



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

**“Determinación de la dosis mínima de 17β -estradiol en la
terapia de reemplazo estrogénica en rata Wistar
ovariectomizada joven y adulta”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADA EN FARMACIA

PRESENTA:

RAMÍREZ REYES MAYRA

ASESOR (A): M. EN C. DIANA RAMÍREZ HERNÁNDEZ

COASESOR (A): DRA. JAZMÍN FLORES MONROY

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: DRA. MARIA DEL CARMEN VALDERRAMA BRAVO
Cefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.



Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: **Tesis y Examen Profesional.**

Determinación de la dosis mínima de 17-β estradiol en la terapia de reemplazo estrogénica en rata Wistar ovariectomizada joven y adulta.

Que presenta la pasante: **Mayra Ramírez Reyes**

Con número de cuenta: **417097295** para obtener el título de: **Licenciada en Farmacia**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO.**

ATENTAMENTE

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 27 de junio de 2023.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

| | NOMBRE | FIRMA |
|----------------------|--|-------|
| PRESIDENTE | Dra. María Esther Revuelta Miranda | |
| VOCAL | Q.F.B. Gabriela Escalante Reynoso | |
| SECRETARIO | M. en C. Diana Ramírez Hernández | |
| 1er. SUPLENTE | E.F.H.C. Jonathan Raymundo García Martínez | |
| 2do. SUPLENTE | Q. Yesica Natali Álvarez Pacheco | |

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional

MCVB/cga*

DEDICATORIA

A Dios, por terminar todo lo que empieza, por no faltar a su palabra y a sus promesas en ningún momento, por darme el aliento en cada paso y extender su mano aún cuando no lo merezco. Por que él da la sabiduría, y de su boca viene el conocimiento y la inteligencia.

A mis padres, por confiar en mí, por el solo y poderoso hecho de ser, estar y permanecer a mi lado en el camino.

A mis hermanas, por todo el amor que siempre muestran al escucharme, por traer alegría a mi vida, y ser mis cómplices en cada aventura.

A mis amigos, Ale, Verito y Casi, por compartir conmigo sueños, metas, ambiciones, miedos y aventuras, por hacer de la universidad, la mejor etapa.

A Mon y Eliu, por convertirse en mi segunda familia en un lugar desconocido que ahora puedo llamar mi hogar, en estos años han sido más familia que amigos.

A Ema, por ser ese impulso en el termino de esta tesis y apoyo incondicional para no desistir hasta verme titulada.

A la maestra, asesora de esta tesis y gran profesora, Dianita, gracias por haberme tenido la paciencia en el desarrollo de este trabajo, por siempre estar con toda la disposición para ayudar y enseñar, y por todo el conocimiento transmitido.

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis fue apoyada por los proyectos DGAPA UNAM-PAPIIT IN217122, IN202022, FESC CI-2259, CI-2211.

A la Universidad Nacional Autónoma de México - Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, por todas las herramientas que me brindó en mi formación como Licenciada en Farmacia.

ÍNDICE

| | | |
|-------------|--|-------------|
| 1. | INTRODUCCIÓN | 1 |
| 2. | MARCO TEÓRICO | 3 |
| 2.1 | ESTRÓGENOS | 3 |
| 2.1.1 | PROPIEDADES DE LOS ESTRÓGENOS | 3 |
| 2.1.1.1 | CARACTERÍSTICAS GENERALES | 3 |
| 2.1.1.2 | CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS | 3 |
| 2.1.1.2.1 | Con estructura esteroidea | 3 |
| 2.1.1.2.2 | Con estructura no esteroidea | 5 |
| 2.1.2 | SÍNTESIS, DISTRIBUCIÓN Y FUNCIÓN DE ESTRÓGENOS ENDÓGENOS | 5 |
| 2.1.2.1 | SÍNTESIS DE E ₂ ESPECÍFICA DE TEJIDOS Y CÉLULAS | 7 |
| 2.1.2.2 | SÍNTESIS DE E ₂ EN EL OVARIO | 7 |
| 2.1.2.3 | AROMATASA: UNA SINTASA DE ESTRÓGENOS CLAVE | 9 |
| 2.1.3 | GENERALIDADES DE LOS RECEPTORES DE ESTRÓGENOS | 11 |
| 2.1.3.1 | DISTRIBUCIÓN ESPECÍFICA DE TEJIDOS DE LOS ERS | 11 |
| 2.1.3.1.1 | Receptores nucleares de estrógenos (ER α y ER β) | 12 |
| 2.1.3.1.1.1 | | ER α |
| | 13 | |
| 2.1.3.1.1.2 | | ER β |
| | 13 | |
| 2.1.3.1.2 | Receptores de membrana de estrógenos (GPER y ER-X) | 14 |
| 2.1.3.1.2.1 | | GPER |
| | 14 | |
| 2.1.3.1.2.2 | | ER-X |
| | 15 | |
| 2.1.4 | VÍAS GENÓMICAS Y NO GENÓMICAS DE ESTRÓGENOS | 15 |

| | | |
|---------|--|----|
| 2.1.4.1 | VÍA 1: SEÑALIZACIÓN DE ESTRÓGENOS INICIADA NUCLEARMENTE DEPENDIENTE DE ER _____ | 16 |
| 2.1.4.2 | VÍA 2: SEÑALIZACIÓN DE ESTRÓGENOS INICIADA POR MEMBRANA DEPENDIENTE DE ER _____ | 18 |
| 2.1.4.3 | VÍA 3: VÍA INDEPENDIENTE DE ER _____ | 19 |
| 2.1.4.4 | VÍA 4: ACTIVACIÓN DE ER INDEPENDIENTE DEL LIGANDO _____ | 20 |
| 2.2 | FARMACOCINÉTICA DE ESTRÓGENOS ENDÓGENOS Y EXÓGENOS | 20 |
| 2.2.1 | GENERALIDADES _____ | 20 |
| 2.2.1.1 | CINÉTICA LINEAL O DE PRIMER ORDEN _____ | 20 |
| 2.2.1.2 | CINÉTICA NO LINEAL O DE ORDEN CERO _____ | 21 |
| 2.2.1.3 | ÁREA BAJO LA CURVA (ABC O AUC) _____ | 21 |
| 2.2.1.4 | VOLUMEN DE DISTRIBUCIÓN APARENTE (Vd) _____ | 21 |
| 2.2.1.5 | ACLARAMIENTO O DEPURACIÓN (Cl) _____ | 21 |
| 2.2.1.6 | BIODISPONIBILIDAD (F) _____ | 21 |
| 2.2.1.7 | INTERACCIONES FARMACOLÓGICAS _____ | 21 |
| 2.2.2 | VÍAS DE ADMINISTRACIÓN Y PRESENTACIONES FARMACÉUTICAS | 22 |
| 2.2.2.1 | VÍA ORAL _____ | 23 |
| 2.2.2.2 | VÍA INTRANASAL _____ | 25 |
| 2.2.2.3 | VÍA SUBCUTÁNEA _____ | 25 |
| 2.2.2.4 | PARCHES TRANSDÉRMICOS _____ | 25 |
| 2.2.2.5 | VÍA VAGINAL _____ | 25 |
| 2.2.2.6 | OTRAS VÍAS _____ | 26 |
| 2.2.3 | FARMACOCINÉTICA DE ESTRÓGENOS ENDÓGENOS _____ | 27 |
| 2.2.3.1 | ABSORCIÓN Y DISTRIBUCIÓN _____ | 27 |
| 2.2.3.2 | BIOTRANSFORMACIÓN _____ | 28 |
| 2.2.3.3 | BIODISPONIBILIDAD _____ | 28 |
| 2.2.3.4 | ELIMINACIÓN _____ | 29 |

| | | |
|---------|--|----|
| 2.2.4 | FARMACOCINÉTICA DE ESTRÓGENOS EXÓGENOS | 30 |
| 2.2.4.1 | ABSORCIÓN Y DISTRIBUCIÓN | 30 |
| 2.2.4.2 | DISTRIBUCIÓN | 31 |
| 2.2.4.3 | BIOTRANSFORMACIÓN | 31 |
| 2.2.4.4 | ELIMINACIÓN | 32 |
| 2.2.4.5 | MECANISMO DE ACCIÓN | 33 |
| 2.3 | MENOPAUSIA | 33 |
| 2.3.1 | GENERALIDADES | 33 |
| 2.3.2 | SÍNDROMES FISIOPATOLÓGICOS | 35 |
| 2.3.3 | EFFECTIVIDAD DEL USO DE LA TERAPIA DE REEMPLAZO HORMONAL | 36 |
| 2.3.4 | EFFECTOS ADVERSOS EN LA TERAPIA DE REEMPLAZO HORMONAL | 37 |
| 3. | OBJETIVOS | 39 |
| 3.1. | OBJETIVO GENERAL | 39 |
| 3.2. | OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 39 |
| 4. | JUSTIFICACIÓN | 39 |
| 5. | PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN | 40 |
| 6. | HIPÓTESIS | 40 |
| 7. | MATERIALES Y MÉTODO | 40 |
| 7.1. | PROTOCOLO EXPERIMENTAL | 40 |
| 7.1.1. | DISTRIBUCIÓN DE LOTES | 40 |
| 7.1.2. | OVARIECTOMIZACIÓN | 41 |
| 7.1.3. | PREPARACIÓN DE ESTRADIOL | 43 |
| 7.1.4. | PREPARACIÓN DE EDTA | 43 |
| 7.1.5. | PREPARACIÓN DE SOLUCIÓN SALINA FISIOLÓGICA 0.15 M | 43 |
| 7.1.6. | OBTENCIÓN DE MUESTRAS | 43 |

| | | |
|--------|--|----|
| 7.1.7. | CUANTIFICACIÓN DE ESTRADIOL POR EL MÉTODO DE ELISA | 43 |
| 7.1.8. | CUANTIFICACIÓN DE ESTRADIOL POR EL MÉTODO DE ELISA | 44 |
| 8. | RESULTADOS | 45 |
| 9. | ANÁLISIS DE RESULTADOS | 51 |
| 10. | CONCLUSIONES | 57 |
| 11. | REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 58 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | | |
|-----------|--|----|
| FIGURA 1 | ESTRUCTURA QUÍMICA DEL ESTRADIOL, ESTRONA Y ESTRIOL | 4 |
| FIGURA 2 | SÍNTESIS DE ESTRÓGENOS EN EL OVARIO Y EL CEREBRO | 6 |
| FIGURA 3 | VÍA DE SEÑALIZACIÓN MEDIADA POR E ₂ Y ER | 18 |
| FIGURA 4 | VÍAS METABÓLICAS DEL ESTRADIOL (E ₂) Y LA ESTRONA (E ₁) | 30 |
| FIGURA 5 | CIRCULACIÓN ENTEROHEPÁTICA | 32 |
| FIGURA 6 | DISTRIBUCIÓN DE LOTES EXPERIMENTALES | 41 |
| FIGURA 7 | TÉCNICA EMPLEADA PARA LA OVARIECTOMIZACIÓN DE RATAS | 42 |
| FIGURA 8 | CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS ALCANZADAS DE 17B-ESTRADIOL EN RATA WISTAR HEMBRA OVARIECTOMIZADA CON 12 SEMANAS DE EDAD A DIFERENTES TIEMPOS | 46 |
| FIGURA 9 | CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS ALCANZADAS DE 17B-ESTRADIOL EN RATA WISTAR HEMBRA OVARIECTOMIZADA CON 1 AÑO DE EDAD A DIFERENTES TIEMPOS | 47 |
| FIGURA 10 | CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE 17B-ESTRADIOL EN RATA WISTAR HEMBRA OVARIECTOMIZADA CON 12 SEMANAS Y 1 AÑO DE EDAD A DIFERENTES DOSIS VS RATA WISTAR HEMBRA CONTROL | 48 |

**FIGURA 11 ÁREA BAJO LA CURVA DE 17B-ESTRADIOL EN RATAS WISTAR
HEMBRAS OVARIECTOMIZADAS CON 12 SEMANAS DE EDAD A DIFERENTES
DOSIS _____ 49**

**FIGURA 12 ÁREA BAJO LA CURVA DE 17B-ESTRADIOL EN RATAS WISTAR
HEMBRAS OVARIECTOMIZADAS CON 1 AÑO DE EDAD A DIFERENTES DOSIS ___ 50**

**FIGURA 13 ÁREA BAJO LA CURVA DE 17B-ESTRADIOL EN RATA WISTAR HEMBRA
OVARIECTOMIZADA CON 12 SEMANAS Y 1 AÑO DE EDAD A DIFERENTES DOSIS 51**

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1 DISTRIBUCIÓN ESPECÍFICA DE LOS ERS EN TEJIDO _____ 12

**TABLA 2 LOCALIZACIÓN CELULAR Y MECANISMOS POR LOS CUALES LOS
RECEPTORES DE ESTRÓGENOS AFECTAN LAS CÉLULAS DE LA ZONA
GLOMERULOSA ADRENOCORTICAL _____ 15**

**TABLA 3 CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DE LOS COMPUESTOS QUÍMICOS
CON ACTIVIDAD ESTROGÉNICA _____ 23**

TABLA 4 TERAPIA HORMONAL MENOPAUSICA. DOSIS RECOMENDADAS _____ 24

1.INTRODUCCIÓN

La carencia de estrógenos durante la etapa no reproductiva de las mujeres es responsable de la mayoría de los signos funcionales, físicos y metabólicos que se producen en la menopausia. La aparición de los síndromes, duración, intensidad y/o el impacto que ejercen sobre la calidad de vida varían mucho en cada mujer. Algunos de los síndromes fisiopatológicos que pueden presentarse antes y durante esta etapa son signos específicos como astenia, artralgias, mialgias, aumento del peso y de la masa adiposa, coronariopatías, enfermedades cardiovasculares, aterosclerosis, osteoporosis, también de tipo genitourinarios (Jiménez & Rincón, 2018) y síndromes climatéricos. Los síntomas vasomotores sistémicos (SVM) son el grupo clásico que afecta al 80% de las mujeres peri- y posmenopáusicas y pueden persistir por más de 10 años (Paciuc, 2020). La menopausia se asocia con cambios consistentes con el envejecimiento cardiovascular. Los efectos de la enfermedad cardíaca son multifacéticos, afectando la función endotelial, la fisiología de la arteria coronaria y la disfunción metabólica que conducen a cambios estructurales en la anatomía coronaria (Nair et al., 2021). Los cambios hormonales y la hipertensión después de la menopausia pueden conducir a un mayor daño a los órganos diana y a enfermedades cardiovasculares, como un aumento de la rigidez arterial, enfermedades coronarias, insuficiencia cardíaca crónica y accidente cerebrovascular (Zilberman, 2018). Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de defunción en el mundo y, según estimaciones, se cobran 17,9 millones de vidas cada año (World Health Organization, 2019). En Chile, la principal causa de muerte entre las mujeres en edad reproductiva es el cáncer de mama. Sin embargo, se observa que cuando llega la menopausia las enfermedades cardíacas y cardiovasculares pasan al primer lugar (Accdis, 2023).

Por otra parte, se cuenta con la evidencia de diversos estudios como el de Baber et al. (2016) donde se afirma que el tratamiento más eficaz a cualquier edad para el alivio de los síntomas vasomotores asociados con la menopausia y la osteoporosis posmenopáusica (De Villiers et al., 2013), es la terapia de reemplazo hormonal (TRH) que además puede mejorar la calidad de vida. Otros análisis también han apoyado la idea de que la terapia con estrógenos ejerce un ligero efecto protector en mujeres que comienzan a usarla poco después del inicio de la menopausia (Sánchez-Guerrero et al., 2001). Algunos otros autores más consideran que el valor de la terapia de reemplazo hormonal (TRH) en el tratamiento de los síntomas vasomotores incapacitantes es indiscutible según lo afirma Maas (2021) en su escrito. Finalmente en estudios como el de J et al. (2003) se evaluaron las evidencias

que respaldan la idea de administrar estrógenos en dosis bajas en la terapia hormonal de reemplazo. Es así como una gran variedad de estudios conducen a que la THR oral debería realizarse con la menor dosis efectiva posible de estrógenos.

Pese al éxito que ha demostrado tener la THR en el tratamiento y prevención de estos síndromes fisiopatológicos, también están presentes aquellos casos en donde los estrógenos inducen posibles efectos adversos directamente relacionados con la dosis administrada. Entre los efectos adversos más recurrentes y asociados al empleo de las dosis clásicas de estrógenos están el cáncer de endometrio, cáncer de mama (Ross et al., 2000), tromboembolismos venosos, accidentes cerebrovasculares (ACV) y eventos coronarios (J. et al., 2003).

Tras suponer que al administrar dosis de 17β -estradiol menores a las convencionales (de $0.03 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ hasta los $100 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$) en ratas ovariectomizadas, es posible alcanzar concentraciones similares a las fisiológicas durante la etapa de proestro, esto debido a que durante esta etapa se encuentran los niveles más altos de estrógenos (Kundakovic & Rocks, 2022) y además se cuenta con evidencias de la protección que ejercen los estrógenos contra efectos de diversa índole (He et al., 2002).

El propósito de la presente tesis es presentar las conclusiones a las que se llegaron en la determinación de la dosis mínima de 17β -estradiol que debe administrarse para que sean alcanzados los niveles fisiológicos de estrógenos encontrados en la etapa de proestro durante el ciclo estral en rata Wistar hembra mediante el uso de curvas farmacocinéticas y la técnica de ELISA con la finalidad de disminuir la dosis para la terapia de reemplazo estrogénico en la ovariectomía.

2.MARCO TEÓRICO

2.1 ESTRÓGENOS

2.1.1 PROPIEDADES DE LOS ESTRÓGENOS

2.1.1.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES

Los estrógenos son hormonas esteroides de naturaleza no polar, por lo que son capaces de difundir dentro y fuera de las células atravesando la membrana celular con relativa facilidad. A pesar de la facilidad con la que estas hormonas difunden, los estrógenos actúan a través de receptores intracelulares (los receptores a estrógenos, RE) que son factores de transcripción activados por unión a ligando, es decir son ligando-inducibles (Espinoza et al., 2013).

2.1.1.2 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS

2.1.1.2.1 Con estructura esteroidea

Los estrógenos son hormonas sexuales de gran importancia, durante la etapa reproductiva de la mujer son los encargados en la regulación del crecimiento, la diferenciación y función de los tejidos del sistema reproductor, y aun después de esta etapa continúan regulando diversas funciones en otros tejidos.

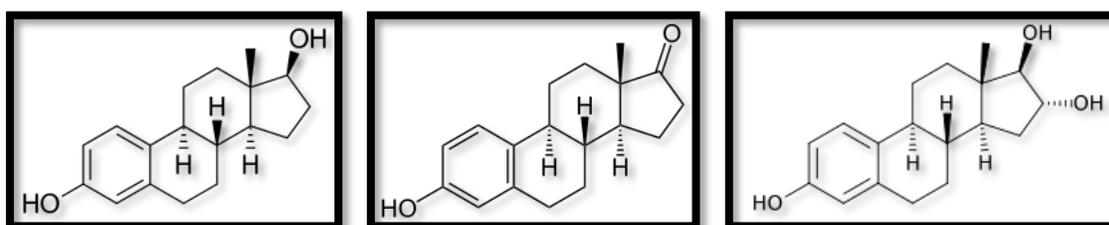
Las cuatro formas principales de estrógenos fisiológicos con estructura esteroidea son: estrona (E₁), estradiol (E₂), estriol (E₃), y el no tan conocido estetrol (E₄). Cabe mencionar que los tres tipos de estrógenos mayormente conocidos (E₁, E₂ y E₃) tendrán su intervención de manera específica dependiendo de la edad en la que cada mujer se encuentre. E₂ es el producto principal de todo el proceso de biosíntesis y es el estrógeno más potente durante el período premenopáusico. E₁ es más importante después de la menopausia, cuando se sintetiza en el tejido adiposo a partir de la deshidroepiandrosterona suprarrenal. E₃ es el estrógeno menos potente y se forma a partir de E₁ a través de 16 α -hidroxilación; juega un papel más importante durante el embarazo cuando la placenta lo produce en grandes cantidades (Cui et al., 2013).

Como ya se mencionó anteriormente, la hormona 17 β -estradiol (E₂), es el principal estrógeno de todos los antes mencionados y por ende, el más activo durante la etapa reproductiva de la mujer. La estrona y estriol pueden obtenerse directamente de la transformación del estradiol mediante la enzima aromatasa a partir de la progesterona o

androsterona, o bien, como se observa durante la menopausia, su formación puede deberse a la suma de dos condiciones, la carencia de células de la granulosa con capacidad de síntesis de la aromatasa para transformar testosterona en estradiol y al aumento de conversión de la androstenediona para su posterior transformación en estrona (Coppola et al., 2005), la fuente principal de la estrona son los tejidos periféricos, mientras que en el caso del estriol es el hígado (Espinoza et al., 2013).

Como se puede observar en la figura 1, el estradiol, estrona y estriol comparten una estructura química similar, poseen 18 carbonos y es característica específica la existencia de un anillo aromático (Beledo & Amado, 2013).

Figura 1 Estructura química del estradiol, estrona y estriol



Nota. Adaptado de 17 β -estradiol, estrona y estriol [Fotografía], por [NEUROtiker](#), bkchem+inkscape , 2007, 2006, Flickr (<https://es.wikipedia.org/wiki/Estradiol#/media/Archivo:Estradiol.svg>).

Los estrógenos se encuentran de forma natural en una amplia variedad de compuestos, por ejemplo, en la orina de especies como el caballo y yegua (equilina y equilenina principalmente), a estos podemos agregar 17 α -dihidroequilenina, 17 β -dihidroequilenina, 17 α -estradiol, 17 α -dihidroequilina, 17 β -dihidroequilina y la δ -8,9-dihidroestrona, que básicamente estos son una mezcla de sales sódicas de los ésteres sulfatados hidrosolubles de estrona y equilina (La Hoz & Orozco-Gallego, 2021). Solo por mencionar algunos más dentro de la lista de los estrógenos esterificados están el valerato, succinato, cipionato (ciclopentilpropanato), propionato y el fosfato de poliestradiol (Beledo & Amado, 2013).

Por otra parte, de la misma forma en la que encontramos estrógenos endógenos, algunos claros representantes de los estrógenos exógenos con estructura esteroidea son el etinilestradiol, mestranol y el quinestrol, estos son capaces de resistir la metabolización hepática más que el estradiol, por esta razón es que son administrados vía oral. En el caso del etinilestradiol y mestranol, se desmetilan en el organismo y se convierten en etinilestradiol y quinestrol respectivamente. La tibolona exhibe un caso peculiar ya que aun sin contar con la estructura esteroidea de un estrógeno, posee dicha actividad (Beledo & Amado, 2013).

2.1.1.2.2 Con estructura no esteroidea

Ciertas estructuras moleculares, como el caso de los derivados estilbénicos, presentan un tipo de estereoisomería; la isomería cis-trans, específicamente en su configuración trans. Al ser evidenciada una relación estructural entre la configuración trans de los derivados estilbénicos y la estructura molecular del estrógeno, es posible explicar la capacidad que estos derivados poseen para interactuar con el receptor estrogénico.

Los principales derivados son el dietilestilbestrol y el clorotrianiseno; a partir de este último surgieron los fármacos con capacidad para actuar como antagonistas sobre el receptor estrogénico: tamoxifeno, clomifeno y taloxifeno (Beledo & Amado, 2013).

2.1.2 SÍNTESIS, DISTRIBUCIÓN Y FUNCIÓN DE ESTRÓGENOS ENDÓGENOS

El estrógeno y la progesterona figuran como las principales hormonas sexuales femeninas y en el caso particular de los estrógenos sabemos que desarrollan un papel importante en los sistemas reproductivo y no reproductivo (ver figura 2).

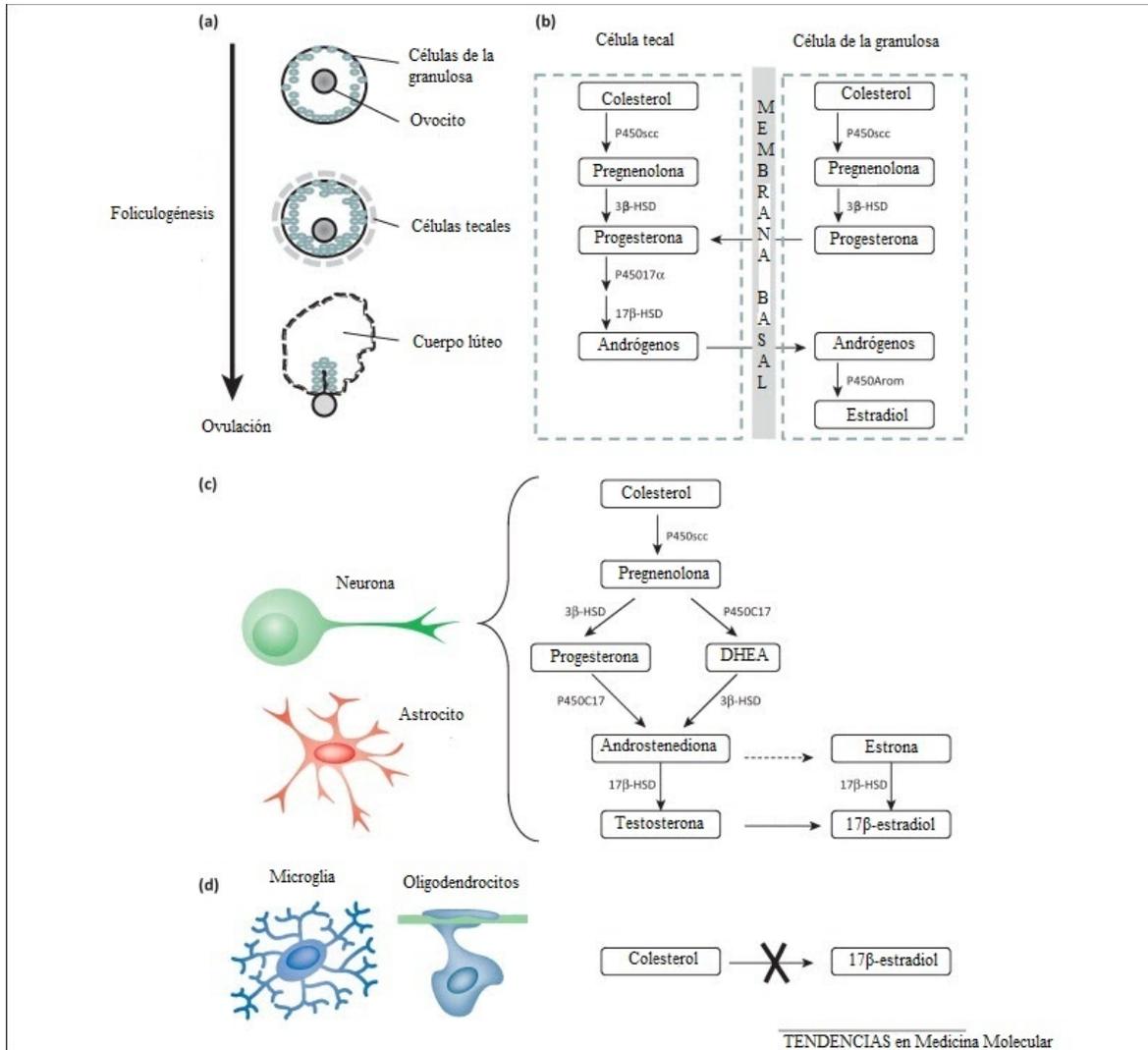
Los sitios en los que los estrógenos pueden ser sintetizados pueden ser tejidos no reproductivos o periféricos como el hígado, el corazón, los músculos, los huesos y el cerebro, la grasa subcutánea y la piel, también localizaciones fisiológicas y anatomopatológicas definidas, como hipotálamo, células de cáncer de mama o células de endometriosis (Melmed, 2021). Ya sea que la síntesis de éstos sean tanto en órganos gonadales como extragonadales, la síntesis de estrógenos y la señalización de sus receptores será específica en cada célula y tejido (Cui et al., 2013).

Las eventos más notorios en los que los estrógenos influyen sobre el aparato reproductor femenino son el inicio de la pubertad, la fertilidad, regulación del ciclo menstrual, las transiciones en los depósitos de grasa corporal (aumentan el metabolismo de las grasas), el desarrollo y crecimiento mamario, el crecimiento del útero y endometrio, trompas de falopio y epitelio vaginal, la maduración de los ovarios y la producción de hormonas esteroideas durante la fase lútea del embarazo (Espinoza et al., 2013).

Hasta antes de la menopausia, los estrógenos se producen principalmente en los ovarios, cuerpo lúteo y la placenta, la molécula principal con la que da inicio el proceso de síntesis de éstos es el colesterol, mientras que para el caso de síntesis de estrógenos en cantidades

pequeñas pero significativas, están involucrados aquellos órganos que no son gónadas como el hígado, el corazón, la piel y el cerebro.

Figura 2 Síntesis de estrógenos en el ovario y el cerebro



Nota. (a) Foliculogénesis. Un folículo primordial consiste en un ovocito y una capa de células de la granulosa al comienzo de la foliculogénesis. Las células tecales forman una capa que rodea las células de la granulosa cuando se activa el folículo. Al final de la foliculogénesis, las células tecales luteinizan para formar el cuerpo lúteo después de la ovulación. (b) Síntesis de estrógenos específicos de células en el ovario. La producción de estrógenos comienza con la síntesis de pregnenolona a partir del colesterol, catalizada por la enzima de escisión de la cadena lateral del citocromo P450 (P450scc). La pregnenolona se convierte luego en progesterona por la 3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (3β-HSD) tanto en las células tecales como en las de la granulosa. La progesterona se convierte en andrógenos a través de citocromo P450 17α-hidroxilasa (P45017α) y 17β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (17β-HSD) en las células tecales durante la fase folicular. La conversión de E₂ es catalizada por la aromatasa (P450Arom) en las células de la granulosa. (c) Síntesis de estrógenos específicos de células en el cerebro. Las neuronas y los astrocitos expresan todas las enzimas necesarias para la síntesis de estrógenos para producir estrógenos cerebrales. (d) Las células microgliales y los oligodendrocitos no pueden producir estrógenos. La línea de puntos indica una actividad enzimática débil que convierte la testosterona en estrona en el cerebro. Adaptado de “*Estrogen synthesis and signaling pathways during aging: from periphery to brain*” (p. 198), por J. Cui, 2013, *Trends in Molecular Medicine*, 19 (3).

2.1.2.1 SÍNTESIS DE E₂ ESPECÍFICA DE TEJIDOS Y CÉLULAS

Las principales fuentes de estrógenos, la síntesis misma o incluso la forma en la que estos actúan, son específicas para cada tejido y célula. Por ejemplo, las mujeres que se encuentran hasta antes de la pubertad y después de la menopausia tendrán como principales fuentes de estrógenos los sitios extragonadales, y la manera en particular de actuar de estos estrógenos será local en el sitio de síntesis de forma paracrina y/o intracrina, mientras que si se trata de estrógenos sintetizados directamente en el ovario, estos se liberan principalmente en el torrente sanguíneo, de donde posteriormente se dirigen a los tejidos distales que responden a estrógenos, ya sea que se trate de órganos reproductores o no reproductivos, desencadenando así funciones importantes y específicas del tejido (Cui et al., 2013). Todos y cada uno de los tejidos mencionados anteriormente contribuyen en la síntesis de estrógenos y a su vez aportan beneficios para la salud celular, sin embargo los más influyentes y por consiguiente más estudiados son los ovarios y el cerebro.

2.1.2.2 SÍNTESIS DE E₂ EN EL OVARIO

Los ovarios secretan pregnenolona, progesterona, 17 α -hidroxiprogesterona, deshidroandrosterona (DHEA), androstenodiona, testosterona, estrona y estradiol, la androstenodiona no presenta actividad biológica sin embargo es el esteroide C19 el más importante del ovario y a partir del cual, mediante conversiones en tejidos extraglandulares, repercutirá en las concentraciones circulantes de estrona y testosterona (Melmed, 2021).

El folículo preovulatorio secreta estradiol durante la primera mitad del ciclo menstrual, en tanto que el cuerpo lúteo secreta estradiol y progesterona durante la segunda. La producción de estos dos esteroides biológicamente activos se regula en el folículo y el cuerpo lúteo, con especificidad celular y bajo control de la LH y la FSH (Cui et al., 2013).

El colesterol es el precursor de todas las hormonas esteroideas sexuales, y el ovario es provisto de estos sustratos entre los cuales se encuentran el colesterol de lipoproteínas plasmáticas, el sintetizado *de novo* por el ovario y el procedente de las reservas intracelulares de ésteres de colesterol con gotículas lipídicas por diversas fuentes, de estos sustratos, el colesterol derivado de LDL tiene un papel fundamental dentro de la esteroidogénesis pues prácticamente es necesario para la generación de concentraciones normales de progesterona en células de la granulosa luteínicas del cuerpo lúteo (Melmed, 2021). El colesterol es formado intracelularmente a partir de radicales acetato, es incorporado por las células y utilizado en las mitocondrias, mediante la acción de varias

enzimas es transformado en diferentes esteroides sexuales dependiendo del órgano en que se estén sintetizando. Como primer paso dentro de este proceso está la internalización de la molécula de colesterol de la membrana externa mitocondrial (que es en donde se encuentra la molécula del colesterol), hacia la membrana interna mediante la acción de proteínas translocadoras, la proteína translocadora de 18 kDa (TSPO) y la proteína reguladora de la esteroidogénesis aguda (StAR), además de estas proteínas, la membrana mitocondrial interna cuenta con un buen número de enzimas que participan en la esteroideogénesis como la 3β -HSD y la enzima de escisión de la cadena lateral de colesterol o P450-scc entre otras.

La LH induce esteroidogénesis, incrementando la conversión de colesterol en pregnenolona de dos formas distintas: regulación aguda, que tiene lugar a lo largo de minutos por fosforilación de la StAR preexistente y síntesis rápida de StAR nueva, y la estimulación crónica, la StAR provoca un aumento del flujo de colesterol a las mitocondrias, de esta forma se regula la disponibilidad de sustrato para CYP11A1 en la membrana mitocondrial interna. La estimulación crónica dura horas o días, en casos donde prevalece la ausencia de StAR, solo persiste el 14% del nivel de esteroidogénesis inducido por la StAR máxima según lo expresa Melmed (2021).

Tanto las células de la granulosa, como las células de la teca y el cuerpo lúteo del ovario cuentan con StAR y con otras cinco proteínas distintas para la formación de hormonas esteroideas. Estas enzimas esteroidogénicas son la CYP11A1 (que escinde la cadena lateral del P450), la 3β HSD2 (3β -hidroxiesteroide deshidrogenasa- Δ isomerasa tipo 2), la CYP17A1 (17-hidroxilasa/17,20-liasa), la CYP19A1 (aromatasa) y la 17β HSD1 (17β -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1). Tales enzimas son responsables de la conversión del colesterol en los dos principales productos biológicamente activos: el estradiol y la progesterona (Melmed, 2021).

La primera reacción enzimática y limitante de la velocidad de síntesis de la esteroidogénesis está representada por la transformación del colesterol en pregnenolona mediante la enzima de escisión de la cadena lateral de colesterol o CYP11A1, en este caso el colesterol sufre la rotura de la cadena lateral. Esta reacción es AMPc dependiente; el AMPc es inducido por la interacción de la LH o de la hCG con sus receptores específicos. A partir de la

pregnenolona, la síntesis puede seguir dos vías, de acuerdo con la posición en que se va a mantener la instauración de la molécula esteroidea.

Como se muestra en la figura 2, durante el proceso de foliculogénesis, tanto las células tecales como las de granulosa están involucradas en la síntesis de estrógenos específicos de las células. Las células tecales producen andrógenos pero no producen estrógenos, mientras que las células granulosas no pueden producir andrógenos a partir de la progesterona, pero pueden convertirlos en E₂. Por lo tanto, en los folículos en crecimiento, el andrógeno se libera de las células tecales y se transporta a las células de granulosa, donde la aromatasa lo metaboliza en estrógeno. Estos estrógenos derivados del ovario se liberan en la circulación general y se dirigen a los tejidos distales que responden al estrógeno, incluidos los órganos reproductores y no reproductivos (Cui et al., 2013). Tanto los estrógenos circulantes como los sintetizados localmente ejercen una retroalimentación negativa sobre la liberación de gonadotropinas (Smith et al., 1975).

Las mujeres premenopáusicas producen 17 β -estradiol de forma variable a lo largo del ciclo: de 100 a 600 $\mu\text{g}/\text{día}$, lo que origina unos niveles plasmáticos que oscilan desde un mínimo de 50 pg/mL a un máximo preovulatorio de 250-300 ng/mL (Beledo & Amado, 2013). El nivel de síntesis de estrógenos depende del estado reproductivo del individuo, es más alto durante los años reproductivos, y va en disminución durante la transición y el período posmenopáusico. Durante el ciclo menstrual, los niveles de E₂ son más altos inmediatamente antes de la ovulación (110 a 410 pg/mL) y los niveles de E₂ circulante durante la fase folicular y lútea son aproximadamente de 19 a 150 pg1/mL, mientras que en las mujeres posmenopáusicas están por debajo de 35 pg/mL. Durante la transición a la menopausia, los niveles séricos de E₂ disminuyen en un 85 a 90% y los niveles séricos de E₁ disminuyen en un 65 a 75% de los niveles medios premenopáusicos (Cui et al., 2013).

2.1.2.3 AROMATASA: UNA SINTASA DE ESTRÓGENOS CLAVE

La aromatasa es una enzima que pertenece a la superfamilia citocromo P450 que se expresa ampliamente en muchos tejidos como la granulosa del ovario, placenta, hipotálamo, hígado, músculo, tejido adiposo, los fibroblastos de la piel y el cerebro (Torrizi et al., 2016). Pertenece específicamente a la familia 19, subfamilia A, polipéptido 1 y subgrupo de las hidroxilasas esteroideas, razón por la cual será codificada únicamente por el gen CYP19A1. La región reguladora del gen CYP19A1 de la aromatasa humana contiene

10 promotores específicos de tejido para la biosíntesis local de estrógenos en condiciones fisiológicas o patológicas normales como el cáncer de mama y la endometriosis, con cada promotor regulado por distintos conjuntos de hormonas, citocinas y segundo mensajero, vías de señalización, entre otros factores (Cui et al., 2013).

La intervención de la aromatasa para catalizar la síntesis de estrógenos a partir de los precursores de andrógenos en uno de los mecanismos más evidentes durante la síntesis de estrógenos y se expresa tanto en las gónadas femeninas como en las masculinas, la aromatasa incrementa selectivamente la aromatización de los andrógenos.

La enzima aromatasa será la encargada de catalizar el último paso en la síntesis de E₂, como se muestra en la figura 2. La expresión de la aromatasa específica de tejido depende de tres factores principales: empalme alternativo, promotores específicos de tejido y diversos factores de transcripción (Cui et al., 2013). La actividad de la aromatasa se ve afectada con el aumento de las concentraciones de ATP, Mg^{2+} o Ca^{2+} , gracias a esto se puede avalar la idea de que la actividad de esta enzima puede ser inhibida por fosforilización (Cui et al., 2013), lo cual llevaría a desencadenar eventos como la disminución de estrógenos y la liberación del eje hipotalámico/pituitario de la retroalimentación negativa de los estrógenos, lo que conlleva a una estimulación de la síntesis de gonadotropinas que a su vez estimula los estrógenos y la aromatasa (Smith et al., 1975).

La síntesis de estradiol estará regulada fundamentalmente por la StAR y la aromatasa, mientras que la producción de progesterona queda bajo el cargo de la StAR (Melmed, 2021).

Durante la premenopausia la principal fuente de esta enzima está representada por los ovarios, sin embargo, como lo afirman Santen y Harvey (1999), la aromatización extraglandular de los sustratos suprarrenales en los tejidos periféricos, que representa la principal fuente de aromatasa en las mujeres posmenopáusicas, contribuye sustancialmente a los niveles de estrógeno también en la premenopausia. La aromatasa es la responsable de catalizar un total de 3 hidroxilaciones independientes entre ellas, y cada una de estas involucradas en la conversión de androstenediona en estrona o de testosterona en estradiol (Torrise et al., 2016).

2.1.3 GENERALIDADES DE LOS RECEPTORES DE ESTRÓGENOS

La penetración de las hormonas esteroideas en las células diana se lleva a cabo mediante el mecanismo de difusión, para que esto pueda ocurrir debe existir una alta afinidad, especificidad y sensibilidad entre esteroide y una macromolécula aceptora a la cual denominaremos receptor y que además puede encontrarse tanto en el citoplasma como en el núcleo de la célula. Estos receptores son estructuralmente distintos entre sí dependiendo de la hormona esteroidea con la que tengan que interactuar, al igual que las estructuras de los receptores, las concentraciones también varían en cada célula desde el 0.1 % para receptores progesterónicos hasta el 0.001 % para receptores aldosterónicos, pese a estas diferencias también presentan algunos rasgos en común que permiten sugerir que para que estas moléculas sea consideradas receptores deben pertenecer a una clase especial de proteínas reguladoras (Beledo & Amado, 2013).

- a) Poseen un sitio determinado para la fijación de la hormona y otro sitio diferente con alta afinidad por el DNA.
- b) Tienden a agregarse en un medio de baja fuerza iónica para formar dímeros o tetrámeros de subunidades.
- c) La unión a la hormona incrementa la afinidad por el núcleo.

Los receptores estrogénicos están de manera abundante en el citoplasma cuando se carece de estrógenos, aunque no de forma exclusiva, con un valor de 8 S en gradientes hipotónicos (PM: 360,000) y de 4 S en gradientes hipertónicos (PM: 80,000). El número de receptores por célula es de unos 10,000, mostrando el 17β -estradiol una alta afinidad (0.1 nM); la menor o mayor actividad que estos esteroides pueden exhibir cobra sentido al analizar la afinidad entre receptor y estrógeno, que consecuentemente repercutirá en la disociación de la hormona del receptor, en el caso de la estrona y estriol, se sabe presentan menor afinidad, esto facilita su disociación del receptor y nos reafirma su menor actividad frente a la hormona 17β -estradiol (Beledo & Amado, 2013).

2.1.3.1 DISTRIBUCIÓN ESPECÍFICA DE TEJIDOS DE LOS ERs

La distribución de los receptores de estrógenos en cada tejido transducen señales de estrógenos en una amplia variedad de respuestas fisiológicas en los órganos (ver tabla 1), sin embargo, se puede establecer una clara diferencia entre los ER nucleares y los ER de membrana celular, los tiempos en los que cada una de estas señalizaciones se completaran

son diferentes, de esta forma los eventos biológicos mediados por ER nucleares ocurrirán lentamente durante horas o incluso días, mientras que las cascadas de señalización intracelular activadas por ER de membrana celular responderán mucho más rápido, incluso en segundos. La señalización de estrógenos está mediada principalmente a través de los receptores nucleares ER α y ER β , y los receptores de membrana como GPR30 y ER-X (Cui et al., 2013).

Tabla 1 Distribución específica de los ERs en tejido

| SUBTIPOS DE ER | DISTRIBUCIÓN EN TEJIDOS PERIFÉRICOS | | | |
|----------------|--|---|--|---|
| ER α | Principalmente expresado en el útero, epidídimo, hueso, seno, hígado, riñón, tejido adiposo blanco, estroma prostático, teca y células intersticiales de ovario y células de Leydig | | | |
| ER β | Principalmente expresado en el colon, testículos, médula ósea, endotelio vascular, pulmón, vejiga, epitelio de próstata y células de la granulosa | | | |
| GPR30 | Detectado en médula suprarrenal, pelvis renal y ovario | | | |
| ER-X | Enriquecido en el útero y el pulmón postnatal; casi indetectable en el adulto normal | | | |
| SUBTIPOS DE ER | DISTRIBUCIÓN EN EL CEREBRO | | | |
| | Intenso | Moderado | Débil | Ausente |
| ER α | Amígdala, núcleo de la cama de las terminales de la estría, gris periacueductal, área preóptica | Alocortex Hipotálamo locus coeruleus, núcleo espinal del trigémino | Hipocampo, núcleos de raphe, zona incerta | Núcleo tegmental anterior, cerebelo, globo pálido, núcleo oliváceo inferior, isocorteza, núcleo pontino, tálamo, sustancia negra, núcleo olivo superior, área tegmental ventral |
| ER β | Amígdala, núcleos del lecho de la estría terminal, Núcleos de Raphe, sustancia negra | Alocorteza, globo pálido, hipocampo, locus coeruleus, área preóptica, ventral, área tegmental | Núcleo tegmental anterior, hipotálamo, núcleos inferiores olivares, isocorteza, gris periacueductal, núcleo pedúnculo pónico, núcleo espinal de trigémino, núcleo superior del olivo, tálamo | Cerebelo, zona incerta |
| GPR30 | Alocorteza, núcleo tegmental anterior, cerebelo, hipocampo, hipotálamo, isocorteza, locus coeruleus, núcleos pontinos, área preóptica, núcleo espinal del trigémino, núcleo oliva superior | Gris periacueductal | Amígdala, núcleos del lecho de la estría terminal, núcleo de Raphe, sustancia negra | Área tegmental ventral |
| ER-X | Enriquecido en el cerebro y neocorteza postnatal, casi indetectable en el adulto normal. | | | |

Nota. Adaptado de "Estrogen synthesis and signaling pathways during aging: from periphery to brain." (p. 200), por J. Cui, 2013, *Trends in Molecular Medicine*, 19 (3).

2.1.3.1.1 Receptores nucleares de estrógenos (ER α y ER β)

Los ER α y ER β están codificados por genes separados (ESR1 y ESR2, respectivamente) ubicados en diferentes cromosomas, y la diafonía funcional controla la presencia de los dos receptores en tipos de células y tejidos particulares, sin embargo, existe una gran superposición funcional entre ER α y ER β en varios tejidos (Cui et al., 2013). Hasta ahora se pensaba que los únicos receptores mediante los cuales los estrógenos actuaban

exclusivamente eran los nucleares, es decir, los ER α y ER β , sin embargo esta idea ahora esta en cuestión (Rossi et al., 2019).

En el caso particular del cerebro, tanto ER α como ER β están ampliamente distribuidos y expresado en tipos de células neuronales y no neuronales. Lo que no se pone en cuestión es que tanto ER α como ER β son indispensables para la función ovárica normal y las acciones cardioprotectoras mediadas por estrógenos.

2.1.3.1.1.1 ER α

Los ER α , se expresan fundamentalmente en órganos gonadales (Teppa & Terán, 2005), sin embargo, también pueden hacerlo en el endometrio, la mama y el estroma ovárico. El receptor estrogénico α contiene 595 aminoácidos y está constituido por diferentes dominios.

- 1) El dominio de activación A/B (AF-1), localizado en el extremo amino terminal, es un dominio regulador que contiene varios sitios de fosforilación
- 2) El dominio C, dominio central de unión al DNA (DBD, por sus siglas en ingles), esencial para activar la transcripción y producir el cambio conformacional necesario para interactuar con el elemento de respuesta a estrógenos
- 3) El dominio D o región bisagra, que participa en el movimiento del receptor estrogénico al núcleo después de su síntesis en el citoplasma
- 4) El dominio E o dominio de unión al ligando, (LBD por sus siglas en inglés)
- 5) El dominio F, un segundo dominio de activación (AF-2), localizado en el extremo carboxilo terminal

La forma clásica de señalización del ER α es mediante la unión directa de este receptor (localizado en el núcleo) a los elementos del DNA que responden al estrógeno, esta unión modifica la expresión génica lo cual implica que haya estimulación o represión.

Un segundo mecanismo de acción del que el ER α hace uso esta mediada por atadura, en la que se une a otros factores de transcripción como c-Jun y Sp1, que a su vez se unen a los elementos de respuesta del ADN AP-1 y Sp-1 para provocar cambios en la expresión del gen.

El tercer mecanismo por el que ER α puede actuar es mediante la señalización no nuclear o mejor como conocida como señalización no genómica en el citoplasma de las células (Stefkovich et al., 2018).

2.1.3.1.1.2 ER β

Los ER β predominan en tejidos no gonadales como los riñones, la mucosa intestinal, el parénquima pulmonar, la médula ósea, el hueso, el cerebro y las células endoteliales las células granulosa ováricas. El receptor estrogénico nuclear β es algo más pequeño,

contiene 530 aminoácidos y también tiene un dominio AF-2 que funciona en forma independiente dentro del receptor y un dominio AF-1 en su extremo aminoterminal que, sin embargo, es débil por estar asociado con un dominio represor (Teppa & Terán, 2005).

Los receptores de estrógenos nucleares exhiben modos de activación tanto dependientes de ligando como independientes de ligando que son mecánicamente distintos (Cui et al., 2013). Es decir, son activados tras la unión de los estrógenos con el receptor que conduce directamente a los cambios transcripcionales en los genes sensibles al estrógeno (dependientes de ligando) o bien el estrógeno también puede ejercer efectos antioxidantes de manera independiente del ER.

2.1.3.1.2 Receptores de membrana de estrógenos (GPER y ER-X)

2.1.3.1.2.1 GPER

Hasta hace un tiempo este receptor era conocido como GPR30, sin embargo la Unión Internacional de Farmacología Básica y Clínica decidió hacer el cambio de GPR30 por Receptor de Estrógeno Acoplado a Proteína G (GPER) (Rossi et al., 2019), se ha identificado como un receptor de estrógenos de membrana integral (transmembrana) que puede desencadenar una señalización intracelular rápida de respuesta al estrógeno independiente ER α y Er β .

GPER se une a los estrógenos así como a otras sustancias, como las quimiocinas (Cui et al., 2013). Se sabe que los GPER difieren de los ER clásicos debido a que fueron detectados a nivel de la membrana plasmática, el retículo endoplásmico (Ver tabla 2) y las membranas de Golgi además de que en lugar de trasladarse al núcleo tras la unión con E2 como lo hacen ER α y Er β , la unión de este receptor con E2 induce la síntesis de fosfatidilinositol 3,4,5 trifosfato y la movilización de Ca²⁺ intracelular. Su especificidad aún se encuentra en cuestión ya que hasta ahora, no hay estudios de unión, sino solo datos funcionales que apoyan la idea de que la aldosterona u otros esteroides se unen a este receptor con mayor afinidad que el estrógeno, otros estudios independientes afirman que no se ha podido mostrar ninguna unión de la aldosterona a las fracciones de membrana que contienen GPER (Rossi et al., 2019).

En cuanto a la localización subcelular de GPER, aunque inicialmente se consideró que se expresaba en el retículo endoplásmico y que circulaba hacia el aparato de Golgi, se descubrió que GPER se lanza dinámicamente hacia y desde la membrana plasmática a través del transporte vesicular (endosomas) (Rossi et al., 2019). Las transcripciones de GPER se distribuyen ampliamente en los tejidos humanos, incluidos el cerebro, el hígado y

el tracto reproductivo masculino y femenino. En este último, la expresión de GPER se regula de manera diferencial durante el ciclo estral (Meyer et al., 2009).

Tabla 2 Localización celular y mecanismos por los cuales los receptores de estrógenos afectan las células de la zona glomerulosa adrenocortical

| Subtipo de receptor | Localización | Efecto | Mecanismo (s) |
|---------------------|--|--|---|
| GPER | Membrana plasmática, retículo endoplásmico | Esteroidogénesis Proliferación celular | ↑ Síntesis de aldosterona Detención del ciclo celular |
| ERβ | Citoplasma, núcleo | Esteroidogénesis Apoptosis | ↓ Apoptosis de síntesis de aldosterona a través de la expresión de FasL |
| ERα | Citoplasma, núcleo | Proliferación celular | Activación y expresión de IGFR, aumento de los niveles de cíclica D1 |

Nota. FasL: Ligando Fas; IGFR: receptor del factor de crecimiento 1 similar a la insulina. Adaptado de "Role of estrogen receptors in modulating aldosterone biosynthesis and blood pressure." (p. 4), por G.P. Rossi, 2019, *Steroids*, 152.

2.1.3.1.2.2 ER-X

En el caso de este receptor la expresión está estrechamente regulada durante el desarrollo y se enriquece en el cerebro del babuino fetal y en la neocorteza, el útero y los pulmones en el caso de roedores posnatales. En adultos, la expresión de ER-X es casi indetectable, pero reaparece después de una lesión isquémica o en modelos animales de EA (Cui et al., 2013).

2.1.4 VÍAS GENÓMICAS Y NO GENÓMICAS DE ESTRÓGENOS

Tradicionalmente se ha considerado que las respuestas celulares a los estrógenos y compuestos estrogénicos están mediadas por los dos receptores de estrógenos nucleares "clásicos"; ERα y ERβ pertenecientes a la señalización de estrógenos "genómica" (Katzenellenbogen et al., 2000).

El complejo receptor-estrógeno al fijarse a los sitios aceptores del núcleo y una vez introducido en el núcleo donde forman homo o heterodímeros del receptor, permite la transcripción del ARNm precursor, su procesamiento y translación a proteínas específicas que modifican la función, el crecimiento y la diferenciación de las células, también al interactuar con los elementos de respuesta de estrógenos (ER) en la región promotora de los genes diana (Katzenellenbogen et al., 2000; Matthews & Gustafsson, 2003; Nilsson et al., 2001), modulan la expresión de otros genes como el activador del proliferador de peroxisomas gamma, la sintasa de óxido nítrico endotelial, la conexina y proteínas de choque térmico (Rossi et al., 2019). Los homo o heterodímeros del receptor afectan la expresión génica también indirectamente a través de factores de transcripción que se unen al DNA, o mediante mecanismos independientes del ligando que involucran un factor de crecimiento que induce la fosforilación del ER.

Recientemente se ha descrito la existencia de un segundo receptor estrogénico (Cui et al., 2013). Una vez que el complejo receptor-esteroide ha interactuado con los sitios aceptores del núcleo, sufre reacciones que terminan por desocupar el receptor (que es reciclado) y eliminar el esteroide de la célula.

No todas las respuestas celulares derivadas de las concentraciones fisiológicas de los estrógenos se pueden mediar por la transcripción y síntesis de proteínas ya que algunas de estas respuestas ocurren en minutos o incluso segundos, para que ocurran estos efectos rápidos de señalización (también llamados señales de esteroides iniciadas por la membrana (MISS)), se transmiten a través de vías enzimáticas y canales iónicos a través de la activación del ER asociado a la membrana (mER), y se denominan "no genómicas" (Aronica et al., 1994; Boonyaratankornkit & Edwards, 2007; Cheskis et al., 2007; Haynes, 2002; Meyer et al., 2006; Simoncini et al., 2004).

Los mecanismos moleculares implicados en esta vía alternativa son poco conocidos, aunque ya se sabe que envuelven el acoplamiento de los receptores estrogénicos de superficie celular con la cascada de señales de las proteincinasas activadas por mitógenos, como se ha observado en los osteoblastos, las células de cáncer mamario humanas, las neuronas y las células endoteliales (Teppa & Terán, 2005).

La distinción entre los efectos genómicos y no genómicos es arbitraria, ya que en algunas ocasiones las vías de señalización intracelular convergen y activan factores de transcripción nuclear (Björnström & Sjöberg, 2005). Como consecuencia, la combinación de estas acciones en múltiples elementos de respuesta permite un ajuste fino de los niveles dependientes de estrógenos.

2.1.4.1 VÍA 1: SEÑALIZACIÓN DE ESTRÓGENOS INICIADA NUCLEARMENTE DEPENDIENTE DE ER

Los principales factores transcripcionales de los estrógenos se inician en el núcleo y están mediados por ER α y ER β . Ambos receptores son factores de transcripción activados por ligandos nucleares que estimulan o inactivan la transcripción de genes diana.

ER α y ER β poseen similitudes pero a su vez difieren estructural y funcionalmente en cuanto al:

- Reconocimiento de ligando
- Activación de receptor
- Reclutamiento de correguladores
- Genes diana que regulan (ver figura 3).

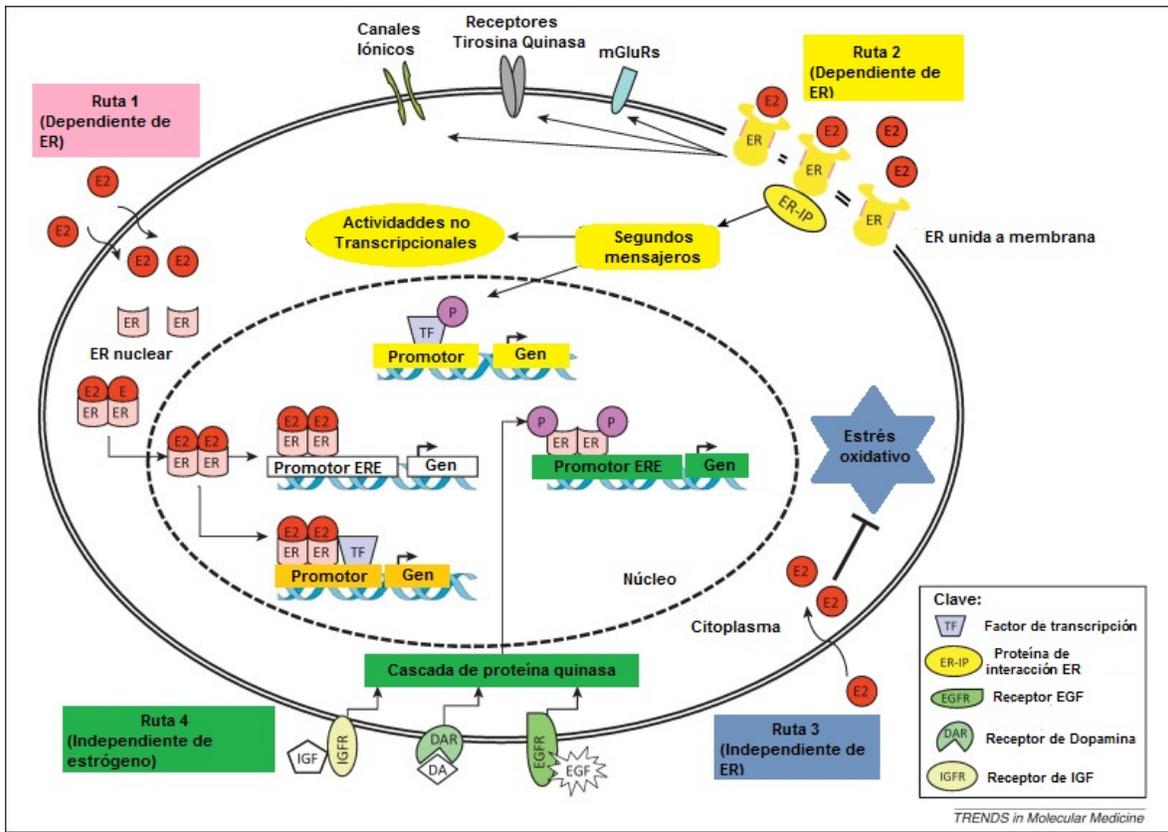
Por ejemplo, en las células del músculo liso vascular, la expresión de la sintasa de óxido nítrico inducible (iNOS) es mejorada por ER β y reprimida por ER α .

Al activarse los ER pueden formar homodímeros (ER α /ER α , ER β /ER β) o heterodímeros (ER α /ER β), que se trasladan desde la membrana plasmática hasta el núcleo (ver figura 3) donde reclutan además de maquinaria transcripcional, otros cofactores a secuencias diana de DNA específicas, designadas elementos de respuesta a estrógenos (ERE), en promotores de genes que responden a estrógenos.

Gottsch et al. (2009) explica que además de actuar directamente a través de los ERE, los ER nucleares activados por ligandos pueden regular la transcripción por una vía no clásica a través de la asociación indirecta ER-DNA. Los ER interactúan e influyen en la actividad de otros factores de transcripción, como la proteína estimulante 1 (SP-1), la proteína activadora 1 (AP-1), el factor nuclear kB (NF-kB), y c-jun, sin unirse directamente al DNA. Según O'Loone et al. (2004) entre los factores de transcripción implicados en esta vía, SP-1 es el mediador más prominente y regula varios genes promovidos por E₂, como el receptor de lipoproteínas de baja densidad (LDL) (Cui et al., 2013) y la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS).

Las vías de señalización nuclear dependientes de ER cambian durante el envejecimiento. Como lo expresa Gottsch et al. (2009), por ejemplo, se observan reducciones significativas en la expresión y alternancia de p68 RNA helicasa, que interactúa directamente con el dominio ER α AF-1, en el cerebro de los ratones durante el envejecimiento (Cui et al., 2013), lo que sugiere la disminución de la vía de señalización dependiente de ER en las funciones cerebrales mediadas por estrógenos durante envejecimiento.

Figura 3 Vía de señalización mediada por E₂ y ER



Nota. Hay cuatro vías de señalización de estrógenos y receptores de estrógenos. **Ruta 1:** la señalización de estrógenos iniciada nuclearmente mediada a través de ER clásicos conduce a los cambios transcripcionales en los genes sensibles al estrógeno con o sin ERE. **Ruta 2:** la señalización de estrógenos iniciada por la membrana conduce a diversos efectos citoplasmáticos, incluida la regulación de los canales iónicos basados en la membrana, la regulación de los sistemas de segundo mensajero y la modificación de los factores de transcripción u otros receptores de membrana. **Ruta 3:** el estrógeno también puede ejercer efectos antioxidantes de manera independiente del ER. **Ruta 4:** acciones genómicas dependientes de ligandos. Los factores de crecimiento (GF) activan las cascadas de proteína-quinasa, lo que conduce a la fosforilación (P) y la activación de ER nucleares en ERE. Adaptado de “*Estrogen synthesis and signaling pathways during aging: from periphery to brain*” (p. 202), por J. Cui, 2013, *Trends in Molecular Medicine*, 19 (3).

2.1.4.2 VÍA 2: SEÑALIZACIÓN DE ESTRÓGENOS INICIADA POR MEMBRANA DEPENDIENTE DE ER

Otro mecanismo alternativo dependiente de ER es la vía iniciada por la membrana, que como su nombre lo indica, comienza en la membrana o el citoplasma y los efectos posteriores dependen sólo parcialmente de la traducción o transcripción (ver figura 3), esta vía es la principal encargada de acciones rápidas y agudas de los estrógenos que acontecen mucho más rápido que los procesos transcripcionales y juegan un papel crítico en tejidos como sistema nervioso, esqueleto e hígado entre otros.

Entre algunos de los factores a los que se les atribuye los efectos no genómicos del receptor de estrógenos podemos citar el aumento de la concentración de calcio intracelular a través de la activación de PLC β , la activación de las proteínas G α y G $\beta\gamma$, la regulación de los canales de potasio, la activación de las cascadas de MAPK, la activación de lípido quinasas como la fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K) y la adenilato ciclasa (Stefkovich et al., 2018).

La forma en la que los ER asociados a membranas median dichos efectos de estrógenos son dos: diafonía con otros receptores de membrana o activación de una variedad de cascadas de señalización citoplasmática (figura 3).

La señalización de estrógenos iniciada por la membrana puede modificar varios factores de crecimiento, receptores de neurotransmisores, receptores de tirosina quinasa y receptores de hormona del crecimiento similares a la insulina (Cui et al., 2013). Por ejemplo, E₂ activa ER α y ER β asociados a la membrana para interactuar con los receptores metabotrópicos de glutamato (mGluR), activando la señalización de mGluR sin glutamato. La vía del ER asociada a la membrana también puede estar mediada por la activación de diferentes cascadas de proteína quinasa, como las vías MAPK / ERK, PI3K / AKT, cAMP, PKA, PKC y tirosina quinasas (Cui et al., 2013).

Cabe destacar que la vía 2 no es la única por la que los estrógenos pueden ejercer efectos rápidos, ya que también esto se puede realizar a través de varios ER de membrana novedosos en el SNC, incluidos los receptores acoplados a proteínas ER-X y G, como GPR30 y Gq-mER.

2.1.4.3 VÍA 3: VÍA INDEPENDIENTE DE ER

Como bien se sabe, la mayoría de las actividades biológicas ejercidas por los estrógenos se llevan a cabo mediante rutas dependientes ER, sin embargo, los estrógenos poseen efectos antioxidantes y de esta forma es como pueden suprimir el estrés oxidativo a través de una vía que no es dependiente de ER. El estrógeno puede regular las actividades enzimáticas o interactuar con los receptores nucleares de esteroides no sexuales para proteger contra el daño celular; los estrógenos previenen eficazmente el estrés prooxidante al limitar la liberación de ROS de las mitocondrias dañadas, para que esto ocurra es necesaria la intervención del anillo fenólico A de estrógenos, que es un antioxidante intrínseco y proporciona una actividad cíclica antioxidante/redox en las neuronas que complementa otras actividades neuroprotectoras. Una gran cantidad de evidencia de neuronas y líneas celulares neuronales ha demostrado que E₂ posee propiedades antioxidantes específicas y suprime el estrés oxidativo inducido por peróxido de hidrógeno, aniones superóxido y otros prooxidantes (Cui et al., 2013). Además, E₂ puede promover el

cáncer de mama en ratones hembra que carecen de ER α y ER β endógenos, lo que sugiere efectos independientes de ER de E₂ sobre la formación de tumores que probablemente se produzcan a través de metabolitos de estrógeno (Cui et al., 2013). Además, algunos efectos vasculares de los estrógenos están mediados por receptores nucleares de hormonas no sexuales como PPAR γ .

2.1.4.4 VÍA 4: ACTIVACIÓN DE ER INDEPENDIENTE DEL LIGANDO

En condiciones fisiológicas normales, los ER pueden activarse de manera independiente del ligando mediante cascadas de señalización desencadenadas por una variedad de factores, incluidos neurotransmisores como la dopamina, factores de crecimiento como el factor de crecimiento epidérmico (EGF) y el factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF-1), y activadores de vías de señalización intracelular particulares, como las mediadas por las quinasas PKC, PKA, MAPK y fosfatidilinositol 3-quinasa. La activación de la vía independiente del ligando está relacionada en gran medida con la fosforilación de los RE por las proteínas quinasas celulares.

2.2 FARMACOCINÉTICA DE ESTRÓGENOS ENDÓGENOS Y EXÓGENOS

2.2.1 GENERALIDADES

Los estudios farmacocinéticos nos permiten interpretar el comportamiento de una molécula que posee propiedades farmacológicas y que ha sido introducida en el organismo.

Esta ciencia particularmente se centra en el estudio de las velocidades en las que ocurren los procesos de absorción, distribución y eliminación del fármaco y cada uno de estos expresados en términos matemáticos.

2.2.1.1 CINÉTICA LINEAL O DE PRIMER ORDEN

La relación que guarda la velocidad de paso de un compartimiento a otro y la concentración de fármaco que no ha sido eliminado es directamente proporcional en este tipo de cinética. La semivida es el tiempo necesario para que la concentración del fármaco se reduzca a la mitad. Al representar de manera gráfica y semilogarítmica en un plano cartesiano la concentración plasmática en el eje de las ordenadas (Y) y el tiempo en el eje de las abscisas (X), se puede apreciar en la cinética de desaparición plasmática de primer orden una relación inversa proporcional con pendiente negativa.

2.2.1.2 CINÉTICA NO LINEAL O DE ORDEN CERO

En este tipo de cinética pueden presentarse dos casos, aquel en el que la velocidad de transferencia es constante e independiente de la concentración, la representación gráfica en un sistema cartesiano de esta cinética es una línea recta mientras que su representación semilogarítmica es una curva convexa.

El otro caso es la cinética dosis-dependiente micelaiana, que es un punto intermedio entre las cinéticas 0 y 1, ya que en concentraciones bajas de fármaco la cinética es de primer orden mientras que a concentraciones altas existe una saturación enzimática o de los sistemas de transporte provocando una acumulación considerable de fármaco dentro de estrechos márgenes de dosificación.

2.2.1.3 ÁREA BAJO LA CURVA (ABC O AUC)

Es la representación gráfica de las variaciones en las concentraciones plasmáticas de un fármaco a lo largo del tiempo. El área total comprendida bajo la curva es un parámetro útil para valorar de forma relativa la cantidad de fármaco que ha sido absorbida desde el sitio de administración.

2.2.1.4 VOLUMEN DE DISTRIBUCIÓN APARENTE (Vd)

Es el volumen aparente (no tiene que ser necesariamente el volumen en el que se disuelve el fármaco) en el que se distribuye un fármaco inmediatamente después de su administración intravenosa.

2.2.1.5 ACLARAMIENTO O DEPURACIÓN (Cl)

El proceso de aclaramiento se define matemáticamente como el producto del volumen de distribución aparente por la constante de eliminación, esto equivale al volumen de sangre o plasma que queda libre de fármaco por unidad de tiempo.

2.2.1.6 BIODISPONIBILIDAD (F)

Es la fracción del fármaco administrado que llega en forma activa y sin metabolizar a la circulación sistémica.

2.2.1.7 INTERACCIONES FARMACOLÓGICAS

En el tratamiento con THR se debe considerar el hecho de que los estrógenos son inhibidores enzimáticos y, por tanto, las concentraciones plasmáticas de determinados fármacos pueden experimentar un incremento. Por vía oral interactúan con antidepresivos tricíclicos, bloqueadores β , benzodiazepinas de metabolismo hepático, corticosteroides, teofilina y ciclosporina. Los antibacterianos de amplio espectro pueden

disminuir la absorción del estrógeno. El efecto hiperglucemiante de los estrógenos puede disminuir la acción antidiabética de los antidiabéticos. Los estrógenos pueden alterar el efecto de los anticoagulantes.

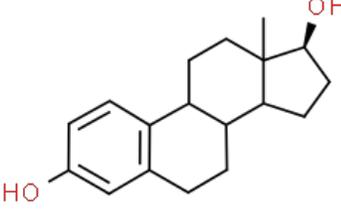
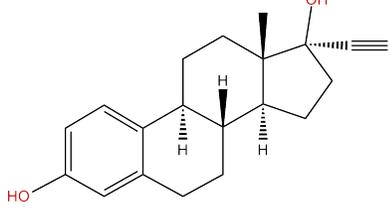
Finalmente, fármacos inductores enzimáticos como carbamazepina, teoilina, fenitoína, griseofulvina y rifampicina pueden disminuir las concentraciones plasmáticas de estrógenos y, por tanto, su eficacia. Según la clasificación de la cual hace uso la Food and Drugs Administration (FDA) para poder establecer directrices sobre la teratogenicidad o no de un medicamento, los medicamentos se clasifican en cinco categorías dependiendo del potencial teratígeno que presenten (A, B, C, D, X). Los estrógenos están considerados dentro de la clasificación "X", es decir, es teratígeno en humanos y sus riesgos superan los posibles beneficios (Cardo, 2002).

2.2.2 VÍAS DE ADMINISTRACIÓN Y PRESENTACIONES FARMACÉUTICAS

Los estrógenos pueden ser administrados por diversas vías, las cuales, como en todos los casos, cuentan con indicaciones específicas, los estrógenos están presentes de manera comercial en varias presentaciones y formas farmacéuticas. Tanto los estrógenos endógenos como los exógenos exhiben propiedades similares (ver tabla 3).

El estradiol se administra como valerianato, 17β -estradiol o estradiol hemihidrato y las vías de administración más comunes son la oral, percutánea, transdérmica e intravaginal. Las tres últimas presentan la ventaja de evitar el efecto de primer paso hepático, por lo que están indicadas cuando existe patología hepatobiliar, elevación de triglicéridos e hipertensión, así como en mujeres tratadas con medicamentos que son inductores enzimáticos (Martín-Aragón & Benedí, 2009). En el caso del estriol, es un estrógeno de acción corta que no produce cambios endometriales siempre que se administre en forma de dosis diaria no fraccionada. La eficacia de las distintas formas disponibles (comprimidos, óvulos, cremas etc.) es similar.

Tabla 3 Características fisicoquímicas de los compuestos químicos con actividad estrogénica

| GRUPO DE PRODUCTOS QUÍMICOS (SUSTANCIAS QUÍMICAS ACTIVAS DE ESTRÓGENO) | ESTRÓGENOS ENDÓGENOS | ESTRÓGENOS EXÓGENOS |
|--|---|---|
| | 17β-estradiol | Etinil estradiol |
| Nombre químico (IUPAC) | (17β)-estra-1,3,5(10)-triene-3,17-diol | 19-nor-17α-pregna-1,3,5(10)-trien-20-yne-3,17-diol |
| Fórmula química | C ₁₈ H ₂₄ O ₂ | C ₂₀ H ₂₄ O ₂ |
| Estructura química Molécula Básica de estrógeno |  |  |
| Masa molecular (g) | 272 | 296 |
| Solubilidad en agua (mg/L) | Prácticamente insoluble en agua 3.90 mg/L a 27 °C | Prácticamente insoluble en agua 11.3 mg/L a 27 °C |
| Coefficiente de partición (octanol/agua) | 4.01 | 3.67 |
| Solubilidad en solventes orgánicos | Soluble en etanol (1 parte de cada 28), cloroformo (1 parte en 435), Dietil éter (1 parte en 150), acetona y dioxano (Budavari 1996, Reynolds 1998) | Soluble en acetona (1 parte en 5), etanol, (1 parte de cada 6), cloroformo (1 parte (1 parte en 20). dioxano (1 parte en 4), dietil éter (1 parte de 4), y aceites vegetales (Budavari 1996, Reynolds 1998) |

Nota. Adaptado de "Pharmaco- and Toxicokinetics of selected exogenous and endogenous estrogens: A review of the data and identification of knowledge gaps" (p. 696), por D.R. Mattison et al. , 2014, *Critical Reviews in Toxicology*, 44 (8).

2.2.2.1 VÍA ORAL

La vía oral es la más utilizada universalmente tanto para los estrógenos conjugados, como el sulfato de estrona que se presenta en concentraciones de 0.625 y 1.25 mg; como para los sintéticos entre los cuales se encuentra el valerianato de estradiol en comprimidos de 2 mg.

La dosis de estradiol oral se ajusta a un intervalo de estradiol sérico de 200 a 300 pg/ml (Tangpricha et al., 2017). En la tabla 4 se puede observar las dosis consideradas como "estándar", "baja" y "ultrabaja" para esta vía de administración.

Liang et al. comunicaron que las dosis de estradiol oral en el intervalo de 2 a 7,5 mg diarios en combinación con espironolactona darán lugar a concentraciones séricas de estradiol entre 50 y 200 pg/ml en mujeres en EEUU.

La hormona al ser ingerida sufre una 17 reducción de estradiol a estrona en la mucosa duodenal, además, los estrógenos orales provocan concentración muy elevada en la circulación enterohepática la cual desencadena en algunas situaciones la alteración del funcionamiento hepático, por este motivo no se debe prescribir esta vía en pacientes con patología hepática y en hipertensos o bien si hay presencia de síntomas vasomotores (para este último caso también se puede emplear la vía transdérmica). La tercera parte de los estrógenos que llegan al hígado se transforman a 3 glucoronido de estrona, compuesto que es eliminado por la bilis y la orina, y sólo las dos terceras partes son activas, razón por la cual los estrógenos orales deben administrarse en mayor concentración que los parenterales, y la relación entre estradiol y estrona es invertida con relación a la mujer en edad media. Dicha inversión no es importante, pues, al final ambos compuestos tienen un efecto benéfico sobre la sintomatología de la menopausia (Escobar, 1994).

La absorción de los estrógenos orales se hace en picos, una hora después de la ingesta, y la concentración que éstos alcanzan cae lentamente hacia las veinticuatro horas. Cuando los estrógenos orales pasan a través del hígado en concentraciones elevadas causan aumento de la globulina transportada de los esteroides sexuales -SHBG-, la globulina transportadora de cortisol y progesterona -trascortina-, y el sustrato de renina; además, éstos aumentan las lipoproteínas de alta densidad -HDL- y disminuyen las de baja densidad -VLDL- y la antitrombina III; este último efecto producido en el hígado es más potente cuando se administran estrógenos sintéticos, tales como etinil estradiol y dietilestilbestrol, los cuales no son utilizados en la terapia de sustitución precisamente por el riesgo que presentan al asociarse con hipertensión y tromboembolismo.

En raras ocasiones los estrógenos orales pueden causar náuseas, vómitos y epigastralgia, por lo cual es necesario suspender el tratamiento o cambiar la vía de administración. Estos fármacos pueden perder su actividad biológica en pacientes que ingieren difenilhidantoína. Para muchos pacientes, las preparaciones orales son la opción natural; pueden tener piel alérgica o no les gusta esparcir geles.

Tabla 4 Terapia hormonal menopausica. Dosis recomendadas

| Dosis | Estradiol oral (mg) | Estrógeno conjugado oral (mg) | Estradiol gel transdérmico (mg) | Estradiol parche (µg) | Tibolona (mg) |
|--------------|---------------------|-------------------------------|---------------------------------|-----------------------|---------------|
| Estándar | 2 | 0.625 | 1.5 | 50 | 2.5 |
| Baja | 1 | 0.45 | 1 | 25 | 1.25 |
| Ultra - baja | 0.5 | 0.30 | 0.75 | 12,5 | 0.625 |

Nota. Clasificación de las dosis de E2 vía oral. Adaptado de "Menopausia y terapia hormonal de la menopausia Las recomendaciones 2018 de la Unidad de Endocrinología Ginecológica de Clínica Alemana de Santiago -Sociedad Italiana de

2.2.2.2 VÍA INTRANASAL

Al administrar estradiol por vía intranasal los resultados son equiparables a los obtenidos al ser administrados por vía transdérmica, la desventaja es que se requieren de dosis sumamente más altas, en 300 mujeres posmenopáusicas, el 17 β -estradiol bajo la dosis de 300 μ g/día fue tan eficaz como dos parches por semana administrando 50 μ g (Al-Azzawi & Buckler, 2003). Las tasas de eventos adversos fueron similares pero moderadas, y la mastalgia grave fue significativamente menos frecuente con estradiol intranasal (7,2%) que con el parche (15,5%).

2.2.2.3 VÍA SUBCUTÁNEA

La duración de acción de un implante subcutáneo va de 4 a 12 meses y esto a su vez está en función de la dosis y la formulación particular que se haya empleado, dicha forma farmacéutica puede presentar problemas técnicos como la desintegración o la migración del implante (French et al., 2000).

2.2.2.4 PARCHES TRANSDÉRMICOS

La dosis común para esta forma farmacéutica es de 50 microgramos, mientras que el período de lavado del estradiol después de la administración transdérmica es de aproximadamente 6 semanas, según números registrados, los casos por reacciones cutáneas adversas provocadas por parches transdérmicos de estradiol van del 2% a más del 25% dependiendo de factores como el sistema transdérmico, las condiciones climáticas y la sensibilidad individual en cada paciente (PI et al., 2001), la mala adherencia y la irritación de la piel, con eritema y prurito, son los principales inconvenientes de la terapia transdérmica.

2.2.2.5 VÍA VAGINAL

Se sabe que el estriol y la estrona (el componente principal de los estrógenos conjugados) en dosis que no provocan afecciones endometriales o sistémicas, actúan principalmente en la parte inferior del tracto genital, y se han empleado en el alivio de complicaciones en esta zona. La vía vaginal se utiliza para la aplicación de los estrógenos cuya presentación son cremas o en pesarios de liberación continua.

La absorción vaginal es más rápida que la oral, pero se requiere una dosis mayor de hormona, pues, 1.25 mg de estrógenos conjugados por vía vaginal equivale a 0.625 mg por

vía oral. Además, esta vía tiene la ventaja de que el estradiol no se metaboliza a estrona, por lo cual la relación entre estradiol y estrona es mayor de uno.

La absorción del estrógeno por vía vaginal es pobre durante la primera semana, pero mejora de la segunda en adelante como consecuencia del mayor trofismo y la mayor vascularización; además, esta absorción se aumenta cuando el estrógeno se disuelve en solución salina que cuando se hace en aceite.

Otra alternativa eficaz al uso de estrógenos débiles es la administración de estradiol a partir de un anillo vaginal liberador de estradiol, que ofrece eficacia, seguridad y tolerabilidad con mayor comodidad y aceptabilidad. Los eventos adversos más frecuentes fueron vaginitis, sensibilidad en las mamas, dolor abdominal, prurito y malestar vaginal (Bachmann, 1998). Estos anillos de silicona se impregnan en estradiol, los cuales se aplican y extraen fácilmente; en la vagina éstos liberan cerca de 0.2 mg de estradiol en un día.

Con las cremas vaginales, utilizadas principalmente para asegurar un efecto local marcado en la detención de la atrofia de la vulva y la vagina, el grado de efecto sistémico puede ser variable, debido a las variaciones de un día a otro en la vascularización y secreciones vaginales (Jewelewicz, 1997).

2.2.2.6 OTRAS VÍAS

Además de las vías para la administración de estrógenos anteriormente detalladas, existen otras que, aunque se emplean en la terapéutica médica, no se utilizan en la terapia de sustitución hormonal porque son hormonas de acción prolongada y en la terapia de sustitución es necesario fármacos de acción corta y aplicación diaria. Tal es el caso de las vías intramuscular e intravenosa; así, preparados como el hexahidroxibenzoato de estradiol conocido comercialmente como Menodin RetardR® de 5 mg y de acción retardada, y el valerianato de estradiol, el cual comercialmente es el Progynon Depot® de 10 mg se aplican por vía intramuscular cada quince a treinta días.

Los estrógenos conjugados como el Ayerogen® de 25 mg son de acción corta, por lo cual se utilizan en caso de hemorragia uterina disfuncional y no se usan en la terapia de sustitución.

La vía sublingual está en investigación. Además, la vía subdérmica es útil para la administración de estrógenos en forma de microcristales de liberación lenta o pelettes.

Al tratar de homologar las mediciones registradas de cada parámetro farmacocinético que han sido publicados en estudios actuales podemos darnos cuenta que este proceso es muy complejo no tan solo porque la farmacocinética que exhibe cada compuesto químico con actividad estrogénica es variable en cada uno, sino porque dichos estudios presentan

diferencias en las condiciones experimentales tales como la selección del modelo de estudio, las dosis y concentraciones en las que se prepara la hormona, formas farmacéuticas, tipos de compuestos administrados, si son administrados en compañía de otros o solos, tiempo de exposición, estrategia de muestreo, control de covariables etc. (Mattison et al., 2014).

En la presente tesis se describe el estado farmacocinético actual de compuestos estrogénicos endógenos y exógenos, dando a evidenciar los niveles variables de exposición humana (ver tabla 4)

- **Estrógeno endógeno:** E₂, el estrógeno endógeno más activo producido predominantemente por el ovario en mujeres premenopáusicas
- **Estrógeno exógeno o Farmacéutico:** Etinilestradiol, un derivado de E₂ utilizado en anticonceptivos y terapia de reemplazo hormonal (TRH)

Debido a que la principal vía de administración y más empleada por agentes terapéuticos es la oral, se muestra a continuación la situación actual de la farmacocinética de dichos compuestos (Morgan et al. 2011).

Como ya se mencionó anteriormente, dentro de los estrógenos endógenos figuran el E₂ siendo el estrógeno circulante más activo en mujeres premenopáusicas, E₁ que es el estrógeno primario en el caso de las mujeres postmenopáusicas y ambos son sintetizados en el ovario, y el E₃ (estrógeno menos potente en el suero de mujeres premenopáusicas sanas, producido en gran cantidad por la placenta y, a diferencia de E₁, no se convierte a E₂ (Kuhl, 2005) que se forma a través de la 16 α -hidroxilación de E₁ y E₂ (Speroff et al. 1999), también podemos encontrar metabolitos y conjugados hidroxilados (Kuhl, 2005).

2.2.3 FARMACOCINÉTICA DE ESTRÓGENOS ENDÓGENOS

2.2.3.1 ABSORCIÓN Y DISTRIBUCIÓN

Posterior a la administración y absorción oral, el E₂ se distribuye en todo el plasma de forma "libre" hasta que se une de manera reversible a una proteína, la globulina de unión a hormonas sexuales (SHBG) y a la albúmina (Stanczyk et al., 2012). Las proporciones en las que E₂ se une a dichas proteínas depende de la etapa reproductiva en la que cada mujer se encuentra, para las mujeres premenopáusicas E₂ en la sangre se une a la albúmina sérica (~60%) con baja afinidad y a la SHBG (~35%) con alta afinidad, con aproximadamente 1% - 5% en la forma "libre" (Fortunati et al., 2010).

Estas diferencias de afinidades son las que permiten ejercer o restringir los efectos estrogénicos del E₂, en el caso de la unión con albúmina esta baja afinidad permite que E₂ pueda disociarse en E₂ libre dando como resultado una cantidad de hormona unida a la albúmina capaz de ejercer un efecto (Stanczyk et al., 2012) caso contrario sucede con la unión entre E₂ y SHBG, al tener una afinidad mayor se restringe la fracción libre de E₂ en plasma que se considera la fracción biológica y farmacológicamente activa contribuyendo con un papel significativo en el transporte, distribución del esteroide y reducción de la tasa de degradación hepática de E₂.

Se tiene evidencia de que el tratamiento oral con E₂ aumenta el nivel sérico de SHBG, resultando en una reducción de la fracción de E₂ libre (Stanczyk et al., 2012). Tanto las fracciones "libres" como las unidas a la albúmina de E₂ están disponibles para un mayor metabolismo y absorción de tejidos (Pardridge & Mietus, 1979).

La absorción oral y la actividad biológica de los estrógenos naturales puede ser aumentada en la forma de sal, tal como el valerianato de estradiol, que le permite a la hormona ser más estable. Otros compuestos hacen que el estradiol se libere lentamente cuando se libera en varias horas, mientras que el valerianato y el undecilato se demoran hasta veinte días.

2.2.3.2 BIOTRANSFORMACIÓN

La mayor parte de E₂, aproximadamente más del 95%, administrado por vía oral es transformado por diferentes vías metabólicas como 2-hidroxilación, 16 α -hidroxilación, sulfatación y glucuronidación en el hígado en numerosos productos de biotransformación oxidativos y conjugados. Un 15% se transforma de E₂ a E₁ a través de la acción de la hidroxisteroide deshidrogenasa altamente activa (17 β -HSD tipo 2), que se expresa en el tracto gastrointestinal, así como en otros órganos y tejidos (Stanczyk et al. 2012).

Se ha demostrado que tras la administración oral en mujeres posmenopáusicas de 1 mg de E₂ que ha sufrido previamente una micronización se obtuvieron concentraciones séricas de 30-50 pg/mL, mientras que el rango correspondiente de concentraciones de E₁ fue de 150-300 pg/ml (Stanczyk et al. 2012). Alrededor del 25 % del E₂ administrado se metaboliza a sulfato de estrona (E₁S), que a su vez no tiene actividad biológica (Mattison et al., 2014).

2.2.3.3 BIODISPONIBILIDAD

La biodisponibilidad de E₂ como producto terapéutico oral es bastante baja; cuando se usa por vía oral, se metaboliza rápidamente en el intestino y el hígado con solo alrededor del 5% de la dosis administrada disponible como E₂ circulante.

Se ha demostrado que el E2 micronizado (proceso mediante el cual se obtiene el fármaco en partículas pequeñas que permiten una absorción rápida en el intestino, sin ser metabolizado en tan altas proporciones) se absorbe de manera más eficiente que la forma cristalina (con las respectivas concentraciones hepáticas aproximadamente cuatro veces más altas en comparación con la sangre periférica) (Kuhl et al. 2005). Como resultado, los efectos adversos de la E2 administrada por vía oral sobre el metabolismo hepático, los cambios en los niveles de lípidos y lipoproteínas y los perfiles de coagulación sanguínea son mucho mayores que los observados con otras vías de administración (tópica, subcutánea, vaginal, intrauterina), lo que evita exponer al hígado a altas concentraciones que resultan de la absorción gastrointestinal y el paso por el hígado.

2.2.3.4 ELIMINACIÓN

Existen factores que influyen en la disponibilidad de E2 como son la vía de administración, el sexo y la edad.

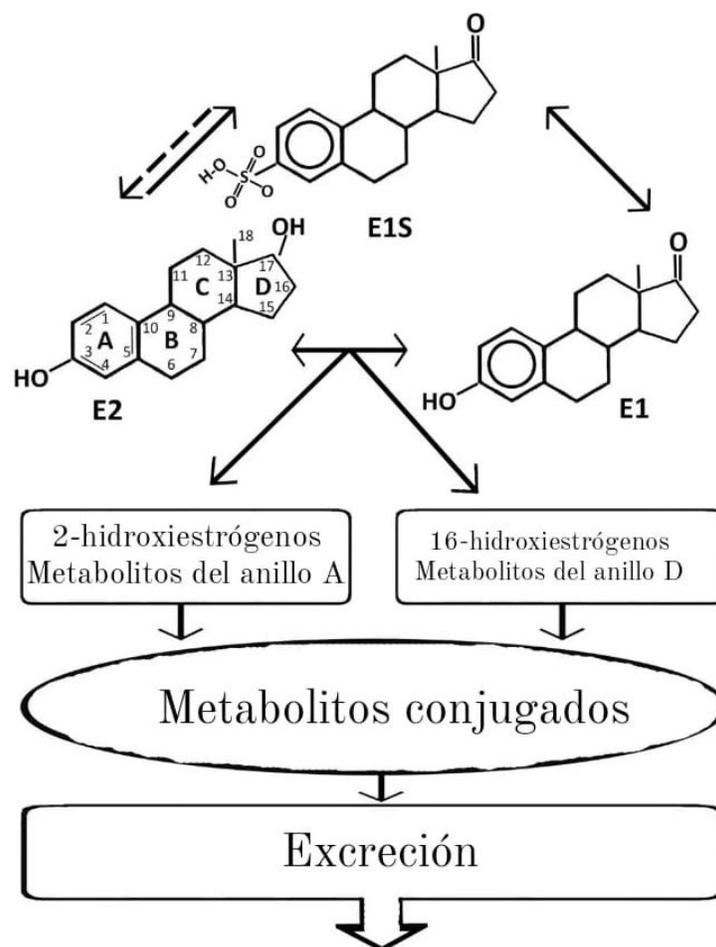
Según un estudio, los resultados más sobresalientes fueron, para una infusión de 2 horas de E2 la tasa de aclaramiento metabólico (MCR) de E2 fue significativamente inferior a la MCR de E1 ($p < 0,05$). Por otra parte los resultados en hombres fueron mayores que en mujeres, este resultado no se observó con E1 (Mattison et al., 2014).

En el caso de las edades, la tasa de aclaramiento de E2 en mujeres pre y post menopáusicas son similares, pero la E2 se metaboliza más rápidamente en la etapa temprana frente a la tardía de la menopausia (Hembree et al., 1969). Estas diferencias en cuanto a la disposición de E2 a lo largo de las etapas desde la más reproductiva hasta la menos reproductiva puede explicar, en parte las respuestas fisiológicas observadas en el WHI entre las mujeres posmenopáusicas tempranas y tardías (Turgeon et al., 2004).

Los estrógenos endógenos (E1, E2 y E3) y sus conjugados de glucurónido y sulfato se excretan en las siguientes proporciones, en la bilis (~6%) y en la orina (~54%) (Stanczyk et al., 2012).

La recirculación enterohepática de E2 y E1 como se muestra en la figura 4, retrasa su eliminación del cuerpo, con el rango de semividas de eliminación terminal de alrededor de 13 a 20 h (Stanczyk et al. 2012). Los principales estrógenos urinarios incluyen E1: 13,5-29,7 %, E2: 5,2-10,3 %, E3: 2,0-5,9 %, 16 α -hidroxiestróna (16 α -OH-E1): 1,0-2,9 %; 2-hidroxiestróna (2-OH-E1): 2,6-10,0 %, 2-hidroxiestradiol (2-OH-E2): 0,58-1,44%, 2-metoxiestróna (2-M-E1): 0,36-2,42 %, 2-metoxiestradiol (2-M-E2): 0,05-1,13 % (Longcope et al., 1985).

Figura 4 Vías metabólicas del estradiol (E₂) y la estrona (E₁)



Nota. El metabolismo de E₂ implica el metabolismo a través de E₁ en el sulfato de estrona (E₁S) o irreversiblemente en las vías de 2-hidroxiestrógenos del anillo A (estrógenos de catecol) o en las vías de 16-hidroxiestrógenos del anillo D (estriol y epiestriol). Estos metabolitos se conjugan y excretan. Adaptado de "Pharmac- and Toxicokinetics of selected exogenous and endogenous estrogens: A review of the data and identification of knowledge gaps" (p. 704), por D. R. Mattison, 2014, *Critical Reviews in Toxicology*, 44(8).

2.2.4 FARMACOCINÉTICA DE ESTRÓGENOS EXÓGENOS

2.2.4.1 ABSORCIÓN Y DISTRIBUCIÓN

Un representante muy significativo dentro del grupo de los estrógenos exógenos es el etinilestradiol, este compuesto es un derivado semisintético de E₂, este resulta de la introducción de un grupo etinilo en el C17 α en la molécula de E₂, esto da origen a un estrógeno potente y oralmente activo, este compuesto es más resistente frente al metabolismo o a la inactivación que el E₂ (Kuhl, 2005).

Posterior a la ingesta de 30 µg de etinilestradiol se alcanzan los niveles plasmáticos máximos dentro de 1 a 2 horas, esto pone de manifiesto la absorción rápida de este compuesto (Boyd et al., 2003; Stanczyk et al., 2013).

Un caso particular de este compuesto es cuando se presenta un pico secundario tras la administración vía oral, este se puede observar de 10 a 14 h como consecuencia de la recirculación enterohepática (Stanczyk et al. 2013).

En promedio la biodisponibilidad oral del etinilestradiol es de aproximadamente el 45%, con un porcentaje del 20%-65% en cuanto a factores que generan gran variabilidad inter e intraindividual (Orme et al., 1989) atribuibles al nivel y la actividad del citocromo P450 (CYP 3A4) y al alcance de la 2-hidroxilación del etinilestradiol (Goldzieher & Stanczyk, 2008).

Aunque en un estudio (Hi et al., 2000) se han observado aumentos casi del doble en las concentraciones de etinilestradiol posteriores a 1 año de tratamiento (que contiene etinilestradiol/drospirenona).

2.2.4.2 DISTRIBUCIÓN

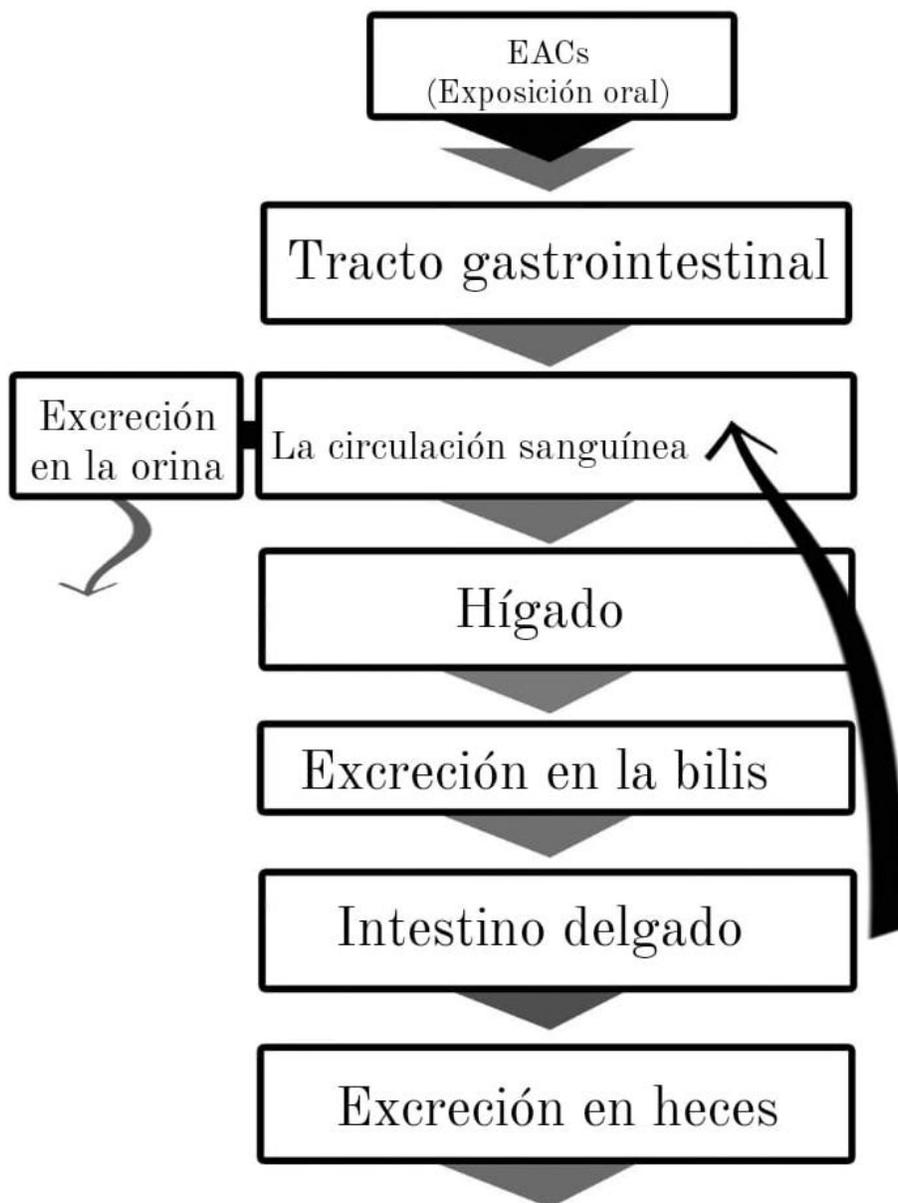
El etinilestradiol no se vincula a la globulina fijadora de hormonas sexuales (Stanczyk et al. 2013). Después de la ingestión y absorción oral, etinilestradiol circula en la sangre principalmente como conjugados y metabolitos oxidativos de etinilestradiol.

2.2.4.3 BIOTRANSFORMACIÓN

El grupo etinilo en el C17 del compuesto etinilestradiol juega un papel importante en el metabolismo ya que este grupo representa un obstáculo estérico, bloqueando de esta forma la vía de hidroxilación 16α (Hilz, 2022), para este caso entra en juego la 2-hidroxilación de etinilestradiol a diferencia de lo que sucede en E₂, siendo esta vía la más importante.

La etinilestradiol se conjuga rápidamente en parte con los glucurónidos etinilestradiol (EE-3-glucurónido [EE3G] y EE-17-glucurónido [EE17G]), ambos son biológicamente inactivos, y con los sulfatos EE (EES) y el sulfato EE-17 (EE17S). La etinilestradiol se puede desconjugar parcialmente a etinilestradiol durante la recirculación enterohepática como se puede observar en la figura 5 lo que lleva a una contribución aproximada del 12-20 % al etinilestradiol no conjugado circulante (Goldzieher & Stanczyk, 2008; Mattison et al., 2014). Se cree que este proceso aumenta en cierta medida la eficacia terapéutica del etinilestradiol.

Figura 5 Circulación enterohepática



Nota. Después de la administración oral, los productos químicos activos endocrinos (EAC) metabolizados en el hígado se excretan en la bilis hacia la luz del intestino (donde las bacterias intestinales desconjugan algunos de los conjugados liberando el EAC libre). Luego se reabsorben a través de la mucosa intestinal y regresan al hígado a través de la circulación portal. Adaptado de "Pharmac- and Toxicokinetics of selected exogenous and endogenous estrogens: A review of the data and identification of knowledge gaps" (p. 705), por D. R. Mattison, 2014, *Critical Reviews in Toxicology*, 44(8).

2.2.4.4 ELIMINACIÓN

En promedio el tiempo de vida de etinilestradiol va entre 5-30 h (Mattison et al., 2014). Las principales vías por las que aproximadamente el 62% del etinilestradiol total junto con sus productos de biotransformación son las heces y alrededor del 38% en la orina (Stanczyk et al. 2013).

Los porcentajes entre los que se dividen los principales productos de biotransformación son los glucurónidos ocupando el mayor porcentaje (alrededor del 80%), seguido de los sulfatos (alrededor del 8% al 10%); por otra parte entre el 6% y el 9% del etinilestradiol no conjugado se excreta en la orina y heces, respectivamente (Stanczyk et al. 2013). En la bilis, las formas predominantes de EE son los glucurónidos etinilestradiol y con los sulfatos.

Las diferencias en los porcentajes de las vías de eliminación dan a mostrar que tanto el E2 como el etinilestradiol difieren en las vías de eliminación tras la administración oral (Stanzky et al. 2013).

2.2.4.5 MECANISMO DE ACCIÓN

El etinilestradiol ejerce sus efectos terapéuticos mediante el mismo mecanismo que E2 (Stanczyk et al. 2013). El etinilestradiol es mucho más activo que el E2 debido a la capacidad del grupo etinilo en C17 α para prevenir la oxidación del grupo 17 β -hidroxi e inhibir irreversiblemente las enzimas CYP, que están involucradas en el metabolismo de etinilestradiol (Kuhl, 2005). Debido al efecto rápido de primer paso y a la baja biodisponibilidad en comparación con etinilestradiol, se requieren dosis más altas de E2 oral para lograr los mismos efectos biológicos que etinilestradiol (Stanczyk et al. 2013).

2.3 MENOPAUSIA

2.3.1 GENERALIDADES

La menopausia puede definirse como el término del ciclo fisiológico de menstruación y función ovárica, cesando definitivamente la capacidad reproductiva debido al agotamiento total de la reserva folicular ovárica (Pérez, 2002) y suele reconocerse tras 12 meses consecutivos de amenorrea sin causas patológicas, por lo que el diagnóstico es siempre retrospectivo. El estudio de Maitrot-Mantelet et al. (2013) describe la menopausia como un estado fisiológico programado genéticamente, secundario a la interrupción del funcionamiento ovárico y a la carencia estrógenica resultante. La postmenopausia es el período posterior a estos 12 meses de amenorrea espontánea.

La menopausia o última menstruación ocurre en promedio a los 46 años, aunque cabe mencionar que existen estudios en los que se evidencia la variación en la edad media de la menopausia natural según la población bajo estudio, ejemplo de lo expresado anteriormente se confirma al observar los resultados obtenidos en un estudio de cohorte prospectivo grande (documentado por el investigador, se analizó la ocurrencia del evento en tiempo venidero en la población en estudio, la exposición y resultado se valoraron de

manera concurrente, y la calidad de las mediciones fue controlada por los investigadores) y completo de mujeres estadounidenses caucásicas de mediana edad (el Massachusetts Women's Health Study [MWHS]), la menopausia natural se produjo a los 51.3 años de edad (Mckinlay, 1985) mientras que el estudio de la Salud de la Mujer en toda la Nación (SWAN), un estudio de cohorte multicéntrico multiétnico basado en la comunidad de mujeres y la transición menopáusica, informó que la media general de edad en la menopausia natural era de 52.5 años, después del ajuste por otros factores (Gold et al., 2013), a esta lista se suman estudios realizados fuera de los Estados Unidos que han dado a mostrar que los africanos, afroamericanos, e hispanos de ascendencia mexicana experimentan la menopausia a una edad más temprana que las mujeres caucásicas, a diferencia de las mujeres japonesas y malasias, que reportan una edad media de menopausia similar a la de las mujeres de ascendencia europea (FMedSc et al., 2022). En México se ha visto que en promedio aparece a los 48 años mientras que el promedio de edad de la menopausia en Francia, por ejemplo, es de 51 años (Maitrot-Mantelet et al., 2013).

Para los casos en los que la menopausia se produce antes de los 40 años, se habla de insuficiencia ovárica prematura (OIP), para este caso la terapia hormonal de reemplazo tiene indicaciones específicas.

Para diferenciar de manera adecuada las etapas con las que la menopausia se ve relacionada se pueden agregar otros dos periodos que suelen ser muy similares entre sí o que incluso para algunos autores suelen ser el mismo.

Climaterio: Período de tiempo durante el cual se pasa de la vida reproductiva a la posreproductiva, y que puede iniciarse 2-8 años antes de la fecha de la menopausia y finalizarse 2-6 años después de esta.

Perimenopausia o premenopausia: Período que precede inmediatamente a la interrupción definitiva de las menstruaciones, comienzan las manifestaciones endocrinológicas, biológicas y clínicas, indicativas de que se aproxima la menopausia. Suele comenzar después de los 40 años.

Como ya se mencionó anteriormente para que las menstruaciones cesen de forma permanente es necesario el agotamiento total de la reserva folicular ovárica, que es precisamente lo que ocurre durante la premenopausia de manera progresiva hasta llegar a la insuficiencia estrogénica (Maitrot-Mantelet et al., 2013).

En la 12va semana de vida intrauterina contamos con 12 millones de folículos, al nacer, quedan 1 millón, en la pubertad 400,000, y para los 38 años habrán disminuido a 35,000.

Cabe mencionar que no hay nada que pueda frenar la velocidad de pérdida folicular (Maitrot-Mantelet et al., 2013).

Para la menopausia la disminución de E₂ queda por debajo de 30 pg/mL. Las gonadotropinas LH y FSH están muy elevadas, debido a la retroalimentación negativa del estradiol, con predominio de la FSH (FSH > 40 UI/l).

2.3.2 SÍNDROMES FISIOPATOLÓGICOS

La carencia de estrógenos es la responsable de la mayoría de los signos funcionales, físicos y metabólicos que se producen en la menopausia. Los síndromes, aparición, duración, intensidad o el impacto que ejercen sobre la calidad de vida varían mucho en cada mujer.

- **Síndrome climatérico.** Pueden presentarse trastornos vasomotores como las oleadas de calor diurnas y/o nocturnas, síntomas neuropsíquicos como el insomnio, trastornos del estado de ánimo, irritabilidad, disminución de la libido, depresión, ansiedad, alteraciones cutaneomucosas como sequedad vaginal, disuria, fragilidad de las mucosas estenosis del cérvix, incontinencia urinaria, alopecia moderada y signos específicos como astenia, frialdad, artralgias, mialgias, aumento del peso y de la masa adiposa.
- **Coronariopatía y enfermedad cardiovascular.** Después de la menopausia el riesgo a enfrentar enfermedades cardíacas coronarias se iguala al de los hombres, siendo esta la principal causa de muerte en mujeres mayores de edad. Aumenta el riesgo de enfermedad cardiovascular, ya que en el hígado la disminución estrogénica favorece una disminución del colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad (HDL) y del catabolismo del ligado a lipoproteínas de baja densidad (LDL); también se ha visto que existe mayor resistencia a la insulina. Además, los estrógenos favorecen la liberación de óxido nítrico y prostaciclina, por lo que favorecen indirectamente la vasodilatación (Pérez, 2002). Todo esto contribuye a la aparición de aterosclerosis, sobre todo si existen otros factores de riesgo cardiovascular, que deben buscarse de forma sistemática.
- **Osteoporosis.** Pérdida de densidad mineral ósea. Los estrógenos inhiben la resorción ósea y aumentan la liberación del factor de crecimiento transformante-beta en los osteoblastos, esto ayuda en gran manera en el proceso de reabsorción ósea por lo que se requiere de estrógenos para la los estrógenos para la regulación del calcio sérico (Baffet et al., 2015)

- **Genitourinarios.** Al no haber estrógenos no hay formación de todas las capas celulares de epitelio vaginal; además hay disminución de colágeno, vascularización y secreción, esto provoca fragilidad de las mucosa vaginal, alcalinización del pH y lubricación deficiente. Todos estos cambios conducen a la atrofia urogenital, que va a provocar sequedad y prurito vaginal, dispareunia, disuria, urgencia miccional e incontinencia urinaria (Jiménez & Rincón, 2018).

2.3.3 EFECTIVIDAD DEL USO DE LA TERAPIA DE REEMPLAZO HORMONAL

En el estudio de Baber et al. (2016) se afirma que el tratamiento más eficaz a cualquier edad para el alivio de los síntomas vasomotores asociados con la menopausia y la osteoporosis posmenopáusica (De Villiers et al., 2013) es la terapia de reemplazo hormonal (TRH) que además puede mejorar la calidad de vida. En Europa en 2010 se aprobó por primera vez como terapia de sustitución hormonal combinada (TRH) la administración oral a baja dosis de 17β -estradiol (E: 0.5 mg) y de didrogesteron (D: 2.5 mg) (Femoston-conti®), esto como resultado de datos de eficacia y seguridad de un estudio doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo de 52 semanas y datos de un estudio de seguridad endometrial abierto de 52 semanas (Tsiligiannis et al., 2020). Según el estudio de seguridad registrado en el trabajo de Tsiligiannis et al. (2020), se pudo demostrar que las dosis bajas de Estrogenos/Didrogesteron protegen eficazmente el endometrio en mujeres posmenopáusicas, los resultados de dicho análisis confirmaron el efecto constante del tratamiento sobre los síntomas vasomotores y el perfil de seguridad favorable a dosis bajas de 17β -estradiol y didrogesteron en diferentes subgrupos de pacientes.

Otros análisis también han apoyado la idea de que la terapia hormonal que contiene estrógenos ejerce un ligero efecto protector en mujeres que comienzan a usarla poco después del inicio de la menopausia (Sánchez-Guerrero et al., 2001).

Algunos autores más consideran que la terapia de reemplazo hormonal (TRH) es el tratamiento más eficaz del síndrome climatérico, si bien la terapia hormonal menopáusica ha ganado cierto grado de negatividad en las últimas décadas, su valor en el tratamiento de los síntomas vasomotores incapacitantes aún es indiscutible según lo afirma Maas (2021) en su escrito.

Tomando en cuenta que hay variaciones individuales o grupales de respuesta clínica, que obligan de cierta forma a "individualizar" la TRH, es necesario tomar en cuenta algunas pautas determinantes para quienes hacen uso de este tratamiento como el tiempo, los síntomas existentes y la necesidad de prevenirlos, la edad, antecedentes personales y familiares, vía de su administración, etc.

2.3.4 EFECTOS ADVERSOS EN LA TERAPIA DE REEMPLAZO HORMONAL

El hecho contundente en mujeres que han desarrollado algunos tipos de cáncer relacionados con el uso de la terapia hormonal de reemplazo ha sido motivo suficiente para investigar de manera constante y permanente los riesgos que conlleva el empleo de dicho tratamiento.

Según la tendencia de los casos más recientes, se puede resaltar que la exposición por largo tiempo o las concentraciones elevadas de estrógenos han estado relacionadas con un riesgo mayor de cáncer.

Tras la publicación de los resultados del ensayo aleatorio Women's Health Initiative (WHI) en los Estados Unidos en 2002 (Chen, 2008) donde con un seguimiento medio de 5.6 años, hubo un aumento del 24% en el riesgo de cáncer de mama invasivo con estrógenos equinos conjugados y acetato de medroxiprogesterona en comparación con el placebo (IC del 95%: 1,10-1,54, $P = 0,003$) y poco después del estudio observacional Million Women's Study del Reino Unido (Gray, 2003), un número considerable de organizaciones profesionales en todo el mundo optaron por determinar el modo de empleo de la terapia y recomendaron el uso de la misma a corto plazo. Estos hallazgos sustentan de manera convincente la relación que existe entre la terapia combinada de estrógeno y progestágeno y el aumento del riesgo de cáncer de mama en comparación con aquellas preparaciones que contienen solo estrógeno, es decir, la terapia con estrógeno solo, pareciera no estar asociada o estar débilmente asociada con el riesgo de cáncer de mama según lo expresan en determinados estudios (Román et al., 2015).

Por otra parte, en estudios como el de Román et al. (2015), hacen mención sobre el desconocimiento en gran medida que existe sobre el efecto que tienen las diferentes formulaciones, preparaciones, dosis e incluso vías de administración, en el aumento de riesgo de cáncer de mama, pero independientemente de este hecho, es necesario tomar en cuenta que la aplicación de estrógenos solos o acompañados tienen efectos adversos, por

lo que, en todos los regímenes de tratamiento hormonal, resulta prudente mantener dosis bajas y duración breve.

Algunos de los riesgos con significancia estadística que se encuentran registrados derivados del uso de la terapia hormonal son las cardiopatías coronarias, esto aplica tanto en mujeres sanas como en aquellas con cardiopatías coronarias preexistentes, el riesgo se eleva en mayor grado en aquellas mujeres tratadas con estrógeno/gestágeno, por el contrario, en aquellas tratadas solo con estrógenos y sanas, el riesgo no se eleva (Manson et al., 2014). A la lista se agregan los accidentes cerebrovasculares, enfermedades de la vesícula biliar (Cirillo, 2005) como colecistitis y colelitiasis, e incontinencia urinaria (Gartlehner et al., 2017).

Cabe señalar que no hay que perder de vista que el estudio de estrógenos a bajas dosis ha cobrado interés significativo a raíz de estudios publicados, puesto que es una opción viable para la reducción de efectos adversos como terapia de reemplazo estrogénico. Tal es el caso de análisis como el de Porcile et al. (2003), donde se concluye que después de recabar información y los resultados de los numerosos informes, especialmente aquellos relacionados con los estudios HERS y HERS II y WHI que comentan sobre los hallazgos más recientes para ese año publicados en relación a la terapia hormonal de reemplazo se puede confirmar como razonable el uso de la terapia hormonal para mujeres climatéricas, esto a dosis de estrógenos más bajas que las clásicas, permitiendo de esta forma la disminución de riesgos y con incrementos significativos en la calidad de vida usufructuando de los beneficios que se han demostrado.

3.OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar la dosis mínima de 17β -estradiol para alcanzar niveles similares a la etapa proestro mediante el uso de curvas farmacocinéticas y la técnica de ELISA con la finalidad de disminuir la dosis para la terapia de reemplazo estrogénico en la ovariectomía.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Realizar frotis vaginal para la identificación de las diferentes etapas del ciclo estral en ratas Wistar hembras.
2. Obtener muestras de sangre completa de la vena caudal en ratas Wistar hembras a diferentes tiempos.
3. Preparar solución de 17β -estradiol, EDTA y solución salina.
4. Realizar los cálculos posológicos necesarios para la obtención del volumen correcto a administrar de 17β -estradiol en ratas Wistar hembras.
5. Realizar la cirugía de ovariectomía bilateral en ratas Wistar hembras de 12 semanas y 1 año de edad.
6. Administrar 17β -estradiol en dosis de $3 \mu g/kg/día$, $5 \mu g/kg/día$ y $10 \mu g/kg/día$ en ratas Wistar hembras de 12 semanas y 1 año de edad.
7. Emplear la técnica de ELISA en muestras séricas y tisulares en la cuantificación de 17β -estradiol.
8. Realizar curvas tiempo VS concentración 17β -estradiol y su interpretación.

4.JUSTIFICACIÓN

La eficacia que la terapia hormonal de reemplazo ha mostrado tener como opción de tratamiento y prevención para algunos eventos asociados con la menopausia ha sido comprobada cada vez con mayor frecuencia, sin embargo, estudios realizados se han centrado en los posibles efectos adversos como resultado del empleo de dicho tratamiento, entre éstos los más estudiados son el cáncer de endometrio, cáncer de mama, tromboembolismos venosos, accidentes cerebrovasculares (ACV) y eventos coronarios. Si bien en algunos casos el grado de asociación entre el tratamiento y estos efectos adversos es controvertido, está presente el caso de aquellos efectos en donde los estrógenos inducen estimulaciones directamente relacionadas con la dosis administrada. Actualmente

no contamos con un número significativo de estudios que hayan logrado estandarizar la dosis en la que los estrógenos deben ser administrados, sin embargo, se ha demostrado que aun con el empleo de dosis bajas es posible aliviar los síntomas asociados a la menopausia como los síntomas vasomotores, climatéricos, enfermedades cardiovasculares, osteoporosis etc., es decir, los efectos son casi equiparables a los de las dosis comúnmente administradas. Es por eso que es fundamental encontrar la dosis mínima efectiva hormonal que permita mantener la calidad de vida en la población femenina y aliviar las complicaciones asociadas a la menopausia.

5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la dosis mínima efectiva de 17β -estradiol que debe ser administrada en rata Wistar hembra joven y adulta ovariectomizada para alcanzar las concentraciones de estrógenos equiparables en la etapa proestro?

6. HIPÓTESIS

Al administrar dosis de 17β -estradiol menores a las convencionales (de $0.03 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ hasta los $100 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$) en ratas ovariectomizadas, es posible alcanzar concentraciones similares a las fisiológicas durante la etapa de proestro.

7. MATERIALES Y MÉTODO

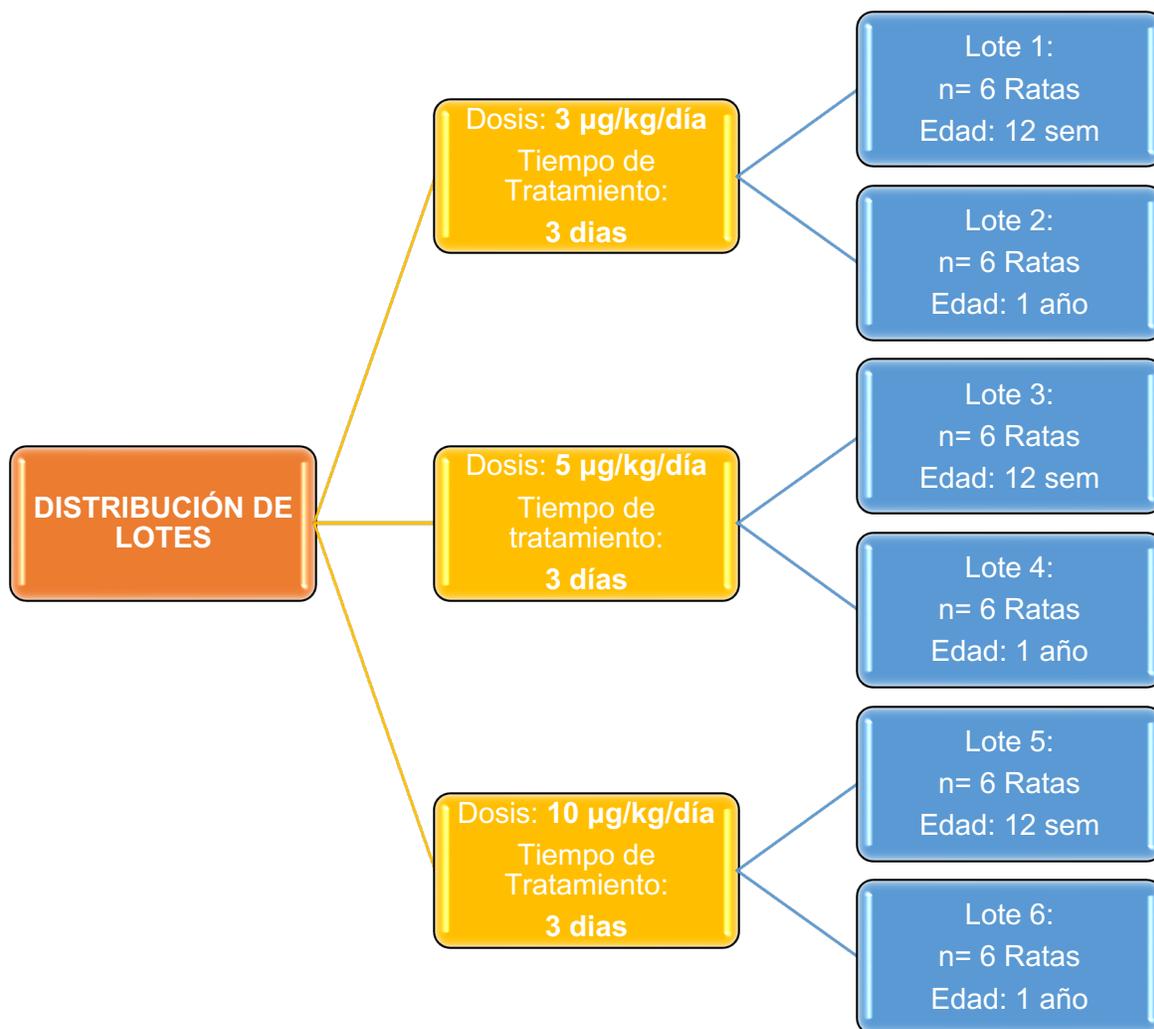
7.1. PROTOCOLO EXPERIMENTAL

7.1.1. DISTRIBUCIÓN DE LOTES

Tomando en cuenta que las ratas alcanzan la madurez sexual alrededor de las seis semanas de edad (Andreollo et al., 2012), el experimento se llevó a cabo en 18 ratas Wistar hembras de 12 semanas de edad (ratas jóvenes) y 18 ratas de 1 año de edad (ratas adultas). Los grupos fueron distribuidos de la siguiente manera: el grupo 1 ($n= 6$, ratas jóvenes dosis de $3 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$), grupo 2 ($n= 6$, ratas jóvenes dosis de $5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$), el grupo 3 ($n= 6$, ratas jóvenes dosis de $10 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$), grupo 4 ($n= 6$, ratas adultas dosis de $3 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$), grupo 5 ($n= 6$, ratas adultas dosis de $5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$) y grupo 6 ($n= 6$, ratas adultas dosis de $10 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$).

El modelo animal para la simulación de la menopausia en los dos grupos de edades distintas (joven y adulta) fue la ovariectomía (Costa-Beber et al., 2021), por lo que en todas las ratas se provocó el mismo efecto al ser sometidas a la cirugía, una reducción en los niveles de 17β -estradiol (E_2).

Figura 6 Distribución de lotes experimentales



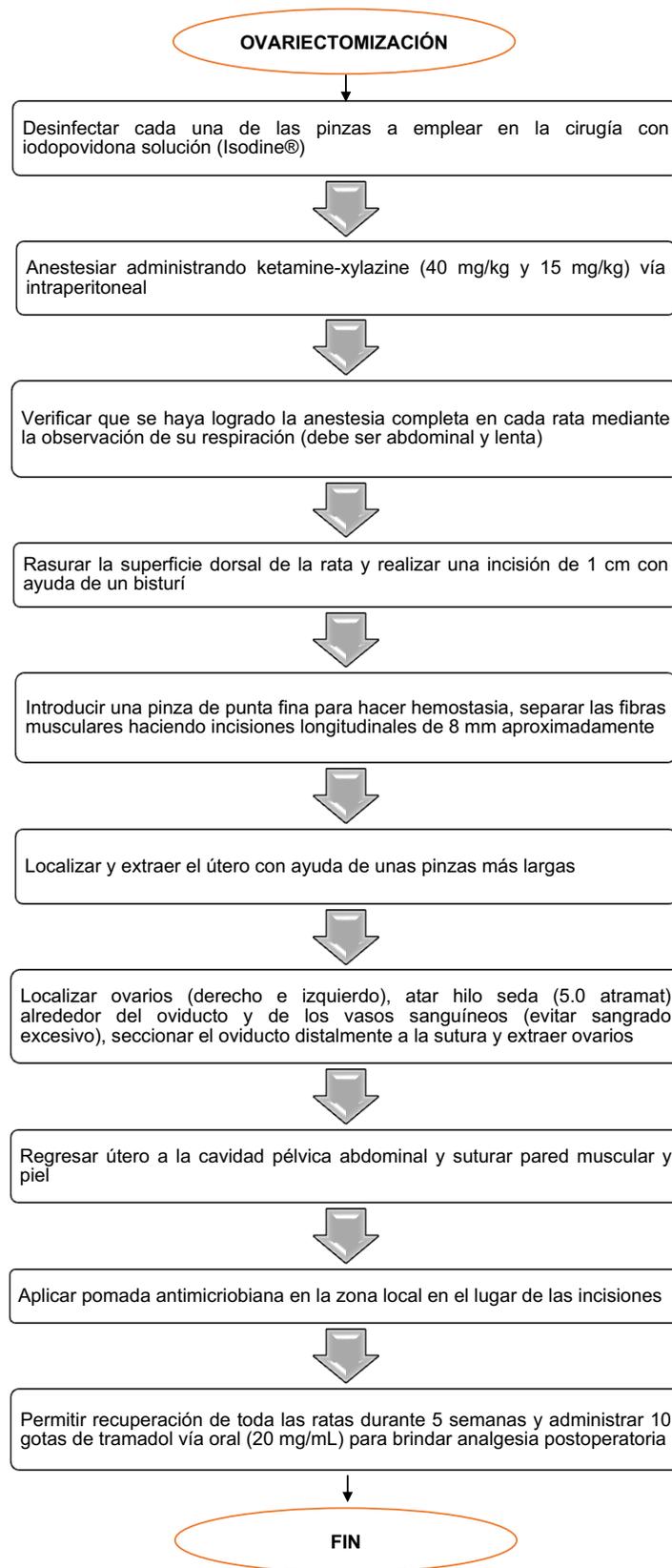
Nota. La administración de E_2 se realizó cada 24 horas durante 3 días vía intramuscular.

7.1.2. OVARIECTOMIZACIÓN

Se procedió a ovariectomizar (extracción quirúrgica de los ovarios) a cada una de las ratas, en las edades antes mencionadas.

La ovariectomía se realizó de la siguiente manera:

Figura 7 Técnica empleada para la ovariectomización de ratas



Antes de proceder a la administración de 17β -estradiol durante 3 días, se realizaron los cálculos pertinentes para obtención de los volúmenes a administrar vía intramuscular así como la cantidad a pesar de los reactivos para la preparación de las soluciones.

7.1.3. PREPARACIÓN DE ESTRADIOL

El 17β -estradiol se pesó de acuerdo a cada dosis (3,5,10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$) y se disolvió en aceite de sésamo (sigma aldrich).

7.1.4. PREPARACIÓN DE EDTA

Se pesaron 500 mg de EDTA y se disolvieron en agua destilada llevando a un volumen de aforo de 10 mL.

7.1.5. PREPARACIÓN DE SOLUCIÓN SALINA FISIOLÓGICA 0.15 M

Se pesaron 4.40 g de NaCl y se disolvieron en 500 mL de agua destilada.

7.1.6. OBTENCIÓN DE MUESTRAS

Para cuantificar las cantidades de estradiol en sangre, se tomaron muestras de sangre completa a la 1,2,4,23.5,24,47.5,48, 71.5 y 72 h

La sangre completa se extrajo de la vena caudal en tubos eppendorf en los cuales previamente se colocaron 200 μL de EDTA para evitar la coagulación de la sangre.

Todas las muestras fueron refrigeradas a -20°C para su posterior análisis mediante la técnica de ELISA.

7.1.7. CUANTIFICACIÓN DE ESTRADIOL POR EL MÉTODO DE ELISA

Para la cuantificación de 17β -estradiol se empleó un Kit de ELISA Monobind Accubind, siguiendo la metodología presente:

1. Se ordenaron las muestras en la microplaca.
2. Se pipetearon 25 μl del suero de referencia del espécimen de control.
3. Se añadieron 50 μl de Estradiol Biotin Reagent.
4. Se agitó suavemente la microplaca de 20- 30 segundos.
5. Se cubrió e incubó la microplaca por 30 minutos a temperatura ambiente.
6. Se agitó nuevamente y se incubó la microplaca por 90 minutos, posteriormente se desechó el contenido de la microplaca por decantación.

7. Se preparó la solución de lavado (1 Litro) y el lavado se realizó por triplicado.
8. Se agregaron 100 μ l de substrato Re (señal de trabajo) a todos los pozos (20 min) y se agregaron 50 μ l de Stop solution (solución de paro) a cada pozo. La microplaca se agitó de 15 a 20 segundos.

Finalmente se colocó la microplaca en el lector de placa y se leyó la absorbancia a $\lambda=450$ nm.

7.1.8. CUANTIFICACIÓN DE ESTRADIOL POR EL MÉTODO DE ELISA

Los resultados obtenidos fueron las absorbancias de cada muestra a la longitud de onda antes descrita. Se construyó una curva de calibración graficando la Abs VS Concentración de Estradiol (pg/mL). Para conocer la concentración de estradiol de cada muestra se interpolaron los valores de absorbancias dentro de la curva de calibración. Se calculó el promedio, desviación estándar y error para cada grupo experimental de muestras mediante un ANOVA de una vía seguido de una prueba de Student Newman Keuls * $P<0.05$.

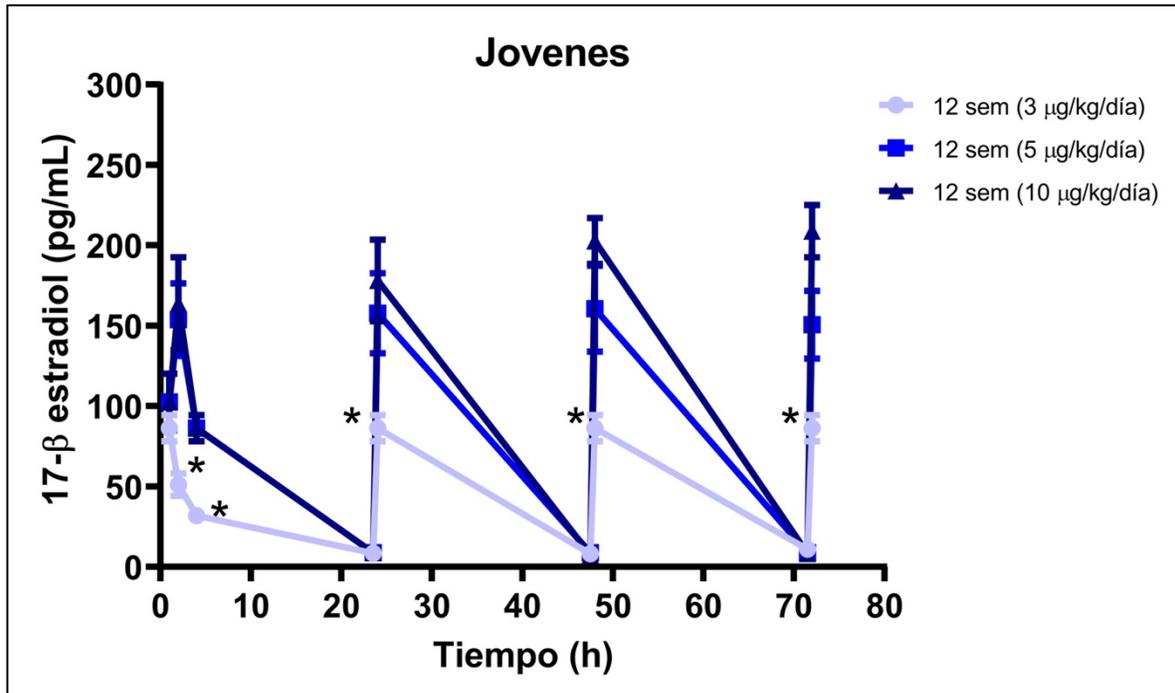
8.RESULTADOS

Una vez culminado el protocolo experimental se procedió al tratamiento de los datos obtenidos, de esta forma se pueden apreciar en las siguientes gráficas resultantes la relación que guarda cada una de las variables independientes que se establecieron dentro del estudio como lo son la edad de las ratas (12 semanas y 1 año), las dosis empleadas en la administración de 17β -estradiol (3, 5 y 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$) y tiempo frente a las concentraciones plasmáticas de 17β -estradiol (pg/mL) que se alcanzaron así como la cantidad de fármaco que llegó a circulación general en un periodo determinado después de administrar una dosis.

Como ya se mencionó anteriormente se trabajaron con 3 dosis diferentes de 17β -estradiol administradas en dos grupos de edades de Ratas Wistar Hembras ovariectomizadas. En la figura 8, se puede observar que a dosis de 5 y 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ de 17β -estradiol administrado vía intramuscular en ratas Wistar hembras ovariectomizadas con 12 semanas de edad se alcanzan concentraciones plasmáticas muy similares, es decir no hay diferencia significativa entre estas dosis.

Caso contrario ocurre con la dosis de 3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$, donde se aprecia que las concentraciones plasmáticas de 17β -estradiol alcanzadas están por debajo de las dosis de 5 y 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$, es decir hay diferencia significativa entre las dosis de 3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ vs las dosis de 5 y 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$.

Figura 8 Concentraciones plasmáticas alcanzadas de 17 β -estradiol en rata Wistar hembra ovariectomizada con 12 semanas de edad a diferentes tiempos

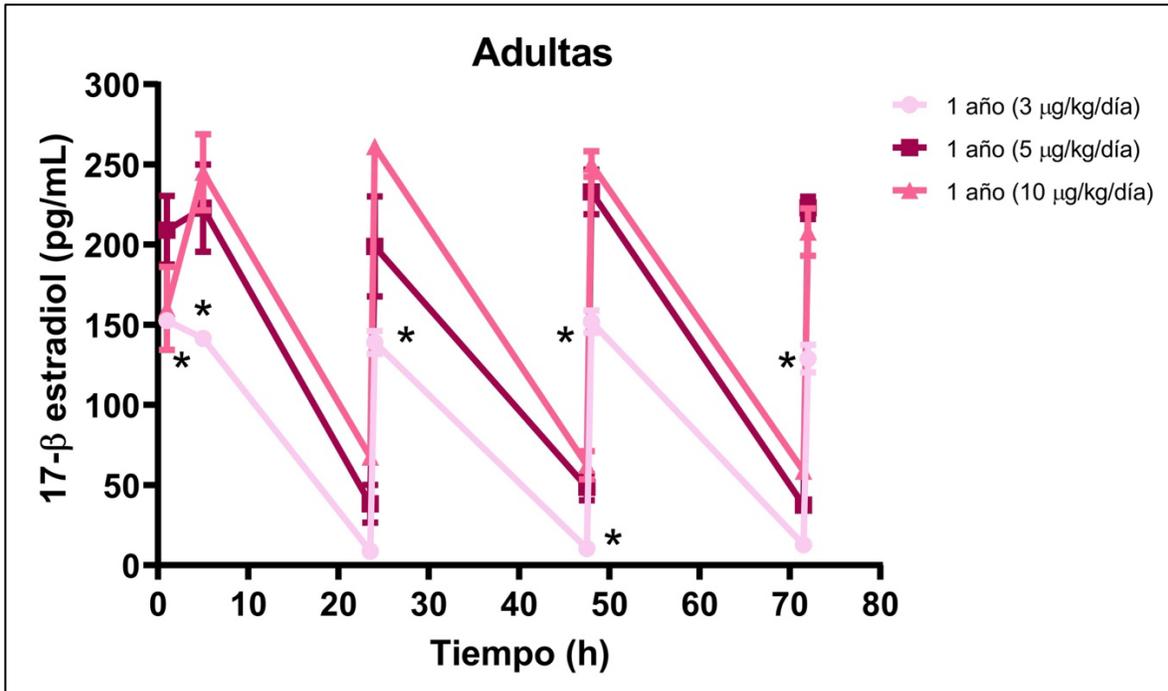


Nota. Los resultados mostrados en el gráfico muestran las concentraciones plasmáticas alcanzadas tras la administración vía intramuscular de 17 β -estradiol cada 24 horas en los grupos de ratas con 12 semanas de edad a dosis de 3, 5 y 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ a 1,2,4,23.5,24,47.5,48, 71.5 y 72 h. Estos resultados son la media \pm el error estándar de una n=6 experimentos. ANOVA de una vía seguido de una prueba de Student Newman Keuls. *P<0.05 vs 5 y 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$.

En la figura 9 se aprecia el mismo fenómeno presente en el grupo de ratas jóvenes, para el caso de las dosis más altas (5 y 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$) como es de esperarse se alcanzan concentraciones plasmáticas de 17 β -estradiol más altas que con la dosis de 3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ pero sin existir diferencia significativa entre ambas dosis, es decir que con las dosis más altas usadas en este grupo se pueden alcanzar concentraciones similares o estadísticamente sin diferencia significativa entre ambas.

Con la finalidad de comparar las concentraciones plasmáticas de estradiol a diferentes dosis VS Ratas Sham (ligadura falsa) en etapa de proestro se graficaron las concentraciones de estradiol al finalizar el tratamiento.

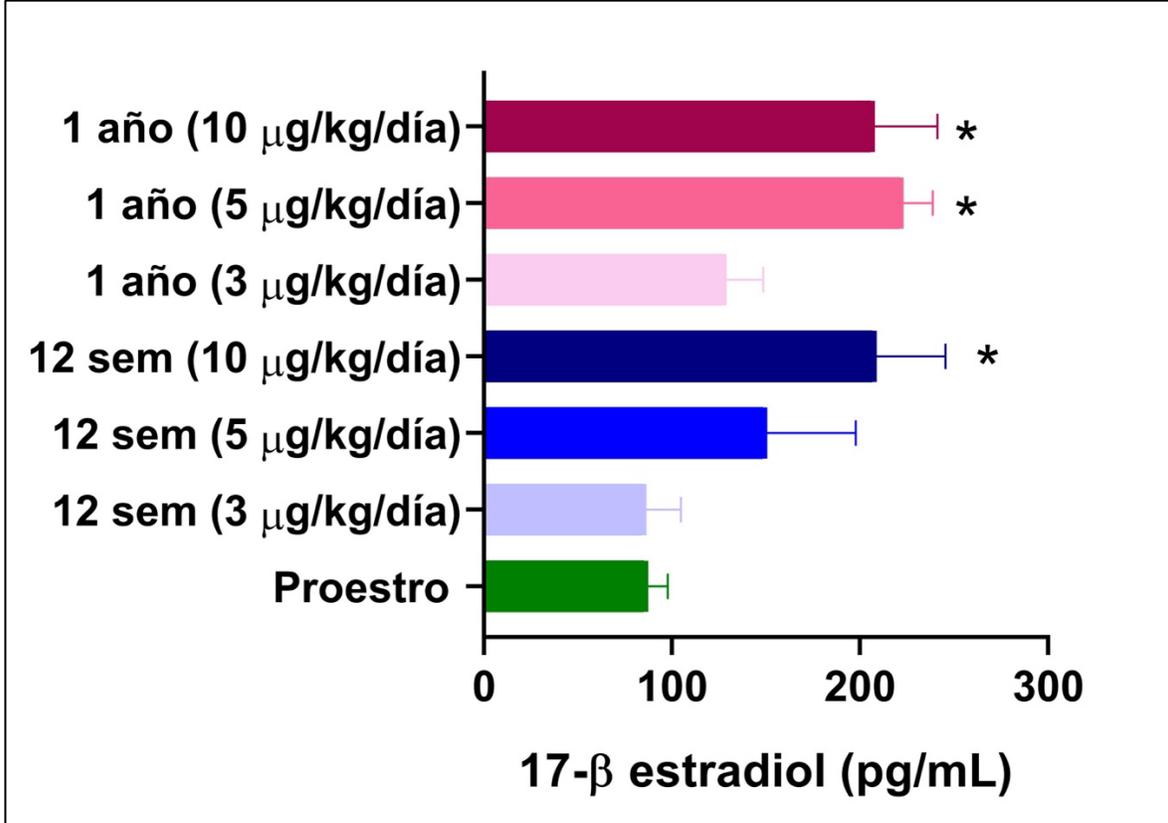
Figura 9 Concentraciones plasmáticas alcanzadas de 17 β -estradiol en rata Wistar hembra ovariectomizada con 1 año de edad a diferentes tiempos



Nota. Los resultados mostrados en el gráfico muestran las concentraciones plasmáticas alcanzadas tras la administración vía intramuscular de 17 β -estradiol cada 24 horas en los grupos de ratas con 1 año de edad a dosis de 3, 5 y 10 μ g/kg/día a 1,2,4,23.5,24,47.5,48, 71.5 y 72 h. Estos resultados son la media \pm el error estándar de una n=6 experimentos. ANOVA de una vía seguido de una prueba de Student Newman Keuls. *P<0.05 vs 5 y 10 μ g/kg/día.

En la figura 10 se muestran las concentraciones plasmáticas de 17 β -estradiol en rata Wistar hembra ovariectomizada con 12 semanas y 1 año de edad a diferentes dosis VS rata Wistar hembra en etapa de proestro, se observa que los grupos de 1 año de edad con las dosis de 5 y 10 μ g/kg/día presentaron mayores niveles de estradiol VS las hembras en etapa de proestro. De la misma forma el grupo de 12 semanas de edad con la dosis de 10 μ g/kg/día mostró mayores concentraciones VS el grupo proestro. No encontramos diferencias significativas en el resto de los grupos.

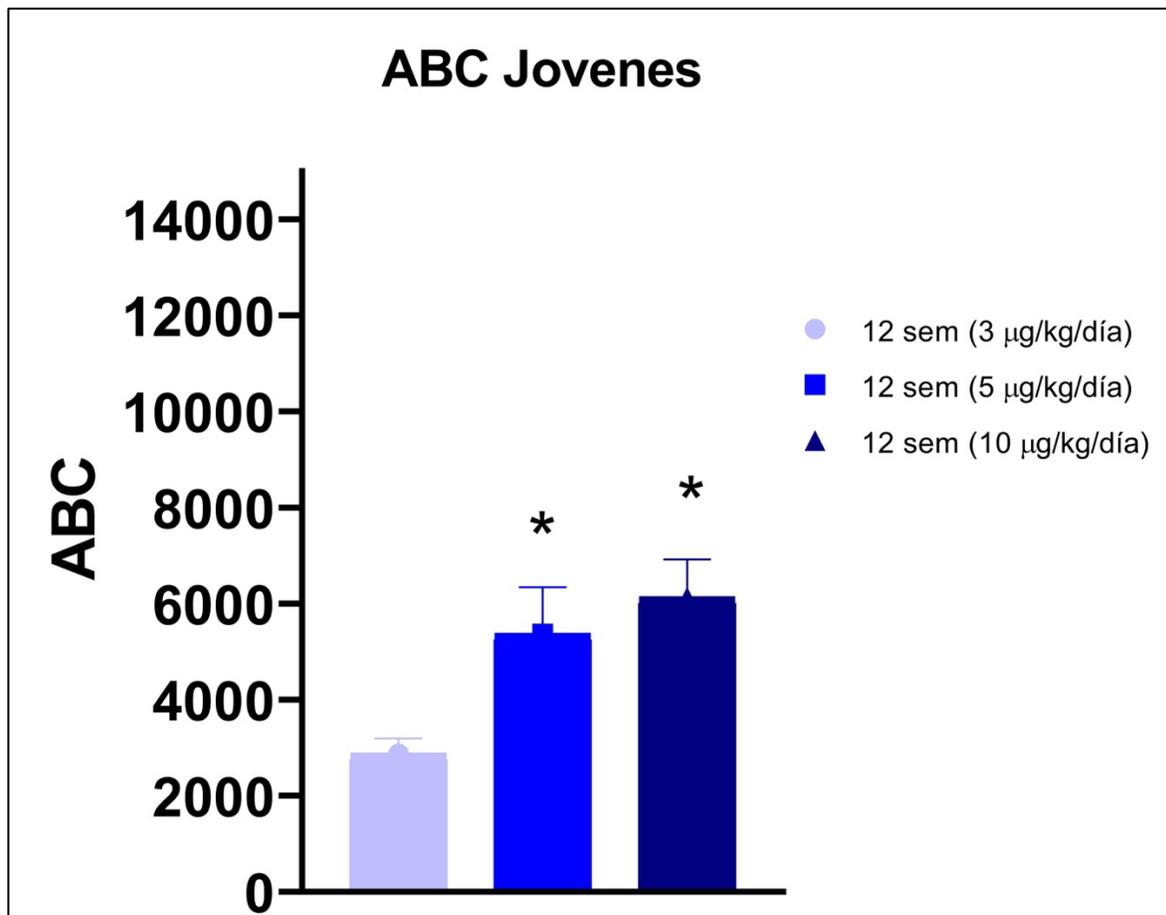
Figura 10 Concentraciones plasmáticas de 17β-estradiol en rata Wistar hembra ovariectomizada con 12 semanas y 1 año de edad a diferentes dosis VS rata Wistar hembra control



Nota. Los resultados mostrados en el gráfico muestran las concentraciones plasmáticas alcanzadas al final del tratamiento con 17β-estradiol y un grupo control en etapa de proestro. Estos resultados son la media ± el error estándar de una n=6 experimentos. ANOVA de una vía seguido de una prueba de Student Newman Keuls. *P<0.05 vs proestro

A continuación se muestra en la ilustración 11 el area bajo la curva (ABC) de las concentraciones plasmáticas de 17β-estradiol en los grupos de 12 semanas de edad a diferentes dosis a lo largo del tratamiento (3 días). Se observa que el ABC con las dosis mas altas (5 y 10 μg/kg/día) son mayores que las alcanzadas con la dosis menor como era de esperarse, sin embargo, conviene mencionar que las dosis mas altas alcanzan cantidades de fármaco en sangre muy similares, es decir que estadísticamente hablando no existe diferencia significativa entre ambas dosis.

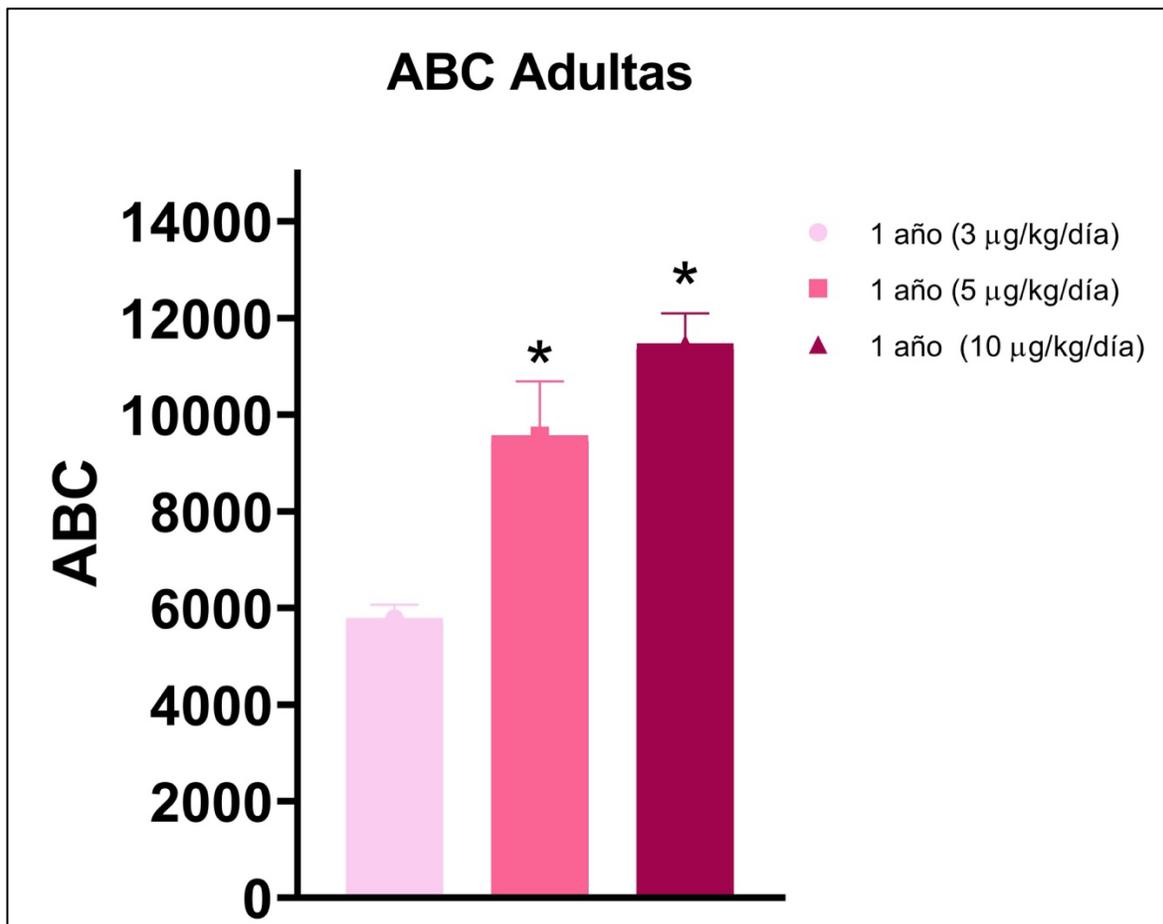
Figura 11 Área bajo la curva de 17β -estradiol en ratas Wistar hembras ovariectomizadas con 12 semanas de edad a diferentes dosis



Nota. La presente gráfica de barras muestra el área bajo la curva de 17β -estradiol que lograron llegar a circulación general tras la administración vía intramuscular de 3 dosis distintas; 3, 5 y 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ en ratas Wistar hembras con 12 semanas de edad. Estos resultados son la media \pm el error estándar de una $n=6$ experimentos. ANOVA de una vía seguido de una prueba de Student Newman Keuls. * $P<0.05$ vs 3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$.

Por otro lado, en la figura 12 se presenta el ABC de las concentraciones plasmáticas de 17β -estradiol en los grupos de 1 año de edad a diferentes dosis a lo largo del tratamiento (3 días). Al igual que en las ratas jóvenes se observa que el ABC con las dos dosis más altas (5 y 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$) son mayores que las alcanzadas con la dosis menor, sin embargo, las dosis más altas alcanzan cantidades de fármaco en sangre muy similares, es decir que no existe diferencia significativa entre ambas dosis.

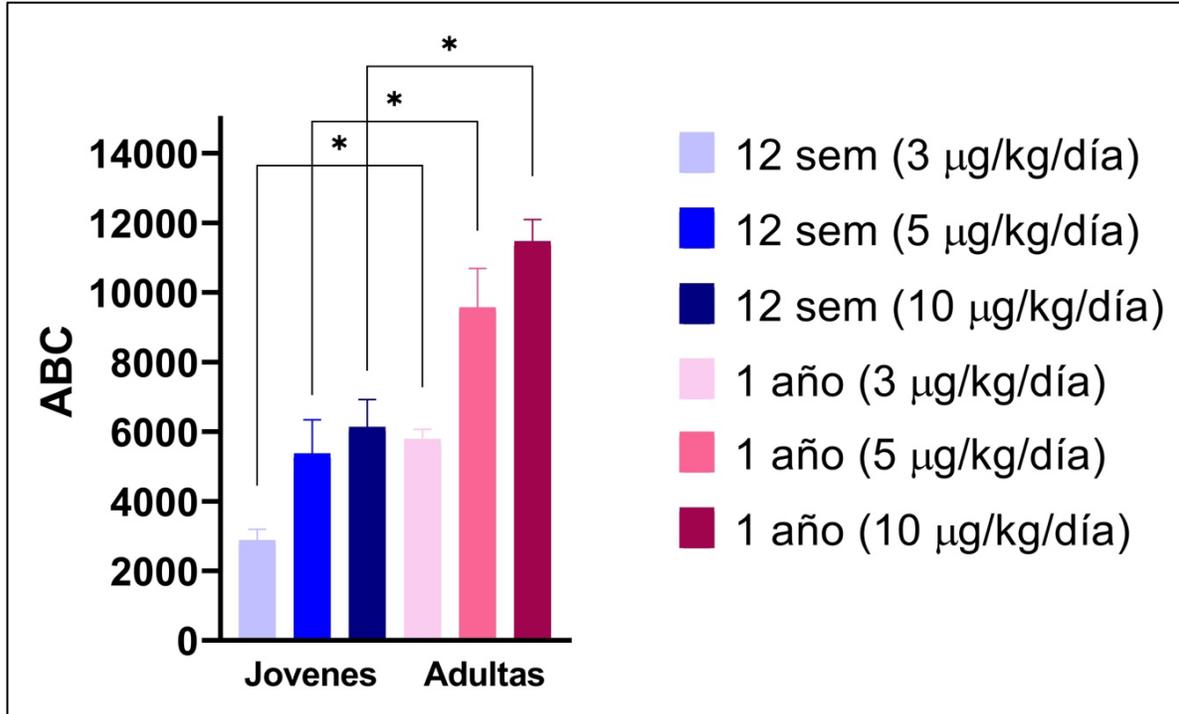
Figura 12 Área bajo la curva de 17β -estradiol en ratas Wistar hembras ovariectomizadas con 1 año de edad a diferentes dosis



Nota. La presente gráfica de barras muestra el área bajo la curva de 17β -estradiol que lograron llegar a circulación general tras la administración vía intramuscular de 3 dosis distintas; 3, 5 y 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ en ratas Wistar hembras con 1 año de edad. Estos resultados son la media \pm el error estándar de una $n=6$ experimentos. ANOVA de una vía seguido de una prueba de Student Newman Keuls. * $P<0.05$ vs 3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$.

Finalmente, se muestra en la figura 13 el ABC de las concentraciones plasmáticas de 17β -estradiol en los grupos de 12 semanas y 1 año de edad a diferentes dosis a lo largo del tratamiento (3 días). Se observa que todos los grupos de 1 año de edad presentaron mayores concentraciones de 17β -estradiol en comparación con los grupos de 12 semanas de edad.

Figura 13 Área bajo la curva de 17 β -estradiol en rata Wistar hembra ovariectomizada con 12 semanas y 1 año de edad a diferentes dosis



Nota. Los resultados mostrados en el gráfico muestran la comparación entre el ABC de 17 β -estradiol de 3 dosis distintas; 3, 5 y 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ en ratas Wistar hembras ovariectomizadas con 12 semanas y 1 año de edad. Estos resultados son la media \pm el error estándar de una $n=6$ experimentos. ANOVA de una vía seguido de una prueba de Student Newman Keuls. * $P<0.05$.

9. ANÁLISIS DE RESULTADOS

La menopausia se encuentra asociada con enfermedades cardíacas coronarias, enfermedades cardiovasculares, bochornos, osteoporosis (Pérez, 2002), trastornos de sueño, distrofias vulvares (dermatosis), estados de ánimo depresivos, irritabilidad, cansancio físico y mental (Sarduy et al., 2019) entre otros síntomas reportados durante y después de esta transición. Dichos efectos han podido ser tratados mediante el empleo de la terapia de reemplazo hormonal (TRH), este tratamiento ha sido considerado como el tratamiento más eficaz que puede mejorar la calidad de vida en las mujeres (Baber et al., 2016). Lo importante en la TRH es mantener un nivel óptimo de estrógenos plasmáticos y evitar excesos (Martin-Aragón, 2009), es decir, el empleo de la dosis efectiva más baja de estrógenos («The 2017 hormone therapy position statement of The North American Menopause Society», 2017).

El presente trabajo tuvo por objetivo determinar la dosis mínima de 17β -estradiol que debe administrarse para que sean alcanzados los niveles fisiológicos de estrógenos encontrados en la etapa de proestro durante el ciclo estral en rata Wistar hembra. En los roedores el ciclo estral es más corto (de 4 a 5 días) en comparación con el ciclo menstrual en las mujeres y tiene cuatro fases hormonalmente distintas (proestro, estro, metaestro y diestro), pese a estas diferencias, los perfiles hormonales generales son muy similares a los del ciclo menstrual en mujeres (Kundakovic & Rocks, 2022). Para los fines del presente protocolo experimental en roedores, la fase hormonal de interés es la fase de proestro, esto es debido a que durante esta etapa se encuentran los niveles más altos de estrógenos y bajos en progesterona correspondiendo este comportamiento a la fase folicular en el caso del ciclo menstrual en las mujeres (Kundakovic & Rocks, 2022). Aunado a este hecho se ha podido evidenciar que durante esta etapa se puede ejercer protección contra efectos de diversa índole, por ejemplo, contra los déficits neurológicos inducidos por encefalomiелitis autoinmune (Rahn et al., 2014), y contra daño hepático tras hemorragia traumática (Yang et al., 2009); en otros estudios se ha demostrado que en ratas hembra en etapa de proestro se tienen mejores y prolongadas posibilidades de supervivencia en modelos animales de shock hemorrágico y tasas reducidas de sepsis postraumática (Weniger et al., 2016), a su vez los niveles de 17β -estradiol en proestro protegen a las neuronas CA1 del hipocampo contra la isquemia global transitoria, a través de mecanismos que parecen implicar la mejora de la perfusión y la inhibición de la actividad de la caspasa-3 (He et al., 2002), y finalmente en algunos estudios más se ha demostrado que los niveles de estrógenos en esta etapa promueven la prevención de cambios asociados con la evolución y extensión del infarto de miocardio en; función cardíaca, desarrollo de hipertrofia, estrés oxidativo y niveles de óxido nítrico (Ramírez-Hernández et al., 2021). Por estas razones la etapa de proestro es donde el nivel de estrógenos ejerce una mayor protección frente al desarrollo de enfermedades.

Con respecto a la administración, las vías más reportadas y disponibles para 17β -estradiol administrado en mujeres hasta el momento son la oral, transdérmica, y vaginal (gel, cremas o tabletas) (Lobo, 2021) aunque, según lo indica Torres y Torres (2018) se ha comprobado que todas las vías de administración son efectivas. Para la administración de 17β -estradiol particularmente en este trabajo se ha recurrido a la vía intramuscular la cual se considera como efectiva y segura. En la mayoría de los estudios en rata se ha recurrido al empleo de la vía subcutánea (Li et al., 2011), (Tousen et al., 2011), sin embargo, Sierra-Ramírez et al. (2011) realizó un estudio de comparación farmacocinética y de farmacodinamia entre esta

vía y la intramuscular en la administración de cipionato de estradiol, en este estudio no se observó diferencia significativa entre ninguna de las dos vías de administración empleadas. Es importante mencionar que las vías extravasculares como la vía oral, intramuscular, subcutánea, rectal, transdérmica etc. pueden presentar una biodisponibilidad incompleta debido al proceso de absorción, por ejemplo, si se administra un fármaco por vía oral puede sufrir procesos de pérdida presistémica en su tránsito por el tracto gastrointestinal, las venas mesentéricas transportan todos los nutrientes y moléculas absorbidas en el tubo digestivo y son tributarias de la vena porta, posteriormente llega al hígado por medio de esta vena y se metaboliza en él antes de llegar a la circulación sistémica (Armijo,1983), de esta forma es como la cantidad del fármaco que llega a la circulación sistémica puede ser muy inferior a la dosis administrada. Por otro lado, la vía intramuscular puede utilizarse para conseguir un efecto más rápido ya que la rica vascularización del músculo permite una rápida absorción en rangos que van desde los 10 hasta los 30 min (Armijo,1983).

Debido a lo mencionado anteriormente, las dosis recomendadas en la terapia de reemplazo hormonal dependen en gran parte de la vía de administración seleccionada, el tipo de esteroide y los esquemas terapéuticos utilizados. Por ejemplo en el caso de la vía transdérmica en mujeres, las dosis convencionales y consideradas de manera general como “bajas” van por debajo los 50 $\mu\text{g}/\text{día}$ (Renoux et al., 2010) como es el caso de los parches transdérmicos en donde se pueden llegar a encontrar dosis de 14 $\mu\text{g}/\text{día}$, por otra parte las dosis consideradas “altas” para esta vía están por arriba de los 50 $\mu\text{g}/\text{día}$ y es aquí donde se aprecia el claro ejemplo de los geles (1.5 mg/día) y sprays (1.53 mg/día) donde estas dosis son consideradas como las estándar para estas formas farmacéuticas. Las dosis convencionales a través de la vía oral van desde los 0.5 mg considerada como la dosis ultrabaja, 1 mg como la dosis baja hasta los 2 mg siendo esta última la dosis estándar (Lobo, 2021). Finalmente bajo la forma farmacéutica de crema vaginal la dosis de 17β - estradiol (E_2) es de 0.01%. De tal forma, ha sido comprobado que a menor dosis empleada, disminuyen los efectos adversos como sangrado vaginal, y hay un menor riesgo de tromboembolia venosa (Barbieri,2017).

En diversos trabajos (Tousen et al., 2011) donde al igual que en el presente se ha practicado la ovariectomía como modelo animal para la simulación de la menopausia se ha empleado en los grupos experimentales dosis de 17β - estradiol que van desde los 0.03 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ (Tousen et al., 2011) hasta los 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corporal (Liu et al., 2005). Sin embargo,

tomando en cuenta que el objetivo principal es encontrar la dosis efectiva mínima, en este trabajo se emplearon dosis de 3 µg/kg/día, 5 µg/kg/día y 10 µg/kg/día.

Como se muestra en los resultados obtenidos la administración de 17β- estradiol vía intramuscular con dosis de 5 y 10 µg/kg/día en ratas con 12 semanas de edad se lograron alcanzar concentraciones séricas de E2 ligeramente por arriba de los 150 pg/mL, mientras que con dosis de 3 µg/kg/día las concentraciones oscilan alrededor de los 80 µg/kg/día. Al igual que en las ratas jóvenes los grupos de 1 año de edad presentaron el mismo efecto, encontrando que con la dosis de 3 µg/kg/día las concentraciones oscilan alrededor de los 130 µg/kg/día siendo estas las más parecidas a las encontradas en la etapa de proestro.

Tomando como punto de partida los resultados obtenidos y retomando el objetivo del presente protocolo que es determinar la dosis mínima efectiva de E2 necesaria para alcanzar las concentraciones fisiológicas durante la etapa de proestro, se puede decir que la dosis de 3 µg/kg/día es la dosis mínima efectiva que debe ser administrada para alcanzar las concentraciones fisiológicas de E2 durante la etapa de proestro en rata Wistar hembra ovariectomizada joven y adulta ya que las concentraciones normales de E2 para la fase proestro del ciclo estral de una rata según lo reportado en la literatura van desde los 40 pg/mL (Smith et al. 1975) hasta los 70 pg/mL (Sagae et al., 2012).

Un factor importante que vale la pena analizar dentro de los resultados obtenidos es la edad, todos los grupos de 1 año de edad presentaron concentraciones mayores de 17β-estradiol en comparación con los grupos de 12 semanas de edad, tomando en cuenta estos resultados se puede decir que el envejecimiento ejerce un efecto en la farmacocinética del 17β-estradiol. Generalmente el envejecimiento se encuentra asociado con una disminución del aclaramiento y la biodisponibilidad de los medicamentos a menudo aumenta (Cusack, 2004).

A lo largo del envejecimiento se van presentando cambios que contribuyen de manera significativa en las alteraciones del metabolismo de los fármacos. En el caso de la absorción de medicamentos los cambios con el envejecimiento son menores (Cusack, 2004).

Entre los cambios fisiológicos relacionados con la edad, se presenta la reducción de la masa hepática, la actividad de la enzima metabolizante hepática, el flujo sanguíneo hepático y las alteraciones en la unión al fármaco plasmático, estos pueden explicar la disminución de la eliminación de algunos fármacos metabolizados en adultos mayores

(Durnas et al., 1990). El metabolismo hepático de los medicamentos depende de factores como la perfusión, el tamaño del hígado, la actividad de las enzimas metabolizantes de los medicamentos, la actividad del transportador y la unión a las proteínas, que como ya se mencionó pueden ser alterados por el envejecimiento.

Como bien se sabe los medicamentos pueden ser metabolizados por dos tipos de reacciones: fase I (reacciones oxidativas) y fase II (reacciones conjugativas o sintéticas). En general, los medicamentos que se someten al metabolismo de fase I muestran un aclaramiento reducido, mientras que los medicamentos que se someten al metabolismo de fase II se conservan con el envejecimiento (McLachlan & Pont, 2012). En este sentido, los estrógenos sufren tanto reacciones de fase I como de fase II (Barbosa et al., 2019). El metabolismo por enzimas de fase I, como el citocromo P450, da como resultado la producción de estrógenos hidroxilados. Estos metabolitos incluyen los estrógenos catecol (CEs), como el 2-OH-estrógeno y el 4-OH-estrógeno, y en menor medida, los 16 α -OH-estrógenos. Estas enzimas son responsables de eliminar los estrógenos activos en el cuerpo. Finalmente, los CEs y los 16 α -OH-estrógenos se inactivan mediante enzimas de fase II, como la catecol-O-metiltransferasa, las sulfotransferasas y las glucuronosiltransferasas UDP (Hevir et al., 2013).

La sulfotransferasa de estrógeno (SULT1E1 o EST) es una enzima de fase II que realiza la conjugación de sulfatos y pertenece a la familia de las sulfotransferasas citosólicas. La SULT1E1 transfiere un grupo sulfato desde la fosfoadenosina fosfosulfato 3'- (PAPS) a grupos hidroxilo en moléculas estrogénicas, tanto endógenas como sintéticas. Este proceso de sulfatación mejora la solubilidad en agua de los estrógenos, evitando su unión al receptor de estrógeno (ER) (Barbosa et al., 2019). Por lo cual, el aumento en la concentración plasmática de estrógenos en ratas envejecidas no es necesariamente un reflejo de la unión de estas hormonas con sus receptores.

El proceso de eliminación renal también se ve alterado. Se sabe que los riñones son la principal fuente de eliminación de medicamentos en el cuerpo del adulto. La eliminación de medicamentos renales suele disminuir con la edad, en consonancia con la caída del aclaramiento de creatinina. La reabsorción tubular activa y el flujo sanguíneo renal disminuyen el aclaramiento del fármaco (Cusack, 2004).

En comparación con los adultos jóvenes, las personas mayores tienen una disminución en el agua corporal total y la masa muscular magra y un aumento en la grasa corporal. Para los medicamentos solubles en agua, esto puede resultar en una disminución del volumen de distribución (Vd) y un aumento de la concentración plasmática. Por lo tanto, se fomenta una reducción en la dosis de carga de los medicamentos solubles en agua en los pacientes mayores. Por el contrario, un aumento en la grasa corporal aumenta el Vd y la deposición de medicamentos solubles en lípidos, lo que lleva a una vida media prolongada. En otras palabras los medicamentos liposolubles pueden distribuirse más ampliamente y los medicamentos hidrosolubles menos en las personas mayores (Wecker, 2010). En relación con ello, los estrógenos son compuestos altamente liposolubles que tienden a acumularse en la grasa visceral, generando un efecto de liberación prolongada cuando se utiliza la lipólisis (Leenen et al., 1994).

Otros cambios asociados con el envejecimiento son la sensibilidad alterada debido a cambios en el número de receptores o afinidad o cambios en la respuesta postreceptora y el deterioro relacionado con la edad de los mecanismos fisiológicos y homeostáticos, dichos mecanismos pueden explicar las respuestas alteradas de los adultos mayores a los medicamentos que actúan sobre el sistema nervioso central y el sistema cardiovascular (Fillit et al., 2010). En nuestro trabajo la expresión de los receptores estrogénicos no fue determinada, sin embargo, ha sido reportado que esta aumenta durante la transición de la menopausia a consecuencia de la ausencia del ligando (estrógenos endógenos), para finalmente disminuir tras un período prolongado de tiempo después de la cirugía de ovariectomía bilateral (Park et al., 2017).

Entre algunos otros cambios asociados al envejecimiento, también se encuentran; la fragilidad, ésta se caracteriza por la reducción de la masa corporal magra, la pérdida muscular, la desnutrición, la reducción del estado funcional y la reducción de la resistencia (A. McLachlan et al., 2009) y se encuentra asociada con la inflamación lo que conlleva a la reducción en el metabolismo y el transporte de los medicamentos. De acuerdo con diversos autores la ovariectomía causa inflamación sistémica de bajo grado, aumentando la adhesión de monocitos al endotelio de arterias y el incremento de citocinas proinflamatorias como la interleucina 8 (Abu-Taha et al., 2009; Xu et al., 2016; Georgieva et al., 2021). Por esta razón es posible que el envejecimiento aunado a la ovariectomía sea la causa de la disminución en el aclaramiento del estradiol y el consecuente aumento de su concentración en plasma.

A pesar de que la menopausia representa un período de cambios significativos en el equilibrio hormonal, la mayoría de estos cambios se deben a alteraciones en la secreción de hormonas y no al metabolismo. El principal cambio metabólico que ocurre es un aumento en la aromatización periférica, y este incremento está mayormente relacionado con el proceso de envejecimiento y no con una disminución en la función ovárica (Longcope, 1998). Finalmente es necesario mencionar que una mayor concentración plasmática en las mujeres mayores ocasionada por el efecto de la edad en la biotransformación del medicamento puede provocar eventos adversos, por lo tanto, el tratamiento farmacológico debe iniciarse con la dosis mínima efectiva, esta dosis debe adecuarse para cada grupo de edad, particularmente para los medicamentos caracterizados por un índice terapéutico estrecho (Stader & Marzolini, 2021).

10. CONCLUSIONES

Con base en el análisis de los resultados obtenidos se encontró que la dosis mínima efectiva de 17β -estradiol que debe ser administrada para alcanzar los niveles fisiológicos equiparables en la etapa proestro en rata Wistar hembra es la de 3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ para ratas jóvenes y adultas. Sin embargo, el envejecimiento disminuye el aclaramiento de estradiol aumentando sus concentraciones plasmáticas, por lo cual, la dosis en la terapia de reemplazo hormonal en ratas envejecidas debe ser menor que en ratas jóvenes.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abu-Taha, M., Rius, C., Hermenegildo, C., Noguera, I., Cerda-Nicolas, J., Issekutz, A. C., Jose, P. J., Cortijo, J., Morcillo, E. J., & Sanz, M. P. G. (2009). Menopause and Ovariectomy Cause a Low Grade of Systemic Inflammation that May Be Prevented by Chronic Treatment with Low Doses of Estrogen or Losartan. *Journal of Immunology*, 183(2), 1393-1402. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0803157>
2. Accdis. (2023, 25 agosto). Después de la menopausia, las enfermedades cardiovasculares se convierten en la principal causa de muerte en. . . *Centro Avanzado de Enfermedades Crónicas*. <https://www.accdis.cl/despues-de-la-menopausia-las-enfermedades-cardiovasculares-se-convierten-en-la-principal-causa-de-muerte-en-mujeres/>
3. Al-Azzawi, F., & Buckler, H. (2003). Comparison of a novel vaginal ring delivering estradiol acetate versus oral estradiol for relief of vasomotor menopausal symptoms. *Climacteric*, 6(2), 118-127. <https://doi.org/10.1080/cmt.6.2.118.127>
4. Andreollo, N. A., Santos, E. F. D., Araújo, M. R., & Lopes, L. R. (2012). Idade dos ratos versus idade humana: qual é a relação? *ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)*, 25(1), 49–51. <https://doi.org/10.1590/s0102-67202012000100011>
5. Armijo JA. Principios de farmacocinética clínica. En: Flórez J, Martí- nez Lage JM, eds. *Neurofarmacología fundamental y clínica*. Pamplona: EUNSA, 1983; 63-108.
6. Aronica, S. M., Kraus, W. L., & Katzenellenbogen, B. S. (1994). Estrogen action via the CAMP signaling pathway: stimulation of adenylate cyclase and CAMP-regulated gene transcription. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(18), 8517-8521. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.18.8517>
7. Baber, R., Panay, N., & Fenton, A. (2016). 2016 IMS Recommendations on Women's Midlife Health and Menopause Hormone Therapy. *Climacteric*, 19(2), 109-150. <https://doi.org/10.3109/13697137.2015.1129166>
8. Bachmann G. (1998). Estradiol-releasing vaginal ring delivery system for urogenital atrophy. Experience over the past decade. *The Journal of reproductive medicine*, 43(11), 991–998.
9. Baffet, H., Robin, G., & Letombe, B. (2015). Menopausia. *EMC - Ginecología-Obstetricia*, 51(3), 1-18. [https://doi.org/10.1016/s1283-081x\(15\)72832-8](https://doi.org/10.1016/s1283-081x(15)72832-8)

10. Barbosa, A. C. S., Feng, Y., Yu, C., Huang, M., & Xie, W. (2019). Estrogen sulfotransferase in the metabolism of estrogenic drugs and in the pathogenesis of diseases. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 15(4), 329-339. <https://doi.org/10.1080/17425255.2019.1588884>
11. Becerro, M. (2008). Las hormonas esteroideas sexuales, el envejecimiento y el ejercicio. *Revista Andaluza de Medicina del Deporte*, 1(1), 22–36. Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/3233/323327654005.pdf>
12. Beledo, J. F., & Amado, J. A. (2013). Hormonas sexuales: Estrógenos, gestágenos, andrógenos y anticonceptivos hormonales [Electrónico]. En *Farmacología humana* (6.^a ed., pp. 867-890). Elsevier Masson.
13. Björnström, L., & Sjöberg, M. (2005). Mechanisms of estrogen receptor signaling: convergence of genomic and nongenomic actions on target genes. *Molecular Endocrinology*, 19(4), 833-842. <https://doi.org/10.1210/me.2004-0486>
14. Boonyaratanakornkit, V., & Edwards, D. P. (2007). Receptor mechanisms mediating Non-Genomic actions of sex steroids. *Seminars in Reproductive Medicine*, 25(3), 139-153. <https://doi.org/10.1055/s-2007-973427>
15. Bosquet, G. E. (2020). Producción hormonal del ciclo genital femenino. Ciclo ovárico y endometrial [Libro electrónico]. En *Ginecología* (10.^a ed., pp. 22–40). Elsevier España, S.L.U.
16. Boyd, R. A., Zegarac, E. A., & Eldon, M. A. (2003). The effect of food on the bioavailability of norethindrone and ethinyl estradiol from Norethindrone Acetate/Ethinyl Estradiol tablets intended for continuous hormone replacement therapy. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 43(1), 52-58. <https://doi.org/10.1177/0091270002239706>
17. Cardo, E. (2002). Atención farmacéutica a mujeres embarazadas (I). Medicación y teratogenicidad. *Offarm: farmacia y sociedad*, 21(8), 112-120. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5325648>
18. Chen, W. Y. (2008). Exogenous and endogenous hormones and breast cancer. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 22(4), 573–585. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2008.08.001>
19. Cheskis, B. J., Greger, J., Nagpal, S., & Freedman, L. P. (2007). Signaling by estrogens. *Journal of Cellular Physiology*, 213(3), 610-617. <https://doi.org/10.1002/jcp.21253>

20. Cirillo, D. J. (2005). Effect of Estrogen Therapy on Gallbladder Disease. *JAMA*, 293(3), 330. <https://doi.org/10.1001/jama.293.3.330>
21. Coppola, F., Nader, J., & Aguirre, R. (2005). Metabolismo de los estrógenos endógenos y cáncer de mama. *DOAJ (DOAJ: Directory of Open Access Journals)*. <https://doaj.org/article/50686f2f596244cbaa3ca06854c36cfb>
22. Costa-Beber, L. C., Goettems-Fiorin, P. B., dos Santos, J. B., Friske, P. T., Heck, T. G., Hirsch, G. E., & Ludwig, M. S. (2021). Ovariectomy reduces the cardiac cytoprotection in rats exposed to particulate air pollutant. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(18), 23395–23404. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-12350-w>
23. Cui, J., Shen, Y., & Li, R. (2013b). Estrogen synthesis and signaling pathways during aging: from periphery to brain. *Trends in Molecular Medicine*, 19 (3), 197-209. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2012.12.007>
24. Cusack, B. J. (2004). Pharmacokinetics in older persons. *American Journal of Geriatric Pharmacotherapy*, 2(4), 274-302. <https://doi.org/10.1016/j.amjopharm.2004.12.005>
25. De Lauzon-Guillain, B., Fournier, A., Fabre, A., Simon, N., Mesrine, S., Boutron-Ruault, M., Balkau, B., & Clavel-Chapelon, F. (2009). Menopausal hormone therapy and new-onset diabetes in the French Etude epidemiologique de femmes de la Mutuelle générale de l'Education nationale (E3N) Cohort. *Diabetologia*, 52(10), 2092-2100. <https://doi.org/10.1007/s00125-009-1456-y>
26. De Villiers, T. J., Gass, M., Haines, C. J., Hall, J. E., Lobo, R. A., Pierroz, D. D., & Rees, M. (2013). Global Consensus Statement on Menopausal Hormone Therapy. *Maturitas*, 74(4), 391-392. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2013.02.001>
27. Durnas, C., Loi, C., & Cusack, B. J. (1990b). Hepatic Drug Metabolism and Aging. *Clinical Pharmacokinetics*, 19(5), 359-389. <https://doi.org/10.2165/00003088-199019050-00002>
28. Escobar, F. S. (1994). Terapia de sustitución hormonal. *Revista colombiana de obstetricia y ginecologia*. <https://doi.org/10.18597/rcog.1767>
29. Espinoza, J. L., Aguilar, M. E. H., Aranda-Abreu, G. E., Durán, F. R., Denes, J. M., Ávila, G. A. C., Aguilar, C. E. Y., & Cid, A. H. S. (2013). El papel de los estrógenos y sus receptores en la prevención y promoción de enfermedades proliferativas de la glándula prostática. *eNeurobiología*, 4(8), 1. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/7718057.pdf>

30. Eugster-Hausmann, M., Lehnick, D., Waitzinger, J., McKendrick, S., & Lang, E. (2008). Low estradiol plasma levels during 12 weeks therapy with ultra low dose 10 µg 17β-estradiol vaginal tablets. *Fertility and Sterility*, 90, S251-S252. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.07.1319>
31. Fillit, H., Rockwood, K., Woodhouse, K. W., & Brocklehurst, J. C. (2010). Brocklehurst's Textbook of Geriatric Medicine and Gerontology. En *Elsevier eBooks*. <https://doi.org/10.1016/b978-1-4160-6231-8.x0001-3>
32. FMedSc, F. B. G. A. B. B. A. M. D., Jameson, L. J., MD PhD, & de Groot, L. J., MD. (2022). *Endocrinology Adult and Pediatric: The Adrenal Gland, 6e* by Ashley B. Grossman BA BSc MD FRCP FMedSc (2013–08-19). Saunders.
33. Fortunati, N., Catalano, M. G., Boccuzzi, G., & Frairia, R. (2010). Sex Hormone-Binding Globulin (SHBG), estradiol and breast cancer. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 316(1), 86-92. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2009.09.012>
34. French, R., Cowan, F., Mansour, D., Morris, S., Procter, T., Hughes, D., Robinson, A., & Guillebaud, J. (2000). Implantable contraceptives (subdermal implants and hormonally impregnated intrauterine systems) versus other forms of reversible contraceptives: Two systematic reviews to assess relative effectiveness, acceptability, tolerability and cost-effectiveness. *Health Technology Assessment*, 4(7). <https://doi.org/10.3310/hta4070>
35. Gartlehner, G., Patel, S. V., Feltner, C., Weber, R. P., Long, R., Mullican, K., Bolland, E., Lux, L., & Viswanathan, M. (2017). Hormone Therapy for the Primary Prevention of Chronic Conditions in Postmenopausal Women. *JAMA*, 318(22), 2234. <https://doi.org/10.1001/jama.2017.16952>
36. Georgieva, A., Eftimov, M., Todorova, M., Kuzmanova, V., Kuzmanov, A., Kuzmanov, K., Vlaskovska, M., & Valcheva-Kuzmanova, S. (2021). Effects of Ovariectomy-Induced Estrogen Deficit on Rat Behaviour, Lipid Metabolism, Inflammation, Bone Mineral Density, and Turnover. *Folia Medica*, 63(3), 385-391. <https://doi.org/10.3897/folmed.63.e55267>
37. Gold, E. B., Crawford, S. L., Avis, N. E., Crandall, C. J., Matthews, K. A., Waetjen, L. E., Lee, J. S., Thurston, R., Vuga, M., & Harlow, S. D. (2013). Factors Related to Age at Natural Menopause: Longitudinal Analyses From SWAN. *American Journal of Epidemiology*, 178(1), 70–83. <https://doi.org/10.1093/aje/kws421>
38. Goldzieher, J. W., & Stanczyk, F. Z. (2008). Oral contraceptives and individual variability of circulating levels of ethinyl estradiol and

progestins. *Contraception*, 78(1),

4-

9. <https://doi.org/10.1016/j.contraception.2008.02.020>

39. Gottsch, M. L., Navarro, V., Zhao, Z., Glidewell-Kenney, C., Weiss, J., Jameson, J. L., Clifton, D. K., Levine, J. E., & Steiner, R. A. (2009). Regulation of KISS1 and dynorphin gene expression in the murine brain by classical and nonclassical estrogen receptor pathways. *The Journal of Neuroscience*, 29(29), 9390-9395. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.0763-09.2009>
40. Gray, S. (2003). Breast cancer and hormone-replacement therapy: the Million Women Study. *The Lancet*, 362(9392), 1332. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(03\)14598-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(03)14598-9)
41. Haynes, R. B. (2002). Physicians' and patients' choices in evidence based practice. *BMJ*, 324(7350), 1350. <https://doi.org/10.1136/bmj.324.7350.1350>
42. He, Z., He, Y., Day, A. L., & Simpkins, J. W. (2002). Proestrus levels of estradiol during transient global cerebral ischemia improves the histological outcome of the hippocampal CA1 region: perfusion-dependent and-independent mechanisms. *Journal of the Neurological Sciences*, 193(2), 79-87. [https://doi.org/10.1016/s0022-510x\(01\)00648-7](https://doi.org/10.1016/s0022-510x(01)00648-7)
43. Hembree, W. C., Bardin, C. W., & Lipsett, M. B. (1969). A study of estrogen metabolic clearance rates and transfer factors. *Journal of Clinical Investigation*, 48(10), 1809-1819. <https://doi.org/10.1172/jci106147>
44. Hevir, N., Ribič-Pucelj, M., & Rižner, T. L. (2013). Disturbed balance between phase I and II metabolizing enzymes in ovarian endometriosis: A source of excessive hydroxy-estrogens and ROS? *Molecular and Cellular Endocrinology*, 367(1-2), 74-84. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2012.12.019>
45. Hi, B., Wuttke, W., W, L., Roll, G., & Heithecker, R. (2000). A 1-year pharmacokinetic investigation of a novel oral contraceptive containing drospirenone in healthy female volunteers. *The European Journal of Contraception & Reproductive Health Care*, 5(4), 256-264. <https://doi.org/10.1080/13625180008500407>
46. Hulley, S. (1998). Randomized Trial of Estrogen Plus Progestin for Secondary Prevention of Coronary Heart Disease in Postmenopausal Women. *JAMA*, 280(7), 605. <https://doi.org/10.1001/jama.280.7.605>
47. J, A. P., M, S. A., & Hernández, Y. M. (2003). FUNDAMENTOS DEL USO DE ESTROGENOS EN DOSIS BAJA CON PROGESTINA PERIODICA EN THR ORAL

- PARA MUJERES POSTMENOPAUSICAS. *Revista chilena de obstetricia y ginecología*. <https://doi.org/10.4067/s0717-75262003000500013>
48. Jewelewicz, R. (1997). New developments in topical estrogen therapy. *Fertility and Sterility*, 67(1), 1-12. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(97\)81846-8](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(97)81846-8)
49. Jiménez, A. P. T., & Rincón, J. M. T. (2018). Climaterio y menopausia. *Revista de la Facultad de Medicina (México)*, 61(2), 51-58. <http://www.scielo.org.mx/pdf/facmed/v61n2/2448-4865-facmed-61-02-51.pdf>
50. Katzenellenbogen, B. S., Choi, I., Delage-Mourroux, R., Ediger, T. R., Martini, P., Montano, M. M., Sun, J., Weis, K. E., & Katzenellenbogen, J. A. (2000). Molecular mechanisms of estrogen action: selective ligands and receptor pharmacology. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 74(5), 279-285. [https://doi.org/10.1016/s0960-0760\(00\)00104-7](https://doi.org/10.1016/s0960-0760(00)00104-7)
51. Kuhl, H. (2005). Pharmacology of estrogens and progestogens: influence of different routes of administration. *Climacteric*, 8(sup1), 3-63. <https://doi.org/10.1080/13697130500148875>
52. Kuhl, H. (2005). Pharmacology of estrogens and progestogens: influence of different routes of administration. *Climacteric*, 8(sup1), 3-63. <https://doi.org/10.1080/13697130500148875>
53. Kundakovic, M., & Rocks, D. (2022). Sex hormone fluctuation and increased female risk for depression and anxiety disorders: From clinical evidence to molecular mechanisms. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 66, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2022.101010>
54. La Hoz, F. E., & Orozco-Gallego, H. (2021). Estriol vs estrógenos conjugados de origen equino en el tratamiento del síndrome genitourinario de la menopausia. *Ginecología y obstetricia de México*, 86(2). <https://doi.org/10.24245/gom.v86i2.1881>
55. LaBudde, J. A., Craig, W. Y., & Spratt, D. I. (2020). Initial evaluation of safety and efficacy of administration of estradiol (e2) by subcutaneous (sc) injections to male-to-female (mtf) transgender patients. *Fertility and Sterility*, 114(3), e91. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.08.277>
56. Leenen, R., Van Der Kooy, K., Seidell, J. C., Deurenberg, P., & Koppeschaar, H. P. F. (1994b). Visceral fat accumulation in relation to sex hormones in obese men and women undergoing weight loss therapy. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 78(6), 1515-1520. <https://doi.org/10.1210/jcem.78.6.8200956>

57. Li, M., Zhang, Z., Sun, W., Koehler, R. C., & Huang, J. (2011). 17β -estradiol attenuates breakdown of blood–brain barrier and hemorrhagic transformation induced by tissue plasminogen activator in cerebral ischemia. *Neurobiology of Disease*, 44(3), 277–283. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2011.07.004>
58. Lobo, R. A. (2016). Hormone-replacement therapy: current thinking. *Nature Reviews Endocrinology*, 13(4), 220–231. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2016.164>
59. Lobo, R. A. (2022). Menopause and care of the mature woman. En *Elsevier eBooks* (pp. 255-288.e9). <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-65399-2.00023-1>
60. Longcope, C. (1998). Androgen Metabolism and the Menopause. *Seminars in Reproductive Medicine*, 16(02), 111-115. <https://doi.org/10.1055/s-2007-1016260>
61. Longcope, C., Gorbach, S. L., Goldin, B. R., Woods, M. N., Dwyer, J. T., & Warram, J. H. (1985). The metabolism of estradiol; oral compared to intravenous administration. *Journal of Steroid Biochemistry*, 23(6), 1065-1070. [https://doi.org/10.1016/0022-4731\(85\)90068-8](https://doi.org/10.1016/0022-4731(85)90068-8)
62. Maas, A. H. (2021). Hormone therapy and cardiovascular disease: Benefits and harms. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 35(6), 101576. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2021.101576>
63. Maitrot-Mantelet, L., Leman-Detours, S., De Vulpian, L. C., & Gompel, A. (2013). Menopausia. *EMC - Tratado de Medicina*, 17(1), 1-8. [https://doi.org/10.1016/s1636-5410\(13\)64066-0](https://doi.org/10.1016/s1636-5410(13)64066-0)
64. Manson, J. E., Chlebowski, R. T., Stefanick, M. L., Aragaki, A. K., Rossouw, J. E., Prentice, R. L., Anderson, G., Howard, B. V., Thomson, C. A., LaCroix, A. Z., Wactawski-Wende, J., Jackson, R. D., Limacher, M., Margolis, K. L., Wassertheil-Smoller, S., Beresford, S. A., Cauley, J. A., Eaton, C. B., Gass, M., . . . Wallace, R. B. (2014). Menopausal Hormone Therapy and Health Outcomes During the Intervention and Extended Poststopping Phases of the Women’s Health Initiative Randomized Trials. *Obstetrical & Gynecological Survey*, 69(2), 83–85. <https://doi.org/10.1097/01.ogx.0000444679.66386.38>
65. Martín-Aragón, S., & Benedí, J. (2009). Terapia hormonal de reemplazo: enfoque en la menopausia. *Farmacia profesional*, 23(2), 52-57. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4583005>
66. Matthews, J., & Gustafsson, J. (2003). Estrogen signaling: a subtle balance between ER and ER. *Molecular Interventions*, 3(5), 281-292. <https://doi.org/10.1124/mi.3.5.281>

67. Mattison, D. R., Karyakina, N. A., Goodman, M., & LaKind, J. S. (2014). Pharmacokinetics and Toxicokinetics of selected exogenous and endogenous estrogens: A review of the data and identification of knowledge gaps. *Critical Reviews in Toxicology*, 44(8), 696-724. <https://doi.org/10.3109/10408444.2014.930813>
68. McKINLAY, S. M. (1985). Smoking and Age at Menopause in Women. *Annals of Internal Medicine*, 103(3), 350. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-103-3-350>
69. McLachlan, A. J., & Pont, L. G. (2012). Drug Metabolism in Older People--A Key Consideration in Achieving Optimal Outcomes With Medicines. *The Journals of Gerontology*, 67A(2), 175-180. <https://doi.org/10.1093/gerona/qlr118>
70. McLachlan, A., Hilmer, S. N., & Scott, D. (2009). Variability in Response to Medicines in Older People: Phenotypic and Genotypic Factors. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 85(4), 431-433. <https://doi.org/10.1038/clpt.2009.1>
71. Melmed, S. (2021). Fisiología y anatomopatología del eje reproductor femenino. En *Williams. Tratado de endocrinología* (14.^a ed., pp. 574–641). Recuperado de https://www-clinicalkey-es.pbidi.unam.mx:2443/service/content/pdf/watermarked/3-s2.0-B9788491138518000171.pdf?locale=es_ES&searchIndex=
72. Meyer, M. R., Haas, E., Prossnitz, E. R., & Barton, M. (2009). Non-genomic regulation of vascular cell function and growth by estrogen. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 308(1-2), 9-16. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2009.03.009>
73. Meyer, N., Joel-Almagor, T., Frechter, S., Minke, B., & Huber, A. (2006). Subcellular translocation of the EGFP-tagged TRPL channel in *Drosophila* photoreceptors requires activation of the phototransduction cascade. *Journal of Cell Science*, 119(12), 2592-2603. <https://doi.org/10.1242/jcs.02986>
74. Nair, A., Pillai, A., & Nair, N. (2021). Cardiovascular changes in menopause. *Current Cardiology Reviews*, 17(4). <https://doi.org/10.2174/1573403x16666201106141811>
75. Nilsson, S., Mäkelä, S., Treuter, E., Tujague, M., Thomsen, J. S., Andersson, G., Enmark, E., Pettersson, K., Warner, M., & Gustafsson, J. (2001). Mechanisms of estrogen action. *Physiological Reviews*, 81(4), 1535-1565. <https://doi.org/10.1152/physrev.2001.81.4.1535>
76. O'Lone, R., Frith, M. C., Karlsson, E. K., & Hansen, U. (2004). Genomic targets of nuclear estrogen receptors. *Molecular Endocrinology*, 18(8), 1859-1875. <https://doi.org/10.1210/me.2003-0044>

77. Orme, M., Back, D., & Ball, S. (1989). Interindividual variation in the metabolism of ethynylestradiol. *Pharmacology & Therapeutics*, 43(2), 251-260. [https://doi.org/10.1016/0163-7258\(89\)90121-6](https://doi.org/10.1016/0163-7258(89)90121-6)
78. Otto, C., Kantner, I., Nubbemeyer, R., Schkoldow, J., Fuchs, I., Krahl, E., Vonk, R., Schüler, C., Fritzemeier, K. H., & Erben, R. G. (2012). Estradiol Release Kinetics Determine Tissue Response in Ovariectomized Rats. *Endocrinology*, 153(4), 1725–1733. <https://doi.org/10.1210/en.2011-1801>
79. Paciuc, J. (2020). Hormone therapy in menopause. En *Springer eBooks* (pp. 89-120). https://doi.org/10.1007/978-3-030-38474-6_6
80. Pardridge, W. M., & Mietus, L. J. (1979). Transport of steroid hormones through the rat Blood-Brain barrier. *Journal of Clinical Investigation*, 64(1), 145-154. <https://doi.org/10.1172/jci109433>
81. Park, Y., Erickson, C. L., Bessesen, D. H., Van Pelt, R. E., & Cox-York, K. (2017). Age- and menopause-related differences in subcutaneous adipose tissue estrogen receptor mRNA expression. *Steroids*, 121, 17-21. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2017.03.001>
82. Parra, M., Lagos, N., Levancini, M., Villarroel, M., Pizarro, E., Vanhauwaert, P., Velasco, S., Fernandez, M., Gambacciani, M., Biglia, N., Cagnacci, A., Caruso, S., Cicinelli, E., Leo, V. D., Carlo, C. D., Farris, M., Gambera, A., Guaschino, S., Lanzone, A., . . . Brantes, S. (2018). Menopausia y Terapia Hormonal de la Menopausia Las recomendaciones 2018 de la Unidad de Endocrinología Ginecológica de Clínica Alemana de Santiago -Sociedad Italiana de la Menopausia y la Sociedad Chilena de Endocrinología Ginecológica. *Revista chilena de obstetricia y ginecología*, 83(5), 527–550. <https://doi.org/10.4067/s0717-75262018000500527>
83. Pérez Alcázar, M. (2002). Menopausia transición. *Farmacéutica comunitaria*, 16(9), 88–94. Recuperado de <https://www.elsevier.es/en-revista-farmacia-profesional-3-articulo-menopausia-transicion-13038267>
84. Pi, Y., Purdie, D. M., Jackman, L. M., Molloy, D. W., & Green, A. (2001). A study of infertility treatment and melanoma. *Melanoma Research*, 11(5), 535-541. <https://doi.org/10.1097/00008390-200110000-00015>
85. Porcile J, A., Aedo M, S., & Hernández, Y. M. (2003). Fundamentos del uso de estrogenos en dosis baja con progestina periodica en THR oral para mujeres

- postmenopausicas. *Revista chilena de obstetricia y ginecología*, 68(5).
<https://doi.org/10.4067/s0717-75262003000500013>
86. Rahn, E. J., Iannitti, T., Donahue, R. N., & Taylor, B. K. (2014). Sex differences in a mouse model of multiple sclerosis: neuropathic pain behavior in females but not males and protection from neurological deficits during proestrus. *Biology of Sex Differences*, 5 (1). <https://doi.org/10.1186/2042-6410-5-4>
87. Ramírez-Hernández, D., López-Sánchez, P., Rosales-Hernández, M. C., Fonseca-Coronado, S., & Flores-Monroy, J. (2021). Estrous cycle phase affects myocardial infarction through reactive oxygen species and nitric oxide. *Frontiers in bioscience*, 26(12), 1434-1443. <https://doi.org/10.52586/5037>
88. Renoux, C., Dell'Aniello, S., Garbe, E., & Suissa, S. (2010). Transdermal and oral hormone replacement therapy and the risk of stroke: a nested case-control study. *BMJ*, 340(jun03 4), c2519. <https://doi.org/10.1136/bmj.c2519>
89. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: Principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial. (2003). *Obstetrics & Gynecology*, 101(1), 194. <https://doi.org/10.1097/00006250-200301000-00034>
90. Roila, F., & Del Favero, A. (1995). Ondansetron Clinical Pharmacokinetics. *Clinical Pharmacokinetics*, 29(2), 95-109. <https://doi.org/10.2165/00003088-199529020-00004>
91. Román, M., Sakshaug, S., Graff-Iversen, S., Vangen, S., Weiderpass, E., Ursin, G., & Hofvind, S. (2015). Postmenopausal hormone therapy and the risk of breast cancer in Norway. *International Journal of Cancer*, 138(3), 584–593. <https://doi.org/10.1002/ijc.29810>
92. Ross, R. K. (2000). Effect of Hormone Replacement Therapy on Breast Cancer Risk: Estrogen Versus Estrogen Plus Progestin. *Journal of the National Cancer Institute*, 92(4), 328–332. <https://doi.org/10.1093/jnci/92.4.328>
93. Ross, R. K., Paganini-Hill, A., Wan, P., & Pike, M. C. (2000). Effect of hormone replacement therapy on breast cancer risk: Estrogen versus estrogen plus progestin. *Journal of the National Cancer Institute*, 92(4), 328-332. <https://doi.org/10.1093/jnci/92.4.328>
94. Rossi, G. P., Carocchia, B., & Seccia, T. M. (2019). Role of estrogen receptors in modulating aldosterone biosynthesis and blood pressure. *Steroids*, 152, 108486. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2019.108486>

95. Sagae, S. C., Menezes, E. F., Bonfleur, M. L., Vanzela, E. C., Zacharias, P., Lubaczeuski, C., Franci, C. R., & Sanvitto, G. L. (2012). Early onset of obesity induces reproductive deficits in female rats. *Physiology & Behavior*, *105*(5), 1104–1111. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.12.002>
96. Sánchez-Guerrero, J., Villegas, A., Mendoza-Fuentes, A., Romero-Díaz, J., Moreno-Coutiño, G., & Cravioto, M. (2001). Disease activity during the premenopausal and postmenopausal periods in women with systemic lupus erythematosus. *The American Journal of Medicine*, *111*(6), 464–468. [https://doi.org/10.1016/s0002-9343\(01\)00885-3](https://doi.org/10.1016/s0002-9343(01)00885-3)
97. Sarduy, M. I. R., González, T. F., Guirola, E., & Mora, S. P. (2019). Síntomas y enfermedades asociadas al climaterio y la menopausia. *Medicentro (Villa Clara)*, *23*(2), 116-124. <http://scielo.sld.cu/pdf/mdc/v23n2/1029-3043-mdc-23-02-116.pdf>
98. Schairer, C., Lubin, J., & Troisi, R. (2000). Menopausal estrogen and estrogen-progestin replacement therapy and breast cancer risk. *Clinical Cornerstone*, *3*(1), 64. [https://doi.org/10.1016/s1098-3597\(00\)90023-1](https://doi.org/10.1016/s1098-3597(00)90023-1)
99. Schürmann, R., Cronin, M., & Meyer, J. U. (2004). Estrogen plus progestin and colorectal cancer in postmenopausal women. *The New England Journal of Medicine*, *350*(23), 2417-2419. <https://doi.org/10.1056/nejm200406033502319>
100. Selby P.L. and Peacock M.: The effect of transdermal oestrogen on bone, calcium-regulating hormones and liver in postmenopausal women. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1986; *25*: pp. 543-547
101. Sierra-Ramírez, J. A., Lara-Ricalde, R., Lujan, M., Velázquez-Ramírez, N., Godínez-Victoria, M., Hernández-Munguía, I. A., Padilla, A., & Garza-Flores, J. (2011). Comparative pharmacokinetics and pharmacodynamics after subcutaneous and intramuscular administration of medroxyprogesterone acetate (25 mg) and estradiol cypionate (5 mg). *Contraception*, *84*(6), 565–570. <https://doi.org/10.1016/j.contraception.2011.03.014>
102. Simoncini, T., Mannella, P., Fornari, L., Caruso, A., Varone, G., & Genazzani, A. R. (2004). Genomic and non-genomic effects of estrogens on endothelial cells*1. *Steroids*, *69*(8-9), 537-542. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2004.05.009>
103. Smith, M. S., Freeman, M. E., & Neill, J. D. (1975). The control of progesterone secretion during the estrous cycle and early pseudopregnancy in the rat: prolactin, gonadotropin and steroid levels associated with rescue of the corpus

- luteum of pseudopregnancy¹². *Endocrinology*, 96(1), 219-226. <https://doi.org/10.1210/endo-96-1-219>
104. Stader, F., & Marzolini, C. (2021). Sex-related pharmacokinetic differences with aging. *European Geriatric Medicine*, 13 (3), 559-565. <https://doi.org/10.1007/s41999-021-00587-0>
105. Stanczyk, F. Z., Archer, D. F., & Bhavnani, B. R. (2013). Ethinyl estradiol and 17B-estradiol in combined oral contraceptives: pharmacokinetics, pharmacodynamics and risk assessment. *Contraception*, 87(6), 706-727. <https://doi.org/10.1016/j.contraception.2012.12.011>
106. Stanczyk, F. Z., Hapgood, J. P., Winer, S. A., & Mishell, D. R. (2012). Progestogens used in postmenopausal hormone therapy: differences in their pharmacological properties, intracellular actions, and clinical effects. *Endocrine Reviews*, 34(2), 171-208. <https://doi.org/10.1210/er.2012-1008>
107. Stefkovich, M. L., Arao, Y., Hamilton, K., & Korach, K. S. (2018). Experimental models for evaluating non-genomic estrogen signaling. *Steroids*, 133, 34-37. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2017.11.001>
108. Stevenson, J. C., Durand, G., Kahler, E., & Pertyński, T. (2010). Oral ultra-low dose continuous combined hormone replacement therapy with 0.5mg 17β-oestradiol and 2.5mg dydrogesterone for the treatment of vasomotor symptoms: Results from a double-blind, controlled study. *Maturitas*, 67(3), 227–232. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2010.07.002>
109. Tangpricha V., Hannema S.E., Irwig M.S., Meyer 3rd W.J., Safer J.D., and Hembree W.C.: 2017 *American Association of Clinical Endocrinologists/Endocrine Society update on transgender medicine: case discussions*. *Endocr Pract* 2017; 23: pp. 1430-1436
110. Teppa, A. D., & Terán, J. (2005). Nuevos aspectos bioquímicos y moleculares de la acción de los estrógenos. *Revistas Médicas mexicanas*, 73, 436 /10.1016/j.maturitas.2020.05.002–442.
111. The 2017 hormone therapy position statement of The North American Menopause Society. (2017). *Menopause*, 24(7), 728–753. <https://doi.org/10.1097/gme.0000000000000921>
112. Torrisi, R., Rota, S., Losurdo, A., Zuradelli, M., Masci, G., & Santoro, A. (2016). Aromatase inhibitors in premenopause: Great expectations fulfilled? *Critical Reviews in Oncology Hematology*. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2016.08.009>

113. Tousen, Y., Abe, F., Ishida, T., Uehara, M., & Ishimi, Y. (2011). Resistant starch promotes equol production and inhibits tibial bone loss in ovariectomized mice treated with daidzein. *Metabolism*, 60(10), 1425–1432. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2011.02.009>
114. Tsiligiannis, S., Wick-Urban, B. C., van der Stam, J., & Stevenson, J. C. (2020). Efficacy and safety of a low-dose continuous combined hormone replacement therapy with 0.5 mg 17 β -estradiol and 2.5 mg dydrogesterone in subgroups of postmenopausal women with vasomotor symptoms. *Maturitas*, 139, 20–26. <https://doi.org>
115. Tuimala, R. J., & Vihtamäki, T. (1996). Individual hormone replacement therapy. *Maturitas*, 23, S87-S90. [https://doi.org/10.1016/0378-5122\(96\)01019-5](https://doi.org/10.1016/0378-5122(96)01019-5)
116. Turgeon, J. L., McDonnell, D. P., Martin, K. A., & Wise, P. M. (2004). Hormone therapy: Physiological complexity belies therapeutic simplicity. *Science*, 304(5675), 1269-1273. <https://doi.org/10.1126/science.1096725>
117. Wecker, L. (2010). Brody's human pharmacology: molecular to clinical. En *Elsevier eBooks*. <http://ci.nii.ac.jp/ncid/BA91676855>
118. Weniger, M., Angele, M. K., & Chaudry, I. H. (2016). The Role and Use of Estrogens Following Trauma. *Shock*, 46(3S), 4-11. <https://doi.org/10.1097/shk.0000000000000670>
119. World Health Organization: WHO. (2019). Enfermedades cardiovasculares. *www.who.int*. https://www.who.int/es/health-topics/cardiovascular-diseases#tab=tab_1
120. Xu, Y., Sheng, H., Bao, Q., Wang, Y., Lu, J., & Ni, X. (2016). NLRP3 inflammasome activation mediates estrogen deficiency-induced depression- and anxiety-like behavior and hippocampal inflammation in mice. *Brain Behavior and Immunity*, 56, 175-186. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2016.02.022>
121. Yang, S., Hu, S., Chen, J., Choudhry, M. A., Rue, L. W., Bland, K. I., & Chaudry, I. H. (2009). Mechanism of hepatoprotection in proestrus female rats following trauma-hemorrhage: heme oxygenase-1-derived normalization of hepatic inflammatory responses. *Journal of Leukocyte Biology*, 85(6), 1015-1026. <https://doi.org/10.1189/jlb.0508288>
122. Zilberman, J. (2018). Menopausia: hipertension arterial y enfermedad vascular. *Hipertensión y Riesgo Vascular*, 35(2), 77-83. <https://doi.org/10.1016/j.hipert.2017.11.001>