



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE PSICOLOGÍA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES

“EVALUACIÓN DEL EFECTO ESTROGÉNICO DEL
17 β -IMINOESTRÓGENO DE ETOLAME SOBRE LA
CONDUCTA SEXUAL Y ANSIEDAD EN LA RATA”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO
DE LICENCIADA EN PSICOLOGÍA

PRESENTA

GUADALUPE LUISA JIMÉNEZ SÁNCHEZ

DIRECTORA: M. EN C. CRISTINA LEMINI GUZMÁN
REVISOR: DR. GABRIEL GUTIÉRREZ OSPINA
SINODALES: DRA. IRMA YOLANDA DEL RÍO PORTILLO
DR. JOSÉ LUIS DÍAZ MEZA
DR. JAIME EDUARDO CALIXTO GONZÁLEZ



Facultad
de Psicología

MÉXICO, D.F. CIUDAD UNIVERSITARIA, 2014



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.

Investigación realizada gracias al Programa de Apoyo de Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la UNAM (IN218813) "Estudio de la actividad antidepresiva, ansiolítica y mnemónica de 17 β -aminoestrógenos en modelos animales". Agradezco a la DGAPA-UNAM la beca recibida.

Cuando se cierra una etapa en la vida resulta inevitable mirar hacia atrás y hacer un balance. Sin duda terminar mi tesis es uno de esos momentos y es este el único apartado en ella que se me permite expresar mi sentir. Las sensaciones que puedo destacar son de satisfacción y gratitud...

GRACIAS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por la oportunidad de llevar a cabo mis estudios y concluir una meta en mi vida.

A mi hermosa Facultad de Psicología, me llevo muchos aprendizajes, momentos y amistades invaluableles.

Al Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina UNAM por permitir la realización del presente trabajo.

A la M. en C. Cristina Lemini Guzmán por recibirme en su laboratorio e integrarme a su equipo, por su confianza y apoyo.

Al Dr. Gabriel Gutiérrez Ospina por su tiempo en la asesoría y desarrollo de este tema, por despertar en mí el interés de estudiar la conducta sexual, por motivarme y apoyarme en todo momento...

“Un profesor trabaja para la eternidad: nadie puede decir cuando termina su influencia” H.B.A.

A mis sinodales: Dra. Irma Yolanda del Río Portilla, Dr. José Luis Díaz Meza y Dr. Jaime Eduardo Calixto González por su tiempo, asesoría y comentarios que enriquecieron este trabajo.

A la Q.F.B. Martha Media Jiménez, a la Dra. Norma Alejandra Figueroa Ríos, a la Bióloga María Estela Ávila, a la Lic. Flor Guadalupe Don Bravo y al técnico Rogelio Hernández de la Vega por su apoyo y cariño.

A mis amigos Verónica, Elizabeth, Lupita, Alan, Brenda, Dulce, Claudia, Gonzalo, Mauricio, Carina y a mis colegas preferidos Edith, Victoria, Cristian, Dario, Estela, Dayra y Héctor por todos esos buenos momentos, risas y aprendizajes que disfrutamos juntos. Muchas gracias a Cassandra, por tantos años de amistad, risas, apoyo y cariño. Gracias amigos por enseñarme las mejores cosas de la vida.

DEDICATORIA

A mi hermosa Mire

Por ser un ángel en mi vida. Me siento afortunada de tener tu tiempo, amistad y amor. Gracias por tu entrega y por ser una mamá ejemplar.

A mi papá

Por todo lo que me has dado, por tu amor, cariño y comprensión. Gracias por enseñarme el valor del estudio y por darme la libertad de tomar mis decisiones y hacerme responsable.

A mi hermana

Por ser una inspiración y ejemplo a seguir. Gracias por cuidarme, por todo lo que he vivido y aprendido a tu lado.

A mis angelitos

Por enseñarme el amor más profundo y sincero.

...Son la razón, mi esperanza y en cada proyecto que tengo están presentes. Hoy comparto con ustedes este logro, fruto de su constante apoyo. Los amo.

“He sido un testarudo, he perseguido un simulacro de orden, cuando debía saber muy bien que no existe orden en el universo.

-Pero, imaginando órdenes falsos habéis encontrado algo...

-Gracias Adso, has dicho algo muy bello. El orden que imagina nuestra mente es como una red, o una escalera, que se construye para llegar hasta algo. Pero después hay que arrojar la escalera, porque se descubre que, aunque haya servido, carecía de sentido [...]. Las únicas verdades que sirven son instrumentos que luego hay que tirar.”

El nombre de la Rosa. Umberto Eco

ÍNDICE

RESUMEN	7
INTRODUCCIÓN	8
I. CONTROL HORMONAL DEL CICLO REPRODUCTOR FEMENINO	9
1.1. Estrógenos y progesterona	12
1.1.1. Biosíntesis	13
1.1.2. Mecanismo de acción	15
1.2. Eje hipotálamo-hipófisis-ovario	17
II. PERIMENOPAUSIA	23
2.1. Definición	23
2.2. Síntomas clínicos	23
2.2.1. Síntomas vasomotores	23
2.2.2. Ansiedad	24
2.2.3. Alteraciones cognoscitivas.....	25
2.2.4. Alteraciones de la sexualidad	25
2.3. Terapia de reemplazo hormonal.....	25
2.4. 17 β -aminoestrógenos (17 β -AE _s).....	27
III. CONDUCTA SEXUAL DE LA RATA HEMBRA	29
3.1. Ciclo estral en la rata.....	29
3.2. Patrones conductuales	31
3.3. Control neural de la conducta sexual	33
IV. TRABAJO DE INVESTIGACIÓN	39
4.1. Planteamiento del problema.....	39
4.2. Hipótesis	39
4.3. Objetivo general	39
4.3.1. Objetivos específicos.....	39
4.4. Material y método.....	40
4.4.1. Reactivos.....	40
4.4.2. Sujetos	40
4.5. Procedimiento	41
4.5.1. Evaluación del efecto uterotrófico	41
4.5.2. Ovariectomía	41
4.5.3. Evaluación del efecto de IETA sobre la conducta sexual de la rata hembra	42
Paradigma 1: Administración única	42

Paradigma 2: Tres administraciones.....	42
4.5.4. Prueba de laberinto elevado en cruz (LEC)	43
4.5.5. Valoración del efecto anticoagulante de IETA.....	44
4.5. Análisis estadístico.....	45
V. RESULTADOS	46
5.1. Efecto uterotrófico de IETA en ratas prepúberes. Curva dosis-respuesta.....	46
5.2. Paradigma 1: Efecto de IETA sobre la conducta sexual de la rata Ovx. Curva dosis-respuesta con administración única.....	47
5.3. Paradigma 2: Efecto de IETA sobre la conducta sexual de la rata Ovx. Curva dosis-respuesta con tres administraciones	49
5.4. Efecto ansiolítico de IETA	49
5.5. Efecto de IETA sobre la coagulación sanguínea de la rata Ovx	51
VI. DISCUSIÓN	52
VII. CONCLUSIONES	57
REFERENCIAS.....	58

RESUMEN

La terapia de reemplazo hormonal (TRH) con estrógenos se utiliza frecuentemente para tratar los síntomas fisiológicos y psicológicos causados por un déficit hormonal, tales como: bochornos, sudoración nocturna, periodos irregulares, insomnio, falta de motivación sexual, ansiedad y depresión, así como alteraciones en funciones cognitivas. Sin embargo, su uso se asocia con un aumento de padecimientos tromboembólicos y cáncer. Esto indica la necesidad de desarrollar estrategias terapéuticas alternas con mayor especificidad y seguridad. Se ha reportado que los 17β -aminoestrógenos (17β -AE₃) producen efectos anticoagulantes que contrastan con los efectos procoagulantes del estradiol (E_2) y otros estrógenos sintéticos actualmente utilizados en la clínica, lo que ha sugerido que podrían constituir una alternativa a la TRH convencional con menores riesgos trombogénicos. El objetivo de este trabajo fue investigar los efectos de tipo estrogénico del 17β -[hidroxi, etilimina]-1,3,5(10)-estratrien-3-ol (IETA) y su efecto sobre la ansiedad. Adicionalmente se evaluó el tiempo de coagulación de animales tratados con IETA para conocer su potencial trombogénico. La estrogenicidad de IETA se evaluó en la rata Wistar: 1) su actividad uterotrónica en ratas inmaduras, y 2) en la inducción de la conducta sexual en ratas adultas ovariectomizadas (Ovx). El efecto de IETA sobre la ansiedad se estimó utilizando el modelo conductual del Laberinto Elevado en Cruz (LEC). En todos los casos IETA se comparó con la hormona E_2 y el vehículo como control.

Nuestros resultados demostraron que IETA posee actividad uterotrónica al aumentar el peso uterino de ratas prepúberes de manera dosis dependiente. Induce un patrón de comportamiento sexual semejante al que produce el E_2 en la rata Ovx y posee un efecto ansiolítico, esto indica que IETA ejerce efectos directos sobre el sistema nervioso central (SNC). Asimismo en los animales tratados con IETA los tiempos de coagulación total se mantuvieron en valores normales por lo que no posee propiedades pro-coagulantes. Su perfil farmacológico indica que se trata de un esteroide de gran interés que deberá estudiarse para determinar su potencial uso clínico en el manejo de la TRH.

Palabras clave: estrógenos, conducta sexual, ansiedad.

INTRODUCCIÓN

Las hormonas esteroides sexuales (andrógenos, estrógenos y progestágenos) están involucradas en la diferenciación y mantenimiento de las características sexuales y la reproducción. Actúan principalmente a través de mecanismos genómicos regulando la transcripción y la proliferación celular y de mecanismos no genómicos que implican una acción a nivel membranal (Watson y Miller, 2004). Los estrógenos son secretados por los ovarios cíclicamente desde la pubertad hasta la menopausia e influyen profundamente sobre la fisiología y la conducta de la mujer. La deficiencia de estrógenos en la perimenopausia produce cambios fisiológicos tales como: bochornos, sudoración nocturna, periodos irregulares y cambios psicológicos: insomnio, falta de motivación sexual, síntomas de ansiedad y depresión, así como alteraciones en funciones cognitivas (Flores-Ramos y Ontiveros-Urbe, 2008).

La terapia de reemplazo hormonal (TRH) con estrógenos equinos conjugados (EEC), etinil-estradiol (EE) y derivados del estradiol (E_2) son utilizados para el manejo de estos síntomas (Rasgon *et al.*, 2002). Sin embargo, un gran número de estudios clínicos describen efectos adversos relacionados con su uso, como el cáncer y eventos tromboembólicos (Tchaikovski y Rosing, 2010). Por ello teniendo en cuenta los factores de riesgo se recomienda individualizar la TRH y prescribir la dosis mínima efectiva durante el menor tiempo posible (Santen *et al.*, 2010).

En la búsqueda de estrógenos sintéticos alternativos sin riesgo tromboembólico, se ha reportado que los 17β -aminoestrógenos (17β -AE_S) producen efectos anticoagulantes prolongados que contrastan con los efectos procoagulantes producidos por el E_2 , EE y derivados. Los 17β -AE_S poseen efectos estrogénicos ya que incrementan el peso uterino, activan la transcripción de receptores de estrógenos (ER α y ER β), disminuyen la hormona luteinizante (HL), inducen la síntesis de receptores de progesterona en la hipófisis anterior y estimulan la conducta sexual en la rata ovariectomizada (Jaimez *et al.*, 2001; Lemini *et al.*, 2005; Lemini y Canchola, 2009). Recientemente se han descrito las propiedades ansiolíticas y antidepresivas que producen algunos 17β -AE_S en la rata hembra ovariectomizada (Nissen *et al.*, 2012; Lemini *et al.*, 2013). Estas características y la carencia de efectos protrombóticos podrían constituir una alternativa a la TRH convencional para mujeres perimenopáusicas, en especial en aquellas que presentan predisposición a eventos tromboembólicos. El objetivo del presente trabajo fue la evaluación de los efectos de tipo estrogénico y ansiolítico del 17β -[hidroxi-etilimino]-1, 3,5(10)-estratrien-3-ol (IETA); compuesto relacionado con los 17β -AE_S que no ha sido biológicamente caracterizado. Asimismo iniciamos estudios exploratorios de sus efectos sobre la coagulación sanguínea. Estos estudios intentan contribuir a la obtención de agentes farmacológicos de mayor especificidad y seguridad para la TRH femenina.

I. CONTROL HORMONAL DEL CICLO REPRODUCTOR FEMININO

En el organismo las células cumplen funciones específicas cuya regulación y coordinación se llevan a cabo mediante la función conjugada de los sistemas nervioso y endocrino. Este último está compuesto por una serie de glándulas distribuidas por todo el cuerpo que producen y vierten directamente a la sangre sus productos (Figura 1).

Los productos secretados por las glándulas endocrinas se denominan hormonas (del griego *hormao*, “excitar” o “estimular”), que constituyen señales químicas que se desplazan por el torrente sanguíneo y actúan sobre sitios diana que tengan los receptores específicos (Watson y Miller, 2004). La interacción de una hormona con su receptor da lugar a una serie de acontecimientos celulares que pueden provocar una respuesta genómica, misma que da lugar a que la hormona actúe directa o indirectamente activando genes y regulando la síntesis de proteínas. De esta manera, las hormonas pueden influir sobre las células diana de muchas formas, alterando generalmente el ritmo de la función celular normal e interviniendo en procesos a largo plazo como el crecimiento, desarrollo, metabolismo y reproducción (Rosenzweig, 2005).

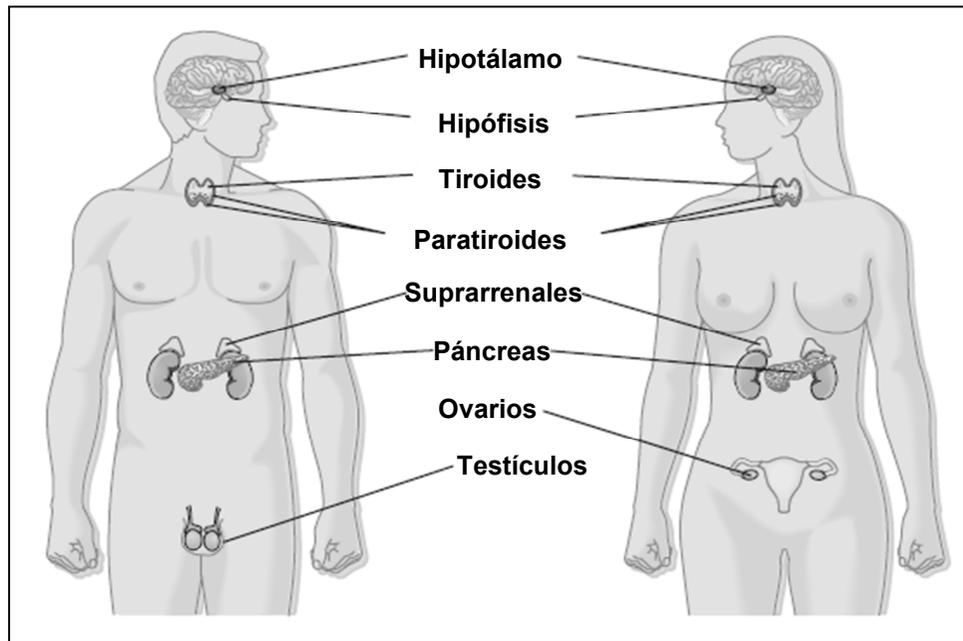


Figura 1. Principales glándulas endocrinas en los seres humanos (Imagen modificada de White, 2010).

Las hormonas se clasifican en peptídicas, aminas y esteroides (Véase Tabla 1). Difieren en varias características importantes entre las que se incluyen: estructura química, forma de liberación, modo en que se transportan en la sangre, localización de sus receptores en sitios diana y

mecanismo de interacción de la hormona con su receptor que da lugar a una respuesta biológica (Nelson, 2000).

Tabla 1. Principales clases de hormonas

Hormonas peptídicas	Monoaminas	Hormonas Esteroides
Hormona adrenocorticotrópica (ACTH) Hormona folículo-estimulante (FSH) Hormona luteinizante (LH) Hormona del crecimiento (GH) Prolactina Insulina Oxitocina Vasopresina	Epinefrina Norepinefrina Hormonas tiroideas Melatonina	Estrógenos Progestágenos Andrógenos Glucocorticoides Mineralocorticoides

Las hormonas peptídicas están constituidas de aminoácidos individuales. Dentro de este grupo podemos distinguir las que poseen pocos aminoácidos que se denominan hormonas peptídicas y las de mayor tamaño hormonas polipeptídicas. Se almacenan en las células endocrinas y se liberan al sistema circulatorio mediante exocitosis. Son solubles en la sangre, por lo que no necesitan una proteína portadora para desplazarse hasta sus células diana, tal como lo hacen las hormonas esteroides. El mecanismo de acción de las hormonas peptídicas involucra la unión de la hormona a un receptor de membrana que activa la enzima adenilciclase y estimula la formación de adenosín monofosfato cíclico (AMPc) a partir del trifosfato de adenosina (ATP). El AMPc estimula enzimas denominadas proteinquinasas específicas que fosforilan otras enzimas provocando cambios celulares específicos (Figura 2; Rosenzweig, 2005).

El grupo de las aminas incluye a las catecolaminas e indolaminas, hormonas que derivan del aminoácido tirosina. En respuesta a señales neurales simpáticas, la médula suprarrenal (fuente principal de catecolaminas) libera epinefrina (adrenalina) y norepinefrina (noradrenalina) a la circulación sanguínea. Los estímulos fisiológicos típicos que dan lugar a la liberación de catecolaminas son el estrés, ejercicio, bajas temperaturas, ansiedad, y respuestas de lucha o de huida. Las catecolaminas actúan sobre sus células diana mediante mecanismos de segundos mensajeros (Nelson, 2000).

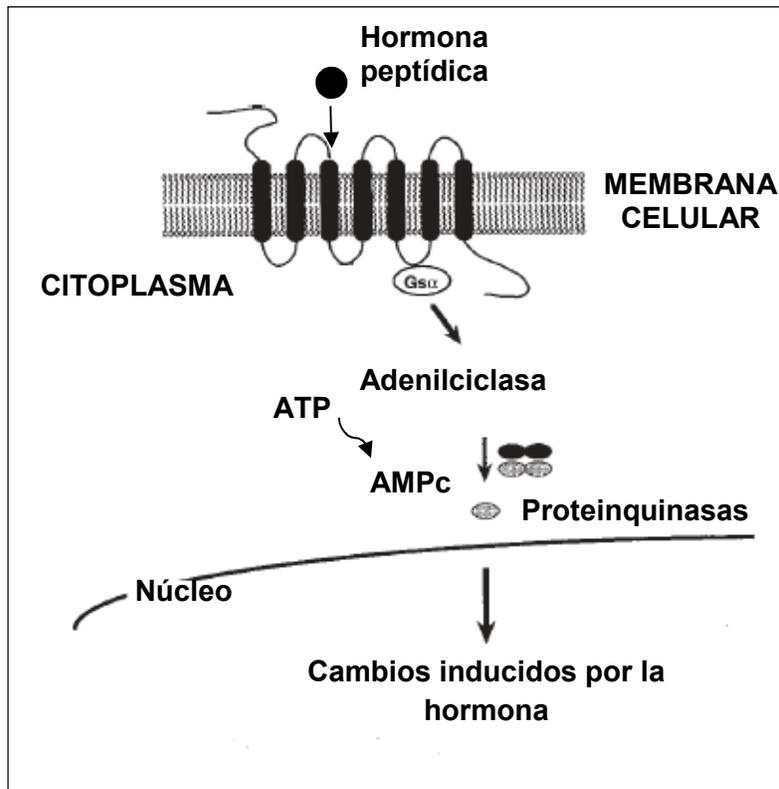


Figura 2. Acción de las hormonas peptídicas. El mecanismo implica al AMPc como segundo mensajero. Cuando las hormonas peptídicas se unen a un receptor membranal, activan la adenilciclasa y transforman el ATP en AMPc. A su vez, el AMPc activa un grupo de enzimas denominadas proteinquinasas que estimulan la producción de otras enzimas, lo que provoca cambios en la función celular (Imagen modificada de Hammes *et al.*, 2006).

En los vertebrados, las glándulas suprarrenales y las gónadas son los lugares de procedencia de hormonas esteroides, las cuales tienen una estructura química característica que incluye tres anillos de seis carbonos y un anillo de cinco carbonos (Figura 3). Esta estructura les permite disolverse en los lípidos y por lo tanto desplazarse fácilmente a través de las membranas celulares. Las hormonas esteroides no son hidrosolubles, por ello, en el sistema circulatorio se unen a proteínas que las transportan por la sangre hasta sus tejidos diana.

Los esteroides comprenden: estrógenos, andrógenos, progestágenos, mineralocorticoides y glucocorticoides. Los tres primeros son frecuentemente llamados “hormonas sexuales” cuya función principal es la maduración embrionaria, el desarrollo de las características sexuales y el mantenimiento de la función reproductiva (Watson y Miller, 2004).

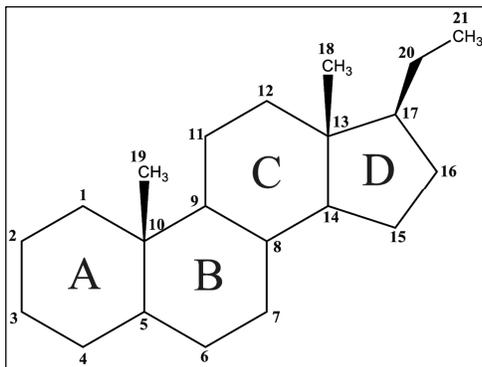


Figura 3. Los esteroides son un tipo de compuestos orgánicos que contienen una disposición característica de cuatro anillos: tres anillos de seis carbonos (A, B, y C) y un anillo de cinco carbonos (D). En la nomenclatura de la bioquímica de los esteroides, nos referimos a cada átomo de carbono con un número que va del 1 al 21. Las sustancias derivadas de este núcleo poseen grupos metilo (-CH₃) en las posiciones 10 y 13 que representan los carbonos 18 y 19, generalmente existe también una cadena hidrocarbonada lateral en el carbono 17; la longitud de dicha cadena y la presencia de grupos hidroxilos, metilos o carbonilos determina las diferentes estructuras de los esteroides (Imagen modificada de White, 2010).

1.1. Estrógenos y progesterona

Los estrógenos (término para “sustancia generadora de estro”) son producidos por los folículos ováricos, desempeñan un papel importante en el desarrollo de las características sexuales femeninas y participan en la regulación del ciclo reproductivo. La estrona (E₁), estradiol (E₂) y estriol (E₃) son los principales estrógenos en el organismo (Figura 4). El E₂ y E₁ se producen en las células granulosas de los folículos en desarrollo y el E₃ es el metabolito principal del E₂. En el inicio de la pubertad el E₂ influye sobre la maduración de los órganos reproductores (útero, tubas uterinas, cuello uterino y vagina) y permite la distribución de la grasa corporal para producir el fenotipo femenino. La E₁ tiene una potencia estrogénica que es aproximadamente la tercera parte del E₂; es el principal estrógeno circulante en la postmenopausia y se produce sobre todo a través de la conversión de la androstendiona en los tejidos periféricos. El E₃ es significativamente menos potente al E₂ y se encuentra en cantidades importantes durante el embarazo, ya que es el principal estrógeno producido por la placenta (Finkel, Clark y Cubeddu, 2009).

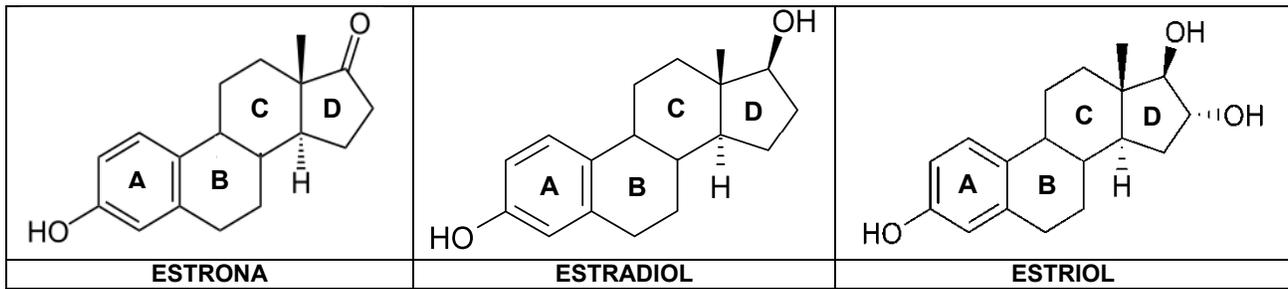


Figura 4. Los estrógenos son hormonas sexuales femeninas que se caracterizan químicamente por poseer el anillo A aromático en su molécula, un grupo hidroxilo en el C3 y carecen del grupo metilo en el C10. La estrona presenta un grupo cetona (=O) en el anillo D en el C17. El estradiol posee un grupo hidroxilo en la posición 17 y el estriol presenta dos grupos hidroxilos en el anillo D, uno en el C16 y otro en el C17, presentando configuraciones α y β respectivamente (Imagen modificada de Ascenzi *et al.*, 2006).

El E_2 es crucial para el desarrollo y diferenciación celular y en organismos adultos para el mantenimiento de la homeostasis (Böttner *et al.*, 2014). Los estrógenos tienen varias funciones metabólicas, entre las que se incluyen efectos sobre el metabolismo del calcio y durante la pubertad promueven el cierre de las epífisis de los huesos largos, que detienen el crecimiento óseo. El E_2 disminuye los niveles de colesterol, lo que reduce el riesgo de padecer enfermedades arteriales coronarias (Watson y Miller, 2004). Generalmente durante su vida fértil la mujer está protegida ante enfermedades psiquiátricas y neurodegenerativas como depresión, ansiedad y demencia. Esta protección disminuye después de la menopausia, señalando una participación significativa de los estrógenos en la neuroprotección y regulación del estado de ánimo, ansiedad y cognición. Asimismo se ha descrito que participan en la modulación de la actividad serotoninérgica a nivel de síntesis, degradación o recaptura del neurotransmisor (Soares, 2008; Aan het Rot *et al.*, 2009).

La progesterona (P) es el progestágeno natural que se produce en el cuerpo lúteo, promueve el desarrollo de un endometrio secretor que permite la implantación de un embrión recién formado. Tiene una amplia distribución y se une a globulinas de corticoides y albúmina (Watson y Miller, 2004). Además de funciones reproductivas, la P tiene funciones sobre el sistema nervioso central (SNC) regulando la cognición y el estado de ánimo (Brinton, 2008).

1.1.1. Biosíntesis

Las hormonas esteroides se sintetizan a partir del colesterol. La vía bioquímica para la síntesis de esteroides se inicia desde el acetato, pasando por el mevalonato y escualeno hasta el colesterol, éste penetra en la célula y se traslada hasta la mitocondria donde por acción de la enzima desmolasa (enzima de “escisión de cadena lateral”) convierte el colesterol en pregnenolona, precursor común de las hormonas esteroides (Figura 5).

La pregnenolona se traslada luego al retículo endoplásmico liso circundante, donde por acción de la 17 α -hidroxilasa se produce la 17 α -hidroxipregnenolona y posteriormente la enzima 3 β -ol-deshidrogenasa la convierte en P. En las células de la granulosa del ovario, durante la fase folicular, la pregnanolona sigue la vía 17 α -hidroxipregnanolona, deshidroepiandrosterona, androstendiona y testosterona. Ésta última mediante el proceso de aromatización del anillo A por acción de una aromatasa específica, que conlleva la eliminación del C19, se convierte en E₂. En el ovario, una pequeña cantidad de E₂ se transforma en E₁.

En la fase lútea persiste la secreción de E₂ a partir de la producción de androstendiona y testosterona en las células tecales; los andrógenos difunden a las células de la granulosa, donde sufren el proceso de aromatización correspondiente (O'Riordan *et al.*, 1988).

1.1.2. Mecanismos de acción

Las hormonas esteroides actúan a nivel nuclear produciendo efectos genómicos y a nivel membranal lo que da lugar a efectos no genómicos. Los efectos genómicos de las hormonas esteroides se llevan a cabo de manera más lenta que aquellos correspondientes al de las hormonas peptídicas por lo que pueden tardar horas en expresarse. La especificidad de su acción está determinada por la interacción de estas hormonas con los receptores específicos que residen en el citoplasma de las células diana. Los estrógenos atraviesan la membrana y actúan a través de mecanismos genómicos por unión con receptores nucleares de estrógenos (REs) RE α y RE β . Las dos variantes del receptor de estrógenos (α y β) son codificadas por diferentes genes situados en el cromosoma 6 (6q25.1) y en el cromosoma 14 (14q23.2), respectivamente (Böttner *et al.*, 2014). Ambos tipos de receptores se expresan en una amplia variedad de tejidos, aunque existen notables diferencias en los patrones de expresión.

En la periferia, el RE α se expresa en mayor proporción en útero, estroma ovárico, glándulas mamarias y hueso. El RE β se expresa en vejiga, pulmones, intestinos, próstata, médula ósea, corazón y riñones (Jensen *et al.*, 2010). En el SNC ambos REs se expresan en el área preóptica medial del hipotálamo (MPN), amígdala medial posterodorsal (MeApd), núcleo del tracto solitario (NTS) y núcleo de la estría terminal (BST). El RE α se expresa mayoritariamente en el núcleo arcuato y en el núcleo ventromedial del hipotálamo (VMH); el RE β en el núcleo supraquiasmático, hipocampo, corteza y cerebelo (Böttner *et al.*, 2014). En el SNC, el mensajero (RNAm) de RE α se asocia a los efectos reproductivos de los estrógenos (McEwen, 1999; Couse *et al.*, 2003). Mientras que el RNAm para RE β se asocia con sus acciones psicoactivas (Weiser *et al.*, 2008). El complejo receptor-esteroide se une a fragmentos de ADN denominados elementos de respuesta a estrógenos (ERE). Esta unión afecta la transcripción de genes que codifican una enorme variedad

de proteínas: enzimas sintéticas y metabólicas de neurotransmisores y neuropéptidos, transportadores y receptores para neurotransmisores o factores de crecimiento y proteínas de transducción de señales.

Los efectos de tipo no genómico de las hormonas esteroides sexuales ocurren rápidamente a través de receptores membranales (Figura 6; Rubinow *et al.*, 1998). Se ha observado que en segundos las hormonas alteran la actividad eléctrica de las neuronas, siendo esto mediado por receptores acoplados a proteínas G o modulando canales iónicos (Kelly *et al.*, 1976).

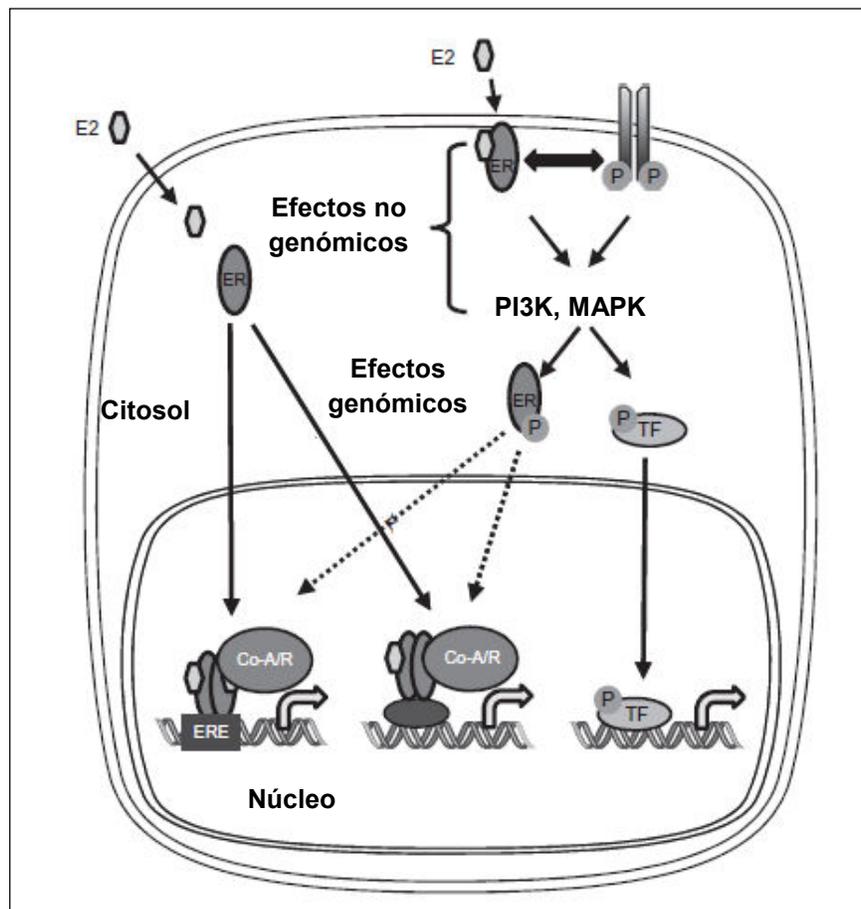


Figura 6. Acción de las hormonas esteroides. El E₂ se difunde a través de la membrana celular y se une a receptores intracelulares. El complejo hormona-receptor es transportado al núcleo donde se une a ERE del ADN y activa la transcripción del RNAm, la síntesis de proteínas y cambia el ritmo de la función celular. Los mecanismos no genómicos se han asociado a efectos rápidos de las hormonas y se inicia en la membrana o en el citoplasma con la interacción de la hormona con receptores que activan rápidamente vías de señalización intracelular, incluyendo PI3K y MARK. Estos efectos no genómicos modulan factores de transcripción (TF) y sus cofactores (Imagen modificada de Kerdivel *et al.*, 2013).

Por otro lado, los receptores de progesterona (RPs) también se definen como factores de transcripción activados por ligando que regulan la expresión de genes. Las dos isoformas de RPs

(RP-A N-terminalmente truncado y RP-B) son los distintos productos de un solo gen localizado en el cromosoma 11 (11q22-23). El RP-A es esencial para una adecuada función uterina y reproductiva, mientras que el RP-B es necesario para el desarrollo de la glándula mamaria. A nivel de SNC, ambas isoformas (RP-A y RP-B) se expresan en el hipocampo y en la corteza frontal (Brinton *et al.*, 2008).

1.2. Eje hipotálamo-hipófisis-ovario

El hipotálamo está formado por un conjunto de cuerpos celulares o núcleos localizados en la base del cerebro (Figura 7). Las neuronas hipotalámicas integran y coordinan patrones y respuestas fisiológicas de naturaleza autonómica, endocrina y conductual para regular la temperatura corporal, la función cardiovascular y secreciones hipofisarias (Valverde y Herrera, 1977).

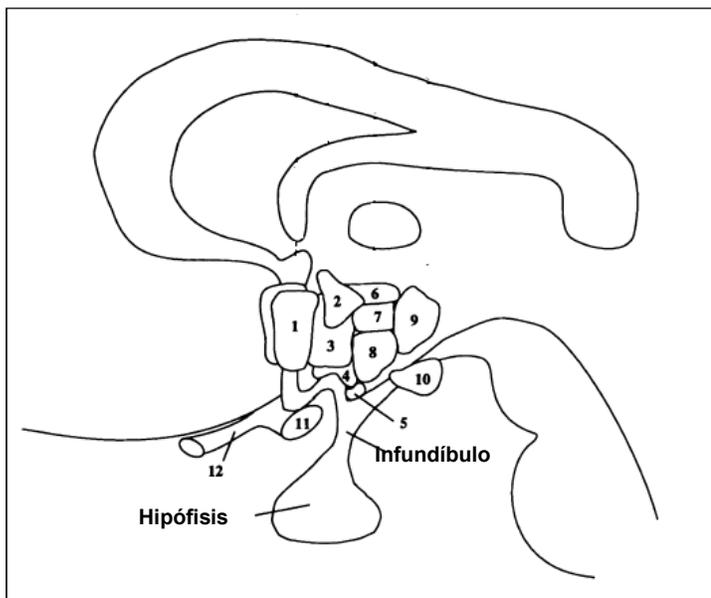


Figura 7. Los núcleos hipotalámicos integran información neural procedente de lugares cerebrales superiores y coordinan numerosos procesos fisiológicos mediante células especializadas que producen y segregan neurohormonas en la glándula hipófisis. 1) núcleo preóptico, 2) núcleo paraventricular, 3) área hipotalámica anterior, 4) núcleo supraóptico, 5) núcleo arcuato, 6) área dorsal hipotalámica, 7) núcleo dorsomedial, 8) núcleo ventromedial, 9) área hipotalámica posterior, 10) cuerpo mamilar, 11) quiasma óptico y 12) nervio óptico (Imagen modificada de Braunstein, 2011)

La hipófisis (*hypo*; debajo y *phycis*; cerebro) está integrada por dos partes. La parte frontal, hipófisis anterior o adenohipófisis, procede de los tejidos blandos del paladar superior y la hipófisis posterior o neurohipófisis, que se desarrolla a partir de la base del cerebro. El hipotálamo se

comunica con la hipófisis a través de los axones de las células neuroendocrinas parvicelulares localizadas en la eminencia media del hipotálamo. Los axones se proyectan hacia el tracto tuberohipofisario y terminan en los capilares primarios del sistema porta-hipofisario; un circuito sanguíneo en el que dos lechos de capilares- uno en el hipotálamo y otro en la adenohipófisis- están conectados por una vena y donde los axones vierten sus productos. Estos productos se designan genéricamente como factores liberadores –la hormona liberadora de tirotrópina (TRH), hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), hormona liberadora de corticotropina (CRH), hormona liberadora de la hormona del crecimiento (GHRH)- y una hormona inhibidora de la hormona del crecimiento, conocida como somatostatina. Los factores liberadores segregados en el plexo capilar primario del sistema porta se desplazan hacia el plexo secundario y se difunden por la adenohipófisis, donde alcanzan las células diana y actúan estimulando o inhibiendo la liberación de hormonas tróficas de la adenohipófisis.

Los axones procedentes de las neuronas magnocelulares del hipotálamo anterior, núcleo supraóptico (SON) y paraventricular (PVN) proyectan hacia el infundíbulo, terminan en la neurohipófisis y producen dos neuropéptidos con actividad hormonal. La vasopresina u hormona antidiurética (ADH) y la oxitocina sintetizadas en el aparato de Golgi de los cuerpos celulares neurosecretorios, son transportados por el axón y almacenadas en vesículas en las terminales de las células nerviosas de la neurohipófisis donde son liberadas en respuesta a un impulso neural (Figura 8; Valverde y Herrera, 1977; O'Riordan *et al.*, 1988; Nelson, 2000).

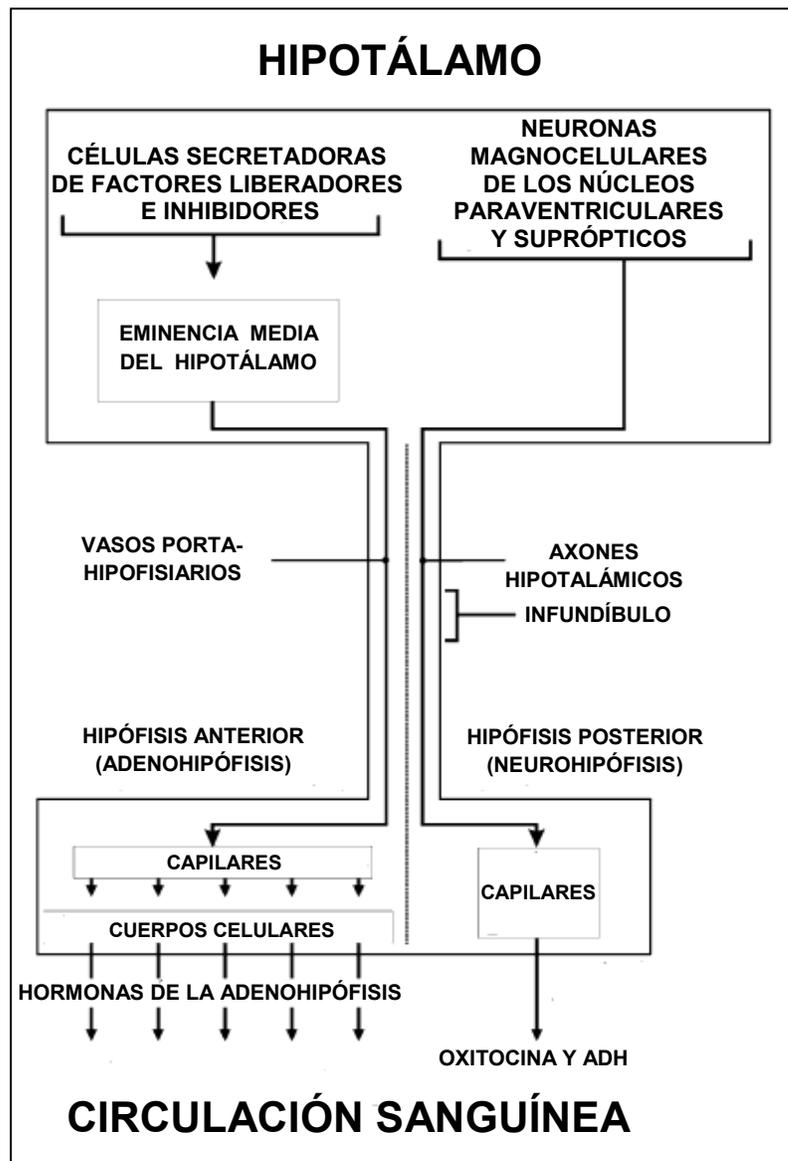


Figura 8. Sistema hipotalámico-hipofisario. El riego sanguíneo de la eminencia media consiste en la arteria hipofisaria superior cuyas ramificaciones forman el plexo capilar primario. Del plexo salen los vasos porta-hipofisarios que terminan en la adenohipófisis y vierten sus productos. Los axones de las neuronas magnocelulares de los núcleos paraventriculares y supraópticos se extienden hacia el tallo de la neurohipófisis (Imagen modificada de Mendoza y Foundas, 2008).

La adenohipófisis secreta seis hormonas tróficas fundamentales. Dos de ellas regulan la función de la corteza suprarrenal y la tiroides. La hormona adrenocorticotrópica (ACTH) controla la producción y la liberación de hormonas de la corteza suprarrenal, la cual, a su vez, libera hormonas glucocorticoides. La hormona estimulante tiroidea (TSH) incrementa la liberación de hormonas tiroideas y afecta el tamaño de la glándula.

En las mujeres, la hormona luteinizante (LH) estimula la liberación de óvulos y prepara la pared uterina para la implantación de un óvulo fecundado. En los hombres, la LH estimula a las células intersticiales de los testículos para que produzcan testosterona. La hormona folículo

estimulante (FSH) estimula la secreción de estrógenos en las mujeres y de testosterona en los hombres. Influye también en la producción tanto de óvulos como de espermatozoides. La prolactina favorece el desarrollo mamario y estimula la secreción de leche en la lactancia. La hormona del crecimiento (GH) actúa en todo el organismo influyendo en el crecimiento de células y tejidos al afectar el metabolismo de las proteínas (Rosenzweig, 2005).

La regulación de la actividad gonadal hormonal y la función reproductiva está a cargo del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, modulada en ciclos. En promedio, el ciclo reproductor en la mujer toma alrededor de 28 días en completarse y se divide en las fases: folicular, de la ovulación y fase lútea.

En los mamíferos, los ovarios son una pareja de glándulas localizadas en la parte dorsal de la cavidad abdominal. El ovario tiene tres subunidades funcionales: los folículos, cada uno de los cuales contiene un óvulo en desarrollo; los cuerpos lúteos; que son estructuras que evolucionan a partir de los folículos cuando el óvulo es liberado; y un tejido de sostén, o estroma. Dentro del ovario fetal hay epitelios germinales que se transformarán en folículos primordiales. Los dos ovarios de una niña pueden contener medio millón de folículos inmaduros y entre la pubertad y la menopausia una mujer ovula aproximadamente 400 óvulos (Watson y Miller, 2004).

El ciclo ovárico comienza con una estimulación por parte de las neuronas hipotalámicas hacia la hipófisis. El hipotálamo produce una liberación pulsátil de GnRH que estimula a su vez la liberación de la FSH. La fase folicular dura aproximadamente entre 7 a 8 días y se caracteriza morfológicamente por el crecimiento y desarrollo de folículos primordiales bajo la influencia de dicha hormona. Durante esta fase las gonadotropinas permanecen en niveles bajos de 3-20 mUI/ml. Los primeros 3 o 4 días del ciclo los niveles de FSH son superiores a los de la LH, y después la FSH desciende.

A medida que el óvulo madura, el folículo tiende a desplazarse dentro del estroma, y las células foliculares aumentan en número mediante división mitótica. En torno a las células foliculares, pero separadas de ellas por una membrana basilar, están las células de la teca interna y de la teca externa, las cuales segregan estrógenos. Los niveles de E_2 y E_1 son bajos en esta fase folicular temprana, sus concentraciones oscilan entre 20-200 pg/ml. Al tiempo que el óvulo sigue madurando, su membrana celular se rodea de una capa exterior llamada zona pelúcida, en este estadio de maduración, se conoce a la célula como folículo secundario. Se desarrolla un espacio entre el óvulo y las células epiteliales circundantes, conocido como antro, el cual se llena de líquido antes de la ovulación. A medida que el antro se dilata, el folículo recibe el nombre de folículo terciario. Justo antes de la ovulación, el folículo alcanza su tamaño máximo y se denomina folículo graafiano o DeGraaf (Cabeza de Flores, 1977; Watson y Miller, 2004).

En la fase preovulatoria hay una elevación de E_2 y E_1 , principalmente de E_2 , alcanzando niveles entre 120-400 pg/ml. El incremento de E_2 genera una activación en la adenohipófisis y se libera la LH. Los estrógenos normalmente suprimen la producción de gonadotropinas

(retroalimentación negativa) pero en este caso, el aumento en los niveles de E_2 provocan un aumento en los niveles de la LH (retroalimentación positiva).

La LH provoca la ovulación, este momento es precedido en horas por una brusca elevación de la LH y de la FSH (60-200 mUI/ml y 4-35 mUI/ml respectivamente) en comparación a sus niveles foliculares. La ruptura del folículo ocurre 16 a 24 horas después del pico máximo de gonadotropinas, aproximadamente alrededor del día 14 del ciclo. Los niveles de estrógenos descienden hasta niveles de fase folicular temprana; al mismo tiempo se detectan niveles séricos de P mayores de 1 ng/ml. Después de la ovulación, el folículo se convierte en cuerpo lúteo («cuerpo amarillo»), produciendo E_2 , pero sobre todo P y alcanza sus niveles máximos (3 ng/ml de suero) 6 a 7 días antes del nuevo ciclo. Los niveles de E_2 se vuelven a elevar aunque sin llegar a los observados durante el periodo preovulatorio. Los niveles de LH y FSH son ligeramente menores a los de la fase folicular (4-25 mUI/ml y 2-11 mUI/ml respectivamente), pero la LH siempre se encuentra por arriba de la FSH, hasta el inicio del nuevo ciclo en que la relación se invierte (Figura 9).

Mientras tanto, el óvulo se introduce en una de las tubas uterinas y comienza su avance hacia el útero. Si encuentra espermatozoides durante su viaje y es fertilizado, el cuerpo lúteo es mantenido por la gonadotropina coriónica. Los niveles de P permanecen elevados y el óvulo comienza a dividirse y varios días después se fija en la pared uterina. La P mantiene la mucosa del útero e inhibe la producción de otros folículos ováricos. Si el óvulo no es fertilizado o si se fertiliza demasiado tarde como para desarrollarse lo suficientemente bien en el momento en el que llega al útero, el cuerpo lúteo se somete a un proceso conocido como luteólisis, se degenera y es incapaz de producir E_2 y P y finalmente es reemplazado por tejido cicatricial. Las arterias pequeñas en el revestimiento del útero se contraen, cortando el oxígeno y los nutrientes, las células mueren y el revestimiento se desprende. En ese momento se inicia la menstruación que dura de 4 a 5 días aproximadamente. Como la producción de esteroides por el cuerpo lúteo disminuye, la secreción de FSH aumenta, estimula el desarrollo de nuevo folículos y el inicio de un nuevo ciclo menstrual (Figura 9; Cabeza de Flores, 1977; Watson y Miller, 2004).

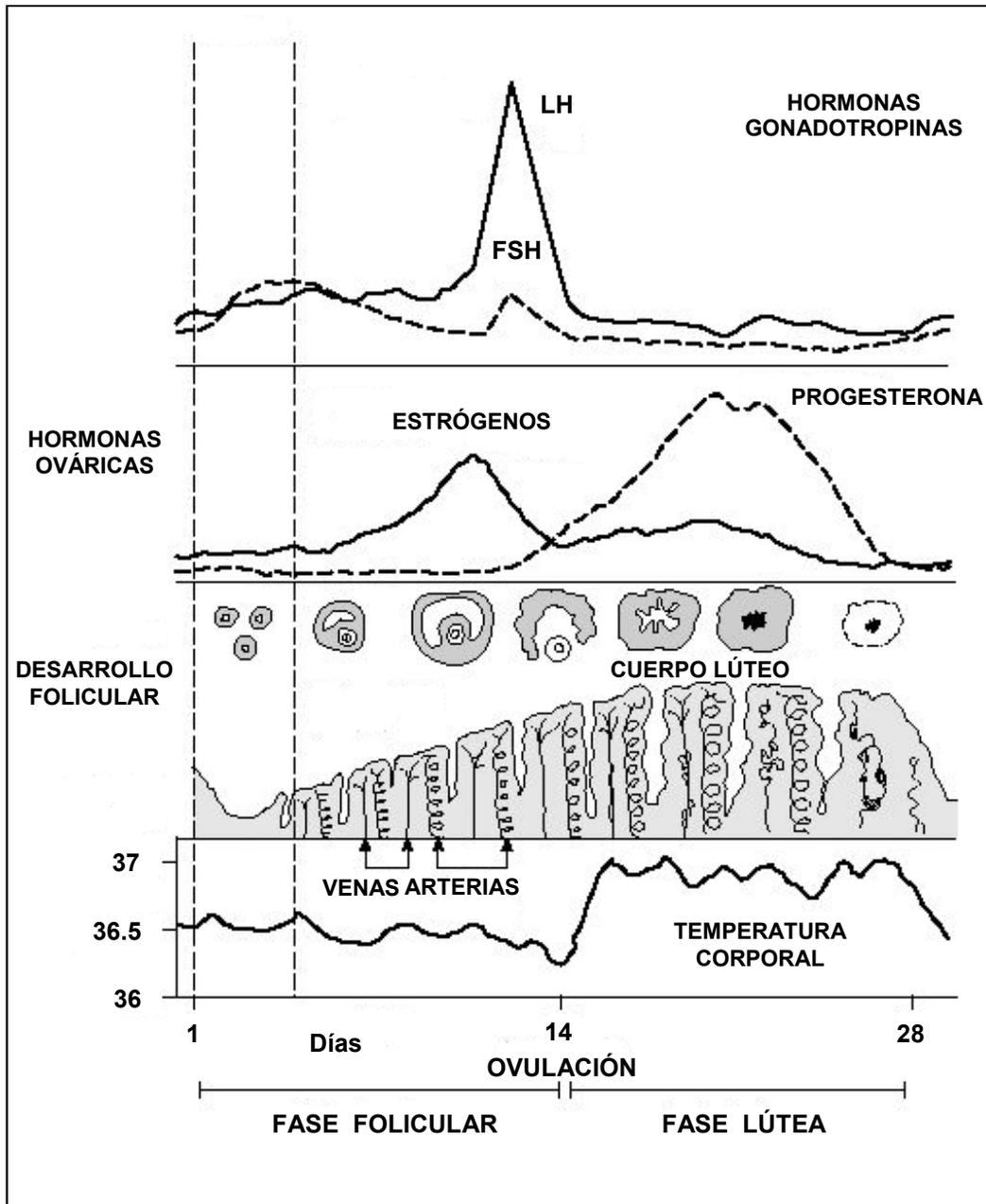


Figura 9. El ciclo menstrual de la mujer comprende diferentes fases: folicular, ovulación y lútea. Ocurre cada 28 días aproximadamente. El hipotálamo segrega GnRH y estimula a la adenohipófisis para liberar la FSH y la LH. La primera induce la maduración inicial de los folículos en el ovario y la segunda induce la ovulación. Los estrógenos son segregados en abundancia por los folículos en desarrollo. La ovulación está bajo la influencia de la LH. El endometrio se engruesa para recibir al óvulo fecundado, al no producirse la fecundación, se descama el tejido interior del útero y sucede la menstruación (Imagen modificada de Jones y Lopez, 1997).

II. PERIMENOPAUSIA

2.1. Definición

La perimenopausia se define como el periodo de transición a la menopausia caracterizado por fluctuaciones en las concentraciones hormonales y por ciclos menstruales irregulares en la mujer (Bastian *et al.*, 2002). La menopausia se caracteriza por el cese permanente de la menstruación por más de doce meses, secundaria a la pérdida de la actividad ovárica. La Organización Mundial de la Salud (OMS, 2001) señala que la perimenopausia se presenta entre los 45-50 años de edad y termina un año después de la última menstruación. La duración media de la perimenopausia se estima que es de 4 años aproximadamente, pero existen variaciones individuales en la duración de esta fase que van de 0 a 11 años (Schmidt *et al.*, 2009).

Durante la perimenopausia los ovocitos se someten a un agotamiento acelerado, el ovario se vuelve menos sensible a la estimulación de gonadotropinas, lo que conduce a un eventual cese de la ovulación y cambios significativos en los niveles hormonales. Los niveles de E₂ permanecen estables o tienden a aumentar en el inicio de la perimenopausia. En contraste, durante la perimenopausia tardía, la secreción de E₂ disminuye de forma importante y la E₁ se convierte en el principal estrógeno circulante. Disminuye la liberación de la GnRH y P y con ello la foliculogénesis. Debido a que disminuye la producción de estrógenos por los ovarios, la adenohipófisis aumenta la producción de FSH y sobrevienen irregularidades en el ciclo menstrual (Soules *et al.*, 2001).

Los criterios clínicos aceptados para el diagnóstico de la perimenopausia son: un cambio en la duración del ciclo menstrual de más de 7 días y un incremento notable en el flujo de la menstruación. Debido a que durante la perimenopausia existen variaciones en los niveles de FSH, se acepta que la edad y la irregularidad de los ciclos menstruales conjuntamente con la sintomatología constituyen la base del diagnóstico (Bastian *et al.*, 2002).

2.2. Síntomas clínicos

2.2.1. Síntomas vasomotores

Las hormonas gonadales tienen influencia en los mecanismos de termorregulación en el hipotálamo a través de la serotonina y la norepinefrina (Utian, 2005). La disminución de estrógenos en la perimenopausia produce síntomas vasomotores en el 60-90% de las mujeres (bochornos y sudoración nocturna) que pueden persistir hasta por 5 años (Brenner, 1988). Existe una correlación alta entre los bochornos y alteraciones en el sueño en la primera mitad de la noche, el insomnio en mujeres perimenopáusicas ocurre hasta en el 40%.

2.2.2. Ansiedad

La ansiedad es una reacción emocional ante situaciones que implican peligro para la supervivencia del organismo y cuya función adaptativa es la defensa. La ausencia de miedo ante una situación peligrosa podría significar un riesgo si no se inician conductas de protección. Sin embargo, la ansiedad puede convertirse en patológica cuando se produce sin que exista un peligro real, o cuando la reacción excede en intensidad o frecuencia a la situación objetiva de peligro. En tales circunstancias, la ansiedad se percibe como un estado emocional altamente aversivo que, lejos de facilitar el comportamiento adaptativo, lo interfiere y perturba (Vila, 2009).

Los trastornos de ansiedad pueden ser muy diversos. Según el sistema de clasificación DSM-IV-R (Diagnostic and Statistical Manual for mental disorders), se distinguen once trastornos de ansiedad: 1) fobias específicas; 2) agorafobias; 3) fobias sociales; 4) trastorno de pánico; 5) ansiedad generalizada; 6) trastorno obsesivo-compulsivo; 7) estrés postraumático; 8) estrés agudo; 9) trastorno de ansiedad debido a enfermedad médica: síntomas intensos de ansiedad que se consideran secundarios a los efectos fisiológicos directos de una enfermedad subyacente; 10) trastorno de ansiedad inducido por sustancias; 11) trastorno de ansiedad no específico.

Los cambios hormonales en la perimenopausia pueden dar origen a episodios de ansiedad (Parry, 2008). Por ello, se ha señalado que el período perimenopáusico promueve un incremento de la susceptibilidad a los síntomas psiquiátricos, que es de origen multifactorial, e involucra de manera importante cambios neuroendócrinos subsecuentes a la disminución de la concentración de estrógenos (Rasgón *et al.*, 2002; Flores-Ramos y Ontiveros-Urbe, 2008).

Los trastornos de ansiedad tienen una incidencia poblacional del 5% que puede aumentar hasta un 10% en mujeres mayores de 40 años y ser de mayor severidad en mujeres peri y menopáusicas (Tangen y Mykletun, 2008). Se caracterizan por intranquilidad, temor, angustia, taquicardia, entre otras. Este padecimiento deteriora la calidad de vida, y generalmente se presenta de forma comórbida con otras psicopatologías como depresión, abuso de sustancias y de la alimentación (Hollander *et al.*, 2008). Las mujeres post-menopáusicas muestran menor concentración sérica de 5-HT respecto a mujeres en edad fértil (Blum *et al.*, 1996), y en esta etapa hay una reducción en la concentración de estrógenos lo que señala su participación en el estado afectivo.

2.2.3. Alteraciones cognoscitivas

Los procesos cognoscitivos como la atención, la memoria y el aprendizaje permiten la adaptación al medioambiente y la supervivencia. Las funciones cognoscitivas pueden variar individualmente por diversos factores y el hipoestrogenismo de la perimenopausia se asocian a alteraciones cognoscitivas y aumento del riesgo de demencia (Henderson, 2008, OR 1.67; Fernández-Martínez, 2008). Las mujeres mayores de 40 años sufren un deterioro cognoscitivo que puede aumentar después de los 60 años (Greendale *et al.*, 2009). La Ovx en roedores reduce el número de neuronas hipocampales, que se recuperan después de un tratamiento crónico con E₂ (Azcoitia *et al.*, 1998). Asimismo, E₂ recupera la transmisión colinérgica, mediadora de la función de memoria, promoviendo el aumento en la síntesis y actividad de la acetilcolin-transferasa, y de la captura de colina por neuronas presinápticas (McEwen, 1997). Lo que sugiere, que la pérdida de estrógenos promueve el deterioro en las conexiones sinápticas que participan en la memoria y el E₂ restaura la plasticidad cerebral.

2.2.4. Alteraciones de la sexualidad

La perimenopausia puede relacionarse también con cambios en el deseo sexual. Los cambios hormonales pueden afectar de manera negativa el funcionamiento sexual en la mujer, ya sea de manera directa al causar dolor por resequedad vaginal (dispareunia) o indirectamente debido a que el sentimiento de bienestar se ve afectado a su vez por estrés, ansiedad, síntomas vasomotores e insomnio (Avis y Green, 2011).

2.3. Terapia de reemplazo hormonal

La terapia de reemplazo hormonal (TRH) se indica para el tratamiento de los síntomas de la perimenopausia, en mujeres histerectomizadas y en la post-menopausia. Los estrógenos equinos y los derivados de E₂ son los más utilizados para TRH (Warren, 2007). Un preparado oral de estrógenos conjugados que contiene ésteres de sulfato de estrona más equilina (obtenida de la orina de yeguas preñadas) se utiliza de forma habitual como tratamiento reconstitutivo hormonal. Los estrógenos sintéticos, como el etinilestradiol (EE), experimentan un metabolismo de primer paso menos completo que los esteroides naturales, razón por la cual son eficaces en administración por vía oral a dosis más bajas (Finkel, Clark y Cubeddu, 2009).

La TRH produce acciones benéficas sobre bochornos, lubricación vaginal, deseo sexual, metabolismo de lípidos y óseo, así como sobre irritabilidad, ansiedad, cognición y estado depresivo (Parry, 2008). Sin embargo, un gran número de estudios describen un mayor riesgo de efectos

adversos, como el cáncer asociado a las TRH de largo plazo y eventos tromboembólicos (Tchaikovski y Rosing, 2010).

La TRH estrogénica actual altera el equilibrio hemostático lo que puede conducir a un estado de hipercoagulabilidad, que favorece la trombogénesis (A van Hylckama *et al.*, 2009). El sistema hemostático es muy complejo y sensible que involucra el balance entre los procesos procoagulantes y anticoagulantes sanguíneos en donde participan numerosos factores. El tiempo de coagulación sanguínea es un parámetro que nos indica la actividad de los factores involucrados en la formación del coágulo. Los estrógenos naturales como el E₂, participan en el balance bajo condiciones fisiológicas. Sin embargo las dosis farmacológicas empleadas de estrógenos sintéticos utilizados en la TRH alteran el proceso hemostático, produciendo un desbalance lo que puede conducir a efectos procoagulantes potencialmente trombogénicos. (Tchaikovski y Rosing, 2010). Se ha descrito que los estrógenos aumentan los niveles de factores procoagulantes, como el factor de Hageman (XII), fibrinógeno (factor I), factor VIII y dos proteínas dependientes de la vitamina K; protrombina (factor II) y el factor VII. Los estrógenos sintéticos también disminuyen las proteínas anticoagulantes incluyendo la antitrombina III y plasminógeno (Gordon *et al.*, 1980; Owens *et al.*, 1986; Meade *et al.*, 1990). La asociación entre la utilización de preparados hormonales orales y eventos tromboembólicos se describió por primera vez en 1961, cuando una enfermera tomo altas dosis de estrógenos sintéticos y desarrolló embolia pulmonar (Jordan, 1961). Estos primeros informes parecen sugerir que el potencial trombótico de compuestos hormonales se relaciona con su alto contenido de estrógenos de 50 µg o dosis mayores.

En la década de 1970, se emplearon los anticonceptivos orales de baja dosis, que contenían 35 µg de etinilestradiol. En 1990, se desarrollaron las progestinas androgénicas (desogestrel, gestodeno y norgestimato) que contienen formulaciones aún más bajas de etinilestradiol (20-25 µg). Las progestinas de última generación tienen menos efectos androgénicos que las progestinas tradicionales (noretisterona y levonogestrel). Sin embargo, en una serie de estudios, se han asociado estos nuevos compuestos con un aumento en enfermedades tromboembólicas (Jick *et al.*, 2000).

Los eventos tromboembólicos pueden dar origen a desórdenes cardiovasculares con una incidencia anual mayor del 20% (Abdollahi *et al.*, 2003). El aumento del riesgo de trombosis venosa es de 2 a 4 veces en mujeres postmenopáusicas que utilizan TRH de estrógenos solos o con progestágenos (Maturana *et al.*, 2007), que pueden dar lugar a incapacidad o muerte si se complica con embolismo pulmonar (Cushman *et al.*, 2004).

2.4. 17β-aminoestrógenos (17β-AEs)

Los 17β-aminoestrógenos (17β-AEs) son un grupo de estrógenos sintéticos que poseen una modificación del núcleo esteroide en la posición C17, en la cual se sustituye un hidroxilo por un grupo amino (Figura 15; Lemini y Canchola, 2009). Los 17β-AEs se han sintetizado desde E₁ y la amina primaria correspondiente (Lemini *et al.*, 1993). El resultado de esta reacción es la obtención de la correspondiente imina que se reduce con borohidruro de sodio permitiendo la obtención del 17β-AEs requerido (Figura 10).

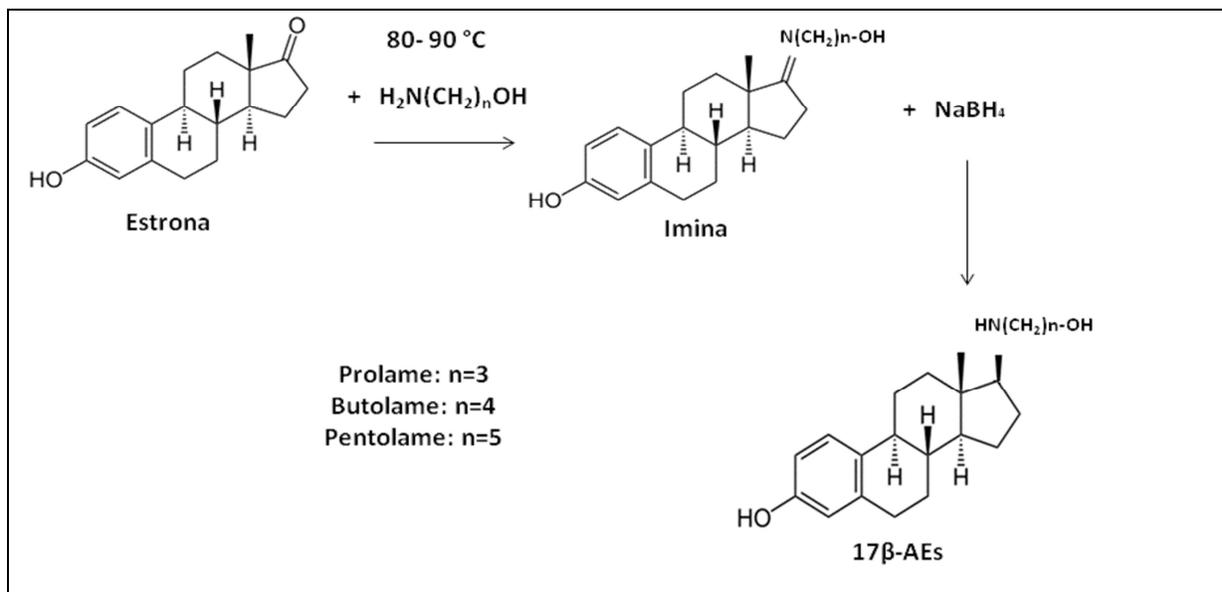


Figura 10. Síntesis y estructura de los 17β-AEs (Imagen modificada de Lemini *et al.*, 1993).

Los 17β-AEs producen efectos anticoagulantes prolongados en roedores, que contrastan con los efectos procoagulantes que produce el E₂ y otros estrógenos utilizados en la TRH convencional y que son potencialmente trombogénicos. En la rata y el ratón los 17β-AEs aumentan el tiempo de coagulación total, alteran las concentraciones de fibrinógeno y tienen influencia sobre algunos parámetros hemostáticos (García Manzano *et al.*, 2002; Lemini *et al.*, 2005b). Adicionalmente este grupo de aminoesteroides tienen la capacidad de inhibir la agregación plaquetaria y producir efectos antitrombóticos en el ratón (De la Peña *et al.*, 1993, 1994; González *et al.*, 2009).

Los 17β-AEs producen disminución de la LH, efectos uterotróficos débiles, inducen la síntesis de receptores de P en la hipófisis anterior y estimulan la conducta sexual femenina (lordosis) en la rata Ovx (Jaimez *et al.*, 2000; Lemini *et al.*, 2005a; Lemini y Canchola, 2009). Sus efectos estrogénicos están mediados por REs mostrando diferencias en la afinidad para RE α y RE β

como agonistas parciales (Jaimez *et al.*, 2000). Adicionalmente el 17β -AE prolame tiene efectos ansiolíticos, incrementa la expresión de la enzima nNOS en el hipocampo (CA1, CA2/3 y giro dentado), muestra efectos sobre funciones cognitivas (aprendizaje espacial y memoria) y restaura la pérdida de espinas dendríticas causada por un déficit de estrógenos (Nissen *et al.*, 2012). Estas características y la carencia de efectos protrombóticos sugieren que los 17β -AEs podrían constituir una alternativa a la TRH para mujeres perimenopáusicas, en especial para aquellas con predisposición a eventos tromboembólicos.

III. CONDUCTA SEXUAL DE LA RATA HEMBRA

Las hormonas relacionadas con la maduración de los óvulos también afectan al SNC de diversas formas. Los cambios neurales resultantes influyen en la conducta de tal manera que incrementan la probabilidad de apareamiento y en última instancia el éxito en la producción de prole. Por ello, la conducta de apareamiento está estrechamente asociada a la ovulación y tiene lugar cuando es más probable la fertilización satisfactoria de los óvulos. La conducta sexual femenina se define como todas las conductas necesarias y suficientes para alcanzar la fertilización de los gametos femeninos (óvulos) por parte de los espermatozoides. En modelos animales, principalmente en la rata hembra, se ha establecido la relación entre la secreción hormonal y la conducta sexual, así como los mecanismos involucrados (Nelson, 2000).

3.1. Ciclo estral en la rata

Los roedores presentan un ciclo estral caracterizado por cuatro estadios: metaestro o diestro I, diestro II, proestro y estro. El ciclo está bajo el control del eje hipotálamo-hipófisis-ovario y los cambios vaginales en los tipos de células que se observan durante cada fase correlacionan con los cambios ováricos (Figura 11). La fase de metaestro o diestro I se caracteriza por una disminución en el número de células cornificadas y por la presencia de leucocitos, tiene una duración de 24 horas y comienzan a desarrollarse nuevos folículos. La fase de diestro II tiene una duración de 24 horas, se caracteriza por la presencia de unas pocas células epiteliales nucleadas, leucocitos y desaparecen las células cornificadas.

El estadio siguiente se caracteriza por la abundancia de células epiteliales nucleadas y una reducción en el número de leucocitos. A esta fase se le conoce como proestro vaginal y dura aproximadamente 12 horas; coincide con el desarrollo folicular máximo, la ovulación y con el inicio de la conducta de apareamiento.

El estro vaginal se mantiene aproximadamente 36 horas, se caracteriza por la presencia de células cornificadas, ocurre después de la ovulación y corresponde con la formación del cuerpo lúteo (Nelson, 2000). Long y Evans (1922) describieron la caracterización de la conducta sexual de las ratas hembra relacionada con su citología vaginal. La conducta de apareamiento sólo se observa cuando el frotis vaginal presenta abundancia de células epiteliales nucleadas; en otras palabras, el estro conductual coincide con el proestro vaginal. Los investigadores establecieron que las concentraciones altas de estrógenos durante el día de proestro inducen estro conductual, y la estimulación de la conducta sexual femenina en la rata.

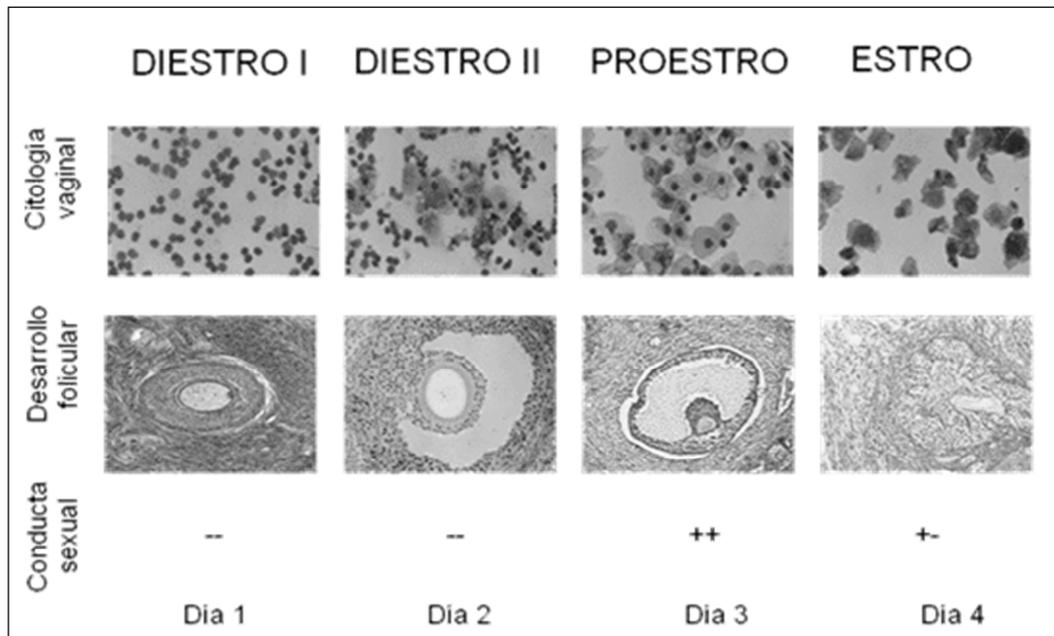


Figura 11. Ciclo estral de la rata (Imagen modificada de Nelson, 2000).

Una hembra experimenta ciclos de cuatro a cinco días, si la hembra no recibe estímulos de apareamiento, o éstos son insuficientes, los cuerpos lúteos sufren regresión poco después de formarse y no segregan suficiente P para construir el endometrio uterino que ha de mantener la gestación. Las penetraciones múltiples conservan la función de los cuerpos lúteos para que así los óvulos fertilizados puedan implantarse en la pared uterina (Nelson, 2000).

Si el apareamiento es estéril y la hembra no queda preñada, los cuerpos lúteos continúan siendo voluminosos durante 14 días antes de la regresión. Dado que todo ello provoca una serie de cambios fisiológicos que recuerdan a los de la gestación, este estado de la función sostenida de los cuerpos lúteos se conoce como pseudogestación. Durante la gestación o la pseudogestación, los ciclos de estro están suspendidos.

El estímulo sensorial producto de las penetraciones estimula la secreción de prolactina desde la adenohipófisis en pulsos característicos que se producen dos veces al día. La prolactina secretada de este modo preserva los cuerpos lúteos durante unos 10-12 días (Gunnert y Freeman, 1981) después de lo cual, éstos persisten hasta el final de la gestación sin la ayuda adicional de la prolactina en caso de que haya ocurrido la fertilización y la implantación. Los roedores no tienen fases luteínicas funcionales si no se aparean, lo que asegura un pase rápido a la fase de estro. La rata hembra no puede quedar preñada si no recibe estímulos de apareamiento o si éstos son insuficientes.

3.2. Patrones conductuales

Para comprender con mayor detalle el modo en que los estrógenos y progestágenos están relacionados con la conducta, los investigadores han dividido conceptualmente la conducta sexual femenina en tres componentes: a) atractividad, b) proceptividad y c) receptividad. A través de estas conductas la hembra mantiene proximidad con el macho e incrementa la probabilidad de una interacción sexual (Beach, 1976).

La atractividad se define como la habilidad que tiene una hembra para atraer a un macho con el fin de llevar a cabo la cópula, a través de componentes conductuales y no conductuales. Las señales químicas forman los estímulos base de la atractividad femenina. Las hormonas relacionadas con la ovulación también intervienen en la atractividad de las hembras. En general, los estrógenos intensifican las señales químicas que forman los estímulos base (e.g., las señales quimiosensoriales que emanan de las secreciones vaginales y urinarias en proestro) de la atractividad femenina. En muchas especies de mamíferos los machos huelen y lamen la vagina y los genitales externos de las hembras antes de la cópula, siendo mucho más probable que los machos adopten esta conducta con las hembras en proestro; de esta forma el macho identifica tanto el sexo como el estado reproductivo en que se encuentra la hembra. Una manera de poner a prueba la atractividad de las hembras es separándola del macho mediante una barrera permeable (a olores y sonidos) y midiendo el tiempo que el macho permanece próximo a la hembra. En esta situación, los machos siempre están más tiempo con las hembras en estro (Beach, 1976).

Las conductas proceptivas comprenden todas las actividades apetitivas mostradas por las hembras. En otras palabras, la proceptividad está indicada por una o varias conductas sexualmente solícitas que inician la unión sexual, pero no es, en sí misma, la conducta copulatoria y refleja el estado motivacional subyacente de una hembra. Se han utilizado algunas medidas conductuales para evaluar la proceptividad de la hembras, éstas incluyen: a) movimientos de alta frecuencia de las orejas (en realidad, el movimiento rápido de la cabeza provoca la sensación de que las orejas se mueven) b) pequeños brincos que la hembra realiza con sus cuatro patas, c) carreras cortas en forma de zig-zag que terminan abruptamente con una postura agazapada y d) emisiones de sonidos ultrasónicos (Beach, 1976; Erskine, 1989).

La receptividad es la fase consumatoria de la conducta de apareamiento y puede definirse como aquellas reacciones femeninas necesarias y suficientes para la cópula fértil. En los roedores la receptividad se caracteriza por la postura del reflejo de lordosis (curvatura de la columna vertebral) que se produce en respuesta a la estimulación táctil del macho. Durante la lordosis, la hembra arquea la espalda, levanta la cabeza y desvía su cola para permitir la penetración del macho (Figura 12); a falta de esta postura el macho no podrá copular satisfactoriamente. La

hembra mantiene la posición de lordosis durante algún tiempo después de que el macho haya desmontado (Beach, 1976).



Figura 12. La lordosis constituye la postura receptiva de la hembra (Imagen modificada de Snoeren *et al.*, 2013)

El reflejo de lordosis es dependiente de las hormonas gonadales presentes durante el proestro; E_2 y P. En la rata, se han identificado diferentes grados de lordosis de acuerdo a la clasificación propuesta por Hardy y DeBold (1971). La evaluación se basa en el grado de inclinación de la columna de la rata. Cuando no se observa ningún cambio en la posición normal de la hembra ante la monta de un macho, se habla de un grado 0 y esto indica la ausencia de receptividad sexual. En el grado 1 de lordosis se observa una ligera flexión de la columna vertebral; el grado 2 se observa cuando la rata presenta un arqueamiento del dorso, cabeza, las patas delanteras colocadas ligeramente hacia adelante y las patas traseras enderezadas; y el grado 3 se distingue por un arqueamiento pronunciado de columna, cabeza y cola de la rata, lo que facilita la intromisión (Figura 13).

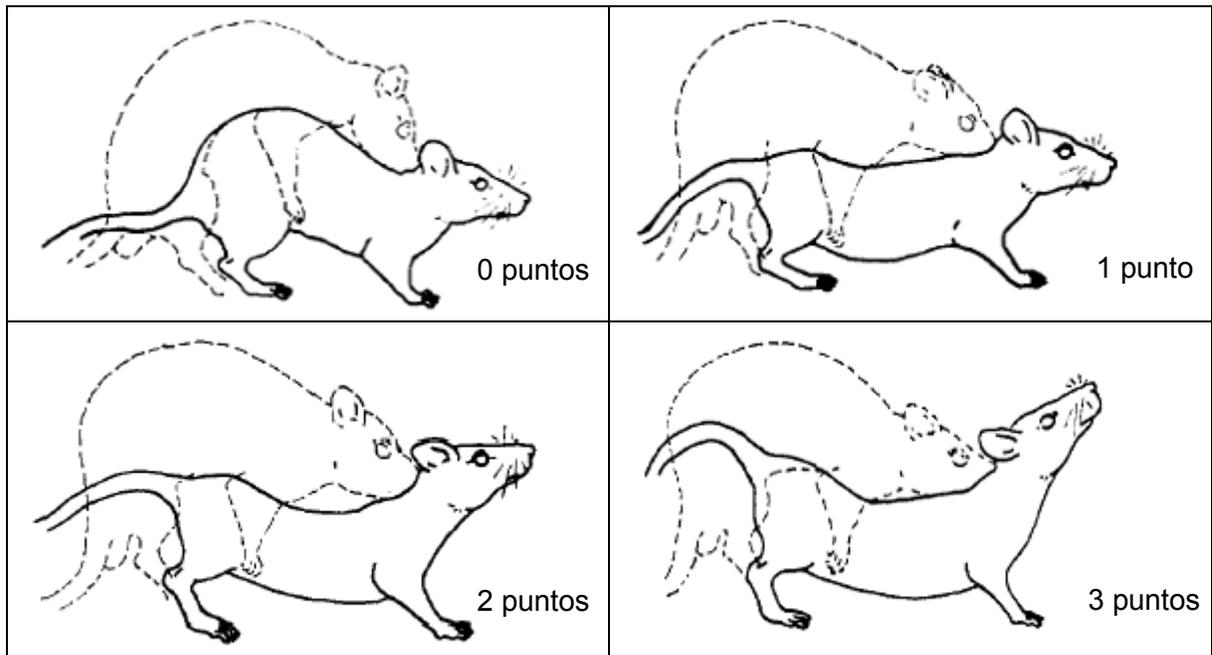


Figura 13. Diferentes grados de lordosis de acuerdo a la clasificación de Hardy y DeBold (1971).

3.3. Control neural de la conducta sexual

Los animales están constituidos por: 1) sistemas sensoriales, 2) un sistema integrador (SNC) y 3) sistemas efectores, como los músculos. Las hormonas no causan los cambios conductuales *per se*, pero si influyen sobre estos tres sistemas de modo que, en el contexto social o conductual apropiado, sea más fácil que estímulos específicos provoquen ciertas respuestas. Las hormonas pueden alterar las capacidades sensoriales haciendo que aumente la percepción de los estímulos ambientales que normalmente provocan la conducta. Si éste fuera el caso, la hembra podría oler e identificar más fácilmente a un macho sexualmente experto. El SNC está también afectado por los cambios endócrinos relacionados con la fase de proestro. La motivación, atención y percepción de las hembras cambian en relación a los niveles de esteroides sexuales. Por último, dado que los efectores también resultan alterados por las hormonas, también cambia el modo en que una hembra se mueve y reacciona a los estímulos. Las hormonas pueden afectar a cualquiera de esos componentes, o a todos, e influyen sobre la conducta (Nelson, 2000).

Tal como se describió previamente, los esteroides pueden estimular la producción de otros tipos de receptores (Figura 14). Niveles altos de E_2 pueden activar la síntesis de receptores de progesterona (RPs). Esto explica en parte el efecto de los estrógenos sobre el reflejo lordótico en ratas hembra. Las áreas de mayor densidad de células que concentran E_2 y P están situadas en MPN, VMH, MHN y varias regiones límbicas. Después de ligarse a los receptores nucleares del hipotálamo y otros lugares, el complejo receptor-estrógeno afecta la transcripción del ADN.

Después de unas horas, los estrógenos causan cambios electrofisiológicos y sobre la frecuencia de la tasa de disparo de las neuronas hipotalámicas, especialmente de las neuronas de activación lenta de esta región (Blaustein y Feder, 1979).

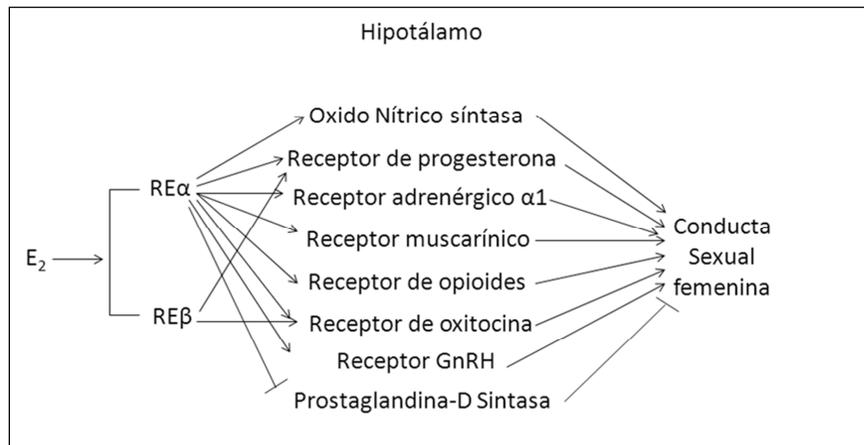


Figura 14. Receptores expresados en el hipotálamo cuya transcripción se ve afectada por el E_2 . (Imagen modificada de Pfaff, 2008).

Pfaff (2008) y sus colegas han estudiado la sensibilidad de la respuesta de lordosis a los esteroides (E_2 y P) para trazar mapas de los centros neurales que intervienen en esta conducta. Su modelo se basa en la idea de que varios módulos neurales, secciones específicas del sistema nervioso, funcionan juntos para mediar la respuesta lordótica (Figura 15). Se ha observado que ratas con lesiones bilaterales del VMH no muestran lordosis, aún tratadas con E_2 y P. Por lo contrario, la estimulación eléctrica del núcleo facilita la conducta sexual femenina, lo que pone de manifiesto que el VMH es fundamental para la respuesta de lordosis (Pfaff y Sakuma 1979).

Lesiones en el MPN causan un incremento en la respuesta lordótica y disminuyen las conductas proceptivas; la estimulación eléctrica del MPN inhibe la lordosis, lo que ha sugerido que ésta área tiene un papel importante en la regulación de conductas proceptivas, pero un efecto inhibitorio en la receptividad sexual (Yang y Clements, 2000).

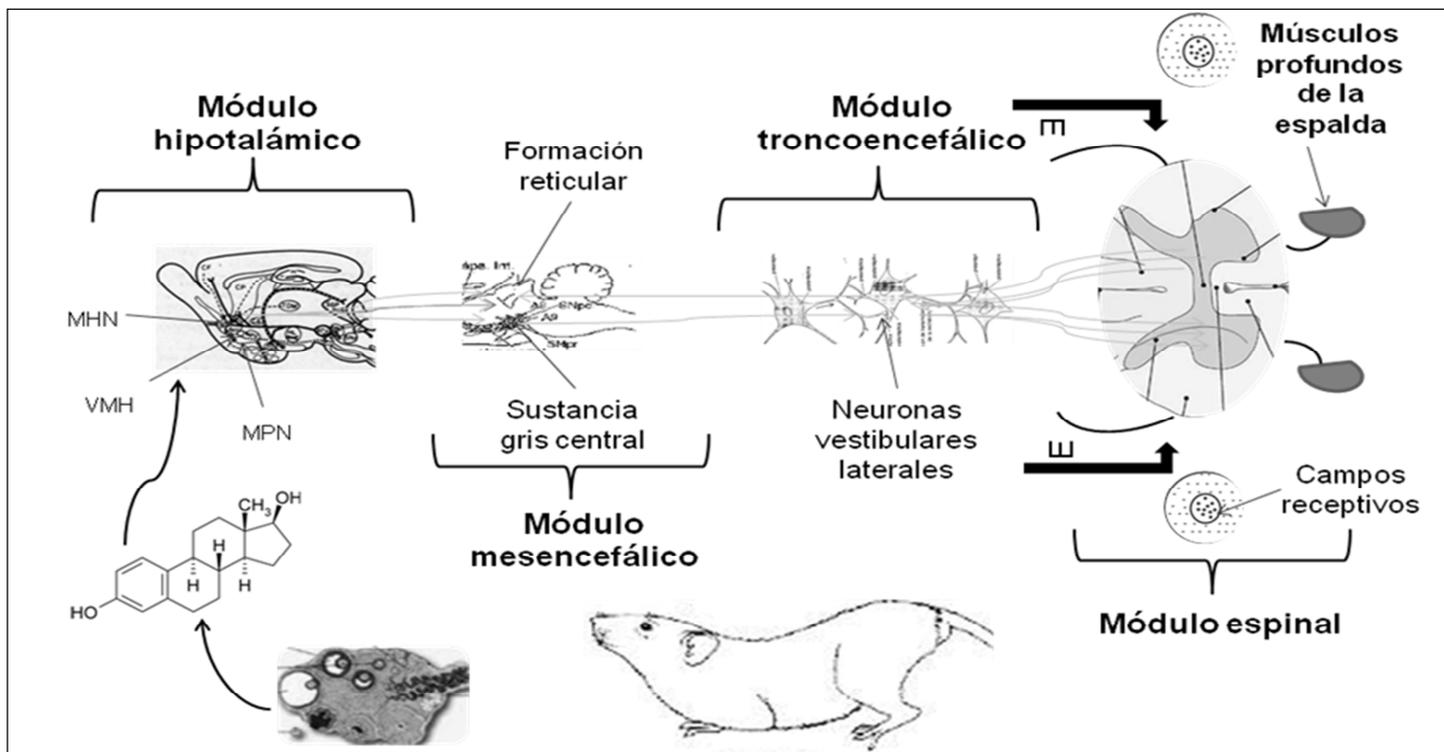


Figura 15. Módulos neurales que controlan la respuesta lordótica de la rata (Imagen modificada de Pfaff, 2008).

Los axones del VMH descienden hasta la sustancia gris periacueductal (PAG) del mesencéfalo, zona que ha sido implicada en la conducta sexual femenina. Pfaff y Sakuma (1979) encontraron que la estimulación eléctrica de la PAG facilita la lordosis en ratas hembras y que la lesión la interrumpe. Esta región recibe estímulos procedentes del hipotálamo y otras partes del cerebro y proyectan axones a la formación reticular medular del tronco del encéfalo. Esta área del rombencéfalo controla las neuronas motoras para los músculos del fondo de la espalda, que son fundamentales para la lordosis, y también integra información sobre la postura y correcciones sobre la marcha.

El estímulo inicial procedente de los órganos vestibulares y de los propioceptores existentes en todo el cuerpo es necesario para mantener una postura rígida y hacer correcciones de la misma con objeto de sostener el peso del macho durante la monta (Nelson, 2000). El estímulo sensorial relevante entra en el SNC durante el apareamiento vía receptores cutáneos de las ijadas. La información procedente de los receptores cutáneos estimulados y de las neuronas sensoriales sensibles a la presión, penetra en la médula espinal y es enviada a la formación reticular medular. Esta vía que va hacia el tronco del encéfalo, donde están localizadas las neuronas motoras que controlan los músculos implicados en la lordosis, es necesaria para que ésta se produzca. La conexión de esta región troncoencefálica con las fibras descendentes de la PAG hace posible la

lordosis sólo cuando las neuronas mesencefálicas y las células del VMH dispongan de las hormonas esteroideas sexuales E_2 y P (Nelson, 2000).

El E_2 interactúa con los diferentes sistemas de neurotransmisores y neuropéptidos localizados en las áreas cerebrales implicadas en el control de la receptividad sexual y activa RPs en el hipotálamo (Micevych y Sinchak, 2007).

El sistema opioide endógeno agrupa en tres familias: endorfinas, encefalinas y dinorfinas. Los péptidos opioides se unen a tres tipos de receptores denominados mu (μ), delta (δ) y kappa (κ). El receptor de opioides mu (MOP) y delta (DOP) se expresan en el MPN y su activación inhibe la lordosis (Eckersell *et al.*, 1998; Wiesner y Moss, 1984). El E_2 induce la activación rápida de MOP en el MPN que dura por lo menos 30 horas. Esta activación coincide con la fase de no-receptividad seguida de la inicial administración de E_2 . Las hembras tratadas con E_2 no son receptivas hasta 30 horas después del tratamiento (Eckersell *et al.*, 1998). La actividad de MOP en el MPN es importante para integrar información gonadal que regula el tiempo de receptividad sexual. Esta inhibición se mantiene hasta que la P desactiva el MOP. Ambos MOP y DOP en el MPN inhiben la lordosis (Micevych *et al.*, 2002).

La oxitocina es una hormona y un neuropéptido sintetizada en las células nerviosas magnocelulares en el núcleo supraóptico y paraventricular, donde es transportada a lo largo de los axones de las neuronas hipotalámicas hasta sus terminaciones en la neurohipófisis. Actúa en las glándulas mamarias causando la secreción de la leche y sobre la dilatación cervical previa al parto. El E_2 aumenta los niveles de oxitocina y la expresión de sus receptores en el MPN e hipotálamo basal medial (Caldwell, 1989; Jirikowski *et al.*, 1988). La oxitocina en conjunto con el E_2 y el tratamiento de E_2 más P, facilita el reflejo lordótico (Schulze y Gorzalka, 1991).

La serotonina (5-HT) juega un papel importante en la actividad sexual. Los tratamientos que disminuyen su concentración, a su vez incrementan el reflejo de lordosis en la rata. La activación del receptor 5-HT_{1A} parece facilitar la eyaculación en el macho, pero inhibe la proceptividad y receptividad en la hembra (Snoeren *et al.*, 2013). El número de receptores 5-HT_{1A} es significativamente más bajo en hembras receptivas que en machos y hembras en diestro. Este receptor se expresa en el VMH, MPN, PAG y en el núcleo de rafe. El aumento de 5-HT seguido de estrés, inhibe la lordosis a través del receptor 5-HT_{1A}. Los receptores 5-HT₂ y 5-HT₃ incrementan la lordosis (Mendelson, 1992). El E_2 aumenta la expresión de estos receptores y disminuye la actividad del receptor 5-HT_{1A} (Snoeren *et al.*, 2013).

El hipotálamo tiene muchas neuronas dopaminérgicas, especialmente en el núcleo arcuato y paraventricular. La dopamina (DA) facilita el reflejo de lordosis cuando se administra al principio del tratamiento con E_2 , indicando una poderosa interacción entre DA y E_2 e inhibe el reflejo de lordosis cuando se administra después del tratamiento estrogénico (Micevych y Sinchak, 2007). La DA también facilita las conductas proceptivas e inhibe la proceptividad al mismo tiempo (Everitt *et al.*,

1974). Los receptores D_{1A} y D_{1b} , inducen la lordosis, mientras que los receptores D_2 , D_3 y D_4 la inhiben. Diversos estudios sugieren que la DA media los aspectos hedónicos del encuentro sexual (Micevych y Sinchak, 2007).

La norepinefrina (NA) actúa a través de la familia de receptores adrenérgicos (α y β). La NA inhibe y facilita la lordosis dependiendo del estado hormonal de la hembra y del subtipo de receptor activado. El receptor α_1 -adrenérgico se expresa en la región anterior del VMH y el E_2 regula su expresión. La activación de este receptor facilita la lordosis. El receptor α_2 -adrenérgico expresado en MPN posee un efecto inhibitorio sobre la receptividad (Micevych y Sinchak, 2007).

La activación del sistema colinérgico facilita la receptividad sexual. Los receptores muscarínicos M_3 expresados en el MPN y VHM facilitan la respuesta lordótica. La acetilcolina (ACh) actúa sobre la lordosis a través del VMH y PAG (Dohanich y Clemens, 1981). El E_2 regula la expresión del receptor muscarínico M_3 en el hipotálamo. La administración de un agonista selectivo del receptor NMDA facilita la lordosis y un antagonista la inhibe. El glutamato facilita la lordosis en el MPN y la inhibe en el hipotálamo medio (Gargiulo *et al.*, 1992).

El E_2 incrementa la expresión de óxido nítrico (ON) en el hipotálamo y áreas involucradas con la lordosis (García-Juarez *et al.*, 2012). El E_2 induce la síntesis de ON que actúa para liberar la LH y facilitar el reflejo de lordosis, además de que el ON media la acción de GnRH, glutamato, oxitocina y receptores α_1 -adrenérgicos (Micevych y Sinchak, 2007; Gonzalez-Flores, 2008).

La complejidad en los mecanismos de acción involucrados en la interacción del E_2 con sistemas de neurotransmisores y neuropéptidos en las áreas cerebrales responsables de la regulación del comportamiento sexual en la rata hembra nos muestra la importancia del mantenimiento de niveles adecuados de esta hormona para la funcionalidad del SNC. El modelo de lordosis ha constituido una herramienta de gran utilidad para el estudio de los circuitos señalados anteriormente.

Aproximadamente de los 9-12 meses de edad la rata progresa de los ciclos regulares de estro a ciclos irregulares, y finalmente se establece una fase conocida como diestro continuo que se caracteriza por una disminución significativa en los niveles de estrógenos. En esta fase de ciclos irregulares las ratas presentan infertilidad y disminución de la actividad sexual (Chakraborty y Gore, 2004).

Si bien la rata hembra de mediana edad o vieja es un modelo óptimo para el estudio de las alteraciones conductuales asociadas con un declive hormonal, que reflejan un estado similar a la perimenopausia, la transición desde la fase de ciclos regulares hasta la de diestro continuo puede durar varios meses, por lo que el modelo más utilizado en el laboratorio para estudiar dichas alteraciones conductuales, es la rata ovariectomizada. La ovariectomía (Ovx) en ratas adultas de 3-4 meses de edad induce cambios fisiológicos y conductuales parecidos a los que sufren las mujeres en proceso de envejecimiento, como aumento de la temperatura y peso corporal, disminución de la

conducta sexual, pérdida de la masa ósea y alteraciones conductuales en modelos de depresión, ansiedad y memoria (Flores-Ramos y Martínez-Mota, 2012). El tratamiento hormonal con estrógenos o estrógenos más P revierte tanto las alteraciones reproductivas como los déficit conductuales causados por la Ovx (Lemini y Canchola, 2009; Nissen *et al.*, 2012).

IV. TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

4.1. Planteamiento del problema

La deficiencia de estrógenos en la perimenopausia produce cambios fisiológicos y psicológicos. La TRH revierte dichos síntomas; sin embargo, un gran número de estudios clínicos describen efectos adversos relacionados con su uso, como el cáncer y eventos tromboembólicos. Esto indica la necesidad de desarrollar alternativas terapéuticas que tengan los mismos efectos benéficos, pero sin los riesgos mencionados.

Los 17β -AEs ejercen efectos similares a aquellos causados por el E_2 , pero con una potencia más baja (Lemini *et al.*, 1998) y poseen efectos anticoagulantes prolongados (García y Manzano *et al.*, 2002; Lemini *et al.*, 2005b). Sin embargo aún no se tienen datos de los efectos de otros compuestos relacionados con los 17β -AEs como son sus precursores iminoderivados. En el presente estudio se evaluó en ratas el efecto estrogénico, ansiolítico y sobre tiempo de coagulación del 17β -iminoestrógeno de etolame 17β -[hidrox, etilimina]-1, 3,5 (10)-estratrien, 3-ol (IETA). Estos estudios pretenden conocer el perfil farmacológico de este grupo de esteroides y contribuir al desarrollo de agentes estrogénicos de mayor seguridad y especificidad para la TRH.

4.2. Hipótesis

Si los 17β -AEs tienen efectos de tipo estrogénico, ansiolítico y prolongan el tiempo de coagulación, es probable que la imina 17β -[hidroxi, etilimina]-1, 3,5(10)-estratrien-3-ol (IETA) compuesto estructuralmente relacionado con los 17β -AEs sea capaz de manifestar efectos estrogénicos (aumentando el peso uterino en ratas prepúberes e induciendo la receptividad sexual en ratas Ovx), ansiolíticos y prolongar el tiempo de coagulación sanguínea o no producir efectos procoagulantes.

4.3. Objetivo general

Evaluar los efectos de IETA de tipo: estrogénico, específicamente sobre peso uterino y receptividad sexual, ansiolítico y explorar sus efectos sobre tiempo de coagulación sanguínea en ratas hembras hipoestrogénicas.

4.3.1. Objetivos específicos

- 1) Evaluar los efectos de tipo estrogénico de IETA utilizando:
 - 1.1 Como marcador biológico el peso uterino en ratas prepúberes
 - 1.2 La receptividad sexual en la rata Ovx

- 2) Evaluar el efecto ansiolítico de IETA en la rata Ovx utilizando como modelo el Laberinto Elevado en Cruz.
- 3) Hacer una estimación exploratoria del efecto del tratamiento con IETA sobre la coagulación sanguínea en la rata Ovx comparando con E₂.

4.4. Material y método

4.4.1. Reactivos

El 17β-estradiol (E₂; 1, 3,5 (10)-estratien-3, 17β-diol), estrona (E₁; 1, 3,5 (10)-estratien-3, 17-ona), benzoato de estradiol (BE; 1, 3,5 (10)-estratien-3, 17β-diol 3-benzoato) y progesterona (P; Pregn-4-ene-3,20-diona) se obtuvieron de Sigma Chemical (St. Louis, MO).

El 17β-[hidroxi, etilimina]-1, 3,5(10)-estratien-3-ol (IETA), se sintetizó de acuerdo a los métodos descritos en la literatura (Figura 16; Imscher, 1961). La ruta sintética consistió en la reacción de 2 g de E₁ con 20 g de β-hidroxy-etilamina en agitación durante 30 minutos a una temperatura de 80- 90 °C. La identidad de la imina IETA se estableció mediante la comparación de sus constantes físicas (Imscher, 1961) y mediante métodos espectroscópicos (IR, RMN, EM).

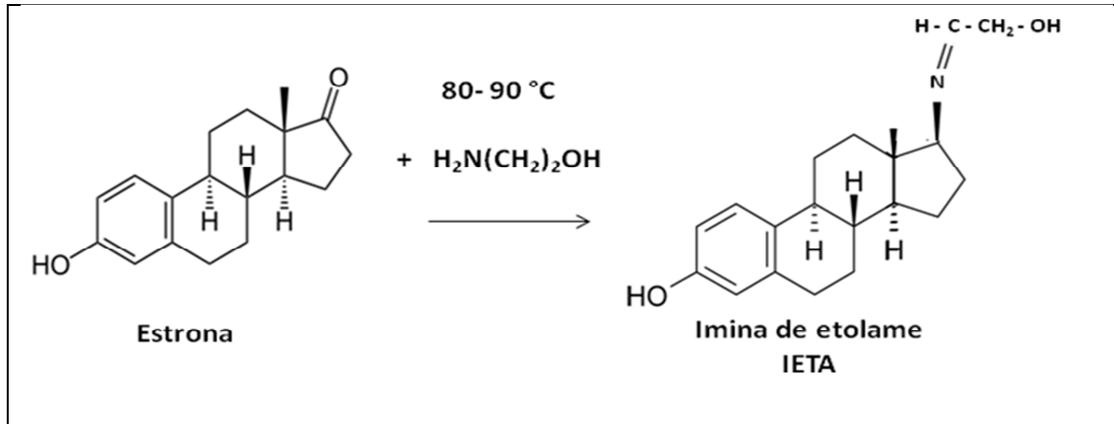


Figura 16. Síntesis y estructura del 17β-[hidroxi, etilimina]-1, 3,5(10)-estratien-3-ol) IETA (Imscher, 1961).

4.4.2. Sujetos

En este trabajo se utilizaron ratas hembras prepúberes (21 días de edad, 30-40 g), ratas hembras y machos adultos (200-250g) de la cepa Wistar provenientes del bioterio de la Facultad de Medicina, UNAM. Los animales se alojaron en condiciones estándar de bioterio. Las ratas prepúberes bajo condiciones de ciclo luz/oscuridad normal y las ratas adultas bajo ciclo luz/oscuridad invertido (12 x 12 horas, las luces se apagaron de 8.00 h a 20.00 h). Se mantuvo una

temperatura de 22-25 °C y los animales recibieron alimento (Purina Chow) y agua *ad libitum* durante todos los experimentos. El cuidado y manejo de los animales se hizo de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana para Animales de Experimentación (NOM-062-Z00-1999).

4.5. Procedimiento

4.5.1. Evaluación del efecto uterotrófico

Se utilizaron ratas Wistar hembras prepúberes que fueron marcadas de manera individual para su identificación mediante pequeñas muescas hechas en el borde de las orejas siguiendo la clave empleada en el laboratorio. Se distribuyeron en base a un arreglo de cuadrados latinos, basados en el peso corporal y se formando 14 grupos de 8-10 animales cada uno.

Se asignaron los diferentes tratamientos al azar y se les administró por vía subcutánea a las 9.00 h durante 3 días consecutivos, una administración por día, las siguientes dosis: el grupo control recibió 1.2 ml/kg/día de vehículo (V, aceite de maíz). Para E₂ e IETA se utilizaron ocho y cinco grupos respectivamente y a cada grupo se les administró una de las siguientes dosis: E₂ (\approx 0.1, 1, 10, 50, 100, 250, 500 y 1000 μ g/kg) e IETA (\approx 1.3, 6.7, 13, 55 y 110 μ g/kg).

Al cuarto día los animales fueron sacrificados por dislocación cervical y se hizo una incisión longitudinal en el abdomen para la disección de los cueros uterinos de la rata. El útero se colocó en papel filtro para eliminar el líquido intraluminal y el exceso de grasa. Se colocó cada útero en una caja previamente pesada para obtener el peso uterino húmedo. Posteriormente los úteros fueron colocados en una estufa a 35 °C durante 24 horas y pesados nuevamente para obtener el peso uterino seco. Los pesos uterinos se expresaron en miligramos y se reportan en promedio \pm error estándar de la media.

4.5.2. Ovariectomía

Todas las ratas hembras adultas de 8-9 semanas de edad y 200-250 g de peso corporal fueron sometidas a ovariectomía bilateral con el fin de eliminar la principal fuente de estrógenos y manejar condiciones de hipoestrogenismo. Para la cirugía, las ratas fueron anestesiadas con Pentobarbital sódico (35 mg/kg, i.p.); se utilizó sutura quirúrgica absorbible (Atramat) para suturar el músculo y sutura de seda (triple cero, Atramat) para la piel. Las ratas permanecieron en el bioterio del Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de la UNAM durante 3 semanas después de la cirugía con ciclo nictameral invertido 12/12 h y alimentadas con purina chow y agua *ad libitum*, para recuperación en espera de tratamiento.

4.5.3. Evaluación del efecto de IETA sobre la conducta sexual de la rata hembra

Paradigma 1: Administración única

Se utilizaron 125 ratas Wistar Ovx divididas en 16 grupos de 6-10 animales cada uno. Los esteroides se disolvieron en aceite de maíz como vehículo y fueron administrados por vía subcutánea (s.c.) a las 8.00 h. El grupo control recibió 1.2. ml/kg/día. Para E₂, benzoato de estradiol (BE) y para el compuesto IETA se emplearon cinco grupos por compuesto y a cada grupo se les administró una de las siguientes dosis: E₂ (≈0.3, 3, 30, 60, 300 µg/kg), BE (≈0.4, 4, 40, 80, 400 µg/kg) e IETA (≈27, 55, 110, 220, 440 µg/kg). Después de 24 h, se administró a todos los grupos 4-5 mg/kg de P y 4-5 hrs después se evaluó la respuesta lordótica de las hembras.

Para la evaluación de la conducta sexual se utilizó un redondel de acrílico (60cm de diámetro X 40 cm de altura), una cama base de aserrín, un foco de luz roja (40W) y un cronómetro. Para medir la receptividad sexual, cada hembra se colocó en el campo de prueba con un macho sexualmente vigoroso (previamente entrenado y que se aclimató en el aserrín durante 3 min antes de la prueba). Se les permitió a los machos montar a las hembras 10 veces o por 10 minutos. El número de respuestas lordóticas (levantar la cabeza, arquear la espalda y mover la cola a un lado) por parte de las hembras fueron registradas. Por cada hembra, se calculó un cociente de lordosis (CL) que se definió como: número de lordosis/número de montas X 100 como medida de receptividad sexual.

Paradigma 2: Tres administraciones

El esquema de tres administraciones se utilizó debido a que para llevar a cabo la prueba de ansiedad se requiere un tratamiento subagudo de tres administraciones como mínimo para poder detectar dichos efectos. Así este esquema nos permitió conocer el efecto subagudo de IETA sobre la conducta sexual.

Se utilizaron 60 ratas Wistar Ovx divididas en 9 grupos de 5-8 animales. Los esteroides fueron disueltos en V y administrados por vía subcutánea (s.c.) a las 8.00 h durante 3 días consecutivos, una administración por día. El grupo control recibió 1.2. ml/kg/día de V. Para IETA se emplearon ocho grupos y a cada grupo se les administró una de las siguientes dosis: ≈3.3, 6.7, 13.7, 27, 55, 110, 220, 440 µg/kg. En el cuarto día se les administró a todos los grupos 4-5 mg/kg de P y 4-5 hrs después se evaluó el despliegue de lordosis en las hembras utilizando machos sexualmente vigorosos, para cada hembra, se calculó el CL como se indicó previamente.

4.5.4. Prueba de laberinto elevado en cruz (LEC)

El laberinto elevado en cruz (LEC) es un modelo que se basa en el miedo natural de los roedores a los espacios abiertos (Handley y Mc Blane, 1993; Fernández-Guasti *et al.*, 1999). Este modelo no involucra aplicación de dolor, ni procedimientos de condicionamiento, por lo que es considerado un modelo etológico (Handley y Mc Blane, 1993). El modelo se basa en exponer a los roedores a un laberinto que consta de dos brazos abiertos (BA) y dos con paredes elevadas de 40 cm de alto que aportan protección y se denominan brazos cerrados (BC). Ambos brazos tienen 50 x 10 cm cada uno y se encuentran colocados en una plataforma de 50 cm de altura; los cuatro brazos se encuentran conectados por un cuadro central de 10 x10 cm. De forma natural los roedores entran a los BC y evitan los BA. Los ansiolíticos, como el diazepam, el clordiazepóxido y el alprazolam, aumentan el tiempo de permanencia de los roedores en los BA, lo que se considera un efecto de tipo ansiolítico (Handley y Mc Blane, 1993). Algunos agentes hormonales como la P, la alopregnanolona y los estrógenos son ansiolíticos en el LEC (Lund *et al.*, 2005; Walf y Frye, 2005a; 2005b).

Se utilizaron 35 ratas Ovx, divididas en cuatro grupos de 8-10 animales. Los esteroides fueron disueltos en V y administrados por vía subcutánea (s.c.) a las 8.00 h durante 3 días consecutivos, una administración por día. El grupo control recibió 1.2. ml/kg/día de V, el grupo de E₂ recibió 25 µg/kg y para IETA se emplearon dos grupos (55, 110 µg/kg). En el cuarto día a las 8.00 h se hizo la evaluación de la ansiedad utilizando el LEC.

El laberinto se limpió antes de que cada rata fuera evaluada. Al comienzo de la prueba, las ratas se colocaron en el centro del laberinto con la cabeza hacia un brazo abierto y se les permitió la libre exploración durante 5 minutos. En este período se evaluó: el tiempo de permanencia en BA y BC, así como el número total de cruces a los BA y BC (Fernández-Guasti *et al.*, 1999). La captura y el procesamiento de los parámetros conductuales se obtuvo a través del Software OAVIdReg® 2013 Versión 11.0.0.

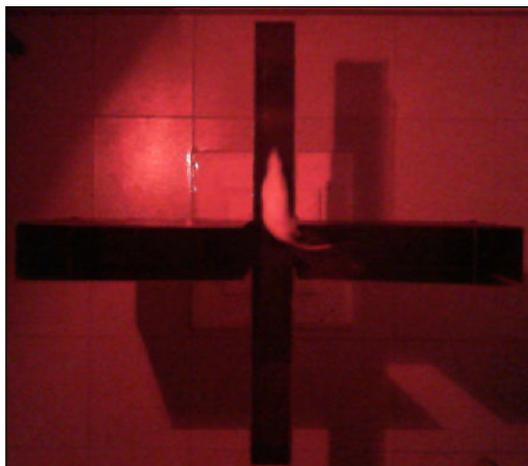


Figura 17. Prueba de Laberinto elevado en cruz (LEC) después de tres administraciones consecutivas de diferentes dosis de IETA y E₂, realizado durante la fase de oscuridad.

4.5.5. Valoración del efecto de IETA sobre la coagulación sanguínea la rata

La evaluación del efecto sobre el tiempo de coagulación se llevó a cabo por el método de microhematocrito (Mandoki *et al.*, 1983, 1991; Rubio-Póo *et al.*, 1983, 1985, 1990; Lemini *et al.*, 1993). Se utilizaron 23 ratas Wistar Ovx, divididas en cuatro grupos de 5-7 animales. Los esteroides fueron disueltos en V y administrados por vía subcutánea (s.c.) a las 9.00 h durante 3 días consecutivos, una administración por día. El grupo control recibió 1.2. ml/kg/día de V, el grupo de E₂ recibió 25 µg/kg y para IETA se emplearon dos grupos (55, 110 µg/kg).

Transcurridos 48 h después de la última administración se determinó el tiempo de coagulación. La cola de cada animal se sumergió en agua a 37°C durante 60 segundos y posteriormente se hizo una incisión en la punta de donde se tomó la muestra de sangre (25 µl) con un capilar no heparinizado. En ese momento se accionó un cronómetro y el capilar se depositó sobre una base de madera en forma de triángulo invertido que se inclinó en un ángulo de $\pm 60^\circ$ para permitir que la muestra de sangre se desplazara entre 2 marcas del capilar separados por una distancia de 5 cm. El cronómetro se detuvo cuando la muestra de sangre dejó de fluir a lo largo del capilar registrando el tiempo transcurrido.

4.6. Análisis estadístico

La significancia estadística de las diferencias entre los grupos se estimó por un análisis de varianza (ANOVA) y para establecer la significancia de las diferencias con respecto al grupo control se aplicó la prueba *Post Hoc* correspondiente para cada caso en particular (Tukey, Fisher). Los resultados se consideraron significativos cuando el valor de p fue mayor a 0.05 y se expresaron como la media \pm el error estándar de la media (eem). Los análisis se realizaron en el programa SigmaPlot® Versión 12.0 (Copyright© 2011-2012) y las dosis efectivas medias (DE₅₀) se calcularon a partir de los datos de las curvas dosis-respuesta utilizando el programa OriginPro® Versión 8.0.

V. RESULTADOS

5.1. Efecto uterotrónico de IETA en ratas prepúberes. Curvas dosis-respuesta.

El imino estrogéno IETA produjo efectos uterotrónicos en las ratas prepúberes. La Figura 18 muestra un aumento dosis dependiente significativo ($p < 0.05$ vs vehículo) en el peso uterino de ratas prepúberes tratadas con diferentes dosis de IETA y E_2 . La respuesta máxima y la dosis efectiva media (DE_{50}) de cada compuesto se obtuvieron de las curvas dosis-respuesta (Véase Tabla 2).

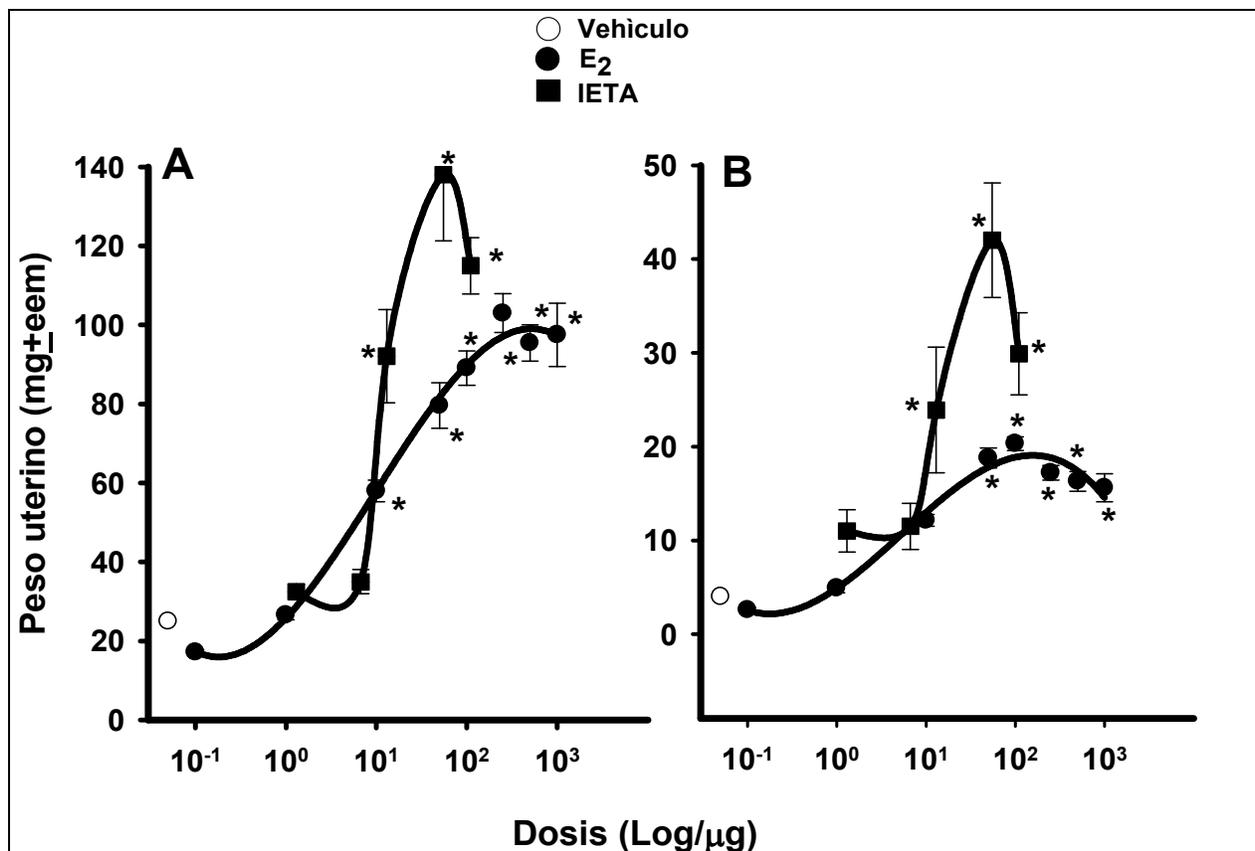


Figura 18. Curvas dosis-respuesta del efecto de IETA sobre el peso uterino húmedo (A) y seco (B) de ratas prepúberes. Como controles se utilizaron el estradiol (E_2) y vehículo (V, aceite de maíz). Cada punto representa la media \pm error estándar de 8-10 animales. * $p < 0.05$ vs vehículo.

IETA fue más eficaz al presentar una respuesta mayor (E_{max} de 138 mg \pm 5 de peso uterino húmedo); con respecto a la E_{max} de E_2 que fue de 103 mg \pm 17. La DE_{50} de IETA fue 12 μ g/kg, demostrando mayor potencia que E_2 (20 μ g/kg). Los resultados indican que IETA exhibe una potencia y eficacia uterotrónica mayor a la del E_2 .

Tabla 2. Efecto máximo, DE₅₀ y potencia relativa de IETA comparado con E₂ en el peso uterino húmedo y seco de ratas prepúberes.

Grupo	Peso uterino húmedo			Peso uterino seco		
	E _{max} (mg ± eem)	DE ₅₀ (µg/kg)	Potencia relativa (%)	E _{max} (mg ± eem)	DE ₅₀ (µg/kg)	Potencia relativa (%)
Vehículo	22±0	0	0	4±0	0	0
E ₂	103±5	20	100	20±1	12	100
IETA	138±17	12	169	42±6	13	90

E_{max}: promedio máximo del peso uterino (mg)

DE₅₀: dosis del compuesto para producir el 50% del peso uterino (µg)

Potencia relativa: $\frac{(DE_{50} \text{ de } E_2)}{(DE_{50} \text{ de IETA})} \times 100$

5.2. Paradigma 1: Efecto de IETA sobre la conducta sexual de la rata Ovx. Curva dosis-respuesta con administración única.

La Figura 19 muestra el efecto de la administración única de E₂, BE, IETA y el grupo control sobre la receptividad sexual de ratas Wistar Ovx. Todos los esteroides y la posterior administración secuencial de P facilitaron la respuesta lordótica de manera significativa (p<0.05 vs V). La respuesta máxima y la dosis efectiva media (DE₅₀) de cada compuesto se obtuvieron a partir de la curva dosis-respuesta y a partir de la DE₅₀ se determinó la potencia relativa de cada compuesto con respecto al E₂ (Véase Tabla 3). BE tuvo la eficacia más alta como facilitador de la receptividad sexual en la rata Ovx con una respuesta máxima de cociente de lordosis (CL) del 81%, seguido de IETA con un CL del 76% y E₂, el cual tuvo la eficacia más baja de un CL 45%.

La DE₅₀ de BE fue de 4 µg/kg, mostrando ser más potente que E₂ e IETA (7.6 y 129 µg/kg respectivamente). Los resultados indican que IETA exhibe una potencia estrogénica menor a la del E₂ para inducir la receptividad sexual en ratas Ovx.

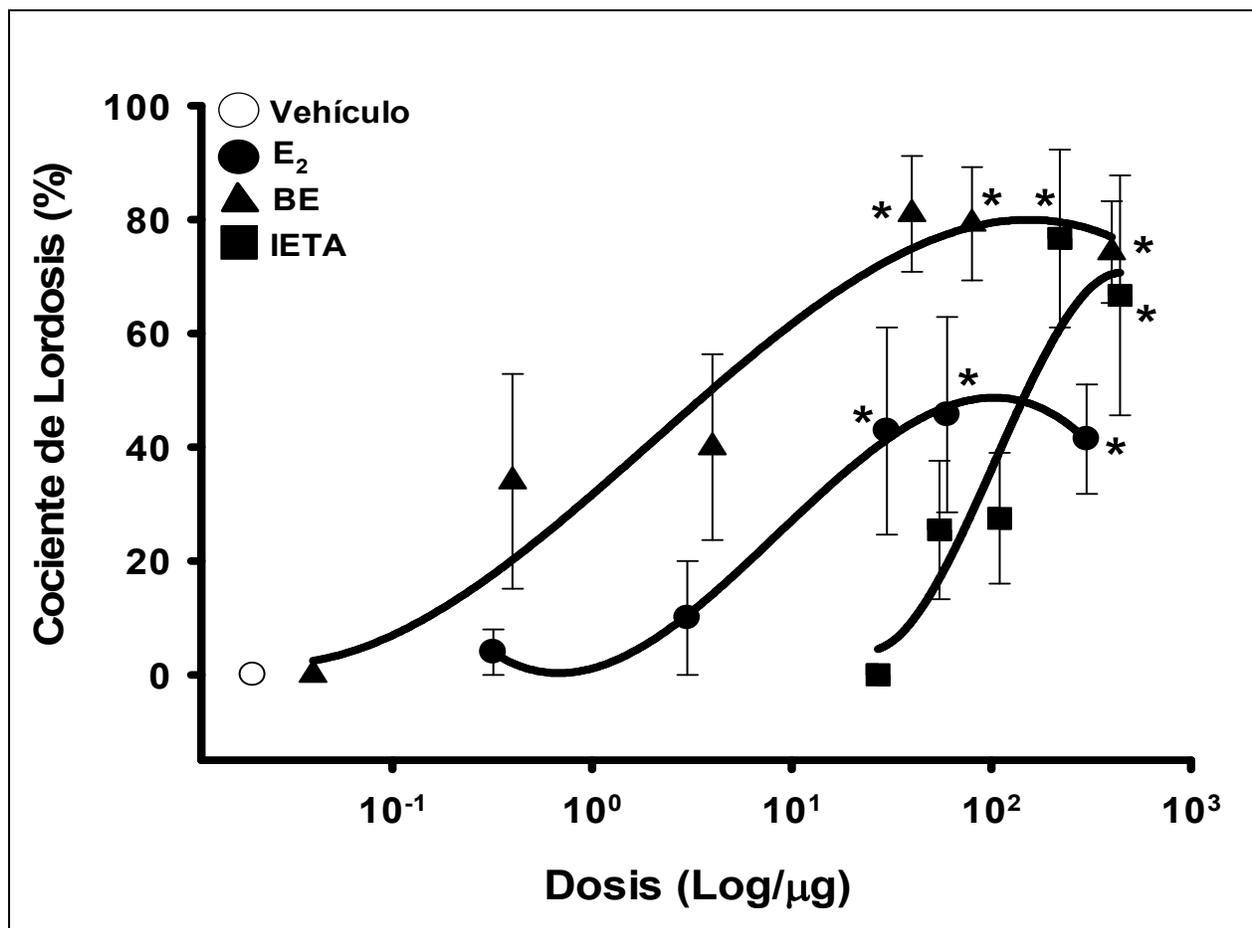


Figura 19. Curva dosis-respuesta del efecto de la administración única de IETA, BE y E₂ sobre la receptividad sexual de ratas Ovx. Cada punto representa la media \pm error estándar de 8-10 animales. *p<0.05 vs vehículo.

Tabla 3. Efecto máximo, DE₅₀ y potencia relativa de E₂, IETA y BE en la receptividad sexual.

Grupo	Emax (CL \pm eem)	DE ₅₀ (μg)	Potencia Relativa (%)
Vehículo	0	0	0
E ₂	45 \pm 17	7.6	100
BE	81 \pm 10	4	185
IETA	76 \pm 16	129	5.8

Emax: valor promedio máximo de CL%

DE₅₀: dosis del compuesto para producir el 50% del CL (μg)

Potencia relativa: $\frac{(DE_{50} \text{ de } E_2)}{(DE_{50} \text{ de BE o IETA})} \times 100$

5.3. Paradigma 2: Efecto de IETA sobre la conducta sexual. Curva dosis-respuesta con 3 administraciones.

El efecto de 3 administraciones consecutivas de diferentes dosis ($\approx 3.3, 6.7, 13.7, 27, 55, 110, 220, 440 \mu\text{g/kg}$) de IETA sobre la receptividad sexual se observa en la Figura 20. La respuesta máxima de IETA (100 % CL) se observó a la dosis 55 y 110 $\mu\text{g/kg}$; las dosis mayores no modificaron la respuesta, por lo que estas dosis fueron elegidas para la evaluación de los efectos de IETA sobre ansiedad que se señala en el siguiente apartado.

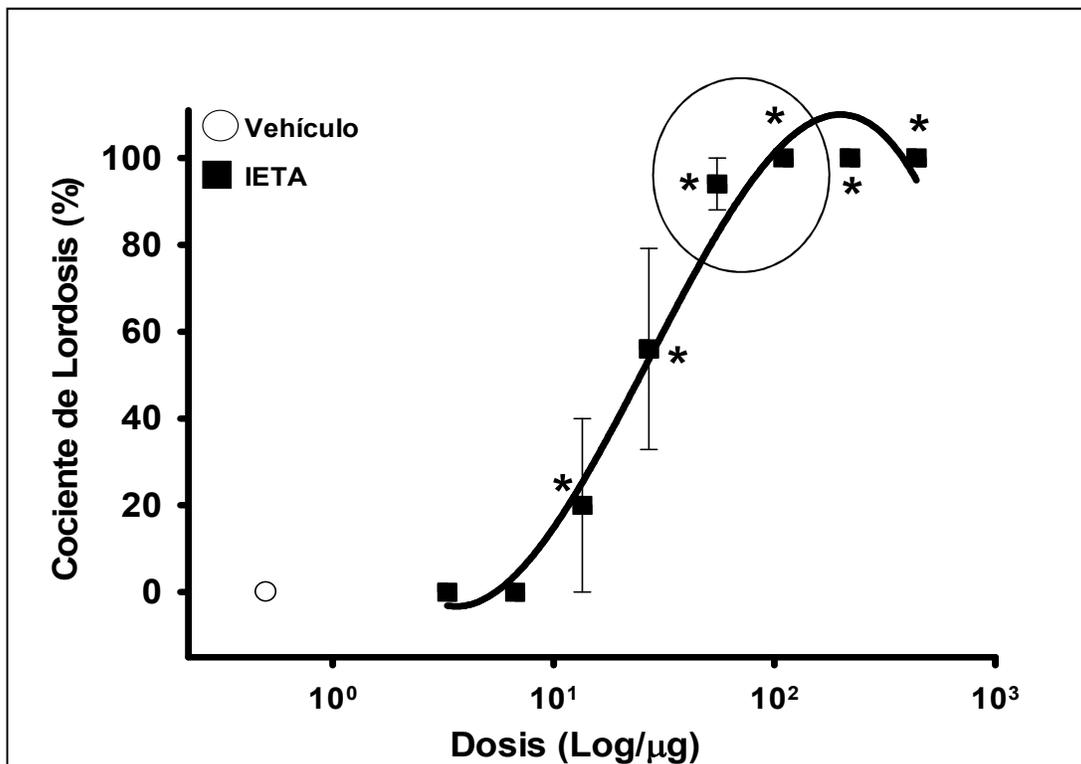


Figura 20. Curva dosis-respuesta del efecto de 3 administraciones de IETA sobre la receptividad sexual en ratas Wistar Ovx. Cada punto representa la media \pm error estándar de 5-6 animales * $p < 0.05$ vs vehículo.

5.4. Evaluación del efecto ansiolítico de IETA

Se llevó a cabo la prueba de LEC para evaluar el efecto ansiolítico de IETA comparado con el que produce E_2 en ratas Ovx. Los grupos tratados con E_2 ($\approx 25 \mu\text{g/kg}$), IETA ($55 \mu\text{g/kg}$ y $110 \mu\text{g/kg}$) mantuvieron un tiempo de permanencia en BA de 38, 43 y 45% respectivamente, que fueron significativamente mayores que los observados en el grupo control ($V = 24\%$; Figura 21, A). Consecuentemente el tiempo de permanencia de los diferentes grupos de ratas Ovx en BC fue como sigue: E_2 30%, IETA ($55 \mu\text{g/kg}$) 35% e IETA ($110 \mu\text{g/kg}$) 28% contrastando con el grupo control que permaneció el 46% de tiempo en BC (Figura 21, B).

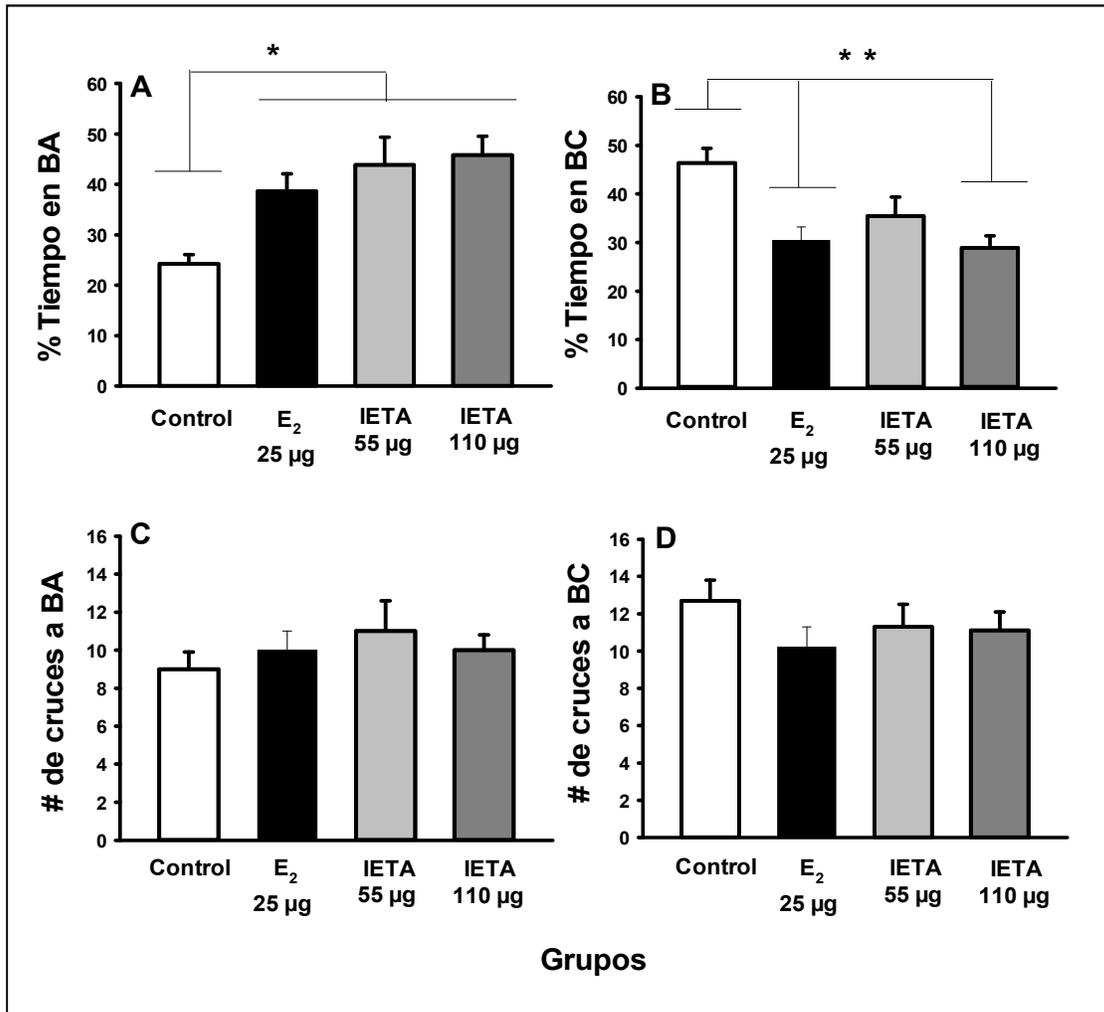


Figura 21. Efecto ansiolítico de IETA en el laberinto elevado en cruz. Los valores representan la media \pm error estándar de los porcentajes de tiempo que los animales permanecieron en los brazos abiertos (A), en brazos cerrados (B) y el número de cruces a brazos abiertos (C) y cerrados (D) durante 5 minutos. * $p < 0.003$, ** $p < 0.002$.

El ANOVA mostró diferencias significativas entre los grupos ($F_{(3,31)} = 5.79$, $p < 0.003$). La prueba Post Hoc (Tukey) reveló que el tiempo de permanencia en los BA fue significativamente mayor en el grupo de E₂ y los dos grupos de IETA con respecto al grupo control (Figura 21, A). También se encontraron diferencias significativas en el tiempo de permanencia en los BC ($F_{(3,31)} = 6.05$, $p < 0.002$). La prueba Post Hoc reveló que el grupo control pasó más tiempo en los BC (figura 21, B). El ANOVA no mostró diferencias significativas en el número total de cruces a BA y BC (Figura 21, C y D).

5.5. Efecto de IETA sobre el tiempo de coagulación sanguínea de la rata Ovx

En el esquema de tres administraciones que se llevó a cabo en los modelos anteriores se exploraron los efectos de IETA (55 µg/kg y 110 µg/kg) sobre el tiempo de coagulación de los animales tratados comparado con los efectos que produce E₂ (≈25 µg/kg). Los resultados muestran que la tendencia en los tiempos de coagulación de las ratas Ovx tratadas con IETA con respecto a E₂ es opuesta ya que el E₂ disminuye el tiempo de coagulación, mientras que IETA lo aumenta. Sin embargo el análisis de ANOVA aplicado a los datos de los tiempos de coagulación sanguínea de los diferentes grupos no mostró diferencias significativas entre ellos ($F_{(3,19)}=0.246$, $p=0.863$) ver Figura 22.

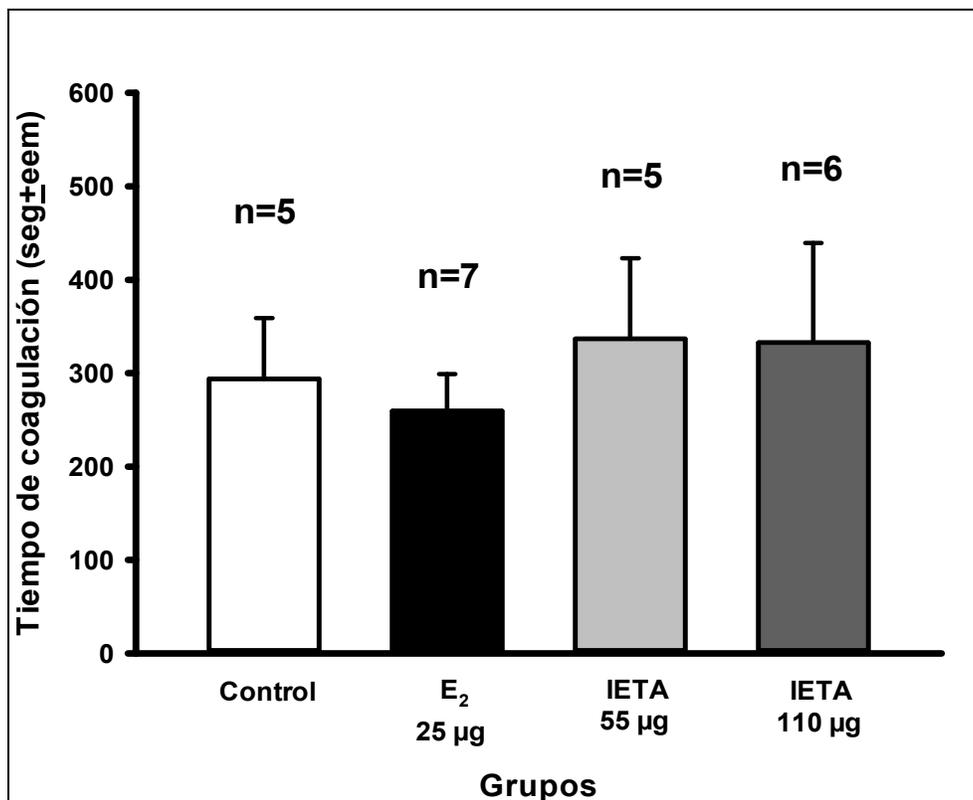


Figura 22. Tiempo de coagulación sanguínea de los diferentes grupos de ratas Ovx tratadas con: E₂ (≈25 µg/kg), IETA (55 µg/kg y 110 µg/kg) evaluado a las 48 horas después de la última administración. Los datos se presentan como la media ± error estándar.

VI. DISCUSIÓN

Los cambios hormonales en la mujer son una condición constante desde la pubertad hasta la menopausia, debido a la ciclicidad hormonal. La función ovárica va disminuyendo con el tiempo, dando lugar a la menopausia que indica el final de la vida fértil de la mujer. Durante la transición a la menopausia, se presentan una serie de síntomas fisiológicos y psicológicos asociados a un declive hormonal. Para disminuir estos síntomas actualmente se utilizan TRHs que consisten principalmente en la administración de estrógenos sintéticos o la combinación de estrógenos-progestágenos. Aunque esta terapia resulta útil, sus efectos procoagulantes y cancerígenos limitan su uso clínico. Para ello se está trabajando en la síntesis de compuestos derivados del E₂ que tengan los mismos efectos benéficos pero que carezcan de los efectos adversos previamente mencionados.

En el presente estudio se realizó la evaluación del efecto estrogénico de IETA utilizando como marcador biológico el peso uterino. El útero es un órgano blanco para los estrógenos y sus efectos tróficos son necesarios para mantener la función reproductiva. El E₂ aumenta la proliferación, crecimiento y diferenciación de las células que componen el tejido uterino (endometrio, miometrio, epitelio luminal, etc.) cíclicamente, a través de la activación de sus REs en estos sitios que permiten la transcripción de genes. En ausencia de estrógenos, el útero inicia un proceso de adelgazamiento y atrofia que puede revertirse con la administración de compuestos que poseen actividad estrogénica (Evans, 1941). Teniendo en consideración esta información, nuestros resultados indican que IETA posee actividad uterotrófica monitoreado a través del incremento del peso uterino en ratas prepúberes. La potencia del efecto uterotrópico fue mayor a la que exhibe E₂, hecho que no se observa con la administración de otros 17β-AEs cuya potencia uterotrópica es muy baja. Los trabajos de Jaimez *et al.* (2000) y Lemini *et al.* (2005) han reportado que la serie homóloga de los 17β-AEs (prolame, butolame y pentolame), cuya diferencia estriba en el sustituyente en C17 del esteroide -N-[CH₂]_n-OH, poseen una potencia estrogénica menor a la del E₂ en ratas Ovx jóvenes y en ratas y ratones prepúberes o inmaduros. En estos trabajos se señala que el incremento de cada metileno en la cadena del grupo amino-alcohol disminuye la potencia estrogénica en esta serie de 17β-AEs. IETA posee en su estructura química dos átomos de carbono centrales en la cadena [=N-[CH₂]₂-OH] (Figura 19). Esta diferencia estructural de un átomo menos que prolame [-N-[CH₂]₃-OH] probablemente favorece la interacción con los receptores estrogénicos y aumenta su potencia estrogénica. Las dosis 13, 55 y 110 µg/kg producen efectos uterotróficos significativos.

Jaimez *et al.* (2000) han demostrado que los 17β -AEs tienen afinidad por receptores intracelulares de estrógenos, pero esta afinidad es menor que la del E_2 . Teniendo en consideración estos antecedentes, se podría esperar que IETA mostrara mayor afinidad por el receptor intracelular de estrógenos que los 17β -AEs debido a que su potencia fue mayor. Será necesario determinar estos efectos mediante ensayos de competencia de unión y particularmente con el RE α , debido a que este receptor se ha asociado al efecto proliferativo de E_2 en mama y útero (Walf *et al.*, 2011).

Los resultados del presente estudio mostraron además las propiedades estrogénicas de IETA a nivel de SNC. La administración única de E_2 , IETA y BE en conjunto con P fueron capaces de inducir la respuesta lordótica en ratas Ovx jóvenes. La respuesta máxima de IETA fue del 76% CL, resultando ser más eficaz que el E_2 (45% CL). Sin embargo, la DE_{50} de IETA fue mayor que la del E_2 (129 μ g y 7.6 μ g respectivamente), es decir, IETA tiene una potencia baja en comparación con E_2 . El BE mostró una potencia y eficacia mayor a la de IETA y E_2 . Las dosis 55, 110, 220 y 440 μ g/kg de IETA producen efectos significativos sobre la receptividad sexual en ratas Ovx jóvenes.

Bajo el mismo esquema de administración utilizado en el experimento del efecto uterotrófico, se realizó una curva dosis-respuesta del efecto de IETA con tres administraciones. Las dosis 27, 55, 110, 220 y 440 μ g/kg de IETA producen efectos significativos sobre la receptividad sexual. El tratamiento con tres administraciones de IETA en conjunto con P aumento la eficacia de este compuesto como facilitador de la receptividad sexual (100% CL). Se sugiere que este tratamiento subagudo probablemente incrementa la producción de RPs en el hipotálamo, lo cual aumenta considerablemente la efectividad de P y por lo tanto la de IETA (Micevych y Sinchak, 2007).

Nuestros resultados indican que la administración de IETA en conjunto con la P facilita la receptividad sexual en ratas Ovx. La eficacia de IETA sugiere que podría estar activando las diferentes áreas del SNC relacionadas con el control de la motivación sexual y en consecuencia facilitar las respuestas de placer, preferencia y acercamiento hacia la pareja sexual eventual. La regulación de la conducta sexual femenina, se debe a dos mecanismos distintos, el primero de ellos es la vía genómica, este tipo de efectos se centran principalmente en el VMH; sin embargo, además de estos mecanismos, las hormonas pueden regular la conducta sexual a través de la vía no genómica, en la que se consideran los efectos de las hormonas en la neurotransmisión dopaminérgica, mediante el receptor D_1 y en la neurotransmisión GABAérgica, mediante el receptor $GABA_1$. Estos efectos se presentan con mayor frecuencia en el área tegmental ventral (VTA, por sus siglas en inglés; Frye, 2001).

El E_2 potencializa la liberación dopaminérgica a través de mecanismos genómicos que incluyen la síntesis y modulación de receptores y a través de mecanismos no genómicos que modifican la actividad del transportador de dopamina (DAT, por sus siglas en inglés; Watson *et al.*,

2006). El DAT es una proteína de tipo simporte que regula la recaptura de dopamina del espacio sináptico y es el principal mecanismo propuesto para terminar la neurotransmisión dopaminérgica. Mediante experimentos de hibridación *in situ* se ha detectado la presencia del ARNm de este transportador en el VTA y en la sustancia negra del cerebro de rata (Torres *et al.*, 2003). Las modificaciones en el estado de fosforilación de DAT por proteínquinasas causan alteraciones en su función. Se sabe que el E₂ activa proteínquinasas incluyendo PKA, PKC, PI3K que afectan las funciones de DAT, bloqueando el proceso de recaptura de dopamina y en consecuencia prolongando la presencia del neurotransmisor en el espacio sináptico (Alyea y Watson, 2009). El papel de la dopamina en el comportamiento sexual está asociado al aumento de la excitación y activación motora que permite la búsqueda de la pareja sexual (Numan e Insel, 2003).

En el VTA la P facilita la lordosis a través de su rápida conversión a alopregnanolona (3 α , 5 α -THP). La 3 α , 5 α -THP activa el receptor GABA_A y prolonga la duración de apertura de canales de Cl⁻, esto conduce a un aumento en la duración del potencial postsináptico inhibitorio (Frye *et al.*, 2006). La inhibición del metabolismo de P a 3 α , 5 α -THP en el VTA reduce la lordosis en ratas Ovx tratadas con E₂ y P (Frye, 2001). La 3 α , 5 α -THP es la más eficaz para facilitar e inducir la lordosis (Frye *et al.*, 2006). A través de estos y otros mecanismos las hormonas gonadales aumentan la motivación sexual, promueven respuestas de solicitud y receptividad en la rata hembra.

Futuras investigaciones serán necesarias para determinar los mecanismos de acción genómicos principalmente en el VMH y no genómicos de IETA y P en el VTA sobre la conducta sexual en ratas Ovx jóvenes.

Nuestros resultados apoyan la hipótesis de que IETA es capaz de revertir la ansiedad causada por la Ovx en ratas Wistar jóvenes de manera similar al E₂. Las dosis utilizadas 55 y 110 μ g/kg tuvieron efectos significativos respecto al grupo control, estos grupos permanecieron más tiempo en los BA del LEC señalando un efecto ansiolítico específico. Durante estos experimentos los animales tratados no presentaron modificaciones de su actividad locomotora (número de cruces a brazos abiertos y cerrados).

Los estrógenos influyen en los sistemas implicados en la fisiopatología de los trastornos afectivos (Aan het Rot *et al.*, 2009). Estudios en modelos animales indican que el E₂ posee efectos ansiolíticos. Las hembras en proestro se muestran menos ansiosas, justo cuando los niveles de E₂ son altos, en comparación con las hembras en diestro (Frye, 2000). La Ovx disminuye la concentración de los niveles de E₂ y P, incrementa la ansiedad y conductas depresivas; sin embargo la administración de E₂, P o sus metabolitos revierten estos efectos (Bernandi *et al.*, 1989).

Walf y Frye (2005b) demostraron que la administración subcutánea de moduladores específicos de receptores de estrógenos (MSRE) como el diarilpropionitrilo (DPN) que posee mayor

afinidad por el RE β produce efectos ansiolíticos y antidepresivos en ratas Ovx comparado con el MSRE que posee mayor afinidad por el RE α denominado PPT. Estos resultados indican que las acciones del E₂ para producir efectos ansiolíticos involucran preferentemente al RE β . Asimismo, la administración subaguda de E₂ en las dosis 5-10 μ g, provoca un efecto ansiolítico y antidepresivo bajando los niveles de corticoesterona en la rata Ovx (Walf y Frye, 2005a).

Los sistemas de neurotransmisores monoaminérgicos (serotonina, noradrenalina y dopamina) desempeñan un papel importante en la fisiopatología de la ansiedad. El E₂ altera la biosíntesis y metabolismo de la serotonina, regula el número de receptores serotoninérgicos en hipocampo, amígdala y corteza frontal (Amin *et al.*, 2005; Österlund *et al.*, 2000) y modula la actividad de la enzima triptófano hidroxilasa (Pandaranandaka *et al.*, 2006). Las mujeres postmenopáusicas muestran menor concentración sérica de 5-HT respecto a las mujeres en edad fértil (Blum *et al.*, 1996), lo que implica una reducción en la concentración de estrógenos y señala su participación en el estado afectivo.

El sistema GABAérgico está involucrado en la regulación del miedo y la ansiedad, y es sensible a cambios hormonales. En animales Ovx se reducen los niveles de GABA, el número de receptores GABAérgicos en el cerebro, y promueven conductas tipo ansiedad, que se recuperan con tratamiento estrogénico (Canonaco *et al.*, 1993). IETA posee un efecto ansiolítico, por lo tanto, podría estar utilizando mecanismos de acción semejantes a los que utiliza el E₂.

Estos resultados (sobre receptividad sexual y ansiedad) se llevaron a cabo utilizando ratas de tres meses de edad que fueron Ovx para simular cambios fisiológicos y conductuales parecidos a los que sufren las mujeres en proceso de envejecimiento. Los efectos del tratamiento con estrógenos sintéticos en ratas Ovx jóvenes difieren de aquellos causados en ratas Ovx de mediana edad o viejas. Estos cambios no se deben simplemente a un déficit hormonal, también disminuye la expresión de ambos receptores RE α y RE β (Yamaguchi y Yuri, 2014). La edad en que se realiza la Ovx parece ser un factor importante para determinar el efecto de un tratamiento hormonal. Se propone evaluar los efectos estrogénicos y ansiolíticos de IETA en ratas de mediana edad o viejas que reflejan un estado fisiológico parecido al que sufren las mujeres en proceso de envejecimiento.

Los resultados obtenidos sobre el tiempo de coagulación sanguínea por la administración de IETA en los animales tratados no mostraron diferencias significativas entre los grupos. Estos experimentos muestran una tendencia de IETA de aumentar el tiempo de coagulación y el E₂ de manera contraria disminuirlo, indicando que no produce efectos protrómbicos. Es necesario aumentar el número de sujetos en cada grupo y evaluar el efecto de IETA sobre la coagulación sanguínea a diferentes tiempos después de la última administración (24, 48 y 72 horas).

El perfil farmacológico que ha sido estudiado en este trabajo de tesis abre numerosas posibilidades para estudiar a IETA y este grupo de iminas esteroidales sustituidas en C17, principalmente profundizar en sus mecanismos de acción a nivel de SNC. Adicionalmente se propone iniciar estudios sobre proliferación de células tumorales. Estos estudios contribuyen al desarrollo de agentes farmacológicos de mayor especificidad y seguridad para la TRH.

VII. CONCLUSIONES

- 1) IETA posee efectos estrogénicos evidenciados por su acción uterotrófica en ratas prepúberes. Su eficacia y potencia estrogénica es mayor que la de E₂.
- 2) IETA induce la receptividad sexual en la rata Ovx. Esto último indica que IETA ejerce efectos directos sobre el SNC. Su eficacia estrogénica es mayor, pero su potencia es menor que la de E₂.
- 3) IETA posee un efecto de tipo ansiolítico evidenciado por el incremento significativo del porcentaje de tiempo de permanencia de los animales tratados en los brazos abiertos del LEC.
- 4) IETA no produce efectos procoagulantes en la rata Wistar Ovx.

REFERENCIAS:

- A van Hylckama, V.A., Helmerhorst, F.M., Vandenbroucke, J.P., Doggen, C.J. y Rosendaal, F.R. (2009). The venous thrombotic risk of oral contraceptives, Effects of oestrogen dose and progesterone type: results of the MEGA case-control study. *BMJ*, 13: 1-8.
- Aan het Rot, M., Mathew, S.J. y Charney, D.S. (2009). Neurobiological mechanisms in major depressive disorder. *Canadian Medical Association Journal*, 180: 305-313.
- Abdollahi, M., Cushman, M. y Rosendaal, F.R. (2003). Obesity: risk of venous thrombosis and the interaction with coagulation factor levels and oral contraceptive use. *Thromb Haemost*, 89: 493-498.
- Alyea, R.A. y Watson, C.S. (2009). Nongenomic mechanisms of physiological estrogen-mediated dopamine efflux. *BMC Neuroscience*, 10:1-9.
- Amin, Z., Canli, T. y Epperson, C.N. (2008). Effects of estrogen-serotonin interactions on mood and cognition. *Behav Cogn Neurosci Rev*, 4: 43-58.
- Ascenzi, P., Bocedi, A. y Marino, M. (2006). Structure-function relationship of estrogen receptor α and β . Impact on human health. *Molecular aspects of medicine*, 27:299-402.
- Avis, N.E. y Green, R. (2011). The perimenopause and sexual function. *Obstet Gynecol Clin*, 38: 587-594.
- Azoitia, I., Sierra, A. y García-Segura, L.M. (1998). Estradiol prevents kainic acid-induced neuronal loss in the rat dentate gyrus. *Neuroreport*, 9:3075-3079.
- Bastian, H.G., Dubley, E.C., Robertson, D.M. y cols. (2002). Hormonal changes in the menopause transition. *Recent Progress in Hormone Res*, 57: 257-275.
- Baulieu, E.E., Robel, P. y Schumacher, M. (1999). Neurosteroids: from definition and biochemistry to physiopathologic function. En Baulieu E.E., Robel, P. y Schumacher, M (Eds). *Neurosteroids: a new regulatory function in the nervous system*. (pp:1-25). Human Press, Totowa, New Jersey.
- Beach, F.A. (1976). Sexual attractivity, proceptivity and receptivity in female mammals. *Hormones and Behavior*, 7: 105-108.
- Belló, M., Puentes-Rosas, E., Medina-Mora, M.E. y Lozano, R. (2005). Prevalencia y diagnóstico de depresión en población adulta en México. *Salud Pública de México*, 47: S4-S11.
- Bernardi, M., Genadani, S., Tagliavini, S. y Bertolini, A. (1989). Effects of castration and testosterone in experimental models of depression in mice. *Behav Neurosci*, 103: 1148-1150.
- Blaustein, J.D. y Feder, H.H. (1979). Cytoplasmic progestin receptors in guinea pig brain: characteristics and relationship to the induction of sexual behavior. *Brain Res*, 169: 481-497.
- Blum, I., Verred, Y., Lipshtz, A., Harel, D., Blum, M., Nordenberg, Y., Harsat, A., Sulkes, J., Gabbay, U. y Graff, E. (1996). The effect of estrogen replacement therapy on plasma serotonin and catecholamines of postmenopausal women. *Isr J Med Sci*, 32: 1158-1162.

- Böttner, M., Thelen, P. y Jarry, H. (2014). Estrogen receptor beta: Tissue distribution and the still largely enigmatic physiological function. *Journal of Steroid Biochemistry y Molecular Biology*, 139:245-251.
- Braunstein, G.D. (2011). The hypothalamus. In S. Melmed (Ed). *The pituitary*. (pp.303-342). Los Angeles, USA: Elsevier.
- Brenner, P.F. (1988). The menopause syndrome. *Obstet Gynecol*, 72: 6-11.
- Brinton, R.D., Thompson, R.F., Foy, M.R., Baudry, M., Wang, J., Finch, C.E., Morgan, T.E., Pike, C.J., Mack, W.J., Stanczyk, F.Z. y Nilsen, J. (2008). Progesterone receptors: Form and function in brain. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 29:313-339.
- Broekhoven, F. y Verkes, R.J. (2003). Neurosteroids in depression: a review. *Psychopharmacology*, 165: 97-110.
- Cabeza de Flores, A. (1977). Ovario. En J. Malacara; M. García y C. Valverde (Eds). *Fundamentos de endocrinología clínica*. (pp.205-233). México: Salvat.
- Caldwell, J.D., Brooks, P.J. Jirikowski, G.F. Lund, P.K. et al. (1989). Estrogen alters oxytocin mRNA levels in the preóptica area. *J Neuroendocrinol*, 1: 273-278.
- Canonaco, M., Carelli, A. y Maggi, A. (1993). Steroid hormones and receptors of the GABA_A supramolecular complex. I. Benzodiazepine receptor level changes in some extrahypothalamic brain areas of the female rat following sex steroid treatment. *Neuroendocrinology*, 57: 965-973.
- Caraveo-Anduaga, J., Colmenares, E. y Saldívar, G. (1999). Estudio clínico-epidemiológico de los trastornos afectivos. *Salud Mental*, 22: 7-17.
- Couse, J.F., Yates, M.M., Walker, V.R. y Korach, K.S. (2003). Characterization of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in estrogen receptor (RE) null mice reveals hypergonadism and endocrine sex reversal in female lacking ERalpha but not ERbeta. *Mol Endocrinol*, 17: 1039-1053.
- Chakraborty, T.R. y Gore, A.C. (2004). Aging-related changes in ovarian hormones, their receptors and neuroendocrine function. *Exp. Biol. Med*, 229: 977-987.
- Cohen, L.S., Soares, C.N., Vitonis, A.F., Otto, M.W. y Harlow, B.L. (2006). Risk for new onset of depression during the menopausal transition: The Harvard study of moods and cycles. *Arch Gen Psychiat*, 63: 385-390.
- Cushman, M., Kuller, L.H., Prentice, R., Rodabough, R.J., Psaty, B.M. y Stafford, R.S. (2004). Estrogen plus progestin and risk of venous thrombosis. *JAMA*, 292: 1573-80.
- De la Peña, A., Baños, G., Izaguirre, R., Mandoki, J.J. y Fernández, J.M. (1993). Comparative effect of synthetic aminoestrogens with estradiol on platelet aggregation. *Steroids*, 58, 407-409.
- De la Peña, A., Baños, G., Izaguirre, R., Tobón-Cervantes, A. y Fernández-G, J.M. (1994). Comparative effect of three synthetic alkanol-amino-estrogens; etolame, buolame and pentolame, on platelet aggregation. *Med. Sci. Res*, 22: 119-120.
- DSM-IV-R. Manual de diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales. 1998. American Psychiatric Association.

- Dohanich, G.P. y Clemens, L.G. (1981). Brain areas implicated in cholinergic regulation of sexual behavior. *Hormones and Behavior*, 15: 157-167.
- Eckersell, C.B., Popper, P. y Micevych, P.E. (1998). Estrogen-induced alteration of mu-opioid receptor immunoreactivity in the medial preóptica nucleus and medial amygdale. *Neurosci*, 18: 3967-3976.
- Erskine, M.S. (1989). Solicitation Behavior in the estrous female rat: A review. *Hormones and Behavior*, 23, 473-502.
- Evans, J.S., Varney, R.F. y Koch, F.C. (1941). The mouse uterine weight method for the assay of estrogens. *Endocrinology*, 28(5): 747-757.
- Everitt, B.B., Fuxe, K. y Hokfelt, T. (1974). Inhibitory role of dopamine and 5-hydroxytryptamine in the sexual behavior of female rats. *Eur J Pharmacol*, 29: 187.191.
- Farquhar, C., Marjoribanks, J., Lethaby, A., Suckling, J.A. y Lamberts, Q. (2009). Long term therapy for perimenopausal and postmenopausal women. Cochrane database *Syst Rev*, 15: CD004143.
- Fernández-Guasti, A., Martínez-Mota, L., Estrada-Camarena, E., Contreras, C.M. y López-Rubalcava, C. (1999). Chronic treatment with desipramine induces an estrous cycle dependent anxiolytic action in the burying behavior but not in the plus maze. *Pharmacol Biochem Behav*, 63(1):13-20.
- Finkel, R., Clark, M.A. y Cubeddu, L.X. (2009). Estrógenos y andrógenos. En R. Harvey y P. Champe (Eds). *Farmacología*. (pp.299-310). España: Lippincott Williams y Wilkins
- Flores-Ramos, M. y Ontiveros-Urbe, M. (2008). Hormonas gonadales y depresión en la perimenopausia. *Rev Colomb Psychiat* 37: 236-246.
- Flores-Ramos, M. y Martínez-Mota, L. (2012). Perimenopausia y trastornos afectivos: aspectos básicos y clínicos. *Salud Mental*; 35:231-240.
- Frye, C.A. (2000). Estrous cycle and sex differences in performance on anxiety task coincide with increases in hipocampal progesterone and 3 α , 5 α -THP. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 67 (3): 587-596.
- Frye, C.A. (2001). Inhibition of 5 α -reductase enzyme of GABA_A receptors in the VMH and the VTA attenuates progesterone-induced sexual behavior in rats and hamsters. *J Endocrinol Invest*, 24:399-407.
- Frye, C.A., Walf, A.A. y Petralia, S.M. (2006). Progestin's effects on sexual behavior of female rats and hamsters involving D₁ and GABA_A receptors in the ventral tegmental area may be G-protein-dependent. *Behavioural Brain Research*, 172:286-293.
- García-Juárez, M., Beyer, C., Gómora-Arrati, P., Lima-Hernández, F.J., Domínguez-Ordoñez, R., Eguibar, J.R., Etgen, A.M. y González-Flores, O. (2012). The nitric oxide pathway participates in lordosis behavior induced by central administration of leptin. *Neuropeptides*, 46: 49-53.
- García-Manzano, A., González-Llaven, J., Jaimez, R., Franco, Y., Avila, M.E., Rubio-Poo, C. y Lemini, C. (2002). Changes on hemostatic parameters induced by 17beta-estradiol,

ethinylestradiol, and the 17 β -aminoestrogen pentolame in the male Wistar rat. *Steroids*, 67: 1129-35.

- Gardiulo, P.A., Muñoz, V. y Donoso, A.O. (1992). Inhibition by N.methyl.D.aspartic acid (NMDA) receptor antagonist of lordosis behavior induced by estrogen followed by progesterone or luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) in the rat. *Physiol Behav*, 52: 737-739.
- González, G., Alvarado-Vasquez, N., Fernández-G, J.M., Cruz-Robles, D., Del Valle, L., Pinzón, E., Torres, I., Rodríguez, E., Zapata, E., Gómez-Vidales, V., Montaña, L.F. y De la Peña, A. (2009). The antithrombotic effect of the aminoestrogen prolame (N-(3-hydroxy-1,3,5(10)-estratrien-17 β -YL)-3-hydroxypropylamine) is linked to an increase in nitric oxide production by platelets and endothelial cells. *Atherosclerosis*, 208: 62-68.
- González-Flores, O., Gómora-Arrati, P., García-Juárez, M., Gómez-Camarillo, M.A., Lima-Hernández, F.J., Beyer, C. y Etgen, A.M. (2009). Nitric oxide ERK/MARK mediation of estrous behavior induced by GnRH, PGE₂, and db-cAMP in rats. *Physiology y Behavior*, 96: 606-612.
- Gordon, E.M., Ratnoff, O.D., Saito, H., Donaldson, V.H., Pensky, J. y Jonas, P.K. (1980). Rapid fibrinolysis, augmented Hageman factor inhibitor titers in women taking oral contraceptives. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 96(5): 763-769.
- Gunnet, J.W., Mick, C. y Freeman, M.E. (1981). The role of dorsomedial-ventromedial area of the hypothalamus in the control of prolactin secretion induced by cervical stimulation. *Endocrinology*, 109: 1846-1850.
- Hammes, S.R., Lange, C.A. y McPhaul, M.J. (2006). Mechanisms of hormone action. In M. Runge y C. Patterson (Eds.). *Principles of Molecular Medicine*. (pp.291-307). Totowa, NJ: Human Press.
- Handley, S.L. y Mc Blane, E.W. (1993). An assessment of the elevated X-maze for studying anxiety-modulating drugs. *J Pharmacol Toxicol Meth*, 29: 129-138.
- Hardy, D.F. y DeBold, J.F.(1971). Effects of mounts without intromission upon the behavior of female rats during the onset of estrogen-induced heat. *Physiology and Behavior*, 7:643-645.
- Henderson, V., Benke, K., Green, R., Cupples, L. y Farrer, L. (2005). Postmenopausal hormone therapy and Alzheimer's disease risk: interaction with age. *J. Neurol Neuro Psychiatry*, 76:103-105.
- Hollander, E., Braun, A. y Simeon, D. (2008). Should OCD leave the anxiety disorders in DSM-IV? The case for the obsessive compulsive-related disorder. *Depression and Anxiety*, 25: 3117-129.
- Irmscher, K. (1961). Die Umsetzung von steroidketonen mit aminoalkoholen. *Chem Ber J*, 95: 907-917.
- Jaimez, R., Coney, A., Jackson, K., Lemus, A.E., Lemini, C., Cárdenas, M., García, R., Silva, G. y Larrea, F. (2000). In vivo estrogen bioactivities and in vitro estrogen receptor binding and transcriptional activities of anticoagulant synthetic 17 β -aminoestrogens. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 73: 59-66.
- Jaimez, R., Rubio-Póo. y Lemini, C. (2001). Effects on blood clotting time of 17 β -estradiol and 17 β -Aminoestrogens in rats and mice. *Proc. West. Pharmacol. Soc*, 44: 163-166.

- Jensen, E.V., Jacobson, H.I., Walf, A.A. y Frye, C.A. (2010). Estrogen action: A historic perspective on the implications of considering alternative approaches. *Physiology y Behavior*, 99:151-162.
- Jensvold, M.F. (1995). Non pregnant reproductive-age women, Part I: The menstrual cycle and psychopharmacology. In: M. Jensvold; U. Halbreich y J. Hamilton (Eds.). *Psychopharmacology and women. Sex, gender and hormones*. (pp.139-170). US: American Psychiatry Press.
- Jick, H., Kaye, J.A., Vasilakis-Scaramozza, C., et al. (2000). Risk of venous thromboembolism among users of third generation oral contraceptives compared with users of oral contraceptives with levonorgestrel before and after 1995: Cohort and case-control analysis. *BMJ*, 321: 1190-1195.
- Jirikowski, G.F., Caldwell, J.D., Pedersen, C.A. y Stumpf, W.E. (1988). Estradiol influences oxytocin-immunoreactive brain systems. *Neuroscience*, 25: 237-248.
- Jones, R.E. y Lopez, K.H. (1997). The menstrual cycle. In R. Jones y K. Lopez (Eds.). *Human reproductive biology*. (pp.73-93). New York: Academic Press.
- Jordan, W.M. (1961). Pulmonary embolism. *Lancet*, 2: 1146-1147.
- Kelly, M.L. et al. (1976). Differential sensitivity of preoptic-septal neurons to microelectrophoresed estrogen during the estrous cycle. *Brain Res*, 114: 152-157.
- Kerdivel, G., Flouriou, G. y Rakdel, F. (2013). Modulation of estrogen receptor alpha activity and expression during breast cancer progression. *Vitamins and Hormones*, 93: 135-160.
- Lemini, C. y Canchola, E. (2009) Effects of 17beta-aminoestrogens on the sexual behavior of female rats. *Physiol Behav*, 96: 662-666.
- Lemini, C., Franco, Y., Avila, M.E. y Jaimez, R. (2005a). Contrasting effects of estradiol and 17 beta-aminoestrogens on blood clotting time in rats and mice. *Eur J Pharmacol*, 510: 229-233.
- Lemini, C., Franco, Y., Avila, M.E. y Jaimez, R. (2005b). Estrogenic effects of and analogous effects of 17β-aminoestrogens on uteri of rats and mice. *European Journal of Pharmacology*, 510:235-239.
- Lemini, C., Rubio-Poó, C., Silva, G., García-Mondragón, J., Zavala, E., Mendoza-Patiño, N., Castro, D., Cruz-Almanza, R. y Mandoki, J.J. (1993). Anticoagulant and estrogenic effects of two new 17β-aminoestrogens, butolame [17β-(4-hydroxy-1-butylamino)-1,3,5(10)-estratrien-3-ol] and pentolame [17β-(5-hydroxy-1-pentylamino)-1,3,5(10)-estratrien-3-ol]. *Steroids*, 58: 457-461.
- Lemini, C., Cruz-López, B. y Martínez-Mota, L. (2013). Participation of estrogen receptors in the antidepressant-like effect of prolame on the forced swimming test. *Pharmacology, Biochemistry & Behavior*, 103: 659-665.
- Long, J.A. y Evans, H.M. (1922). The oestrous cycle in the rat and its associated phenomena. *Mem. Univ. Calif*, 6: 1-148.
- Lund, T.D., Rovis, T., Chung, W.C.J. y Handa, R.J. (2005). Novel actions of estrogen receptor-β on anxiety related behaviors. *Endocrinology*, 146: 797-807.
- Malacara, J.M. (1977). Generalidades de endocrinología. En J. Malacara; M. García y C. Valverde (Eds.). *Fundamentos de endocrinología clínica*. (pp.1-8). Barcelona: Salvat.

- Mandoki, J.J., Zavala E, Silva G, Mendoza-Patiño N, Rubio-Póo C, Medina Martínez S, y Domínguez-Escoto P. (1983). The dual effects of estrogens on blood clotting time. *Proc West Pharmacol Soc*, 26:45-48.
- Maturana, M.A., Irigoyen, M.C. y Spritzer, P.M. (2007). Menopause, estrogens, and endothelial dysfunction: current concepts. *Clinics*, 62: 77-86.
- McCarthy, M.M, Pfaff, D.W. y Schwartz-Giblin, S. (1991). Mid-brain central gray GABA receptor activation enhances, and blockade reduces, sexual behavior in the demale rat. *Exp Brain Res*, 86: 108-116.
- McEwen, B.S. (1999). The molecular and neuroanatomical basis for estrogen effects in the central nervous system. *J Clin Metab Clin Rev*, 108: 1790-1797.
- McEwen, B.S. (2001). Estrogen effects on the brain: multiple sites and molecular mechanisms. *J Applied Physiology*, 91: 2785-2801.
- Meade, T.W.; Dyer S.; Howarth D.J. Imeson J.D. y Stirling Y. (1990). Antithrombin III and procoagulant activity: sex differences and effects of the menopause. *British Journal of Hematology*; 74(1): 77-81.
- Mendelson, S.D. (1992). A review and reevaluation of the role of serotonin in the modulation of lordosis behavior in the female rat. *Neurosci Biobehav Rev*, 16: 309-350.
- Mendoza, J.E. y Foundas, A.L. (2008). The limbic system/hypothalamus. In J. Mendoza y A. Foundas (Eds). *Clinical Neuroanatomy: A Neurobehavioral Approach* (pp.213-269). New York: Springer.
- Micevych, P, Chaban, V., Quesada, A. y Sinchak, K. (2002). Oestrogen modulates cholecystokinin: opioid interactions in the nervous system. *Pharmacol Toxicol*, 91: 387-397.
- Micevych, P. y Sinchak K. (2007). The neurochemistry of limbic-hypothalamic circuits regulating sexual receptivity. In A. Lajtha; G. Baker; S. Dunn y A. Holt (Eds.). *Handbook of Neurochemistry and Molecular Neurobiology*. (pp. 151-193): Springer.
- Nelson, R.J. (2000). An Introduction of Behavioral Endocrinology. (2° ed). Sinaver Associates, Inc.
- Nissen, I., Estrada, F.S., Nava-Kopp, A.T., Irlles, C., De la Peña-Díaz, A., Fernández, J.M., Govezensky, T. y Zhang, L. (2012). Progesterone ameliorates anxiety and spatial Learning and memory impairment induced by ovariectomy in rats. *Physiology y Behavior*, 106(2): 278-284.
- Numan, M. y Insel, T.R. (2003). The Neurobiology of parental Behavior. New York: Springer-Verlag.
- O' Riordan, J.L., Malan, P.G. y Gould, R.P. (1988). Endocrinología de la reproducción. En J. O' Riordan; P. Malan y R. Gould (Eds). *Fundamentos de endocrinología*. (pp. 103-128). México: Limusa.
- Organización Mundial de la Salud (2001). Informe sobre la Salud en el Mundo. Salud Mental: nuevos conocimientos, nuevas esperanzas. Ginebra, Suiza, pp. 29-30.
- Österlund, M.K., Halldin, C. y Hurd, Y.L. (2000). Effects of chronic 17 β -estradiol treatment on the serotonin 5-HT_{1A} receptor mRNA and binding levels in the rat brain. *Synapse*, 35: 39-44.
- Owens, M.R., Cimino, C.D. y Donnelly, J. (1986). Measurements of rat plasma coagulation proteins during prolonged exposure to diethylstilbesterol. *Thromb Rev*, 42(3): 343-354.

- Pandaranandaka, J., Poonyachoti, S. y Kalandakanond-Thongsong, S. (2006). Anxiolytic property of estrogen related to the changes of the monoamine levels in various brain regions of ovariectomized rats. *Physiology y Behavior* 87: 828-835.
- Pfaff, D.W. y Sakuma Y. (1979). Facilitation of the lordosis reflex of female rats from the ventromedial nucleus of the hypothalamus. *J Physiol*, 288:189-202.
- Pfaff, D.W., Kow, L.M, Loose, M.D. y Flanagan-Cato, L.M. (2008). Reverse engineering the lordosis behavior circuit. *Hormones y Behavior*, 54: 347-354.
- Parry, B.L. (2008). Perimenopausal depression. *Am J Psychiat*, 165: 23-27.
- Raya, A., Barrientos-Salcedo, C., Rubio-Póo, C. y Soriano-Correa, C. (2011). Electronic structure evaluation through quantum chemical descriptors of 17 β -aminoestrogens with an anticoagulant effect. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46: 2463-2468.
- Rasgon, N.L., Altshuler, L.L., Fairbanks, L.A., Dunkin, J.J., Davtvan, C., Elman, S. y Rapkin, A.J. (2002). Estrogen replacement therapy in the treatment of major depressive disorder in perimenopausal women. *J Clin Psychiat*, 63: 45-48.
- Robl, J.M., Thomford, P.J., We, M.C. y Dziuk, P.J. (1985). Effect of estrogen, testosterone and Phenobarbital on uterine weight and liver microsomal enzymes in prepuberal mice. *Pediatr Pharmacol*, 5(3): 157-164.
- Rosenzweig, M.R., Breedlove, S.M., Watson, N.V. y Morgado, I. (2005). Hormonas y cerebro. En M. Rosenzweig; S. Breedlove; N. Watson y I. Morgado (Eds.). *Psicobiología: Una introducción a la neurociencia conductual, cognitiva y clínica* (pp.167-205). México: Ariel.
- Rubio-Póo, C., Mandoki, J.J., Jayme, V., Mendoza-Patiño, N., Alvarado, C., Silva, G., Zavala, E., Fernández-González, J.M. y Rubio-Arroyo, M. (1983). Prodiame: a new estrogen with sustained anticoagulant effect. *Proc West Pharmacol Soc*, 26: 11-113.
- Rubio-Póo, C., Mandoki, J.J., Mendoza-Patiño, N., Lemini, C., De la Peña, A., Cruz, F., Zavala, E., Silva, G., García-Mondragon, J., Fernandez-G, J.M., Sonano-García, M. y Toscano, A.R. (1985). The anticoagulant effect of prolame, N-(3-hydroxy-1.3.5(10) estratien-17 β -yl)-3-hydroxypropil amine, a novel amino-estrogen. *Steroids*, 45(2): 159-170.
- Rubio-Póo, C., Lemini, C., García-Mondragón, J., De la Peña, A., Jayme, V., Mendoza-Patiño, N., Zavala, E., Silva, G., Blickenstaff, R.F., Fernández-G, J.M. y Mandoki, J.J. (1990). The anticoagulant effect of hexolame, N-(3-hydroxy-1.3.5(10) estratien-17 β -yl)-6-hydroxyhexylamine, another amino-estrogen with prolonged anticoagulant effect. *Steroid*, 55:83-86.
- Rubinow, D.R., Schmidt, P.J. y Roca, C.A. (1998). Estrogen-Serotonin interactions: Implications for affective regulation. *Behavioral Endocrinology Branch*, 44:839-850.
- Santen, R.J., Allred, D.C., Ardoin, S.P., Archer, D.F., Boyd, N., Braunstein, G.D., Burger, H.G., Colditz, G.A., Davis, S.R., Gambacciani, M., Gower, B.A., Henderson, V.W., Jarjour, W.N., Karas, R.H., Kleerekoper, M., Lobo, R.A., Manson, J.E., Marsden, J., Martin, K.A., Martin, L., Pinkerton, J.V., Rubinow, D.R., Teede, H., Thiboutot, D.M. y Utian, W.H. (2010). Executive Summary: Postmenopausal Hormone Therapy: An Endocrine Society Scientific Statement. *J. Clin. Endocrinol Metab*, 95: S1-S66.
- Schmidt, P.J., Haq, N. y Rubinow, D.R. (2004). A longitudinal evaluation of the relationship between reproductive status and mood in perimenopausal women. *Am J Psychiat*, 161: 2238-2244.

- Schulze, H.G. y Gorzalka, B.B. (1991). Oxytocin effects on lordosis frequency and lordosis duration following infusion into the medial preoptic area and ventromedial hypothalamus of female rats. *Neuropeptides*, 18: 99-106.
- Snoeren, E.M.S., Veening, J.G., Olivier, B. y Oosting R.S. (2013). Serotonin 1A receptors and sexual behaviors in female rats: A review. *Pharmacol Biochem behav.*
- Soares, C.N., Poitras, J.R., Prouty, J., Alexander, A.B., Shifren, J.L. y Cohen, L.S. (2003). Efficacy of citalopram as a monotherapy or as an adjunctive treatment to estrogen therapy for perimenopausal and postmenopausal women with depression and vasomotor symptoms. *J Clin Psychiat*, 64: 473-479.
- Soules, M.R., Sherman, S., Parrott, E., Rebar, R., Santoro, N. y Utian, W. (2001). Stages of reproductive aging workshop (STRAW). *J Women Health Gend Based Med*, 10: 843-848.
- Tangen, T. y Mykletun, A. (2008). Depression and anxiety through the climacteric period: an epidemiological study (HUNT-II). *J Psychosom Obstet Gynecol*, 29: 125-131.
- Tchaikovski, S.N. y Rosing, J. (2010). Mechanisms of estrogen-induced venous thromboembolism. *Thromb Res*, 126: 5-11.
- Torres, G.E., Gainetdinor, R.R. y Garon, M.G. (2003). Plasma membrane monoamine transporters: Structure, regulation and function. *Nat Rev Neurosci*, 4(1): 13-25.
- Utian, W.H. (2005). Psychosocial and socioeconomic burden of vasomotor symptoms in menopause. A comprehensive review. *Health and quality of life outcomes*; 3:47.
- Valverde, C. y Herrera, J. (1977). Hipotálamo hipófisis. En J. Malacara; M. García y C. Valverde (Eds). *Fundamentos de endocrinología clínica*.(pp.9-32). Barcelona: Salvat.
- Vila, J. (2009). Psicofisiología de la ansiedad. En J. Vila. (Eds). *Una introducción a la Psicofisiología clínica*. (pp.170-189). México: Pirámide.
- Walf, A.A. y Frye, C.A. (2005a). Antianxiety and antidepressive behavior produced by physiological estradiol regimen may be modulated by hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity. *Neuropsychopharmacology*, 30: 1288-1301.
- Walf, A.A. y Frye, C.A. (2005b). ER β -selective estrogen receptor modulators produce antianxiety behavior when administered systemically to ovariectomized rats. *Neuropsychopharmacology*, 30: 1508-1609.
- Walf, A.A. y Frye C.A. (2007). Administration of estrogen receptor beta-specific selective estrogen receptor modulators to the hippocampus decrease anxiety and depressive behavior of ovariectomized rats. *Pharmacology, Biochemistry y Behavior*, 86: 407-414.
- Walf, A.A. y Frye C.A. (2008). Rapid and estrogen receptor beta mediated actions in the hippocampus mediate some functional effects of estrogen. *Steroids*, 73:997-1007.
- Walf, A.A., Paris, J.J., Rhodes, M.E., Simpkins, J.W. y Frye, C.A. (2011). Divergent mechanisms for trophic actions of estrogens in the brain and peripheral tissues. *Brain Research*, 1379: 119-136.

- Warren, M.P. (2007). Historical perspectives in postmenopausal hormone therapy: defining the right dose and duration. *Mayo Clin Proc*, 82: 219-226.
- Watson, S. y Miller, K. (2004). Hormones and female reproductive physiology. In S. Watson S. y K. Miller (Eds). *The endocrine system*. (pp.412-435). San Diego, CA: Greenwood Press.
- Watson, C.S., Alyea, R.A., Hawkins, B.E., Thomas, M.L., Cunningham, K.A. y Jakubas, A.A. (2006). Estradiol effects on the dopamine transporter-protein levels, subcellular location and function. *Journal of Molecular Signaling*, 1:1-14.
- Weiser, M.J., Foradori, C.D. y Handa, R.J. (2008). Estrogen receptor beta in the brain: From form to function. *Brain research reviews*, 57: 309-320.
- White, B.A. (2010). Introduction to the endocrine system. In B. Koeppen y B. Stanton (Eds.). *Physiology*. Philadelphia: Mosby
- Wiesner, J.B. y Moss. (1984). Beta-endorphin suppression of lordosis behavior lack of effect of peripherally-administered naloxe. *Life Sci*, 34: 1455-1462.
- Yamaguchi, N y Yuri, K. (2014). Estrogen-dependent changes in estrogen receptor- β mRNA expression in middle-aged female rat brain. *Brain Research*, 49-57.
- Yang, L.Y. y Clements, L.G. (2000). MPOA lesions affect female pacing of copulation in rats. *Behav Neurosc*, 114:1191-1202.
- Ydstebo, R. y Södersten, P. (1977). Induction of sexual receptivity in ovariectomized female rats by subcutaneous implants of estradiol-17 β . *Hormones y Behavior*, 9: 130-140.
- Zarrow, M.X., Yochim, J.M. y McCarthy, J.L. (1964). Experimental endocrinology a sourcebook of basic techniques. New York: Academic Press.