- 19.-Vermeulen A. Nyctohumoral growth hormone profiles in young and aged men: correlations with somatomedin-C levels J Clin Endocrinol Metab 1987; 4: 884-8.
- 20.-Paulov E, Harman S, Merriam G, Gelato M, Blackman M. Responses of growth hormone and somatomedin-C to GH-releasing hormone in healthy aging men. J Clin Endocrinol. Metab 1986.;62: 595-600.
- 21.-Amato G, Carrella C, Fazio S, La Montagna G, Cittadini A, Sabatini D. Body compositions, bone metabolism and heart structure and function in growth hormone (GH) deficient adults before and after GH replacement therapy at low doses, Clin Endocrinol Metab 1993; 77: 1671-6.
- 22.-Nelson C, Albert WR, Elsholtz UP, Lu I J, Rosenfield MG. Activation of cell specific expression of growth hormone and prolactin genes by a common transcription factor. Science 1988; 239: 1400-5.
- 23.-Herbison AE. Multimodal influences of estrogens upon gonadotropin-releasing hormone neurons. Endocrine 1998; Rev 19: 302-314.
- 24.-Sakkari AM, Koivisto VA, Rutanen EM, Yki-Jarvinen H, Ahornen SI, Seppala M. Insulin regulates the serum levels of low molecular weight insulin-like growth factor binding protein. J Clin Endocrinol Metab 1988; 66: 266-72.
- 25.-Slowinska-Szrednicka J, Egliczynsky S, Jeske W. 17 β estradiol combined with oral progestogen increases plasma levels of insulin-like growth factor- I in postmenopausal women, J. Endocrinol Invest. 1992; 15: 533-8.
- 26.-Chen M, Bergman RN, Pacini G, Porte D Jr. Pathogenesis of age related glucose intolerance in man: Insulin resistance and decreased β cell function. J Clin Endocrinol Metab 1985; 60: 13-7.

27.-Coon PM. The molecular mechanism of gonadotropin - releasing hormone actions in the pituitary. En: Knobil E, Neill JD, eds. The physiology of reproduction 2nd ed. New York: Raven. 1994; 1815-1821.

28.-Metchkiss J, Knobil E. The menstrual cycle and its neuroendocrine control. En:Knobil E, Neill JD,eds. The physiology of reproduction.2nd ed. New York: Raven. 1994; 711-726.

29.-Fink G. Mechanism of negative and positive feedback of steroids in the hypothalamic-pituitary system. En: Bittar E and Bittar N eds. Principles of medical Biology. Greenwich CT: JAI. 1997; 29-100.

30.-Aedo AR, Landgren BM, Diczfalozy E. Pharmacokinetic properties of oral estrone- sulphate piperazine and estradiol valerate in postmenopausal women. Maturitas 1984; 6: 79-82.

31.-Englod DE, Johansson EDB. Plasma levels of oestrone, estradiol and gonadotrophins in postmenopausal women after oral and vaginal administration of conjugated equine estrogens (Premarin).B.J. Obstet Gynecol 1978; 85: 957-964.

32.-Cosman F, Lindsay R. Selective estrogen receptor modulators.In: Treatment of the menopausal women. Basic and Clinical Aspects. second edition. Lobo RA.(Ed). Williams and Wilkins, Philadelphia, 1999; 611-618.

33.-Mashshak CA, lobo RA, Dozono Tokano R et-al.Comparison of pharmacodynamics properties of various estrogen formulations. Am J Obstet Gynecol 1982; 144: 511-518.

34.-Lahiti E, Blanco G, Kauppila A et al. Endometrial changes in postmenopausal breast cancer patients receiving tamoxifen. Obtet Gynecol 1993; 81: 660-664.

- 35.-Delmas PD, Bjarnason NH, Mitlak BH et al. Effects of raloxifene on bone mineral density, serum cholesterol concentrations and uterine endometrium in postmenopausal women. *N Engl J Med* 1997; 337: 1641-1647.
- 36.-Poules TJ, Hickish T, Kanis JA, Tidy A, Ashley S. Effect of tamoxifen on bone mineral density measured by dual x-ray dual absorptiometry in healthy premenopausal and postmenopausal women. *J Clin Oncol* 1996; 14: 78-84.
- 37.-Wakeling AE, Bowler J. Steroidal pure antiestrogens. *J Endocrinol* 1987; 112: R7-R10.
- 38.-Morris SE, Rymer J. Selective estrogen modulators: Woman's panacea for the next milenium. *Amer J Obstet Gynecol* 1999; 180: 763-770.
- 39.-Scott RT, Ross B, Anderson C, Archer DF. Pharmacokinetics of percutaneous estradiol: *Obstet Gynecol* 1991; 77: 758-764.
- 40.-Padwick ML, Endacon J, Whitehead MI. Efficacy, acceptability and metabolic effects of transdermal estradiol in the management of postmenopausal women *Am J Obstet Gynecol* 1985; 152: 1085-1091.
- 41.-Freeman L, Blaufox D. Radioimmunoassay. U.S.A: Grune Stratton, 1975; 87.
- 42.-Stites D, Terr A. *Inmunologia básica y clínica. 7a ed. México: Editorial El Manual Moderno, 1993; 266-7.*
- 43.-Yalow RS Berson SA. Assay of plasma insulin in human subjects by immunological methods. *Nature* 1959; 184: 1618-1619.
- 44.-Hebert V, Lou KS, Gottlieb CH, Bleicher J. Coated charcoal immunoassay for insulin. *J Clin Endocrinol Metab* 1965; 25: 1375-1378.

- 45.-Bichel BP, Kikuchi K, Rotwein P. Growth hormone rapidly activates insulin-like growth factor I gene transcription in vivo. *Mol Endocrinol* 1992; 15: 533-8.
- 46.-Boulware SD, Tamborlane WV, Sherwin RS. Effects of IGF-I on carbohydrate and lipid metabolism. *Diabetes Rev* 1995; 3: 196-205.
- 47.-Fonseca ME Cruz ML, Loustaunau E, Ochoa R, Hernández M, Zárate A. Estrogen replacement therapy increases prolactin levels in postmenopausal women. *Menopause* 1997; 4: 201-204.
- 48.-Muller EE, Cella SG, De Gennaro Colonna V, Parenti M, Cocchi D, Locatelli V: Aspects of the neuroendocrine control of growth hormone secretion in ageing mammals. *J Reprod Fertil* 1993; 46:: 99-103.
- 49.-Langlois JA, Rosen CJ, Visser M, Hannan MT, Harris T, Wilson PW, Kiel DP. Association between Insulin-like Growth Factor-1 and bone mineral density in older women and men. The Framingham Heart Study. *J Clin. Endocrinol metab* 1998; 83:4257-62.
- 50.-Kelly JJ, Rajkovic IA, O'Sullivan AJ et al. Effects of different oral estrogen formulations on insulin-like growth factor- I, growth hormone and growth hormone protein in postmenopausal women. *Clin Endocrinol*; 1993; 39: 561-567.
- 51.-Fonseca ME, Ochoa R, Galvan RE, 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* 1998, 6: 56-60.
- 52.-Lundgren H, Bengtson C, Blohme G, Lapidus I, Sjostrom I. Adiposity and adiposity distribution in relation to incidence of diabetes in women: results from a prospective population study in Gothenburg Sweden. *Int J Obes* 1989; 13: 413-23.

53.-Giudice LC, Dsupin BA, Jin IH, Vu TH, Hoffman AR. Differential expression of messenger and their receptors in human uterine endometrium and deciduas. J Clin Endocrinol Metab 1993; 76: 1115-22.

8.0 Apéndice

Inmunoensayos.

Los inmunoensayos constituyen el procedimiento por el cual se lleva a cabo la cuantificación específica de una sustancia, en base a la unión de un antígeno (Ag) y un anticuerpo (Ac), aprovechando su inmunoreactividad. Para poder cuantificar esta reacción, existe una amplia variedad de sistemas de detección en los que generalmente el antígeno o el anticuerpo están marcados, cuando se marca con un isótopo radiactivo la técnica recibe el nombre de radioinmunoanálisis (RIA).

En otros inmunoensayos se usan como marcadores algunas enzimas, entre ellas están la peroxidasa de rábano, la fosfatasa alcalina y la β -galactosidasa, por lo que se conoce a estos métodos como inmunoenzimáticos, en ellos la reacción final es colorimétrica por la formación de un compuesto cromogénico, a la adición del sustrato para la enzima. Se cuenta además con los análisis fluoroinmunométricos (FIA) y los de quimioluminiscencia (QLA) en equipos automatizados.

Todos estos inmunoensayos han sido ampliamente utilizados en diferentes modalidades para la determinación de diferentes analitos lo cual hace que su aplicación sea versátil y de gran utilidad para la determinación de numerosos compuestos de interés biológico entre ellos las hormonas. Los inmunoensayos han permitido obtener una mayor especificidad, sensibilidad, reproducibilidad, precisión y exactitud en los procedimientos y son las técnicas de elección para la medición de las hormonas.

Radioinmunoanálisis (RIA)

El advenimiento del radioinmunoanálisis (RIA) por Salomón A. Berson y Rosalyn S. Yallow, y su desarrollo durante los 60's, permitió detectar y cuantificar la insulina humana utilizando anticuerpos antiinsulina.⁴¹ Este descubrimiento fue muy importante por la aplicación de los anticuerpos a un nuevo método de análisis, con la sensibilidad, especificidad y confiabilidad necesaria para la

medición de las hormonas, haciendo posible también el estudio de su heterogeneidad molecular.

Simultáneamente, Ekins desarrolló un análisis similar para hormona tiroidea humana mediante el uso de la globulina transportadora de hormonas tiroideas (TBG) que fue aislada de un paciente con niveles muy altos de esta proteína.

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 una proteína de unión específica que en el caso de la técnica de radioinmunoanálisis es un anticuerpo y en el análisis de radio-receptores, el propio receptor. Ambos se basan en la evaluación del grado de unión de la hormona marcada, con un anticuerpo o con la proteína receptora, donde la proteína u hormona a cuantificar compiten con la marca radioactiva.⁴³

Todos los inmunoensayos competitivos son métodos de unión basados en el análisis por saturación en los que el punto esencial es la unión reversible de un compuesto S* con la proteína específica de unión de acuerdo a la ley de acción de masas:



Las proteínas de unión son: proteínas séricas, receptores de hormonas o anticuerpos. La estimación radioinmunológica de un compuesto Sx* resulta en determinado momento en un equilibrio, donde parte de las moléculas del antígeno están unidas a los anticuerpos y el resto está libre, debido a que los sitios de unión están limitados.

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



El radioinmunoensayo (RIA), es un ensayo de competencia en el que se utiliza como marcador el I-125. Para la cuantificación de las hormonas en este estudio,

se siguieron las técnicas de fase sólida y de doble anticuerpo proporcionadas por las diferentes casas comerciales.

La mayoría de los ensayos radioinmunológicos por competencia comprenden los siguientes pasos.

1. Extracción del compuesto Sx del suero o plasma o de la orina si es necesario; aunque la mayoría de las hormonas no necesitan ser extraídas.
2. Una cantidad determinada de moléculas radioactivas. (Sx*)
3. Adición de una cantidad determinada de anticuerpo específico contra el compuesto Sx (Ac)
4. Incubación.
5. Separación de moléculas libres de Sx* de las unidas al anticuerpo.
6. Medición de la porción libre radioactiva o de la unida al anticuerpo y cálculo del porcentaje de unión.⁴⁴

Cuando las moléculas de antígeno no marcadas y radiactivas (Sx + Sx*) están mezcladas, compiten por los sitios disponibles de una cantidad definida de anticuerpo. Si mayor cantidad de antígeno Sx no marcado se adiciona, una menor cantidad de moléculas presentes estarán en el estado libre.

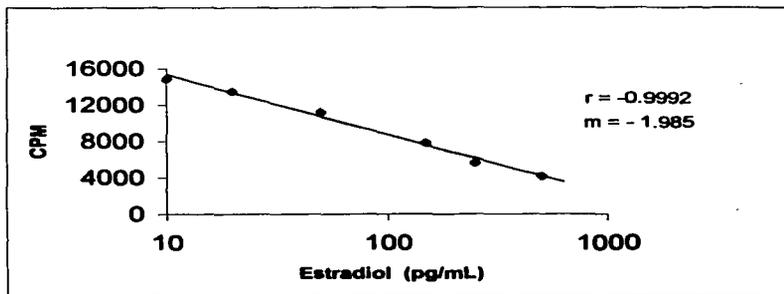
Cuando una muestra tiene una cantidad constante de anticuerpo y de antígeno radioactivo, entonces la porción unida de Sx* es inversamente proporcional a la cantidad adicionada de antígeno no marcado. Para una cantidad dada de antígeno resulta una cierta relación "antígeno libre - antígeno unido" la cual puede ser calculada como un % de Sx* libre o como un % 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. Se presenta la curva de calibración típica que corresponde al estradiol en la (Pág. 50) que se obtiene en un radioinmunoanálisis.

CURVA DE CALIBRACIÓN DE ESTRADIOL

Radioinmunoanálisis (RIA)

Ct	31836	31815	31825		
Bk	28.1	27.1	27.6		
St	cpm		Conc.	cpm(x)	
1	18316	15580	0	15948	
2	14901	14798	10	14848	
3	13508	13429	20	13469	
4	11269	11121	50	11195	
5	7752	7867	150	7810	
6	5700	5510	250	5605	
7	4237	4020	500	4128	



El RIA de fase sólida se realiza con estuches comerciales en los que el anticuerpo contra la hormona a medir viene adherido a la pared del tubo de medición. En el RIA de doble anticuerpo es la adición de un segundo anticuerpo elaborado contra la γ -globulina del primer anticuerpo o anticuerpo marcado específico a la hormona por medir, lo que permite la precipitación del complejo hormona – anticuerpo, como un complejo terciario Hormona- Anticuerpo-anti- anticuerpo.

Análisis inmuno-radiométrico

Estos métodos inmuno -radiométricos se basan principalmente en una reacción inmunológica, en la que el indicador del sistema es un isótopo que permite detectar y cuantificar la reacción.

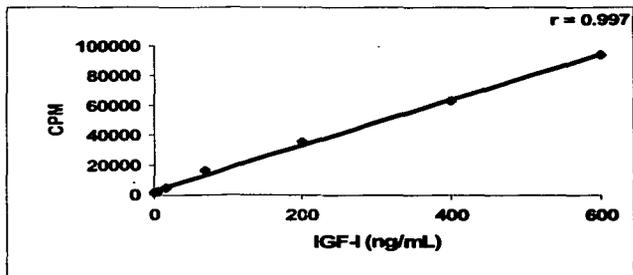
El ensayo inmuno-radiométrico de dos sitios (IRMA), se empleó para la determinación de IGF-I total. El método requiere separar IGF -I de sus proteínas de unión y extraer la hormona con una mezcla de alcohol – ácido (7:1 vol/vol) previo al ensayo. Se presenta la curva de calibración de IGF-I (Pág. 52) donde se observa la relación lineal entre la radiactividad (cpm) unida al anticuerpo eje de las Y, y la concentración de IGF-I en el eje de las X, se observa la pendiente de la recta y la elevada correlación entre los diferentes puntos de concentración.

Una vez efectuada la extracción se realizó el IRMA, que es un ensayo no competitivo tipo "sandwich" en el que el analito problema por cuantificar en el suero (50-100 μ L) es atrapado entre dos anticuerpos monoclonales contra la hormona o antígeno por medir. El primer anticuerpo se encuentra inmovilizado en la pared interna de los tubos en donde se coloca la muestra de suero o líquido biológico por cuantificar; este anticuerpo (Ab) extrae al antígeno (Ag) de la muestra biológica y lo une con elevada especificidad quedando el complejo Ag-Ab unidos a las paredes del tubo, después los materiales no unidos se decantan, los tubos se lavan y se añade el otro anticuerpo que lleva la marca radiactiva de I-125 (AB*) que está dirigido también contra el antígeno, se agrega en forma soluble y es el

CURVA DE CALIBRACIÓN DE IGF-I

Análisis inmuno-radiométrico

Tubos	cpm	conc. (ng/mL)	cpm X	
CT	158803	154552		
bk	166	178		172
ST1	1300	1419	0	1360
2	1856	1858	4.5	1857
3	4939	4910	16	4924
4	16530	16786	65	16658
5	38221	33071	200	35646
6	63240	63248	400	63244
7	94913	93585	600	94249



que permite la cuantificación por la marca radioactiva incorporada al complejo Ab-Ag-AB*, éste es directamente proporcional a la concentración del antígeno presente en la muestra y se calcula, extrapolando la radioactividad presente en los tubos problema, en una curva de calibración que se elabora con estándares de concentración conocida.

La reacción se puede ejemplificar de la manera siguiente:

1) Fase sólida-Ab + Ag \longrightarrow Fase sólida-Ab-Ag

2) Fase sólida-Ab-Ag + AB* \longrightarrow Fase sólida-Ab-Ag-AB*

Todos los inmunoensayos utilizados para cuantificar las hormonas en este estudio fueron sometidos a un programa de control de calidad, donde fueron estandarizados y validados, tienen una precisión y exactitud adecuada, con coeficientes de variación (CV) intra-ensayo e Inter-ensayo menores del 10%, los resultados obtenidos se muestran en la tabla 2.

Tabla 2

Control de calidad de los inmunoensayos para cuantificar hormonas.

Hormona	Sensibilidad	Precisión CV(%)		Exactitud Recuperación (%) (M \pm DE)
		Intra ensayo (n = 20)	Inter-ensayo (n = 20)	
FSH	0.6 mUI/mL	3.5	6.3	100.6 \pm 4.6
LH	1.2 mUI/mL	3.7	6.8	98.6 \pm 2.9
E2	8.0 pg/mL	4.1	8.6	97.2 \pm 5.4
GH	0.25 ng/mL	2.7	4.2	98.2 \pm 3.1
IGF-I	0.32 ng/mL	2.6	4.7	95.6 \pm 4.8
Insulina	3.6 μ UI/mL	5.7	7.3	97.8 \pm 4.2
PRL	1.4 ng/mL	3.2	7.5	107 \pm 5.2