



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**DIFERENCIA EN LA REGULACIÓN DE LA PRESIÓN  
ARTERIAL POR ESTEROIDES GONADALES  
DURANTE EL ENVEJECIMIENTO EN RATAS  
MACHOS Y HEMBRAS**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**BIÓLOGO**

**P R E S E N T A :**

**HORACIO BASTIDA URIBE**



**DIRECTOR DE TESIS:  
DRA. MARÍA MERCEDES PERUSQUÍA NAVA**

**CIUDAD DE MÉXICO, 2020**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## AGRADECIMIENTOS

A la *Dra. María Mercedes Perusquía Nava*, por la dedicación y la atención brindada, así como su tiempo y esfuerzo, de manera que este trabajo fuera un proceso de aprendizaje y crecimiento personal y profesional.

A la *Dra. Ma. Nieves Herrera Mundo*, por las enseñanzas recibidas de las técnicas necesarias para la realización del proyecto, así como su calidad como persona con la cual me enseñó a ser mejor profesionista.

A mis compañeros de laboratorio, porque gracias a ellos pude tener una mejora continua y pude aprender de sus aciertos y errores, así como de diferentes puntos de vista que ayudaron a complementar mi trabajo y mi persona, gracias.

Al *Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM*, por brindar las instalaciones necesarias para poder generar este proyecto.

A la *Universidad Nacional Autónoma de México*, por ser mi casa de estudios, la cual me ha permitido formarme como profesional. A ella le debo todos mis logros académicos.

**Esta tesis fue dirigida y supervisada por la Dra. Mercedes Perusquía Nava como parte de su línea de investigación y, el trabajo experimental, el análisis de los datos y la escritura fueron realizados en el laboratorio a su cargo: Endocrinología de la Reproducción, perteneciente al Departamento de Biología Celular y Fisiología del Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México y desarrollado con financiamiento de PAPIIT/DGAPA (Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica/Dirección General de Asuntos del Personal Académico), proyecto No. IN200320 otorgado a la Dra. Mercedes Perusquía Nava.**

**Esta tesis fue elaborada desde el Nivel I al Nivel IV del Taller titulado: “Introducción a la toxicología genética y ambiental” a cargo de la Dra. Patricia Ramos Morales en el área de Biología de la Reproducción a cargo de la Dra. María Mercedes Perusquía Nava.**

## ÍNDICE

Índice de Figuras	5
Lista de Abreviaturas	6
Resumen	8
I. Introducción	9
1.1 Importancia de la Hipertensión Arterial	9
1.2 Hipertensión Arterial y Envejecimiento en Ambos Sexos	11
1.3 Generalidades de las Hormonas Esteroides	12
1.4 Biosíntesis de Hormonas Esteroides	15
1.5 Relación de las Hormonas Sexuales Femeninas en el Sistema Cardiovascular	21
1.6 Relación de las Hormonas Sexuales Masculinas en el Sistema Cardiovascular	23
II. Planteamiento del Problema	26
III. Hipótesis	27
IV. Objetivos	27
4.1 Objetivo General	27
4.2 Objetivos Particulares	27
V. Materiales y Método	28
5.1 Animales	28
5.2 Orquidectomía Bilateral	28
5.3 Ovariectomía Bilateral	30
5.4 Registro de presión arterial en ratas machos y hembras	31
5.5 Presentación de datos y análisis estadístico	35
VI. Resultados	36
6.1 Comparación del aumento de la presión arterial en Hembras OVX vs. Hembras intactas.	36
6.2 Comparación del aumento de la presión arterial en Machos ORQ vs. Machos intactos.	39
6.3 Comparación del aumento de la presión arterial en Machos ORQ vs. Hembras OVX.	41
VII. Discusión	43
VIII. Conclusiones	47
IX. Referencias	48

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> El ciclopentanoperhidrofenantreno	<b>13</b>
<b>Figura 2.</b> Ruta general de la biosíntesis de hormonas esteroides	<b>15</b>
<b>Figura 3.</b> Biosíntesis de la progesterona a partir del colesterol	<b>16</b>
<b>Figura 4.</b> Biosíntesis de andrógenos por las vías $\Delta^4$ - y $\Delta^5$ -	<b>18</b>
<b>Figura 5.</b> Principal ruta de biosíntesis de los estrógenos a partir de la testosterona y androstenediona	<b>20</b>
<b>Figura 6.</b> Orquidectomía bilateral en rata macho	<b>29</b>
<b>Figura 7.</b> Ovariectomía bilateral en rata hembra	<b>31</b>
<b>Figura 8.</b> Entrenamiento previo al inicio del esquema semanal de registro de pletismografía caudal	<b>32</b>
<b>Figura 9.</b> Sistema de registro pletismográfico no invasivo para evaluar la presión arterial en roedores	<b>34</b>
<b>Figura 10.</b> Gráficas de comparación del aumento de la PA (mmHg) de los grupos de hembras	<b>38</b>
<b>Figura 11.</b> Gráficas de comparación del aumento de la PA (mmHg) de los grupos de machos	<b>40</b>
<b>Figura 12.</b> Gráficas de comparación del aumento de la PA (mmHg) de hembras OVX y machos ORQ	<b>42</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

17 $\beta$ -HSD	17beta-hidroxiesteroide deshidrogenasa
3 $\beta$ -HSD	3beta-hidroxiesteroide deshidrogenasa
5 $\alpha$ -DHT	5alfa-dihidrotosterona
5 $\beta$ -DHT	5beta-dihidrotosterona
ACV	Accidentes cerebrovasculares
AKR	Súperfamilia de enzimas aldo-ceto reductasas ( <i>Aldo-Keto Reductase</i> )
AR	Receptores de andrógenos ( <i>Androgen receptors</i> )
CICUAL	Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio
cm	centímetros
DE	Desviación estándar
DHEA	Dehidroepiandrosterona
E2	17 $\beta$ -estradiol
ECV	Enfermedades cardiovasculares
eNOS	Óxido nítrico sintasa endotelial ( <i>endothelial Nitric Oxide Synthase</i> )
ER	Receptores de estrógenos ( <i>estrogen receptors</i> )
Fig.	Figura
°C	Grados Celcius
HSD	Hidroxiesteroide deshidrogenasas ( <i>Hydroxysteroid dehydrogenases</i> )
HTA	Hipertensión arterial

i.p.	intraperitoneal
mER	Receptor de estrógenos de membrana ( <i>membrane estrogen receptor</i> )
mmHg	Milímetros de mercurio
NIH	Institutos Nacionales de Salud ( <i>National Institutes of Health</i> )
NO	Óxido nítrico ( <i>Nitric oxide</i> )
OMS	Organización Mundial de la Salud
ORQ	Orquidectomía(s), Orquidectomizada(s)
OVX	Ovariectomía(s), Ovariectomizada(s)
P450 <sub>arom</sub>	Aromatasa
P450 C-17	17-20 liasa
P450 <sub>scc</sub>	Enzima del Citocromo P450 de escisión de la cadena lateral del colesterol ( <i>Cholesterol side-chain cleavage enzyme</i> )
PA	Presión arterial
PAD	Presión arterial diastólica
PAM	Presión arterial media
PAS	Presión arterial sistólica
ROS	Especies reactivas de oxígeno ( <i>reactive oxygen species</i> )
SCV	Sistema cardiovascular
T	Testosterona
W	Ratas de la cepa Wistar
WHL	Liga Mundial de la Hipertensión ( <i>World Hypertension League</i> )

## RESUMEN

La hipertensión arterial (HTA) es considerada como una de las mayores causas de muerte y discapacidad en el mundo, con mayor incidencia en personas de la tercera edad del sexo masculino. En el envejecimiento es característico la cesación de las hormonas gonadales, lo cual podría estar asociado a la HTA que generalmente se presenta en esta etapa de la vida. Sin embargo, desde el punto de vista experimental no son contundentes las evidencias que determinen la sensibilidad de cada sexo al desarrollo de la HTA. Se ha reportado que los esteroides sexuales, femeninos y masculinos inducen vasodilatación periférica en diferentes lechos vasculares de varias especies, siendo los andrógenos más potentes y eficaces y, como consecuencia también son capaces de provocar una aguda respuesta hipotensora en modelos animales. Para este estudio se midió semanalmente la presión arterial por pletismografía caudal en ratas intactas y gonadectomizadas durante 15 semanas con los siguientes propósitos: 1) comparar en ambos sexos la elevación de la presión arterial durante el proceso de envejecimiento en un modelo experimental de ratas gonadectomizadas cotejando con sus respectivos controles en ratas intactas; 2) determinar el tiempo que tarda el establecimiento de la HTA en cada sexo; y 3) investigar el máximo valor de la HTA en ambos sexos. Los resultados indicaron que las ratas gonadectomizadas de ambos sexos aumentaron de manera significativa y paulatina su presión arterial, la comparación entre machos y hembras demostró que los machos desplegaron la HTA más temprano que las hembras, observándose desde la semana 6, mientras que en las hembras se observó en la semana 10, a la semana 15 los machos alcanzaron valores de la presión arterial sistólica/diastólica de  $156\pm 2.9/105\pm 1.9$  mmHg, siendo significativamente más altos ( $p < 0.01$ ) que los valores en hembras de  $138\pm 1.9/95\pm 1.6$  mmHg. Dichos valores en ambos sexos fueron significativamente diferentes con respecto a los de las ratas intactas que se conservaron normotensas. Los datos muestran que en el modelo de envejecimiento, los machos son más susceptibles al desarrollo de la HTA, probablemente por ausencia de los andrógenos que previenen la vasoconstricción la cual causa HTA.

## INTRODUCCIÓN

### *Importancia de la Hipertensión Arterial*

La presión arterial (PA) se define como la fuerza ejercida por la sangre contra cualquier área unitaria de la pared del vaso sanguíneo, cuyos valores normales en un adulto son de 120 mmHg para la presión sistólica, y 80 mmHg para la presión diastólica. Por otra parte, la hipertensión arterial (HTA), también conocida como presión arterial alta, se presenta al tener una presión arterial mayor que la presión normal aceptada, y los valores establecidos para considerar a una persona hipertensa son 135-140 mmHg para sistólica y 90 mmHg para diastólica (Fox, 2011; Hall, 2016).

La importancia de la HTA frente a la salud radica en el aumento del riesgo de daños que representa al sistema cardiovascular (SCV). Cuanta más alta es la presión, mayor es el daño que reciben los vasos sanguíneos y algunos órganos tales como el corazón, el cerebro y los riñones. Sin embargo, generalmente los síntomas suelen ser imperceptibles y por ello es llamada la enfermedad silenciosa. Así, la HTA fue la principal causa de muerte en la población mundial. Actualmente, las principales causas de muerte son enfermedades cardiovasculares (ECV), entre ellas la HTA, la cual puede generar otras de las principales causas de muerte (Organización Mundial de la Salud; OMS, 2015; OMS 2018).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Liga Mundial de la Hipertensión (WHL); por sus siglas en inglés, uno de cada tres adultos en el

mundo padece hipertensión y, se estima que 9 de cada 10 desarrollarán hipertensión alrededor de los 80 años de edad (Campbell y cols., 2014; OMS, 2016). Algunos de estos estudios han documentado que la HTA es una condición médica frecuente, la cual está relacionada y aumenta notoriamente con la edad, puesto que afecta aproximadamente al 65% de las personas mayores de 60 años y a más del 70% de personas mayores de 85 años. El estudio Framingham mostró que el riesgo de enfermedad coronaria era dos veces mayor en adultos mayores con presión arterial alta con respecto a los adultos más jóvenes con presión arterial alta, tanto para hombres como para mujeres, haciendo más evidente la relación con la edad (revisado por: Noale y cols., 2020; Waisman, 2017).

Complicaciones derivadas de la hipertensión son la causa de 9,4 millones de defunciones cada año en el mundo (OMS, 2014 y 2015). Además, la HTA es ampliamente reconocida como un importante riesgo de salud pública, pues es la mayor causa de muerte y la segunda mayor causa de discapacidad en el mundo (Ordúñez y cols., 2010).

También es importante remarcar que los reportes de diferentes organizaciones derivadas de la OMS a nivel regional concuerdan con que el género masculino es el que más presenta este fenómeno, así como el más afectado por las enfermedades y padecimientos derivados de esta condición (OMS, 2016).

### *Hipertensión Arterial y Envejecimiento en Ambos Sexos*

Derivado de estudios observacionales y epidemiológicos, no sólo se ha visto que la incidencia de ECV ha sido la principal causa de muerte alrededor del mundo, sino que también aumentan de manera dependiente de la edad para ambos sexos; sin embargo, como ya se mencionó, los hombres son los que tienen mayor prevalencia, aun siendo de la misma edad con respecto a la contraparte femenina. Estas evidencias han llevado a especular que las diferencias vistas entre géneros pueden tener su origen en el papel de las hormonas sexuales durante la evolución de las ECV (Kittnar, 2019). En este sentido se ha propuesto que los andrógenos son perjudiciales en los hombres y que los esteroides femeninos, principalmente los estrógenos, son protectores del sistema cardiovascular en las mujeres (Dubey y Jackson, 2001).

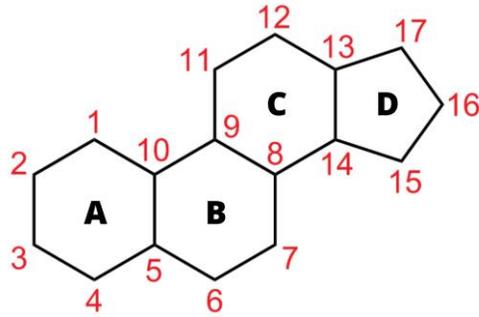
Por otra parte, se sabe que en el envejecimiento hay una pérdida drástica de las hormonas esteroides sexuales. En las mujeres se tiene una pérdida en la producción de estrógenos, progestinas y andrógenos debido a la disfunción ovárica durante la menopausia. Mientras que en los hombres se presenta una deficiencia de andrógenos, la cual es ampliamente reconocida como hipotestosteronemia asociada al envejecimiento (Perusquía y cols., 2019; Yasui y cols., 2012).

Aunado a todo lo anterior, se ha estudiado la deficiencia de esteroides sexuales como factor de riesgo para el desarrollo de ECV; inicialmente, se han

reportado fuertes evidencias que demuestran que en mujeres menopáusicas, los bajos niveles de estradiol están acompañados por un incremento en la incidencia de ECV, incluyendo la HTA; en el caso de los hombres, se ha visto que la pérdida de andrógenos, sobre todo testosterona, está fuertemente relacionada con el aumento progresivo de la HTA (Khaw y Barrett-Connor, 1988; Dubey y Jackson, 2001; Kelly y Jones, 2013; Perusquía y cols., 2019).

### *Generalidades de las Hormonas Esteroides*

Los esteroides son una variedad de compuestos liposolubles que poseen una estructura básica de 4 anillos de carbono, conocida como ciclopentanoperhidrofenantreno (**Fig. 1**). Dentro de estos compuestos, se encuentran las hormonas esteroides gonadales, las cuales se clasifican en andrógenos, estrógenos y progestinas. Se les llama gonadales debido a que es en las gónadas donde se sintetiza la mayor cantidad que se libera al torrente sanguíneo (Norris, 2013). La importancia de las hormonas esteroides radica en la regulación del metabolismo, el crecimiento y la reproducción (Koolman y Röhm, 2004).



**Figura 1. El ciclopentanoperhidrofenantreno.** Estructura básica de las hormonas esteroides, la cual consiste en 17 átomos de carbono que forman 4 anillos fusionados (A, B, C, D).

Las progestinas (con 21 átomos de carbonos) son parte de las hormonas sexuales femeninas, aunque también se encuentran en los hombres en mínimas proporciones. Su función más conocida es la de mantener el embarazo y la condición secretora del endometrio uterino durante la fase lútea del ciclo ovárico. Son de vital importancia ya que son los precursores de los esteroides C18, C19 y C21. A este grupo pertenecen la pregnenolona y la progesterona (Norris y Carr, 2013; King, 2016).

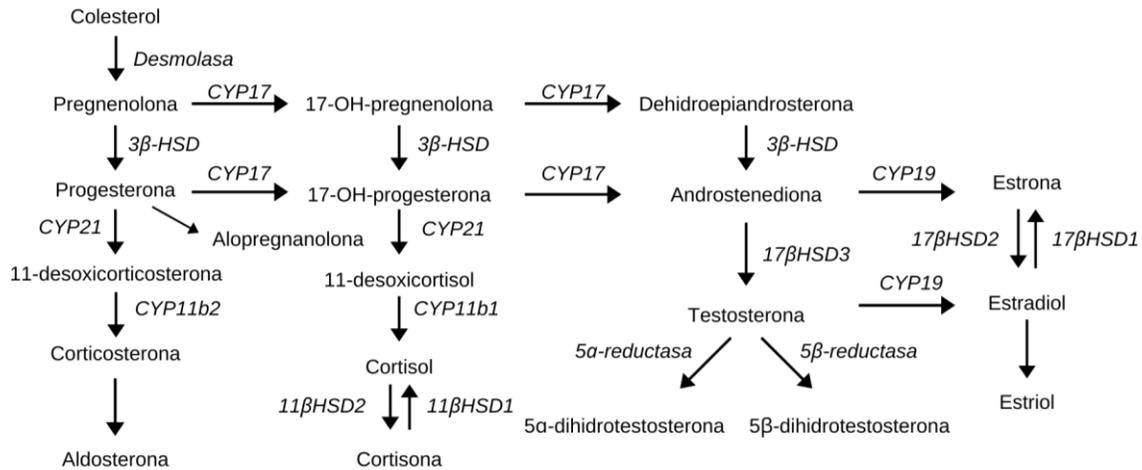
Dentro de las hormonas esteroides se encuentran también los glucocorticoides y mineralocorticoides, los cuales comparten el mismo número de carbonos con las progestinas (21 carbonos). Se sintetizan principalmente en la corteza adrenal, junto con algunos andrógenos, los cuales tienen funciones similares a los producidos en las gónadas. Los glucocorticoides se encargan principalmente de regular el metabolismo de los carbohidratos, mientras que los

mineralocorticoides regulan los niveles de sodio y potasio en el cuerpo (King, 2016).

Los andrógenos (moléculas de 19 átomos de carbonos) son agentes masculinizantes. En los machos, se sintetizan principalmente en los testículos, más específicamente en las células de Leydig, los cuales inician sus síntesis y liberación a la sangre gracias a la acción de la hormona luteinizante. En las hembras, la corteza adrenal y los ovarios son los encargados de la síntesis y liberación de los andrógenos, principalmente las células de la teca (Norris y Carr, 2013).

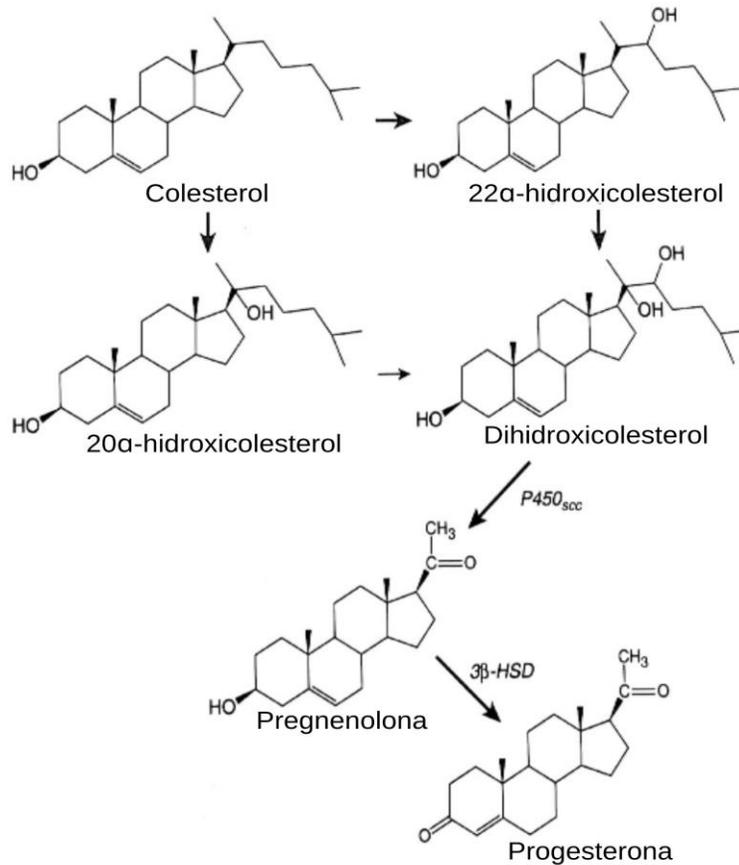
Los estrógenos (moléculas de 18 átomos de carbonos) también eran llamados anteriormente “hormonas femeninas”, dentro de las cuales se encuentran el estradiol, la estrona y el estriol. Se sintetizan a partir de la testosterona por acción de la aromatasa en los ovarios (células de la granulosa) en mujeres; y en el caso de hombres, en células de Leydig y de Sertoli en los testículos, así como en la periferia, y son de importancia en el SCV (Norris y Carr, 2013; Dubey y Jackson, 2001).

## Biosíntesis de Hormonas Esteroides Gonadales



**Figura 2. Ruta general de la biosíntesis de hormonas esteroides.** Se muestran las principales hormonas generadas y las principales enzimas necesarias para llevar a cabo la biosíntesis de las progestinas (C21), los andrógenos (C19) y los estrógenos (C18). También se muestran la biosíntesis de la aldosterona, sin embargo, su síntesis no es gonadal, sino adrenal. Modificado de Tiihonen y cols., 2016.

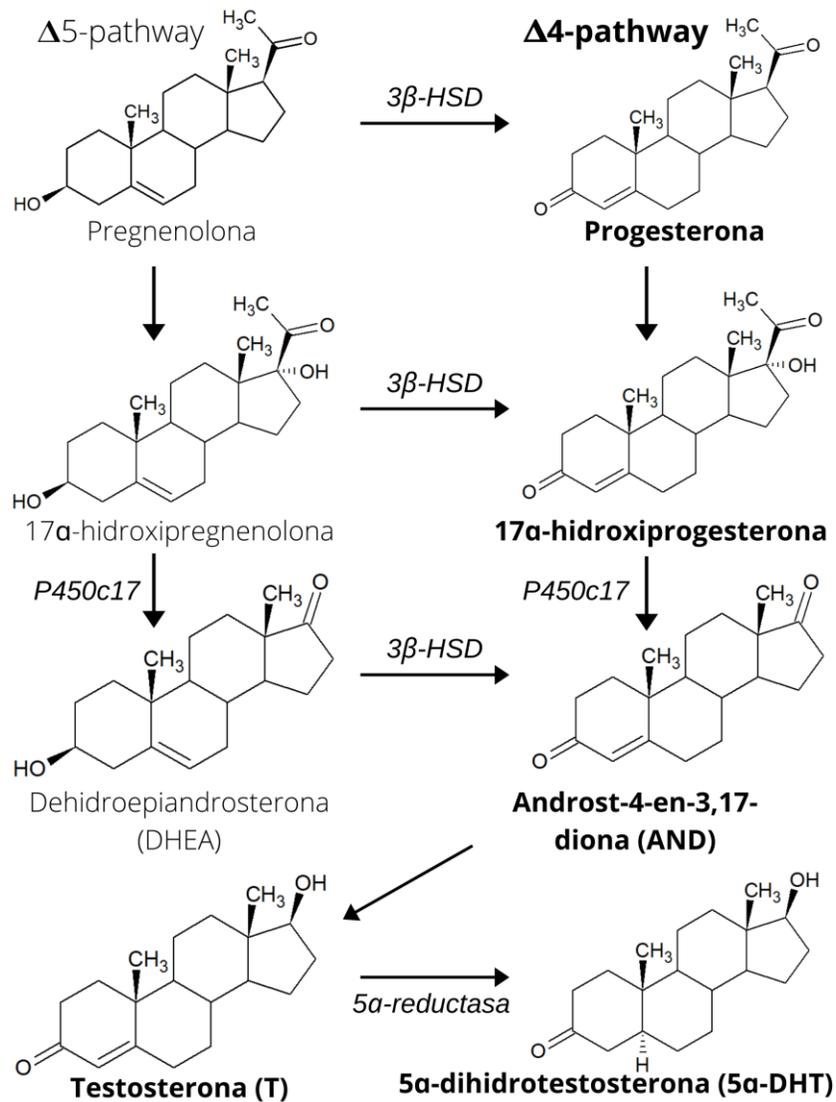
A pesar de que las glándulas suprarrenales y otros tejidos esteroideogénicos pueden sintetizar esteroides (principalmente andrógenos), es en las gónadas donde se producen la mayor cantidad de las hormonas sexuales esteroides, las cuales son sintetizadas gracias a una parte de la familia de los citocromos P450 (**Fig. 2**). El proceso se inicia con la hidrólisis de la cadena lateral del colesterol por la enzima P450<sub>scc</sub>, dando lugar a la pregnenolona (**Fig. 3**) (Norris y Carr, 2013; King, 2016).



**Figura 3. Biosíntesis de la progesterona a partir del colesterol.** Se muestran las enzimas más relevantes en la biosíntesis de la progesterona. Modificado de Norris y Carr, 2013.

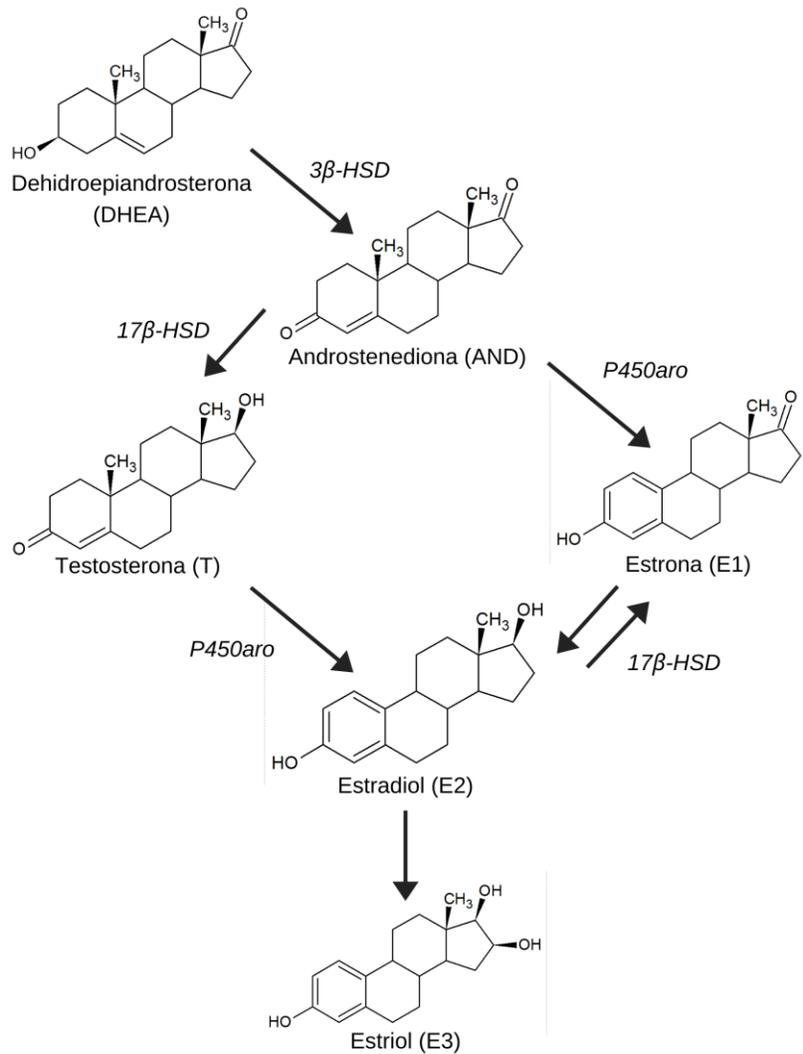
La pregnenolona se puede transformar, por medio de la enzima  $3\beta$ -HSD a progesterona, la cual es el principal precursor de los glucocorticoides, mineralocorticoides y andrógenos. Este cambio es del grupo  $3\beta$ -hidroxilo a 3-cetona y cambia la isomerización del doble enlace  $\Delta^5$  a  $\Delta^4$ . Sin embargo, la pregnenolona puede seguir otra vía para la transformación a andrógenos, por medio de la  $17\alpha$ -hidroxilasa y la  $17$ - $20$  liasa ( $P450$  C-17), que cataliza la  $17$ -

hidroxilación y promueve el rompimiento de la unión 17-20 de pregnenolona para la obtención de dehidroepiandrosterona (DHEA). Posteriormente se obtiene la androstenediona a partir de la DHEA por la  $3\beta$ -HSD, y esto permite que la  $17\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa ( $17\beta$ -HSD) convierta a la androstenediona en testosterona (**Fig. 4**) (Pang, 1998; Takeyama y cols., 2000; Norris y Carr, 2013; King, 2016).



**Figura 4. Biosíntesis de andrógenos por las vías  $\Delta^4$ - y  $\Delta^5$ -.** La vía  $\Delta^5$  típicamente ocurre en la corteza adrenal y usualmente se detiene en la producción de DHEA. En los ovarios de algunas especies, esta vía puede llevar a la producción de testosterona y estrógeno. En cambio, los testículos siguen únicamente la vía  $\Delta^4$ , la cual se resalta con **negritas**. Modificado de Norris y Carr, 2013.

Los andrógenos, específicamente la androstenediona y la testosterona, pueden convertirse en estrona y estradiol, respectivamente, gracias a la P450-arom, también llamada aromatasa. La aromatasa es un complejo enzimático del retículo endoplasmático que se encuentra tanto en los ovarios como en varios otros tejidos en los hombres y las mujeres. Su acción involucra hidroxilaciones y deshidroxilaciones que terminan en la aromatización del anillo A, generando así los esteroides de 18 carbonos. El estradiol y la estrona se convierten entre ellas mismas gracias a la actividad de la 17 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 3 (17 $\beta$ -HSD) (**Fig. 5**) (Stoffel-Wagner, 2001; Norris y Carr, 2013, King, 2016).



**Figura 5. Principal ruta de biosíntesis de los estrógenos a partir de la testosterona y androstenediona.** Para poder sintetizar estrógenos, se requieren a los andrógenos como precursores. La conversión se debe principalmente a la acción de la aromatasa (P450<sub>aro</sub>), la cual aromatiza al anillo A de la estructura principal del ciclopentanoperhidrofenantreno. Modificado de Norris y Carr, 2013.

Por otro lado, hay una superfamilia de enzimas llamadas aldo-ceto reductasas (o AKR, por sus siglas en inglés), la cual contiene 2 clases de enzimas que convierten los esteroides: las hidroxisteroide deshidrogenasas (HSD, en inglés) y las  $\Delta^4$ -3-cetoesteroide-5 $\beta$ -reductasas (o 5 $\beta$ -reductasas). Estas enzimas permiten que hormonas esteroides como la progesterona y testosterona puedan convertirse, por la 5 $\alpha$ - o 5 $\beta$ -reductasa, en 5 $\alpha$  o 5 $\beta$  dihidroderivados, respectivamente. Esta diferencia de 5 $\alpha$  o 5 $\beta$  se debe a la quiralidad del carbono 5 con dos conformaciones 5 $\alpha$  (trans) o 5 $\beta$  (cis). Posteriormente, gracias a las enzimas 3 $\alpha$  y 3 $\beta$ -HSD, se da la conversión a los tetrahidroderivados (Perusquía y Stallone, 2010).

#### *Relación de las Hormonas Sexuales Femeninas en el Sistema Cardiovascular*

Observando las diferencias existentes entre hombres y mujeres en el desarrollo de ECV, y especialmente en la HTA, se ha pensado durante mucho tiempo que las hormonas han tenido un papel importante, dando especial atención a las hormonas sexuales femeninas ya que diversos estudios las han reportado como protectoras del SCV, sobre todo a los estrógenos. Los estrógenos son potentes hormonas esteroides presentes en grandes cantidades en mujeres, principalmente adolescentes, y en menor proporción, en hombres. Su metabolito más activo es el 17 $\beta$ -estradiol (E2) (Reckelhoff, 2005; Knowlton y Lee, 2012; Pang y cols., 2015).

Durante el envejecimiento, los cambios presentes en el SCV son el aumento de rigidez, fibrosis, pérdida de contractilidad, aumento de especies

reactivas de oxígeno (ROS) y disfunción endotelial. Todos estos cambios se han reducido gracias a los estrógenos, puesto que se ha considerado como un agente anti inflamatorio que reduce la necrosis y apoptosis de las células cardiacas y endoteliales, además de que son auxiliares en la reducción de ROS, e incrementan la actividad de la eNOS, la cual es una enzima que permite la producción de óxido nítrico (NO) en las células endoteliales, por lo que permite que haya una vasorelajación. También se sabe que pueden prevenir la remodelación de las células de músculo liso, presentes en los vasos sanguíneos. En cuanto al SCV, se ha reportado que dos de los efectos más relevantes sobre éste son la modulación del tono vascular y la inhibición del crecimiento vascular (Dubey y Jackson, 2001; Kaushik y cols., 2010; Knowlton y Lee, 2012).

Todos estos efectos se han observado gracias a efectos genómicos y no genómicos de los estrógenos en receptores de estrógenos (ER), de los cuales hay dos tipos importantes: el  $\alpha$  y el  $\beta$ , a estos receptores se les atribuye un efecto cardioprotector, así como al receptor de estrógenos de membrana (mER). Es importante señalar que el efecto vasodilatador que presenta es no genómico. Se ha observado rápidas respuestas vasodilatadoras *in vivo* en las arterias coronarias de diferentes especies de mamíferos, incluyendo al humano. Por otro lado, al prevenir el crecimiento vascular de las células del músculo liso, se evitan comportamientos y actividades anormales de las mismas células. También se ha reportado que en mujeres menopáusicas, ante la falta de estrógenos, se presentan diversos síntomas vasomotores, como sofocos y sudoración nocturna

(Dubey y Jackson, 2001; Reckelhoff, 2005; Yasui y cols., 2011; Knowlton y Lee, 2012).

Por último, se ha demostrado que las progestinas tienen efectos benéficos en el SCV debido a que inducen la producción de NO en las células del endotelio vascular. Esto ocurre gracias a la activación de los receptores  $\alpha$  de progestinas. En un estudio realizado en ovejas ovariectomizadas, se observó que las progestinas pueden disminuir la presión arterial por medio de un mecanismo no genómico, demostrando otro efecto benéfico al SCV. Es importante señalar que el efecto protector al SCV de las progestinas es rápido y no genómico (Pecins-Thompson y Keller-Woods, 1997; Roesch y Keller-Wood, 1997; Pang y cols., 2015).

#### *Relación de las Hormonas Sexuales Masculinas en el Sistema Cardiovascular*

El andrógeno predominante en sangre es la testosterona, en los testículos de hombres, los adultos se producen de 2.5 a 10 mg por día, resultando un total de 350 a 1000 ng/dl en plasma. Los niveles de testosterona disminuyen conforme a la edad, y este efecto se ve especialmente en los hombres, cuyos niveles disminuyen entre 1-2% con cada año a partir de los 30 años. Este evento es importante ya que también se reduce la cantidad de la 5 $\alpha$ -dihidrotestosterona (5 $\alpha$ -DHT), la cual se metaboliza a partir de la testosterona, quien es el andrógeno más activo (Kaushik y cols., 2010; Lorigo y cols., 2019).

Estudios clínicos y epidemiológicos han establecido un dimorfismo sexual existente en las ECV, las cuales son más frecuentes en hombres. Anteriormente, se consideraba a la testosterona y a los andrógenos, en general, como sustancias dañinas para el SCV; sin embargo, diversos estudios han demostrado que los andrógenos pueden tener participación importante en la regulación de la función vascular por mecanismos no genómicos, entre ellos, la rápida vasorelajación del músculo liso vascular (MLV), independiente de los receptores de andrógenos (AR) (Perusquía y Stallone, 2010).

De igual manera, que existe una correlación entre la disminución de andrógenos y el aumento en enfermedades cardiovasculares, así como en la HTA, lo cual sugiere un papel fisiológico en la regulación cardiovascular. Aunado al efecto vasorelajante que inducen, en hombres, se ha reportado que la terapia de reemplazo hormonal disminuye la presión arterial (Perusquía y cols., 2007). En lechos vasculares aislados, los andrógenos producen un agudo efecto vasorelajante, en especial por la 5 $\beta$ -dihidrotestosterona (5 $\beta$ -DHT). Hay reportes en los que se ha comparado la potencia vasorelajante entre hormonas masculinas y femeninas, indicando que son los andrógenos los que tienen mayor potencia vasodilatadora. En uno de estos estudios se reportó que los andrógenos tienen mayor potencial vasodilatador con respecto a las progestinas en la arteria umbilical humana, demostrando que el efecto vasodilatador se observa también en humanos (Perusquía y cols., 2007). Por otro lado, también se ha reportado que, en las arterias coronarias de ratas Wistar, la testosterona tiene un mayor efecto vasodilatador con respecto al 17 $\beta$ -estradiol y a la progesterona, viendo así que los

andrógenos tienen un mayor efecto vasodilatador respecto a las hormonas sexuales femeninas (English y cols., 2001).

En animales *in vivo*, se ha podido ver una respuesta antihipertensiva de los andrógenos tanto en ratas machos, hipertensas, normotensas, orquidectomizadas, y en ratas hembras hipertensas (Perusquía y Villalón, 2002; Perusquía y cols., 2015; Perusquía y cols., 2017; Perusquía y cols., 2018; Perusquía y cols., 2019).

Centrando la atención en la aguda vasodilatación ocasionada por los andrógenos, se consideró que el efecto se podría deber a la conversión periférica de la testosterona a  $17\beta$ -estradiol. Sin embargo, algunos estudios han demostrado que son los andrógenos quienes generan este efecto puesto que la inhibición de la aromatasa, enzima que convierte a la testosterona en estrógenos, no bloquea la respuesta vasodilatadora de la testosterona; los antagonistas de receptores de estrógenos no alteran la vasodilatación por testosterona, y los metabolitos no aromatizable de la testosterona también causan vasorelajación (Perusquía y Stallone, 2010; Perusquía y cols., 2015).

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Teniendo en cuenta lo anterior, todo parece indicar que la drástica pérdida de los niveles circulantes de esteroides sexuales en el envejecimiento de ambos sexos podría ser una de las principales causas del disparo de la hipertensión arterial. La información disponible no ha documentado si la hipertensión arterial es más severa en machos o en hembras. Por lo cual, se espera esclarecer, con datos experimentales, si existe mayor predisposición de aumento de la presión arterial en la senectud relacionado al sexo.

## **HIPÓTESIS**

Si los andrógenos son más potentes que los esteroides femeninos para provocar vasodilatación, se espera que el desarrollo de la hipertensión arterial sea más severo en los machos deprivados de andrógenos que en las hembras deprivadas de estrógenos y progesterona.

## **OBJETIVOS**

### *Objetivo General*

Comparar en ambos sexos la elevación de la presión arterial durante el proceso de envejecimiento en un modelo experimental de ratas gonadectomizadas.

### *Objetivos Particulares*

- 1) Establecer el tiempo que tarda el desarrollo de la hipertensión arterial de las ratas gonadectomizadas de cada sexo y comparar con sus respectivos controles en ratas intactas.
- 2) Determinar si, una vez establecida la hipertensión arterial en ambos sexos, los valores se mantienen o continúan elevándose.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Animales*

Se utilizaron ratas machos y hembras normotensas de la cepa Wistar con un peso promedio entre 180-200 gramos (aprox. 6 semanas de edad) al inicio del experimento. Las ratas se obtuvieron del bioterio del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM. Las ratas se mantuvieron en condiciones de bioterio con alimento para ratas (LabDiet®) y agua *ad libitum*. Todos los animales fueron usados siguiendo la guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio, publicado por: *The US National Institutes of Health (NIH publication 86-23, revised 2014)*. Los protocolos experimentales de esta tesis fueron revisados y aprobados por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) del Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.

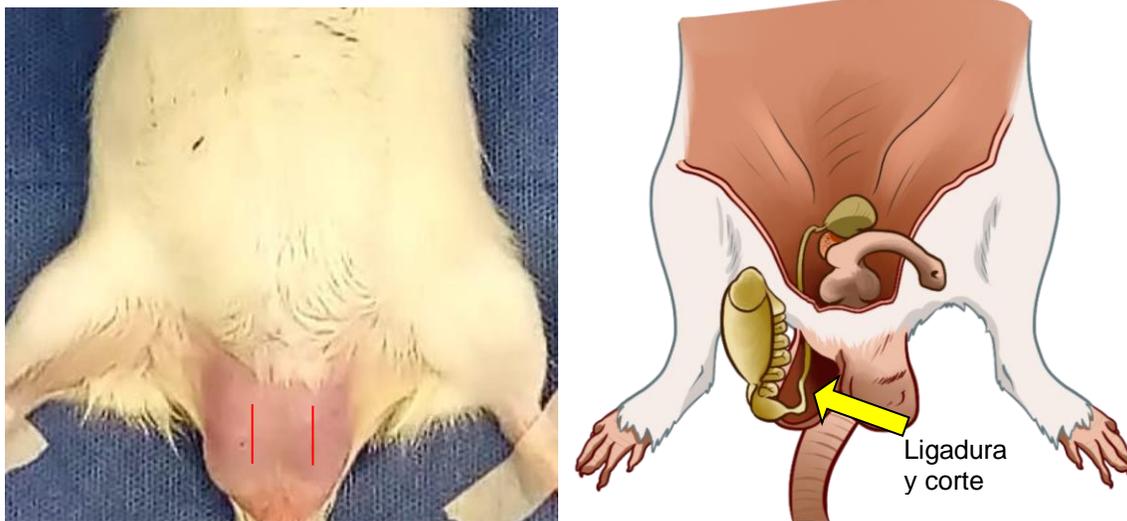
Los animales fueron divididos en 4 grupos: 1) Hembras ovariectomizadas (OVX); 2) Hembras intactas (hembras control); 3) Machos orquidectomizados (ORQ); y 4) Machos intactos (machos control).

### *Orquidectomía Bilateral (ORQ)*

Los animales fueron anestesiados con 10 mg/kg de Xilacina y 80 mg/kg de Ketamina vía i.p. Una vez anestesiada la rata, se palparon ambos testículos y se procedió a rasurar la zona de cirugía. Posteriormente se realizó una incisión en el escroto de aproximadamente 2 cm de longitud, quedando expuesta la túnica albugínea del testículo e incidiendo sobre ella, hasta visualizar el cordón espermático. El cordón espermático se ligó luego con sutura de seda 000 (tres

ceros) y se cortó distalmente a la ligadura con tijeras de punta fina para extraer el testículo. Se procedió de la misma forma con el otro testículo (**Fig. 6**). Ambos cordones espermáticos se volvieron a colocar dentro del canal inguinal. Una vez colocado el cordón espermático, se procedió a suturar el escroto con hilo de seda 000 (tres ceros) con puntos simples y se aplicó una solución antiséptica para heridas (VeteriBac®).

Posterior a la orquidectomía, se dio un tiempo aproximado de 24 horas de recuperación para que después fueran introducidos a sus respectivas jaulas y se procedió a hacer el registro semanal de la presión arterial por un método no invasivo durante 15 semanas, junto con su respectivo grupo control (machos intactos).

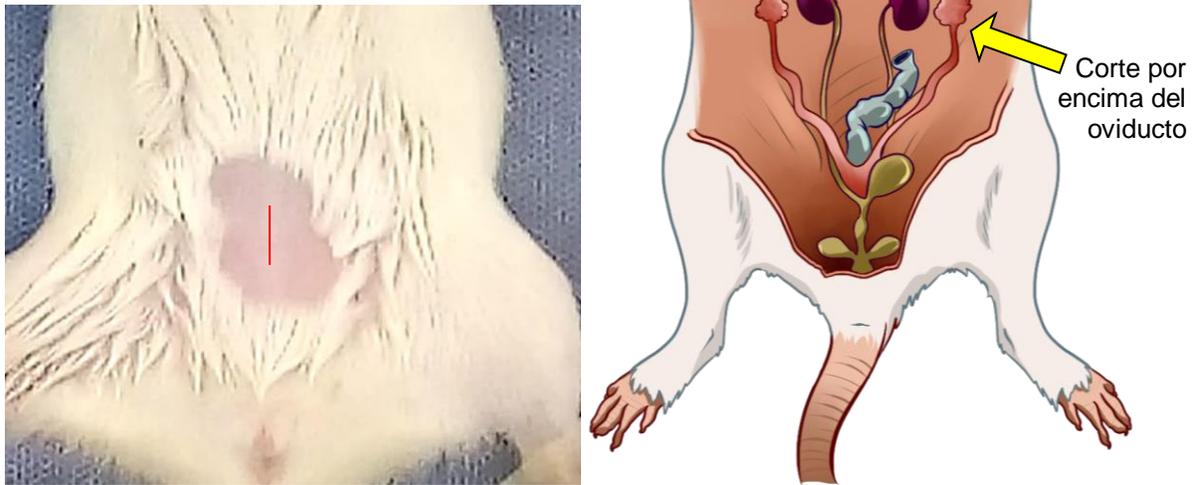


**Figura 6. Orquidectomía bilateral en rata macho.** De lado izquierdo, se observa la zona rasurada donde se procedió a realizar las incisiones (líneas rojas) de 2 cm aproximadamente. De lado derecho, se observa un esquema de varias partes del sistema reproductor del macho, demostrando la zona de ligadura y corte (flecha amarilla) del cordón espermático, así como de la extracción del testículo. La extracción se realizó de cada lado para poder retirar ambos testículos.

### *Ovariectomía Bilateral (OVX)*

Los animales fueron anestesiados con 10 mg/kg de Xilacina y 80 mg/kg de Ketamina vía i.p. Una vez anestesiada la rata, se procedió a rasurar la región abdominal baja (entre los dos últimos pares de tetillas, cercanas a la papila urinaria) y se realizó una incisión en la zona de aproximadamente 1 centímetro. Se cortó el músculo para llegar a la cavidad abdominal, se ubicó la grasa abdominal y se retiró para poder guiarse hasta los cuernos uterinos. Una vez localizados, se extirparon los ovarios cortándolos justo por encima del oviducto (**Fig. 7**). Se volvieron a introducir los cuernos uterinos y se procedió a suturar primero el músculo y posteriormente la piel con hilo de seda 000 (tres ceros), con puntos simples, y finalmente se aplicó una solución antiséptica para heridas (VeteriBac®).

Posterior a la ovariectomía, se dio un tiempo aproximado de 24 horas de recuperación y los animales fueron introducidos a sus respectivas jaulas, se procedió a hacer el registro semanal de la presión arterial por un método no invasivo durante 15 semanas, junto con su respectivo grupo control (hembras intactas).



**Figura 7. Ovariectomía bilateral en rata hembra.** De lado izquierdo, se observa la zona rasurada donde se procedió a realizar las incisiones (líneas rojas) de 1 cm aproximadamente. Para poder ubicar la zona, se utilizaron como referencia los dos últimos pares de tetillas de la rata hembra. De lado derecho, se observa un esquema del sistema reproductor de la hembra, demostrando la zona de corte (flecha amarilla) para la extracción de ambos ovarios.

#### *Registro de presión arterial en ratas machos y hembras*

Se utilizó el método no invasivo de pletismografía caudal para roedores para registrar el tiempo “cero” o tiempo inicial de los animales previo a la gonadectomía. Para la evaluación de la presión arterial se utilizó un equipo electrónico de medición LE 5002 Storage Pressure Meter marca PanLab HARVARD APPARATUS, España, adaptado con un manguillo para roedores.

Para el desarrollo de esta técnica, se realizó un entrenamiento previo de los animales durante dos días consecutivos para adaptarlos a la restricción en el cepo de PVC (**Fig. 8**). Dicho entrenamiento se realizó bajo supervisión constante.

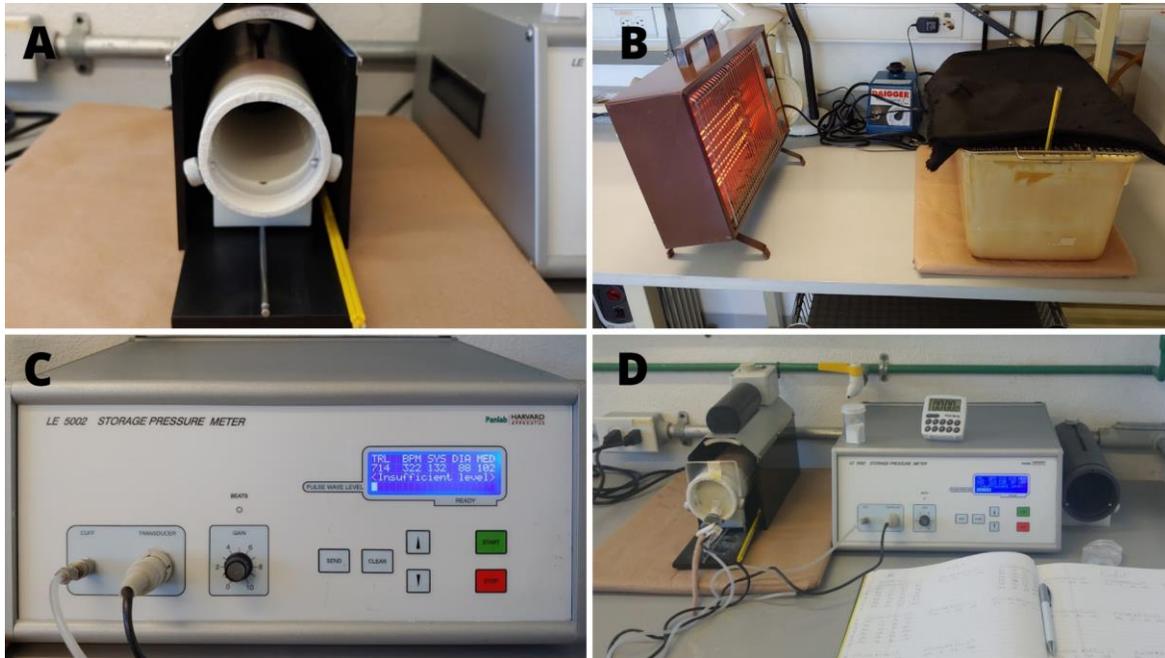
Gracias a esto, se logró aclimatar al animal para evitar signos de estrés que generaran variación en los resultados.



**Figura 8. Entrenamiento previo al inicio del esquema semanal de registro de pletismografía caudal.** Dentro del cepo de acrílico se encuentra el animal restringido, el cual se introduce a éste durante 10 minutos con el objetivo de evitar estrés durante la medición de los valores hemodinámicos.

En esta técnica se requiere la elevación de la temperatura corporal de la rata, para lo cual, previo al registro, se colocó al animal dentro de una caja de policarbonato a una temperatura de 32°C, mantenida por un calentador de resistencia colocado entre 25-30 cm aproximadamente (**Fig. 9B**). Por medio de un

termómetro de mercurio, se pudo monitorear la temperatura para que fuera constante durante 20 minutos con el objetivo de dilatar la arteria caudal de la rata. Posteriormente, se colocó al animal en un cepo para roedores para restringir su movimiento, dentro de una unidad de aislamiento (PanLab) que mantiene la temperatura constante a 32°C (**Fig. 9A**), y se colocó el manguillo especial en la cola de la rata, y se procedió a registrar la presión arterial sistólica, diastólica y media por el pletismógrafo (**Fig. 9D**). Se repitió la medición 5 veces por animal para evitar errores humanos y poder obtener un promedio de las repeticiones que no exceda una diferencia de 2 a 5 mmHg. El promedio obtenido se consideró como la presión arterial para ese animal.



**Figura 9. Sistema de registro pleetismográfico no invasivo para evaluar la presión arterial en roedores.** A) Tubo de PVC para la restricción de movimiento, el cual se mantiene a temperatura constante gracias a la unidad de aislamiento (PanLab), de igual manera se monitorea gracias al termómetro de mercurio. B) Sistema de calentamiento previo al registro, manteniendo la temperatura constante, monitoreada por un termómetro. C) Pletismógrafo que nos muestra los parámetros hemodinámicos (se mide 5 veces en cada animal. D) Manguillo fijado a la cola y conectado al sistema.

El valor de la PAM se obtuvo directamente del pleetismógrafo; sin embargo, la fórmula usada para aproximarse a ella es  $((2PAD)+PAS)/3$ , de modo que los valores dados para la normotensión e hipertensión son **93 mmHg** y **106 mmHg**, respectivamente.

El registro se realizó de manera semanal durante las siguientes 15 semanas posteriores a la gonadectomía de los animales.

### *Presentación de datos y análisis estadístico*

Los datos de experimentos de animales ORQ y OVX fueron presentados en mmHg de la PAM y sistólica/diastólica. Todos los datos representan una media de  $n \geq 6$  animales  $\pm$  desviación estándar de la media (DEM), donde cada “n” representa una rata de cada grupo experimental.

Con la prueba “t de Student” no pareada (por ser muestras independientes) se comparó: 1) aumento de la PAM a las 15 semanas entre las ratas gonadectomizadas (ORQ y OVX) contra sus respectivos controles (ratas intactas); y 2) aumento de la PAM a las 15 semanas de las ratas ORQ contra las ratas OVX. También se realizó ANOVA de una vía para buscar diferencias significativas en las últimas semanas, a manera de observar si el incremento de la presión arterial continúa o se detiene, así como una prueba post hoc de Tukey. El procesamiento de los datos fue analizado y graficado utilizando el programa estadístico GraphPad PRISM® (Versión 8).

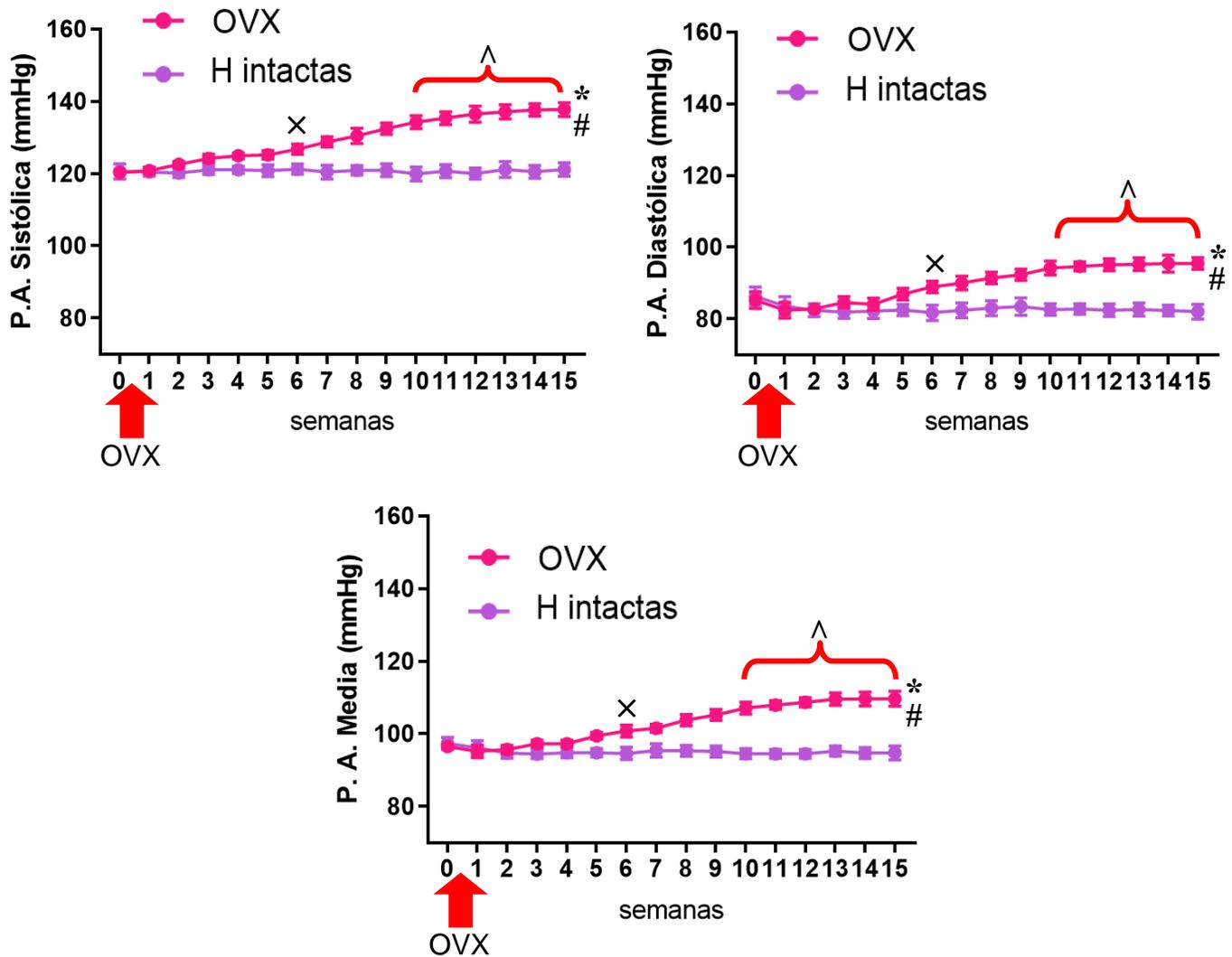
## RESULTADOS

### *Comparación del aumento de la presión arterial en Hembras OVX vs. Hembras intactas.*

Al finalizar el registro semanal de las ratas hembras, se observó que la PAS/PAD y PAM incrementaron gradualmente en las ratas OVX en comparación con las ratas hembras intactas. En las gráficas de PAS, PAD y PAM (**Fig. 10**), se muestra el curso temporal del cambio de la presión arterial medida en mmHg; mostrando un incremento semanal después de la ovariectomía. Los valores iniciales y finales de las hembras intactas son  $121 \pm 2.1 / 86 \pm 2.5$  (PAM:  $97 \pm 1.6$ ) mmHg vs.  $121 \pm 1.8 / 82 \pm 2$  (PAM:  $95 \pm 1.9$ ) mmHg, respectivamente. Los valores iniciales y finales de las hembras OVX son  $120 \pm 1.4 / 85 \pm 2.3$  (PAM:  $96 \pm 1.4$ ) mmHg, y  $138 \pm 1.9 / 95 \pm 1.6$  (PAM:  $110 \pm 2$ ) mmHg, respectivamente.

Se observa una diferencia significativa ( $p < 0.001$ ) en la PAS, PAD y PAM entre los valores del grupo de las OVX en comparación al grupo de las hembras intactas (**Fig. 11**). A su vez, dentro del grupo de las OVX, se aprecia una diferencia significativa entre la semana 0 y la semana 15 ( $p < 0.0001$ ) en la PAS, PAD y PAM; mientras que las hembras intactas no presentaron una diferencia significativa entre sus valores iniciales y finales ( $p > 0.05$ ). Otra observación importante es que en las tres gráficas de hembras (PAS, PAD y PAM), el grupo de OVX y el grupo de intactas difieren significativamente ( $p < 0.05$ ) en la semana 6 del registro.

La prueba de ANOVA demostró que no hubo una diferencia significativa entre semanas desde la semana 10 hasta la semana 15 ( $p>0.05$ ) en el grupo de las OVX; este comportamiento se observa en las tres gráficas de la presión arterial de las hembras (PAS, PAD y PAM).



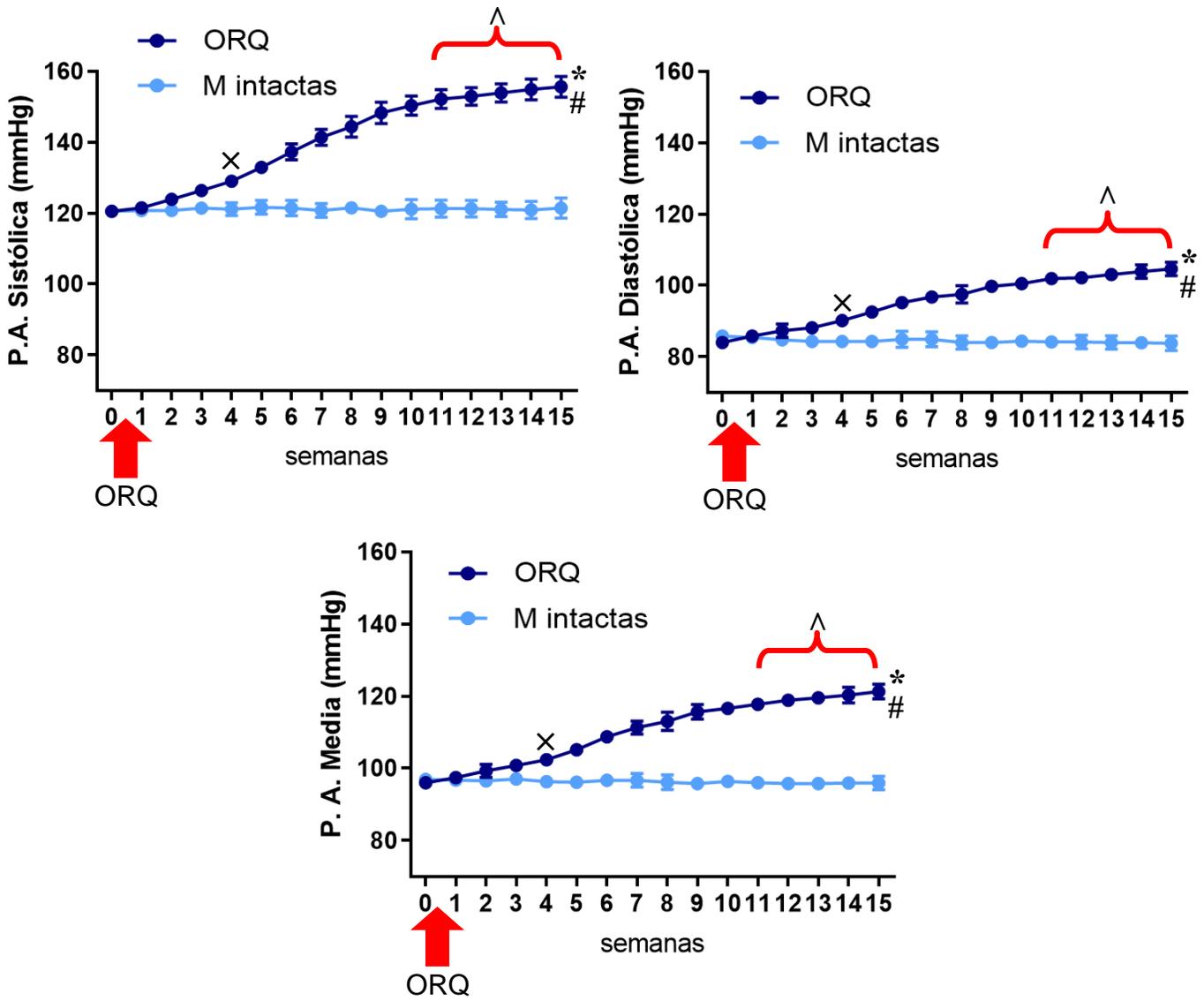
**Figura 10. Gráficas de comparación del aumento de la PA (mmHg) de los grupos de hembras.** La PA aumentó gradualmente después de la OVX. La curva de las OVX muestra una diferencia significativa ( $*p < 0.001$ ) con respecto a las hembras intactas. En hembras OVX, la semana 0 y la semana 15 son diferentes significativamente ( $\#p < 0.0001$ ). Las llaves indican las semanas que no presentan diferencia significativa ( $\wedge p > 0.05$ ). En todas las gráficas, las OVX y las intactas difieren significativamente a partir de la semana 6 ( $\times p < 0.05$ ). Cada símbolo en las curvas representa  $n \geq 6 \pm \text{DEM}$ . La flecha representa el momento de la OVX. La semana «cero» corresponden a los valores iniciales.

*Comparación del aumento de la presión arterial en Machos ORQ vs. Machos intactos.*

Al finalizar el registro semanal, se observó que la PAS/PAD y PAM incrementaron gradualmente en las ratas ORQ con respecto a las ratas machos intactos (grupo control). En las gráficas de PAS, PAD y PAM (**Fig. 11**), se muestra curso temporal del cambio de la presión arterial medida en mmHg; mostrando un incremento semanal después de la orquidectomía. Los valores iniciales y finales de los machos intactos son  $121 \pm 1.1 / 86 \pm 1.4$  (PAM:  $97 \pm 0.9$ ) mmHg, y  $121 \pm 2.8 / 84 \pm 2$  (PAM:  $96 \pm 1.8$ ) mmHg, respectivamente. Los valores iniciales y finales de los ORQ son  $121 \pm 1.5 / 84 \pm 0.9$  (PAM:  $96 \pm 0.7$ ) mmHg, y  $156 \pm 2.9 / 105 \pm 1.9$  (PAM:  $121 \pm 2$ ) mmHg, respectivamente.

Se observa una diferencia significativa ( $p < 0.001$ ) en la PAS, PAD y PAM entre la curva de los animales ORQ en comparación a las ratas machos intactos (**Fig. 11**). A su vez, dentro del grupo de los ORQ, se aprecia una diferencia significativa entre la semana 0 y la semana 15 ( $p < 0.0001$ ); las ratas machos intactas no aumentaron significativamente en sus valores iniciales y finales ( $p > 0.05$ ). De igual manera, en las tres gráficas (PAS, PAD y PAM) las ratas ORQ y las ratas machos intactas difieren significativamente desde la semana 4 ( $p < 0.05$ ).

La ANOVA realizada en las semanas finales del registro muestra que desde la semana 11 hasta la semana 15, no hay diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) entre semanas en las ratas ORQ, por lo que los valores de PA no siguen en aumento. Esto se observa en las tres gráficas de la PA de los machos (PAS, PAD y PAM).



**Figura 11. Gráficas de comparación del aumento de la PA (mmHg) de los grupos de machos.** La PA aumentó gradualmente después de la ORQ. La curva de los ORQ muestra una diferencia significativa (\* $p < 0.001$ ) con respecto a los machos intactos. En machos ORQ, la semana 0 y la semana 15 son diferentes significativamente (# $p < 0.0001$ ). Las llaves indican las semanas que no presentan diferencia significativa (^ $p > 0.05$ ). En todas las gráficas, las ORQ y las intactas difieren significativamente a partir de la semana 4 ( $x p < 0.05$ ). Cada símbolo en las curvas representa  $n \geq 6 \pm DEM$ . La flecha representa el momento de la ORQ. La semana «cero» corresponden a los valores iniciales.

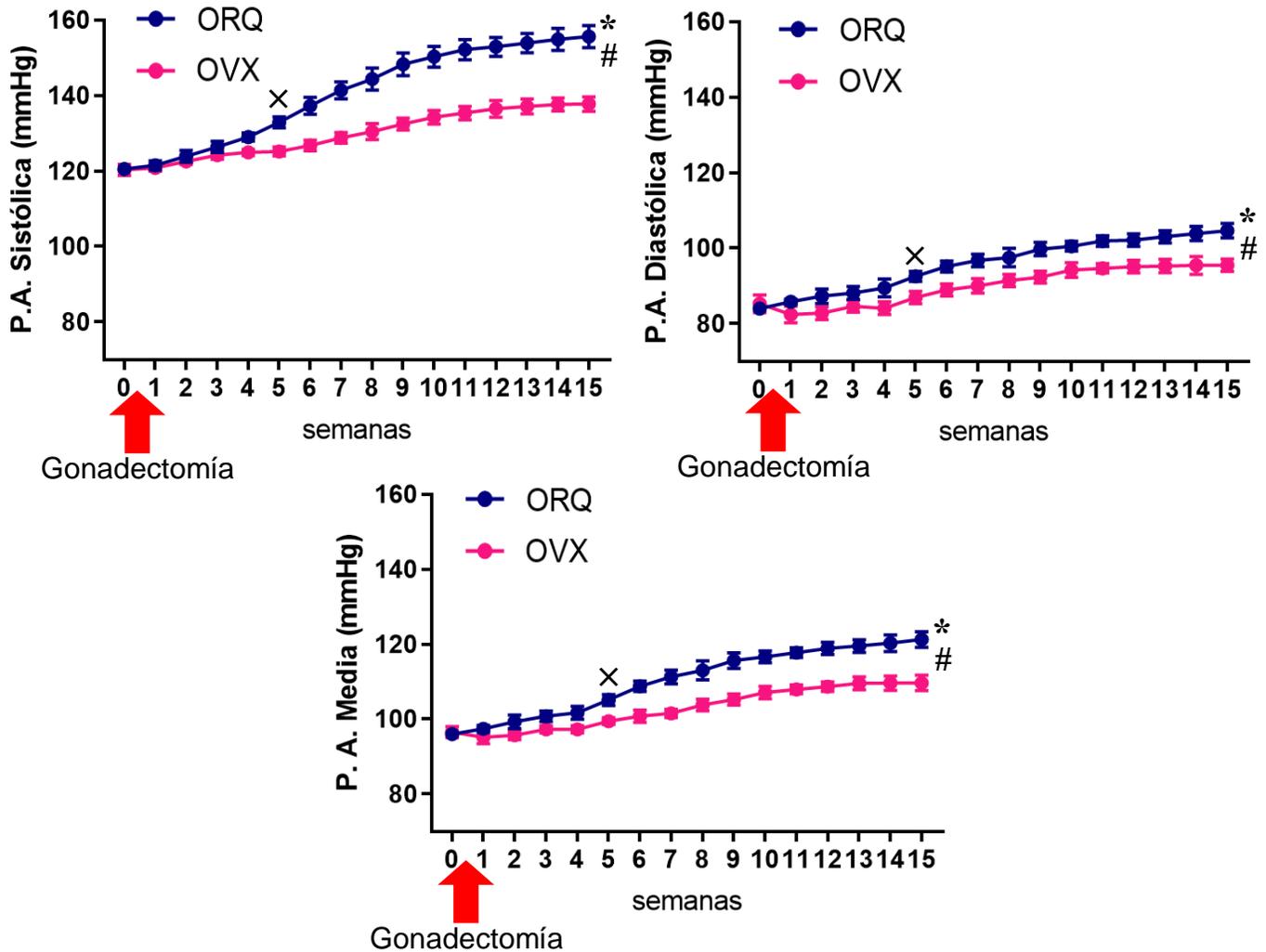
### *Comparación del aumento de la presión arterial en Machos ORQ vs. Hembras OVX.*

Una vez realizada la comparación entre ratas del mismo sexo y sus controles, se procedió a realizar la comparación de los datos obtenidos para la PAS, PAD y PAM (**Fig. 12**) de los animales ORQ y los OVX, ambos mostrando el incremento de la presión arterial expresada en mmHg de manera semanal. Se observa que la curva de los machos difiere significativamente de la curva de las hembras en las tres gráficas ( $p < 0.01$ ). La diferencia entre ambos grupos se observa desde la semana 5 ( $p < 0.05$ ).

Por otro lado, la comparación de los valores de PAS, PAD y PAM de la última semana (semana 15) muestra que los valores son diferentes significativamente (PAS:  $p < 0.0001$ ; PAD, PAM:  $p < 0.001$ ) entre ambos subgrupos de ratas gonadectomizadas, observando una mayor severidad en el incremento de los ORQ.

Se observa que en la PAS, los valores mínimos de HTA (140 mmHg) son superados en 16 mmHg por los machos ( $156 \pm 2.9$  mmHg), mientras que las hembras apenas llegan a los valores mínimos de HTA ( $138 \pm 1.9$  mmHg). En cuanto a la PAD, tanto en hembras como machos se superan los valores mínimos de HTA (90 mmHg); en el caso de las hembras se superan por 5 mmHg ( $95 \pm 1.6$  mmHg) mientras que en el caso de los machos, se superan por 15 mmHg ( $105 \pm 1.9$  mmHg). En el caso de la PAM, las hembras superan los valores mínimos de HTA (106 mmHg) por 4 mmHg ( $110 \pm 2$  mmHg), mientras que los machos superan

estos valores mínimos por 15 mmHg ( $121 \pm 2$  mmHg), volviendo a quedar claro que los machos fueron el grupo que mayor aumento de la PA presentó.



**Figura 12. Gráficas de comparación del aumento de la PA (mmHg) de hembras OVX vs. machos ORQ.** La PA aumentó gradualmente después de la gonadectomía. La curva de los ORQ presenta una diferencia significativa (\* $p < 0.01$ ) con respecto a la curva de las OVX. La comparación de los valores finales entre ambos grupos difieren significativamente (PAS # $p < 0.0001$ ; PAD, PAM # $p < 0.001$ ). Ambos grupos difieren significativamente a partir de la semana 5 (x  $p < 0.05$ ) en las tres gráficas. Cada símbolo en las curvas representa  $n \geq 6 \pm$  DEM. La flecha representa el momento de la gonadectomía. La semana «cero» corresponden a los valores iniciales.

## DISCUSIÓN

Es importante señalar que los modelos de orquidectomía y ovariectomía en ratas son ampliamente aceptados como modelos de estudio de la deficiencia de andrógenos, y de estrógenos y progestinas, respectivamente (Coyotupa y cols. 1973), estos modelos simulan lo que ocurre en el envejecimiento con la cesación progresiva de la secreción de estas hormonas. Por lo que, los hallazgos del presente estudio refuerzan la idea de que la pérdida de hormonas sexuales en el envejecimiento, por disfunción de las gónadas en esta etapa de la vida, puede ser uno de los principales factores que contribuyen al desarrollo de la HTA, como se ha visto que ocurre en adultos de la tercera edad (Pecins-Thompson y Keller-Woods, 1997). Es ampliamente reconocido que el uso de animales de laboratorio muestra muchas ventajas: 1) los grupos de hembras y machos estuvieron estrictamente bajo las mismas condiciones experimentales, es decir, edad, peso y mismo medio ambiente; 2) los animales no tienen enfermedades previas o medicación; 3) los grupos no tuvieron variación en el momento de la interrupción de la secreción hormonal y; 4) con grupos control en igualdad de circunstancias. Condiciones que no se pueden controlar en estudios clínicos.

En el presente estudio se demostró que la privación de las hormonas sexuales en ambos sexos aumentó la PA, evidenciando que los machos, desarrollan más rápidamente el aumento de la PA, llegando a valores críticos de HTA antes que las hembras.

Es ampliamente reconocido que las hormonas femeninas, estrógenos y progestinas poseen propiedades vasodilatadoras; asimismo, los andrógenos

tienen esa misma respuesta vasodilatadora, incluso son más potentes y eficaces que las hormonas femeninas (English y cols., 2001; Perusquía y cols., 2007). Es pertinente mencionar que una gran variedad de estudios han demostrado que el mecanismo de la acción vasodilatadora de las hormonas esteroides está asociada con la modulación de la contractilidad del músculo liso vascular. En forma notable, el mecanismo de acción más comprobado y aceptado es la regulación de la actividad de la permeabilidad iónica de la membrana en la célula vascular lisa, de manera particular: 1) inactivación de los canales de calcio tipo “L” operados por voltaje (VOCCs, por sus siglas en inglés) (Crews y Khalil, 1999; Murphy y Khalil, 1999; English y cols., 2002; Perusquía y cols., 2007; Montaña y cols., 2008) o 2) activación de los canales de potasio (Deenadayalu y cols., 2001; Ding y Stallone, 2001; Seyrek y cols., 2007; Cairrão y cols., 2008) , específicamente los canales de potasio operados por voltaje ( $K_v$ ) y/o los canales de potasio activados por calcio de larga conductancia ( $BK_{Ca}$ ) (revisado en: Perusquía y Stallone, 2010).

Una gran cantidad de estudios han señalado que los estrógenos son cardioprotectores en las hembras (revisado por: Farhat y cols., 1996; Mendelsohn y Karas, 1999), mientras que los andrógenos se han considerado nocivos en el sistema cardiovascular. Esta aseveración fue basada en observaciones que documentaron que los hombres típicamente desarrollan ECV más tempranamente que las mujeres (Maranon y Reckelhoff, 2013). Sin embargo, estudios epidemiológicos han observado una relación en la reducción de los niveles de testosterona con el aumento de las ECV (Reckelhoff, 2005). Los resultados obtenidos en el presente estudio nos muestran que, en efecto, los niveles bajos de

testosterona (y andrógenos en general) son parte importante en el desarrollo de la HTA, lo cual parece indicar una similitud con los estudios previos donde se demuestra que los andrógenos tienen un mayor efecto vasorrelajante en contraste con los estrógenos y progestinas (English y cols., 2001; Perusquía y cols., 2007), por lo que en el presente proyecto se puede aclarar esta controversia y cumple la hipótesis de trabajo.

Recientemente ha habido un interés creciente en el papel que juegan los sexos en el desarrollo de la HTA. A este respecto, es posible extrapolar los resultados obtenidos a los humanos, tal parece que la deficiencia de hormonas sexuales masculinas en los hombres produce un mayor desarrollo de la HTA en comparación con la ausencia de hormonas sexuales femeninas en las mujeres, y esto coincide con la incidencia del aumento de la HTA reportadas en los estudios epidemiológicos. Cabe destacar que los andrógenos y estrógenos tienen diferentes concentraciones en los hombres y las mujeres, por lo que, mientras en los hombres hay una fuerte disminución de andrógenos, y concentraciones muy bajas de estrógenos y progestinas, las mujeres pueden mantener la concentración de andrógenos gracias a la biosíntesis que se presenta en las glándulas suprarrenales (Norris y Carr, 2013; King, 2016), por lo que podría ser un importante factor por el cual las mujeres no desarrollan una HTA tan marcada como los hombres.

Es importante tener en cuenta que el declive de los niveles de testosterona está acompañado por enfermedades asociadas a la edad, tal como: riesgo cardiovascular, incluyendo HTA, obesidad, síndrome metabólico,

dislipidemia, osteoporosis, hipogonadismo, incontinencia urinaria perdida de la masa muscular y deterioro del estado anímico, con disfunción sexual, incluyendo disfunción eréctil, eyaculación precoz y libido disminuido (revisado por: Kelly y Jones, 2013; English y cols. 2000; Wang y cols., 2011; Traish y cols. 2009). Esto indica claramente la acción benéfica de los andrógenos como protectores y descarta la antigua creencia de efectos nocivos.

Otro aspecto a destacar es un estudio hecho en un modelo experimental de preeclampsia humana en ratas (Perusquía y cols., 2018) que demostró que las hembras también son sensibles a la respuesta antihipertensiva que los andrógenos.

Finalmente, se han reportado que en hombres y mujeres, las terapias de reemplazo hormonal para contrarrestar los efectos de la disminución de hormonas sexuales han permitido disminuir la incidencia de ECV, entre ellas la HTA. Esto podría suponer un buen método para evitar el desarrollo de ECV y, en consecuencia, de HTA (Knowlton y Lee, 2012; Perusquía y cols., 2019). Perusquía y colaboradores (2017) realizaron un estudio donde se administró una terapia de reemplazo hormonal (testosterona) a ratas macho orquidectomizadas, previniendo así el desarrollo de HTA; gracias a esta evidencia, se puede decir que las terapias de reemplazo hormonal funcionan en etapas tempranas de envejecimiento para poder atenuar el desarrollo de ECV.

## CONCLUSIONES

1) La comparación entre ambos sexos mostró que los machos ORQ deprivados de andrógenos desarrollaron valores mayores de presión arterial que las hembras OVX deprivadas de estrógenos y progestinas, por lo que se comprueba que la severidad del aumento de la presión arterial durante el envejecimiento es mayor en machos que en hembras, destacando que la falta de andrógenos produce una hipertensión arterial más severa.

2) Derivado de lo anterior, este trabajo *in vivo* reporta que los andrógenos tienen un mayor efecto vasodilatador respecto a los esteroides femeninos (progestinas y estrógenos), lo cual coincide con lo reportado en numerosos estudios funcionales, *in vitro*, en diferentes lechos vasculares.

3) La ausencia de andrógenos dispara un mayor aumento en los valores de presión arterial y una mayor severidad en el desarrollo de HTA en machos. Por lo tanto, los niveles fisiológicos de andrógenos provoca un efecto protector sobre el desarrollo de la HTA.

4) Por su fuerte efecto vasodilatador, los andrógenos podrían ser considerados en el uso terapéutico para el tratamiento de la HTA y de ese modo prevenirla.

## REFERENCIAS

- Barakat, R., Oakley, O., Kim, H., Jin, J., & Ko, C. J. (2016). Extra-gonadal sites of estrogen biosynthesis and function. *BMB reports*, 49(9), 488.
- Cairrão, E., Álvarez, E., Santos-Silva, A. J., & Verde, I. (2008). Potassium channels are involved in testosterone-induced vasorelaxation of human umbilical artery. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 376(5), 375.
- Campbell, N. R., Lackland, D. T., Niebylski, M. L., & World Hypertension League and International Society of Hypertension Executive Committees. (2014). High blood pressure: why prevention and control are urgent and important—a 2014 fact sheet from the World Hypertension League and the International Society of Hypertension. *The Journal of Clinical Hypertension*, 16(8), 551-553.
- Crews, J. K., & Khalil, R. A. (1999). Antagonistic effects of 17 $\beta$ -estradiol, progesterone, and testosterone on Ca<sup>2+</sup> entry mechanisms of coronary vasoconstriction. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 19(4), 1034-1040.
- Coyotupa, J., Parlow, A. F., & Kovacic, N. (1973). Serum testosterone and dihydrotestosterone levels following orchietomy in the adult rat. *Endocrinology*, 92(6), 1579-1581.
- Deecher, D. C., & Dorries, K. (2007). Understanding the pathophysiology of vasomotor symptoms (hot flushes and night sweats) that occur in perimenopause, menopause, and postmenopause life stages. *Archives of women's mental health*, 10(6), 247-257.
- Deenadayalu, V. P., White, R. E., Stallone, J. N., Gao, X., & Garcia, A. J. (2001). Testosterone relaxes coronary arteries by opening the large-conductance, calcium-activated potassium channel. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 281(4), H1720-H1727.
- Ding, A. Q., & Stallone, J. N. (2001). Testosterone-induced relaxation of rat aorta is androgen structure specific and involves K<sup>+</sup> channel activation. *Journal of Applied Physiology*, 91(6), 2742-2750.

- Dubey, R. K., & Jackson, E. K. (2001). Estrogen-induced cardiorenal protection: potential cellular, biochemical, and molecular mechanisms. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 280(3), F365-F388.
- English, K. M., Steeds, R. P., Jones, T. H., Diver, M. J., & Channer, K. S. (2000). Low-dose transdermal testosterone therapy improves angina threshold in men with chronic stable angina: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Circulation*, 102(16), 1906-1911.
- English, K. M., Jones, R. D., Jones, T. H., Morice, A. H., & Channer, K. S. (2001). Gender differences in the vasomotor effects of different steroid hormones in rat pulmonary and coronary arteries. *Hormone and Metabolic Research*, 33(11), 645-652.
- English, K. M., Jones, R. D., Jones, T. H., Morice, A. H., & Channer, K. S. (2002). Testosterone acts as a coronary vasodilator by a calcium antagonistic action. *Journal of endocrinological investigation*, 25(5), 455-458.
- Farhat, M. Y., Lavigne, M. C., & Ramwell, P. W. (1996). The vascular protective effects of estrogen. *The FASEB Journal*, 10(5), 615-624.
- Fox, S. I. (2011). *Fisiología humana* (12<sup>a</sup> ed). Mcgraw-Hill Interamericana.
- Hall, J. E. (2016). *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology* (13th ed). Elsevier. Philadelphia, USA.
- Kaushik, M., Sontineni, S. P., & Hunter, C. (2010). Cardiovascular disease and androgens: a review. *International journal of cardiology*, 142(1), 8-14.
- Kelly, D. M., & Jones, T. H. (2013). Testosterone: a vascular hormone in health and disease. *J Endocrinol*, 217(3), R47-71.
- Khaw, K. T., & Barrett-Connor, E. (1988). Blood pressure and endogenous testosterone in men: an inverse relationship. *Journal of hypertension*, 6(4), 329-332.

- Kittnar, O. (2019). Selected sex related differences in pathophysiology of cardiovascular system. *Physiological Research*, 69(1), 21-31.
- Knowlton, A. A., & Lee, A. R. (2012). Estrogen and the cardiovascular system. *Pharmacology & therapeutics*, 135(1), 54-70.
- Koolman, J. & Röhm, K.H. (2004). Bioquímica Humana. Texto y Atlas. 3ªEd. Editorial Médica Panamericana. Madrid, España. 488p.
- Lorigo, M., Mariana, M., Lemos, M. C., & Cairrao, E. (2019). Vascular mechanisms of testosterone: the non-genomic point of view. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 105496.
- Mendelsohn, M. E., & Karas, R. H. (1999). The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *New England journal of medicine*, 340(23), 1801-1811.
- Montano, L. M., Calixto, E., Figueroa, A., Flores-Soto, E., Carbajal, V., & Perusquía, M. (2008). Relaxation of androgens on rat thoracic aorta: testosterone concentration dependent agonist/antagonist L-type Ca<sup>2+</sup> channel activity, and 5β-dihydrotestosterone restricted to L-type Ca<sup>2+</sup> channel blockade. *Endocrinology*, 149(5), 2517-2526.
- Murphy, J. G., & Khalil, R. A. (1999). Decreased [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> during inhibition of coronary smooth muscle contraction by 17β-estradiol, progesterone, and testosterone. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 291(1), 44-52.
- Noale, M., Limongi, F., & Maggi, S. (2020). Epidemiology of Cardiovascular Diseases in the Elderly. In *Frailty and Cardiovascular Diseases* (pp. 29-38). Springer, Cham.
- Norris, D. O. & Carr, J. A. (2013). *Vertebrate Endocrinology* (5th ed). Elsevier.
- Ordúñez García, P., Pérez Flores, E., & Hospedales, J. (2010). Más allá del ámbito clínico en el cuidado de la hipertensión arterial. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 28, 311-318.

- Pang, S. (1998). The molecular and clinical spectrum of 3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase deficiency disorder. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 9(2), 82-86.
- Pang, Y., Dong, J., & Thomas, P. (2015). Progesterone increases nitric oxide synthesis in human vascular endothelial cells through activation of membrane progesterone receptor- $\alpha$ . *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 308(10), E899-E911.
- Pecins-Thompson, M., & Keller-Wood, M. (1997). Effects of progesterone on blood pressure, plasma volume, and responses to hypotension. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 272(1), R377-R385.
- Perusquía, M., & Villalón, C. M. (2002). The vasodepressor effect of androgens in pithed rats: potential role of calcium channels. *Steroids*, 67(13-14), 1021-1028.
- Perusquía, M., Navarrete, E., González, L., & Villalón, C. M. (2007). The modulatory role of androgens and progestins in the induction of vasorelaxation in human umbilical artery. *Life sciences*, 81(12), 993-1002.
- Perusquía, M., & Stallone, J. N. (2010). Do androgens play a beneficial role in the regulation of vascular tone? Nongenomic vascular effects of testosterone metabolites. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 298(5), H1301-H1307.
- Perusquía, M., Greenway, C. D., Perkins, L. M., & Stallone, J. N. (2015). Systemic hypotensive effects of testosterone are androgen structure-specific and neuronal nitric oxide synthase-dependent. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 309(2), R189-R195.
- Perusquía, M., Herrera, N., Ferrer, M., & Stallone, J. N. (2017). Antihypertensive effects of androgens in conscious, spontaneously hypertensive rats. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 167, 106-114.
- Perusquía, M., Hanson, A. E., Meza, C. M., Kubli, C., Herrera, N., & Stallone, J. N. (2018). Antihypertensive responses of vasoactive androgens in an in vivo

experimental model of preeclampsia. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 178, 65-72.

Perusquía, M., Contreras, D., & Herrera, N. (2019). Hypotestosteronemia is an important factor for the development of hypertension: elevated blood pressure in orchidectomized conscious rats is reversed by different androgens. *Endocrine*, 1-10.

Reckelhoff, J. F. (2005). Sex steroids, cardiovascular disease, and hypertension: unanswered questions and some speculations. *Hypertension*, 45(2), 170-174.

Roesch, D. M., & Keller-Wood, M. (1997). Progesterone rapidly reduces arterial pressure in ewes. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 272(1), H386-H391.

Seyrek, M., Yildiz, O., Ulusoy, H. B., & Yildirim, V. (2007). Testosterone relaxes isolated human radial artery by potassium channel opening action. *Journal of pharmacological sciences*, 103(3), 309-316.

Stoffel-Wagner, B. (2001). Neurosteroid metabolism in the human brain. *European Journal of Endocrinology*, 145(6), 669-680

Takeyama, J., Suzuki, T., Hirasawa, G., Muramatsu, Y., Nagura, H., Iinuma, K., Nakamura, J., Kimura, K., Yoshihama, M., Harada, N., Sasano, H. & Andersson, S. (2000). 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and 2 expression in the human fetus. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 85(1), 410-416.

Tiihonen Möller, A., Bäckström, T., Söndergaard, H., Kushnir, M., & Bergquist, J. (2016). Diurnal variations of endogenous steroids in the follicular phase of the menstrual cycle. *Neurochem Neuropharm Open Access*, 2(109), 2.

Traish, A. M., Guay, A., Feeley, R., & Saad, F. (2009). The dark side of testosterone deficiency: I. Metabolic syndrome and erectile dysfunction. *Journal of andrology*, 30(1), 10-22.

Waisman, G. (2017). Hipertensión arterial en el anciano. *Hipertensión y riesgo vascular*, 34(2), 61-64.

Wang, C., Jackson, G., Jones, T. H., Matsumoto, A. M., Nehra, A., Perelman, M. A., Swerdloff, R. S., Traish, A., Zitzmann, M. & Cunningham, G. (2011). Low testosterone associated with obesity and the metabolic syndrome contributes to sexual dysfunction and cardiovascular disease risk in men with type 2 diabetes. *Diabetes care*, 34(7), 1669-1675.

Yasui, T., Matsui, S., Tani, A., Kunimi, K., Yamamoto, S., & Irahara, M. (2012). Androgen in postmenopausal women. *The Journal of Medical Investigation*, 59(1, 2), 12-27.

#### **Referencias virtuales:**

King, M. W. (2016). Hormonas Esteroides y Receptores. En *La Página de Bioquímica Médica*. Consultado en febrero del 2020. Disponible en: <https://themedicalbiochemistrypage.org/es/steroid-hormones-sp.php>

OMS (2015). Preguntas y respuestas sobre la hipertensión. Consultado en febrero del 2020. Disponible en: <https://www.who.int/features/qa/82/es/>

OMS (2016). Raised blood pressure (SBP  $\geq$  140 OR DBP  $\geq$  90), age-standardized (%)  
Estimates by World Bank income group. Consultado en febrero del 2020. Disponible en: <http://apps.who.int/gho/data/view.main.NCDBPAWBv?lang=en>

OMS (2018). Las 10 principales causas de defunción. Consultado en noviembre del 2020. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>