



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**COMPARACIÓN DE LA EFICACIA DEL IMPLANTE
SUBDÉRMICO VS LA ADMINISTRACIÓN ORAL DE LA
TERAPIA DE REEMPLAZO ESTROGÉNICA EN RATA
WISTAR HEMBRA OVARIECTOMIZADA**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADA EN BIOQUÍMICA DIAGNÓSTICA**

PRESENTA:

NEIDY MELINA KUYOC ARROYO



**UNAM
CUAUTITLÁN**

ASESORA
M en C. DIANA RAMÍREZ HERNÁNDEZ
CO-ASESORA
Dra JAZMÍN FLORES MONROY

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2022



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

ASUNTO: VOTO APROBATORIO



DEPARTAMENTO DE

EXÁMENES PROFESIONALES

DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: DRA. MARIA DEL CARMEN VALDERRAMA BRAVO
Jefa 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**

Comparación de la eficacia del implante subdérmico vs la administración oral de la terapia de reemplazo estrogénica en rata Wistar hembra ovariectomizada.

Que presenta la pasante: **Neidy Melina Kuyoc Arroyo**

Con número de cuenta: **314104096** para obtener el título de: **Licenciada en Bioquímica Diagnóstica.**

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 19 de Mayo de 2022.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. María Esther Revuelta Miranda	
VOCAL	M. en C. Tais Nopal Guerrero	
SECRETARIO	M. en C. Diana Ramírez Hernández	
1er. SUPLENTE	Dra. Azucena Lee Mendoza	
2do. SUPLENTE	Esp. F.H. Jonathan Raymundo García Martínez	

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

MCVB/cga*

Dedicatoria

A mamá y a papá por haberme esperado y amado desde siempre y por haber formado la persona que soy. En memoria a mamá que ya no estás conmigo, pero sé que vives en mis recuerdos, porque tú fuiste mi inspiración para elegir mi carrera, y espero que donde quiera que estés, estes orgullosa de mí.

A papá por ser mi inspiración y mi ejemplo de esfuerzo y superación, por despertarte todos los días a trabajar para darnos lo mejor, por apoyar mis sueños y mis decisiones, por guiarnos a Carlos y a mí en la vida, por haber hecho lo mejor estando solo, por tus consejos y tus regaños.

A mi hermano, Carlos, por ser mi compañero de aventuras en estos 19 años, porque mi vida si sería aburrida sin ti, por siempre estar ahí para mí, por tu confianza y por permitirme ser tu inspiración.

Neidy Melina Kuyoc Arroyo

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por haberme dado la oportunidad de demostrar mis capacidades.

A la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán por ser parte de 4 maravillosos años de mi vida, donde conocí a increíbles personas.

Al laboratorio de Farmacología de miocardio y a todos los que aman trabajar en él, a la maestra Diana y la Dra Jazmín, por tener paciencia y haber confiado en mí, por haberme enseñado tanto académicamente como en la vida y por haberme animado a seguir en la investigación.

A José. Gracias por estar siempre ahí para mí, por escucharme, por comprenderme, por apoyarme siempre a cumplir mis sueños y por ayudarme a dormir un poco más cuando me ahogaba en tarea, por creer en mí y por amarme tanto. Me encanta vernos crecer juntos y cumplir nuestros sueños.

A mis amigos, especialmente a Alejandra, por compartir 4 años muy lindos de una amistad incondicional, de risas hasta que no podíamos, de desvelos y que, aunque sintiéramos que no podíamos, estábamos ahí para estudiar juntas, corregirnos y ayudarnos.

A mi familia, abuelos, tíos y primos por el interés sobre mi carrera y por el apoyo siempre.

A Alexandra Elbakyan y los que hicieron la información confiable, gratis y accesible.

Neidy Melina Kuyoc Arroyo

ÍNDICE

ÍNDICE.....	5
ÍNDICE DE FIGURAS.....	6
ABREVIATURAS.....	7
ABSTRACT.....	9
RESUMEN.....	10
INTRODUCCIÓN.....	11
1. MARCO TEÓRICO	12
1.1. ESTRÓGENOS.....	12
1.1.1. GENERALIDADES	12
1.1.2. BIOSÍNTESIS DE ESTRÓGENOS	12
1.1.3. RECEPTORES DE ESTRÓGENOS	14
1.1.4. MECANISMO DE ACCIÓN.....	16
1.1.5. EFECTOS EN EL SISTEMA CARDIOVASCULAR.....	19
1.2. MENOPAUSIA.....	24
1.2.1 CICLO REPRODUCTIVO.....	24
1.2.2 FISIOLÓGÍA.....	25
1.2.3 EPIDEMIOLOGÍA.....	26
1.2.4. MENOPAUSIA EN EL SISTEMA CARDIOVASCULAR	39
1.3 TERAPIA DE REEMPLAZO HORMONAL.....	44
1.3.1 HISTORIA.....	44
1.3.2. FARMACOCINÉTICA DE 17 B-ESTRADIOL.....	55
1.3.3 MÉTODOS DE TERAPIA DE REEMPLAZO ESTROGÉNICO	57
2. JUSTIFICACIÓN	61
3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	61
4. HIPÓTESIS	61
5. OBJETIVO GENERAL	62
5.1. OBJETIVOS PARTICULARES	62
6. MATERIALES Y MÉTODOS	63
7. RESULTADOS	67
8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	72
9. CONCLUSIONES.....	76
10. REFERENCIAS.....	77

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Biosíntesis de 17 β -estradiol.....	14
Figura 2. Mecanismo de acción de 17- β Estradiol.....	17
Figura 3. Efectos de 17 β -Estradiol en el sistema cardiovascular.....	23
Figura 4. Algoritmo de diagnóstico HTAS.....	28
Figura 5. Continuación Algoritmo de diagnóstico HTAS.....	29
Figura 6. Algoritmo de diagnóstico de cardiopatía isquémica con dolor torácico típico.....	31
Figura 7. Algoritmo de diagnóstico de Cardiopatía isquémica con dolor torácico atípico.....	32
Figura 8. Tratamiento para el paciente diagnosticado con cardiopatía isquémica.....	33
Figura 9. Algoritmo de diagnóstico para enfermedad vascular cerebral (EVC).....	36
Figura 10. Algoritmo de diagnóstico EVC por imagenología.....	37
Figura 11. Efectos de la menopausia en el sistema cardiovascular.....	43
Figura 12. Estimación de la incidencia acumulada de eventos cardiovasculares.....	45
Figura 13. Estimación de incidencia acumulada de angina inestable, injerto baipás de arteria coronaria o revascularización percutánea coronaria.....	46
Figura 14. Cambio promedio en c-LDL, c-HDL y triacilglicéridos durante el primer año de seguimiento expresados en porcentaje.....	47
Figura 15. Tiempo de progresión del grosor de la íntima media.....	49
Figura 16. Incidencia acumulada de los padecimientos evaluados.....	51
Figura 17. Progresión del grosor de la íntima media de la arteria carótida, de acuerdo con el grupo y estadio de la menopausia.....	54
Figura 18. Concentraciones de 17 β -estradiol en ratas y ratones después de la administración subcutánea.....	58
Figura 19. Concentraciones de 17 β -estradiol en ratas y ratones como consecuencia de la administración diaria de hormonas en Nutella.....	59
Figura 20. Metodología experimental.....	63
Figura 21. Implante que contiene 17 β -estradiol listo para su colocación.....	67
Figura 22. Implante colocado en el dorso superior de la rata ovariectomizada.....	67
Figura 23. Células observadas en el frotis vaginal en los diferentes grupos.....	68
Figura 24. Concentración sérica de E2 por vía subcutánea.....	69
Figura 25. Concentración sérica de E2 por vía oral.....	70
Figura 26. Concentraciones séricas promedio de 17 β -estradiol por grupos.....	71

ABREVIATURAS

AMPc	Adenosín monofosfato cíclico
AT1	Receptor de angiotensina II tipo 1
BKCa	Canales de potasio activados por calcio
CAC	Calcio coronario
C _{max}	Concentración máxima
CnA	Calcineurina
CREB	Proteína de unión del elemento de la respuesta a AMPc
Cu/ZnSOD	Superóxido dismutasa de cobre/ zinc
DHET	Ácidos dihidroxi-eicosatrienoicos
E1	Estrona
E2	17-β estradiol
E3	Estriol
ECA	Enzima convertidora de angiotensina
EET	Ácidos epoxieicosatrienoicos
ELITE	Vascular Effects of Early versus Late Postmenopausal Treatment with Estradiol
eNOS	Óxido nítrico sintasa endotelial
EPAT	Estrogen in the Prevention of Atherosclerosis Trial
ER	Receptores de estrógenos
ERA	The estrogen replacement and atherosclerosis
ERE	Elementos de respuesta a estrógenos
ERα	Receptores de estrógenos α
ERβ	Receptores de estrógenos β
FSH	Hormona Foliculoestimulante
GMPc	Guanosín monofosfato cíclico.
GP-1	Receptor de estrógenos acoplado a proteína G
GTP	Guanosín trifosfato
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
HERS	Heart and Estrogen/progestin Replacement Study
HMG-CoA	3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A o β-hidroxi-β-metilglutaril-coenzima A
HSD	3-β-hidroxiesteroide deshidrogenasa
HSD17B	17-β-hidroxiesteroide deshidrogenasa
HTAS	Hipertensión arterial sistémica
IMC	Índice de masa corporal
Inos	Óxido nítrico sintasa inducible
KEEPS	The Kronos Early Estrogen Prevention Study
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
LH	Hormona luteinizante
MAPK/ ERK	Vía de las proteínas cinasas activadas por mitógenos
MnSOD	Superóxido dismutasa de zinc
mPTP	Poros de transición de permeabilidad mitocondrial
mtDNA	DNA mitocondrial

NADPH	Nicotidamida-Adenina Dinucleótido fosfato
NFAT	Factor nuclear de activación a células T
NF- κ B	Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células β activadas
NO	Óxido nítrico
PCR	Proteína C reactiva
PI3K/ AKT	Vía del Fosfoinositol 3-cinasa
PKA	Proteína cinasa A
PKC	Proteína cinasa C
ROS	Especies reactivas de oxígeno
sEH	Epóxido hidrolasa soluble
SGC	Guanilato ciclasa soluble
SHBG	Globulina transportadora de hormonas sexuales.
SP-1	Proteína 1
SRA	Sistema renina angiotensina
STARD-1	Proteína reguladora aguda esteroideogénica
THE	Terapia hormonal estrogénica
Tmax	Tiempo máximo
VASP	Fosfoproteína estimulante vasodilatadora
WHI	Women's Health Initiative

ABSTRACT

Various investigations indicate that there is a cardioprotective effect of 17 β -estradiol in healthy postmenopausal women that could work as a preventive measure for cardiovascular diseases. Research on the effects of estradiol is carried out mainly in laboratory animals and, therefore, it is important to have 17 β -estradiol long-term administration methods, however, most of them are invasive, since they cause stress to animals, in addition produce important variations, whence, the objective of this project is to determine the serum concentrations of 17 β -estradiol administered through a controlled-release subdermal implant and compare it with the oral route, in ovariectomized female Wistar rats, to select the best method that allows maintaining stable concentrations of estrogens similar to those found in the proestrus stage. Methodology: Forty 12-week-old female Wistar rats were randomly assigned in 4 groups, Control (n=10), Ovx (n=10), Ovx-implant (n=10) and Ovx-VO (n=10). Bilateral ovariectomy was performed for both experimental groups and recovery was achieved within 5 weeks. The implant was placed subcutaneously in the rat's neck with a dose of 180 μ g/mL of estradiol for 10 weeks. For the oral administration group, 5 μ g/Kg of estradiol in 1 g/Kg of hazelnut cream was administered every 24 h for 4 days. For the oral administration, serum samples were obtained at 2 h, 24 h, 36 h, 60 h, 72 h, 84 h and 96 h, whilst for subdermal administration serum samples were obtained at 0 h, 72 h, 10 h. and 18 days, 5, 8 and 10 weeks, finally 17 β -estradiol was quantified using the ELISA technique, with which the efficacy of both methods was compared. Results: The subcutaneous route produced significant variations in Estradiol concentrations since a concentration of 436.37 pg/mL was observed at 0 h, which decreased to 200.52 pg/mL at 72 h, while at 10 and 18 days the concentrations remain low (14.54 to 18.47 pg/mL), however, on the 5th week, a concentration peak (1072.79 pg/mL) was observed and on the 8th week it abruptly decreases to 19.18 pg/mL, finally on 10th week the concentration is 72.49 pg/mL. On the other hand, in the oral method, the results show more stable concentrations, since a gradual increase was found, from 34.90 pg/mL at 2 hours after administration to 121.142 pg/mL at 24 hours and 219.91 pg. /mL at 36 h, while at 48 h, 60 h and 72 h they remain stable at 53.47 pg/mL, 63.55 pg/mL and 59.59 pg/mL, respectively, however, it is also observed a concentration peak of 468 pg/mL at 84 h, while at 96 h it dropped to 220.94 pg/mL. Conclusion: The most effective method that allows reaching serum concentrations like the proestrus stage in ovariectomized female Wistar rats is the oral method with hazelnut cream, since it maintains stable serum concentrations avoiding stress in experimental animals, which was not observed with the controlled-release implant, as there are important variations in serum concentrations of 17 β -estradiol.

RESUMEN

Diversas investigaciones apuntan a que existe un efecto cardioprotector por parte del 17 β -estradiol en mujeres sanas postmenopáusicas que podría funcionar como medida de prevención para enfermedades cardiovasculares. La investigación sobre los efectos del estradiol se realiza principalmente en animales de laboratorio y por ello, es importante tener métodos de administración de 17 β -estradiol a largo plazo, sin embargo, la mayoría son invasivos, ya que provocan estrés a los animales, además de que producen variaciones importantes, por ello, el objetivo de este proyecto fue determinar las concentraciones séricas de 17 β -estradiol administradas a través de un implante subdérmico de liberación controlada y compararlo con la vía oral, en rata Wistar hembra ovariectomizada, para seleccionar el mejor método que permita mantener concentraciones estables de estrógenos similares a las encontradas en la etapa de proestro. Metodología: Se contó con 40 ratas Wistar hembra de 12 semanas de edad aleatorizadas en 4 grupos, Control (n=10), Ovx (n=10), Ovx-Implante (n=10) y Ovx-VO (n=10). Se realizó la ovariectomía bilateral para los 3 últimos grupos experimentales y se permitió la recuperación durante 5 semanas. El implante fue colocado en el dorso del animal por vía subcutánea con una dosis de 180 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de estradiol durante 10 semanas. Para el grupo de Ovx-VO se administró 5 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de estradiol en 1 g/Kg de crema de avellana cada 24 h durante 4 días. En el caso de la administración oral, se obtuvieron muestras séricas a las 2 h, 24 h, 36 h, 60 h, 72 h, 84 h y 96 h, mientras que para administración subdérmica se obtuvieron a 0 h, 72 h, 10 y 18 días, 5, 8 y 10 sem, finalmente se cuantificó 17 β -estradiol mediante la técnica ELISA, con lo cual se comparó la eficacia de ambos métodos. Resultados: La vía subcutánea produjo variaciones importantes en las concentraciones de Estradiol puesto que se observa una concentración de 436.37 pg/mL a las 0 h, que disminuye a 200.52 pg/mL a las 72 h, mientras que a los 10 y 18 días las concentraciones se mantienen bajas (14.54 a 18.47 pg/mL), sin embargo, en la semana 5 se observa un pico de concentración (1072.79 pg/mL) y en la semana 8 disminuye abruptamente a 19.18 pg/mL, finalmente en la semana 10 la concentración se encuentra en 72.49 pg/mL. Por otra parte, en el método oral los resultados mostraron concentraciones más estables, ya que se observó un aumento gradual, de 34.90 pg/mL a las 2 h de la administración a 121.142 pg/mL a las 24 h y 219.91 pg/mL a las 36 h, mientras que a las 48 h, 60 h y 72 h se mantienen estables en 53.47 pg/mL, 63.55 pg/mL y 59.59 pg/mL, respectivamente, sin embargo también se observa un pico de concentración de 468 pg/mL a las 84 h, mientras que a las 96 h disminuye a 220,94 pg/mL. Conclusión: El método más eficaz que permite alcanzar concentraciones séricas similares a la etapa de proestro en rata Wistar hembra ovariectomizada es el método oral con crema de avellana, ya que mantiene concentraciones séricas estables evitando el estrés en los animales de experimentación, lo que no se observó con el implante de liberación controlada, pues hay variaciones importantes en las concentraciones séricas de 17 β -estradiol.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares en la mujer son un problema de salud muy importante tanto en México como en el mundo, pues se consideran las primeras causas de muerte; tan solo en nuestro país, según datos del INEGI, en 2017 murieron 66 mil 337 mujeres por enfermedades del corazón (Aguilar Guzmán, 2020).

Por otro lado, la terapia de reemplazo hormonal ha sido utilizada principalmente para tratar síntomas vasomotores de la menopausia, sin embargo, en la década de 1980 se comienza con la investigación de los efectos de la terapia de reemplazo hormonal en la osteoporosis y el sistema cardiovascular. Estudios posteriores observaron riesgos importantes en la utilización de ésta, mientras que otras investigaciones apuntan que existe un efecto cardioprotector en mujeres sanas y funciona como medida de prevención para enfermedades cardiovasculares (Kohn et al., 2019).

La investigación sobre los efectos del estradiol se realiza principalmente en animales de laboratorio, por lo cual es importante tener métodos de administración de 17β -estradiol, sin embargo, surgen algunos problemas en estos métodos puesto que son mayormente invasivos que provocan estrés a los animales como las inyecciones diarias y los implantes comerciales de liberación controlada, además de que producen variaciones importantes. Por otro lado, no se tienen métodos orales prácticos, se ha intentado la administración con emulsiones con agua y en mezclas con alimentos mediante sondas, no obstante, las concentraciones séricas de estos métodos no se han estudiado a profundidad, además del estrés causado a los animales en la manipulación. (Isaksson et al., 2011)

Para evitar alteraciones por el ciclo natural de la rata, es sometida a la ovariectomía dorsal bilateral, un procedimiento quirúrgico simple en el cual se remueven ambos ovarios sin la necesidad de manipular el tracto gastrointestinal (Stout Steele & Avery, 2011).

Ström et al., en 2012, propusieron 2 vías de administración de 17β -estradiol en rata y ratón hembra ovariectomizadas, las cuales son; un implante de 17β -estradiol de liberación controlada y estradiol disuelto en crema de avellana (Nutella®); se consideraron como una mejor opción de terapia de reemplazo estrogénico a corto, así como a largo plazo, puesto que alcanzan concentraciones fisiológicas.

El objetivo de este proyecto es determinar las concentraciones séricas de 17β -estradiol administradas a través de un implante subdérmico de liberación controlada y compararlo con la vía oral, en rata Wistar hembra ovariectomizada, para seleccionar el mejor método que permita mantener concentraciones estables de estrógenos similares a las encontradas en la etapa de proestro.

1. MARCO TEÓRICO

1.1. ESTRÓGENOS

1.1.1. GENERALIDADES

Los estrógenos son las principales hormonas sexuales femeninas del tipo esteroide y juegan un papel importante en los sistemas reproductivo y no reproductivo. Su nombre deriva de la observación externa y de la disección anatómica del cuerpo humano que se ha llevado a cabo desde la antigüedad, en donde a lo largo del tiempo; distintos estudiosos descubrieron que los ovarios producían una sustancia que tenía efectos benéficos para las mujeres y animales hembra sobre la maduración sexual y la reproducción de forma que regulan el ciclo estral; a diferencia de aquellas a las cuales se les extirpaban los ovarios; de modo que dicha sustancia recibió el nombre de estrógenos. (Cui et al., 2013; Santen & Simpson, 2019).

Estructuralmente, 17- β estradiol (E2) es derivado del colesterol y es diferente a la progesterona, testosterona y otras hormonas esteroideas, puesto está formado por 18 carbonos, poseen un anillo fenólico A con un hidroxilo en posición C3; además tiene un grupo hidroxilo en posición C17. Es el más potente que se produce de manera endógena en el humano (Baker, 2013; Coelingh Bennink, 2004; Gruber et al., 2002).

Existen 2 metabolitos de E2; el primero es estrona (E1) el cual contiene un grupo cetona en posición C17; es el estrógeno más potente después de 17- β estradiol y se sintetiza principalmente en la menopausia. Finalmente, el estriol (E3) posee un grupo α -hidroxilo en C16, este es el menos potente y se produce en grandes cantidades en el embarazo. (Baker, 2013).

1.1.2. BIOSÍNTESIS DE ESTRÓGENOS

Como se ha citado anteriormente, los estrógenos tienen funciones tanto reproductivas como no reproductivas, de manera que se pueden sintetizar en órganos gonadales y no gonadales, en donde desempeñan funciones específicas del órgano (Cui et al., 2013).

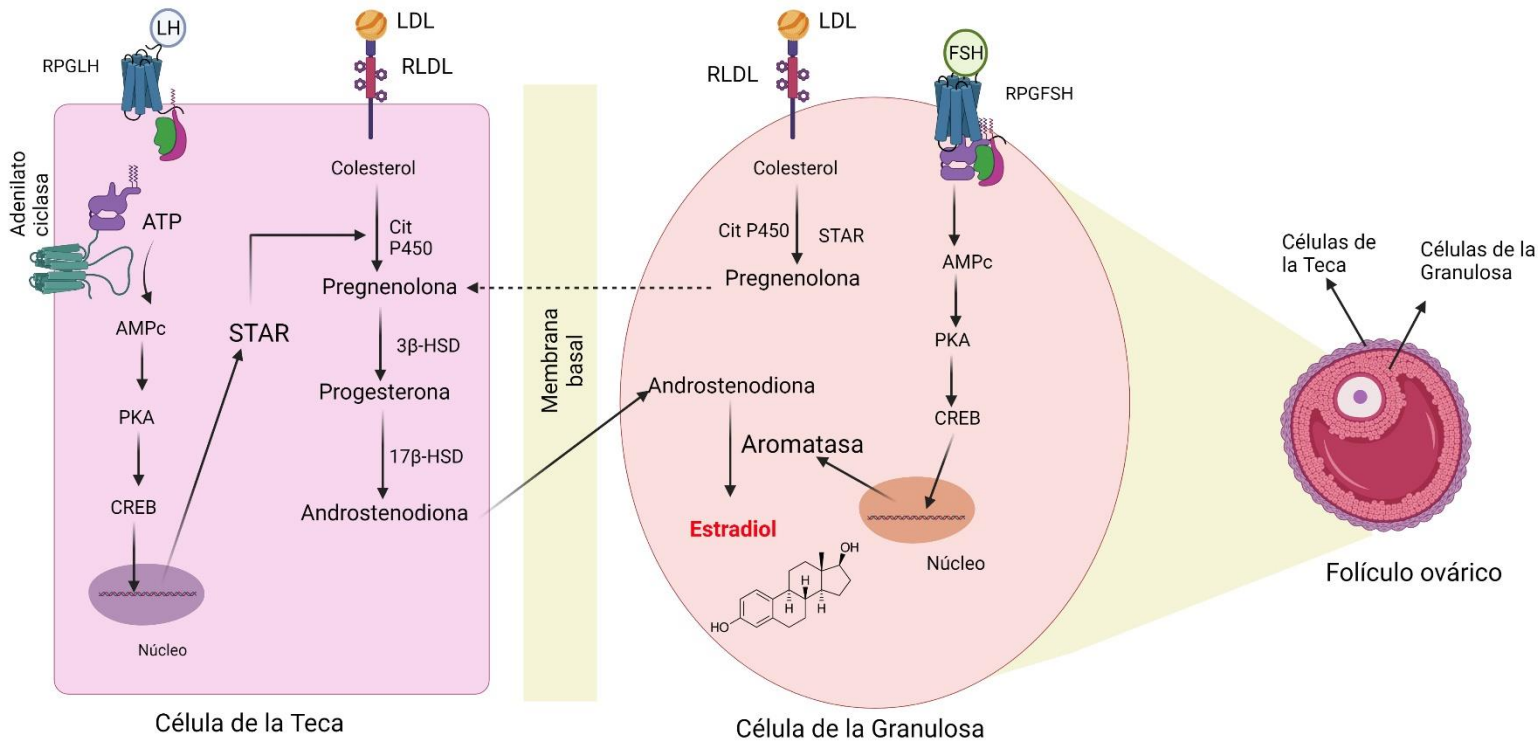
El proceso de síntesis de estrógenos conocido como esteroidogénesis (Fig. 1) comienza cuando el colesterol disponible en circulación sistémica se une a receptores de lipoproteínas en células esteroidogénicas; principalmente en el ovario en el proceso de foliculogénesis en mujeres en edad reproductiva. El

colesterol es absorbido y almacenado en las células de la teca y granulosa; posteriormente es trasladado hacia la membrana de la mitocondria por acción de la proteína reguladora aguda esteroideogénica (STARD-1), cuya expresión depende de la unión de la hormona luteinizante (LH) a su receptor acoplado a proteína G, originando AMPc por medio de la enzima adenilato ciclasa, el AMPc activa a PKA que cataliza la fosforilación de la proteína de unión del elemento de la respuesta a AMPc (CREB), cuya función es la activación de la transcripción de STARD-1.

Una vez que el colesterol se encuentra en la mitocondria es catalizado a pregnenolona mediante el complejo de enzimas del citocromo P450, la pregnenolona es convertida a progesterona por la enzima 3- β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (HSD). La formación de andrógenos como androstenediona y testosterona a partir de progesterona por acción del sistema del citocromo P450 y 17- β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (HSD17B), serán transportados a las células de la granulosa para ser catalizados a estrona y estradiol respectivamente, mediante un proceso conocido como aromatización, en donde actúa el complejo de citocromo P450 aromatasa monooxigenasa que se encuentra en el retículo endoplásmico liso. El estriol puede formarse a partir de estrona mediante una 16- α hidroxilación. Finalmente, los estrógenos son liberados a circulación sistémica para ser utilizados. (Cui et al., 2013; Fuentes & Silveyra, 2019; Gruber et al., 2002).

En las mujeres en edad reproductiva o premenopáusicas se sintetizan principalmente en el ovario y placenta, aunque también pueden sintetizarse pequeñas cantidades en órganos no gonadales como el hígado, corazón, piel y cerebro, a diferencia de las mujeres en edad no reproductiva, es decir, niñas antes de la pubertad y mujeres postmenopáusicas en donde se producen en menor cantidad en riñón, tejido adiposo, piel y cerebro, debido a que estos órganos no pueden generar esteroides a partir del colesterol. En estos tejidos, la producción de estrógenos depende en gran medida de los esteroides transportados desde otros tejidos y la acción la enzima aromatasa que a diferencia de STARD-1 si puede expresarse en estos órganos. Su expresión está regulada por diferentes hormonas de acuerdo con el órgano donde se encuentra, por ejemplo, en el ovario está regulada por la hormona folículoestimulante (FSH), en la placenta por el promotor distal I.1, en tejido adiposo y hueso está regulada por el promotor distal I.4. (Cui et al., 2013; Fuentes & Silveyra, 2019).

Biosíntesis de 17β-Estradiol



Fi

Figura 1. Biosíntesis de 17 β-estradiol

Cascadas de señalización necesarias para la biosíntesis de 17-β Estradiol en células de la Teca y Granulosa en el folículo ovárico. Adaptado de Estrogen receptor signaling mechanisms (p. 138), por Fuentes, N., & Silveyra, P., 2019, Advances in Protein Chemistry and Structural Biology.

1.1.3. RECEPTORES DE ESTRÓGENOS

Si bien la acción de los estrógenos está mediada principalmente por receptores de estrógenos (ER), también está descrita la acción independiente de ellos. Los ER son miembros de la superfamilia de receptores nucleares y se conocen 2 subtipos: los ERα y ERβ, ambos receptores tienen dominios estructurales y funcionales en común, los cuales son A/B; C; D y E/F.

- ❖ El dominio A/B o dominio amino terminal (NTD): está asociado a la unión del receptor con la secuencia blanco y a la activación de la transcripción de genes.

- ❖ El dominio C o dominio de unión a DNA (DBD); como su nombre lo indica, su función es la de unir al complejo estrógeno-ER con una secuencia específica de la cromatina conocido ERE.
- ❖ El dominio D o Bisagra conecta el dominio C con el dominio E, aunque también tiene la capacidad de unión a proteínas chaperonas y permite la translocación del complejo estrógeno-ER al núcleo.
- ❖ Dominio E/F o dominio de unión al ligando (LBD) contiene el sitio de unión al estrógeno.

Adicionalmente, estos receptores cuentan con 2 reguladores de la actividad transcripcional del receptor de estrógenos conocidos como AF1 y AF2 que se encuentran entre NTD y DBD respectivamente. (Fuentes & Silveyra, 2019).

Los receptores, así como características en común; también tienen diferencias estructurales. Se pueden encontrar en diferentes tejidos y son codificados por distintos genes, de tal forma que ER α está formado por 595 aminoácidos, pesa 67 kDa, y es codificado por el gen ESR1, localizado en el cromosoma 6, locus 6q25.1. Se conocen 5 isoformas y en algunas de las más cortas puede estar ausente NTD y por lo tanto AF1 y en consecuencia no pueden activar la transcripción, sin embargo, pueden formar heterodímeros con ER α de longitud completa e inhibir el control de transcripción. Se expresa principalmente en el útero, epidermis, hueso, senos, hígado, riñones, tejido adiposo, próstata, células de la teca, células intersticiales del ovario, en las células de Leydig, en los testículos y en el sistema cardiovascular. (Cui et al., 2013)

Por otro lado, ER β está formado por 530 aminoácidos, pesa 59 kDa, es codificado por el gen ESR2 localizado en el cromosoma 14. También tiene 5 isoformas conocidas, y la principal diferencia de ER β de longitud completa y algunas de sus isoformas es el tamaño del dominio LBD. Se expresa en el colon, testículos, médula ósea, endotelio vascular, pulmón, vejiga, epitelio de la próstata y células de la granulosa. (Cui et al., 2013; Fuentes & Silveyra, 2019).

Recientemente se observó la existencia de Receptores de estrógenos acoplados a proteína G (GPER-1), que tiene poca afinidad de unión a 17- β estradiol. El gen que codifica para este receptor se encuentra en el cromosoma 7 (locus 7p22.3). Estructuralmente es muy distinto a ER α y ER β , pues está constituido por 7 regiones transmembranales. Se ha detectado la presencia de GPER-1 en médula adrenal en las glándulas suprarrenales, pelvis renal, en el ovario y sistema cardiovascular. (Cui et al., 2013; Fuentes & Silveyra, 2019).

1.1.4. MECANISMO DE ACCIÓN

En la literatura están descritos mecanismos de acción ER dependientes o genómicos; mecanismos de acción no genómicos ER dependiente mediados por GPER-1 y mecanismos no genómicos ER independiente (Fig 2). (Cui et al., 2013; Fuentes & Silveyra, 2019).

1.1.4.1. Vía de señalización 1: ER dependiente

También conocida como vía genómica directa o vía clásica, en esta los estrógenos libres (E2) en circulación sistémica difunden hacia la membrana citoplasmática, estos se unen a ER α o ER β en citoplasma o núcleo, su ubicación exacta no se conoce sin embargo, se encuentran unidos a proteínas chaperonas cuya función es estabilizar el receptor en estado inactivo, una vez que E2 se une a ER ocurre un cambio conformacional, de manera que se lleva a cabo la disociación de sus proteínas chaperonas mediante la dimerización del receptor, formándose un complejo Estrógeno-ER, este complejo se transloca hacia el núcleo donde se une a la cromatina en la secuencia específica de elementos de respuesta a estrógenos (ERE), llevándose a cabo la transcripción de genes. (Fuentes & Silveyra, 2019; Gruber et al., 2002)

Por otro lado, en la vía genómica indirecta, ocurre el mismo proceso que en la vía de señalización clásica, mientras que en este caso la transcripción de genes no se da por la unión del complejo estrógeno-ER a ERE, sino que se lleva a cabo por la interacción entre proteínas del complejo con otros factores de transcripción y otros elementos de respuesta. Un mediador muy importante que se ha estudiado es la estimulación de la proteína-1 (SP-1). Cuando el complejo se une a este factor de transcripción se pueden inducir distintos genes, por ejemplo, el gen del receptor de LDL, el gen del receptor progesterona B, el gen de la enzima óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS), entre otros. (Fuentes & Silveyra, 2019)

Se ha estudiado también las vías que activan ER α y ER β , concluyendo que ER α previene la unión de NF- κ B a los promotores genéticos de las citocinas, también favorece la diferenciación y proliferación celular, así como la apoptosis, mientras que ER β inhibe estos efectos. (Fuentes & Silveyra, 2019).

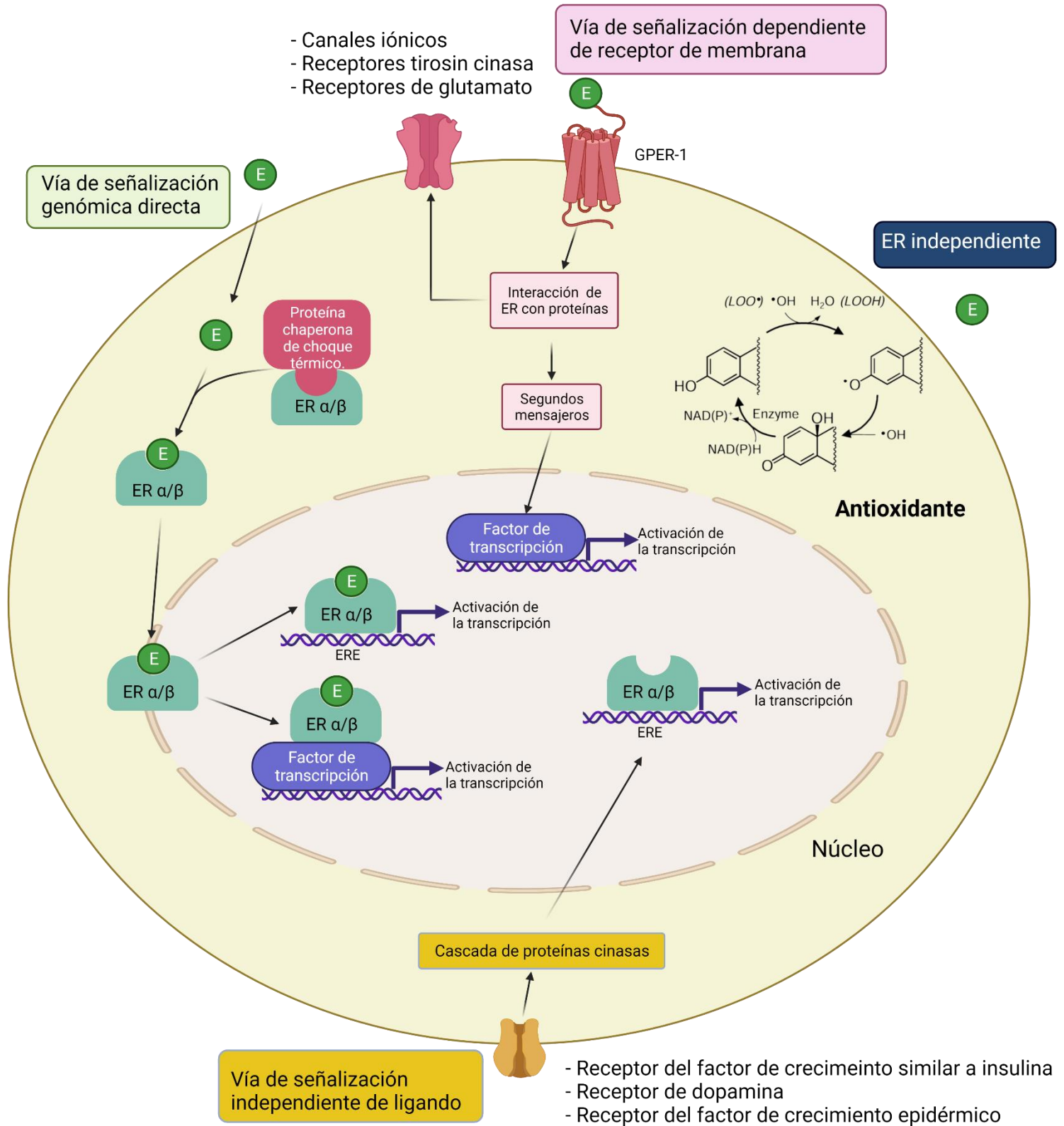


Figura 2. Mecanismo de acción de 17-β Estradiol.

Cascadas de señalización desencadenadas por 17- β Estradiol. Vía genómica directa (verde), vía genómica indirecta (rosa), vía ER independiente (azul), vía independiente de ligando (amarillo). Adaptado de Estrogen synthesis and signaling pathways during aging: from periphery to brain. (p. 202), por Cui, J., Shen, Y., & Li, R, 2019, Trends in Molecular Medicine, 19(3).

1.1.4.2. Vía de señalización 2. ER dependiente de membrana.

Este es un mecanismo alternativo de acción rápida en respuesta a estrógenos. Se inicia con el reconocimiento de E2 por GPER-1 o algunas variantes de ER α y ER β en la membrana citoplasmática y puede haber 2 mecanismos de crosstalk; el primero interactúa con distintos receptores para activarlos, por ejemplo, mGLUR o el receptor tirosin cinasa. El segundo mecanismo activa una cascada de señalización mediante segundos mensajeros, es decir producción de AMPc y posteriormente activación de PKA, activación de la vía MAPK/ERK, PI3K/AKT y activación de PKC que provocarán cambios indirectos en la expresión génica debido a la fosforilación de factores de transcripción. (Cui et al., 2013; Vrtačnik et al., 2014).

1.1.4.3. Vía de señalización 3. ER independiente

Recientemente se ha observado que los estrógenos tienen un efecto antioxidante mediante la regulación enzimática o la interacción de receptores nucleares hormonales no esteroideas, por ejemplo, previene la liberación de ROS de la membrana dañada, debido a su estructura, puesto que el anillo fenólico A es un antioxidante intrínseco (Cui et al., 2013).

1.1.4.4. Vía de señalización 4. Activación de ER en ausencia del ligando.

Esta vía de señalización puede activarse en ausencia de estrógenos debido a una fosforilación del receptor en residuos específicos de serina o tirosina o su asociación con correguladores. Este proceso requiere de moléculas reguladoras de fosforilación como PKA o PKC, factores de crecimiento como el factor de crecimiento epidérmico, insulina, Factor de crecimiento insulínico tipo 1, Factor de crecimiento transformante β , entre otros, que actúan como activadores de ER, también algunas citocinas como la interleucina 2, neurotransmisores como por ejemplo la dopamina y proteínas reguladoras del ciclo celular entre ellas ciclina A y D1 (Fuentes & Silveyra, 2019; Vrtačnik et al., 2014).

1.1.5. EFECTOS EN EL SISTEMA CARDIOVASCULAR.

Los estrógenos ejercen un poderoso efecto antioxidante, inmunomodulador, induce la vasorrelajación, activa la vía de la supervivencia (PI3K/AKT) en el sistema cardiovascular. Estos efectos producen una disminución en enfermedades cardiovasculares y proporcionan protección contra el daño por reperfusión isquémica, infarto al miocardio, entre otros (Fig. 3) (Stice et al., 2009).

1.1.5.1. Vasodilatación y relajación vascular.

Los estrógenos, especialmente E2 tienen una función muy importante en las células endoteliales, pues es aquí donde se sintetiza óxido nítrico (NO), un potente vasodilatador, este se produce a partir de L-arginina y O₂ mediante la enzima eNOS con ayuda de NADPH como cofactor. (Arias-Loza et al., 2013)

El NO se sintetiza mediante una vía de señalización no genómica dependiente de ER, principalmente GPER-1 que desencadena la cascada de PI3K/AKT que ocasiona la activación de eNOS. Por otro lado, E2 también posee una vía de señalización genómica que tiene la capacidad de inducir la codificación de genes para la expresión de NOS. Cabe destacar que existen 2 isoformas de NOS, puede ser constitutiva (eNOS) o inducible (iNOS), esta última no se encuentra normalmente en los vasos sanguíneos, solo en arterias dañadas y produce 1000 veces más NO con acción más duradera que eNOS, no obstante, en grandes concentraciones puede ser tóxico si reacciona con especies reactivas de oxígeno. (Knowlton & Lee, 2012; Xing et al., 2009)

Una acción muy importante de NO es la vasorrelajación, puesto que puede difundir hacia las células de músculo liso vascular o células de la íntima media en donde se une a su receptor (SGC), este transforma GTP en cGMP y activa la cascada de proteína cinasa dependiente de cGMP y fosfoproteína estimulante vasodilatadora (VASP). Posteriormente cGMP activa los canales de potasio activados por calcio (BKCa), que hiperpolarizan y relajan las células del músculo liso, esto da como resultado la vasorrelajación. (Mendelsohn & Karas, 1999; Stice et al., 2009).

1.1.5.2. Antiagregante plaquetario

Se sabe que NO es un antiadherente y antiagregante plaquetario. Por otro lado, E2 puede inhibir la síntesis de DNA inducido por el factor de crecimiento derivado de plaquetas (Knowlton & Lee, 2012).

1.1.5.3 Antioxidante

Las funciones fisiológicas celulares involucran múltiples reacciones oxidativas que inevitablemente resultan en la liberación de ROS. Cuando la producción de

ROS no está equilibrada por los mecanismos de defensa antioxidantes, estos dañan las macromoléculas celulares, causando un mal funcionamiento celular y, en última instancia, la muerte celular. Este desequilibrio entre la producción excesiva de ROS y la actividad antioxidante insuficiente se define como estrés oxidativo (Arias-Loza et al., 2013). Algunos padecimientos cardiovasculares ocasionan este desequilibrio causando varias anomalías bioenergéticas que incluyen disminución del metabolismo energético, aumento de la apoptosis y sobreproducción de ROS (Iorga et al., 2017).

Recientemente se observó que la angiotensina II cuando se une a su receptor tipo 1 (AT1) activa un mecanismo vasoconstrictor, asimismo, activa a la enzima asociada NADPH oxidasa que es el mayor productor de ROS en el sistema cardiovascular, por lo tanto, provoca un aumento de ROS (O_2^-) en células endoteliales y en células del músculo liso vascular, esto puede ocasionar que la síntesis de NO no se lleve a cabo debido a la inhibición de la enzima eNOS, además de que el NO producido principalmente por iNOS (óxido nítrico sintasa inducible) reacciona con dichas especies reactivas de oxígeno para formar peroxinitrito ($ONOO^-$) lo cual tiene como consecuencia la lesión del tejido, inflamación e incluso apoptosis. (Arias-Loza et al., 2013; Xing et al., 2009)

La función de E2 como antioxidante, a parte de la mencionada anteriormente en la vía de señalización independiente de ER; consta de la regulación de la expresión enzimática, es decir, la disminución de la expresión de NADPH oxidasa y el incremento de la expresión de enzimas que tienen la capacidad de transformar O_2^- a H_2O_2 , las cuales son Cu/ZnSOD y MnSOD mediante una vía de señalización genómica ER dependiente ($ER\alpha$ y $ER\beta$). En el cardiomiocito este proceso se lleva a cabo mediante GPER-1 y la activación de la cascada de PI3K/AKT. (Arias-Loza et al., 2013; Stice et al., 2009)

Otro aspecto que es importante mencionar es que los receptores $ER\alpha$ y $ER\beta$ se encuentran en la membrana de la mitocondria, este hecho se asocia con la mejora de la función mitocondrial y el aumento de la supervivencia celular, no obstante, aún no está claro si estos beneficios se deben a que $ER\alpha$ y $ER\beta$ regulan directamente la transcripción del DNA mitocondrial (mtDNA) o si están mediados por genes codificados en el núcleo y estos a su vez regulan la transcripción del mtDNA (Klinge, 2008).

1.1.5.4. Antiinflamatorio y anti apoptótico

Los estrógenos poseen actividad inmunomoduladora, incluso puede tener un rol proinflamatorio en casos de estrés agudo, así como actividad antiinflamatoria en casos de estrés crónico para proteger al sistema cardiovascular de necrosis. (Stice et al., 2009)

En caso de estrés agudo, E2 activa a NF κ B, por medio de las vías de MAPK/ERK, JNK, AKT, que induce proteínas de choque térmico, proteínas antiapoptóticas y procesos inflamatorios; mientras que la inflamación crónica

provocada por enfermedades cardiovasculares como la aterosclerosis, hipertensión, infartos al miocardio, etc. provoca apoptosis, acumulación de neutrófilos y monocitos debido a la liberación de mediadores inflamatorios como las quimiocinas y citocinas de las células dañadas. (Stice et al., 2009)

Por otro lado, la inflamación también puede ser causada por el daño celular, lo cual ocasiona la degradación de ácidos grasos de la membrana celular por la acción de la ciclooxigenasa y en consecuencia se producen ácidos epoxi-eicosatrienoicos (EET) como las prostaciclina, tromboxanos, etc. estos disminuyen la presión sanguínea, aumentan la vasodilatación e inhiben la activación de NF-KB. La función de E2 en este caso es inhibir la enzima epóxido hidrolasa soluble (sEH) cuya función es degradar EET a ácidos dihidroxi-eicosatrienoicos (DHET). (Stice et al., 2009)

La acción antiinflamatoria consiste en modular la quimiotaxis, mediante una vía de señalización tanto genómica inducida por ER α y ER β como no genómica inducida por GPER-1, esta última vía se asocia al efecto anti apoptótico en los cardiomiocitos, de manera que se atenúa la expresión de citocinas como la proteína quimioatrayente de neutrófilos inducido por citocinas, así como la proteína quimioatrayente de monocitos, este es muy importante puesto que la adhesión de monocitos en el endotelio puede causar aterosclerosis. (Stice et al., 2009; Xing et al., 2009).

Este proceso se lleva a cabo de varias formas:

- Bloqueo de la expresión del mediador proinflamatorio TNF- α : Se realiza en células de músculo liso vascular mediante ER α , de tal forma que no se activa NF-KB y a su vez no se producen citocinas proinflamatorias.
- Inhibición de la activación de NF-KB:
 - La proteína I κ B α se encuentra inactiva en el citoplasma y tiene la función de inhibir la activación de NF-KB. Mediante ER, E2 inhibe la fosforilación y posteriormente degradación de esta proteína. Estudios recientes han demostrado que E2 también aumenta la síntesis de I κ B α .
 - Inhibición de IKK por parte de E2 mantiene estable e inactiva a I κ B α .
- Inhibición de la interacción de NF-KB con el DNA: En la molécula de NF-KB se encuentran los dominios p50 y p65 que son los que interactúan con el DNA para codificar genes que sintetizan quimiocinas, citocinas proinflamatorias, moléculas de adhesión celular e incluso el proceso de apoptosis. El complejo E2-ER interactúa con NF-KB impidiendo la unión de este último al DNA. (Xing et al., 2009).

1.1.5.5. Angiogénesis

Angiogénesis se refiere a la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de los vasos existentes; los estrógenos han demostrado que pueden impulsar este proceso en el endotelio, esto por medio de la vía genómica, de forma que el complejo E2-ER se transloca al núcleo y estimula el promotor del gen VEGF, cuando este es sintetizado, se une a su receptor tirosin cinasa (VEGFR2) posteriormente desencadena la cascada de PI3K/AKT, lo cual estimula eNOS, dando como resultado proliferación celular y migración de células epiteliales (Barnabas et al., 2013).

1.1.5.6. Otros efectos sobre la coagulación y fibrinólisis

La terapia hormonal estrogénica (THE) propuesta experimentalmente tiene la facultad de regular ciertos aspectos del proceso de coagulación y fibrinólisis, pero estos efectos son dependientes del tipo de estrógeno, dosis y duración de la terapia. (Mendelsohn & Karas, 1999)

Algunos de los efectos antes mencionados son los siguientes:

Disminución de la concentración plasmática de fibrinógeno, así como la proteína inhibidora del activador del plasminógeno tipo 1, asimismo la disminución de la expresión de la renina, ECA y AT1. (Mendelsohn & Karas, 1999).

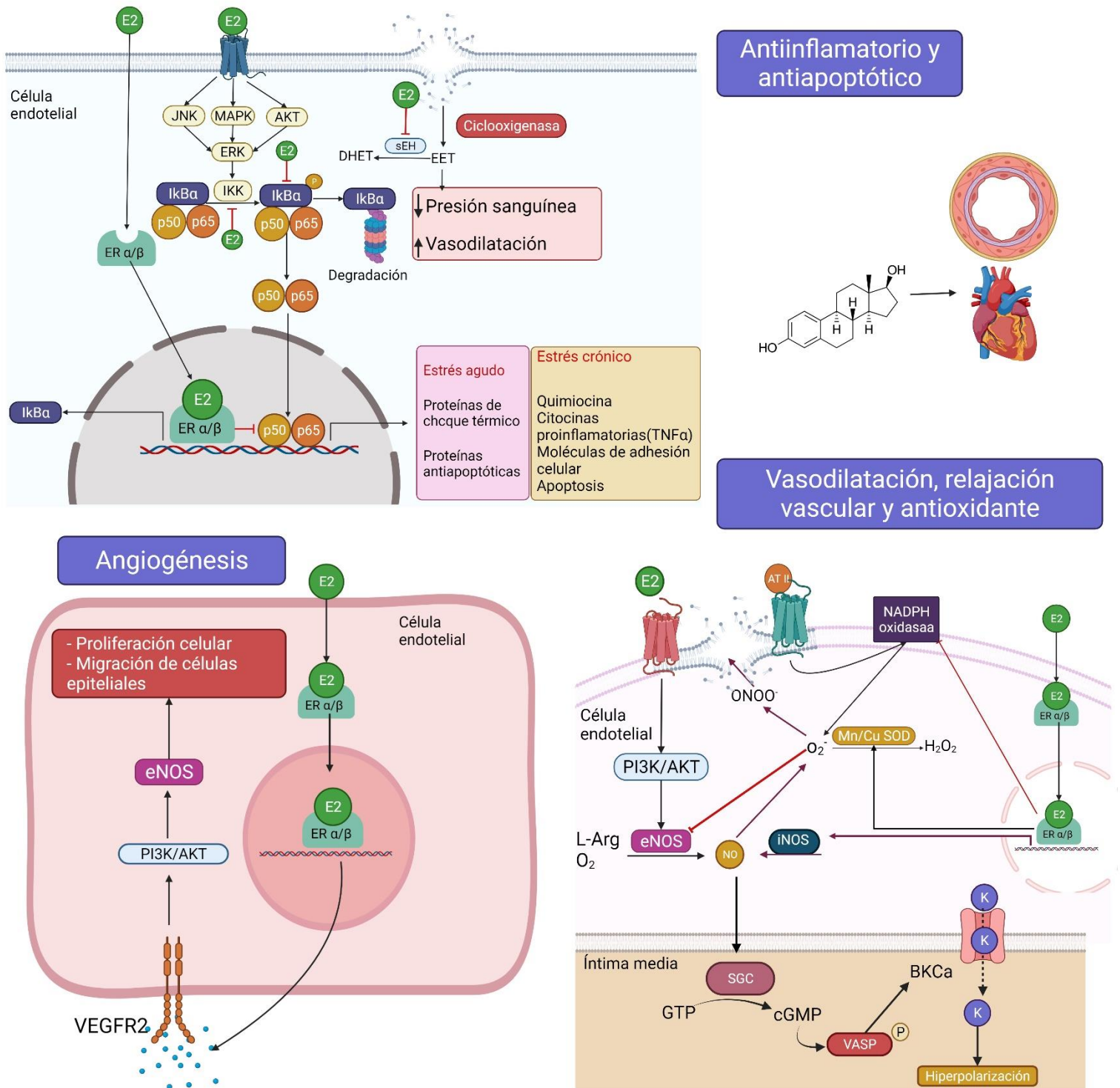


Figura 3. Efectos de 17 β-Estradiol en el sistema cardiovascular.

Vasodilatación, relajación vascular y antioxidante (Derecha inferior). Angiogénesis (Izquierda inferior). Antiinflamatorio y antiapoptótico (Izquierda superior). Adaptado de (Chen et al., 2017; Stice et al., 2009; Xing et al., 2009).

1.2. MENOPAUSIA

1.2.1 CICLO REPRODUCTIVO

Las mujeres tienen en promedio una vida reproductiva de 36 años, a partir de la menarquia (primer episodio de sangrado de origen menstrual) hasta la menopausia (Mihm et al., 2011; Reed & Carr, 2018).

El ciclo menstrual es el desprendimiento cíclico y ordenado del revestimiento uterino, en respuesta a las interacciones de las hormonas producidas por el hipotálamo, la hipófisis y los ovarios, el cual tiene una duración de 20 a 35 días, con una media de 28 días desde el primer día de sangrado hasta el inicio de la menstruación del próximo ciclo. Se divide en 2 fases: la fase folicular o proliferativa y la fase lútea o secretora. (Reed & Carr, 2018)

La fase folicular o proliferativa inicia desde el primer día de la menstruación hasta la ovulación. Se observa un incremento en FSH en respuesta a la secreción pulsátil de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) en el hipotálamo, debido al descenso de estradiol y progesterona en la fase lútea del ciclo anterior. Este incremento en FSH permite el reclutamiento de varios folículos en el día 1 a 4, durante los días 5 a 7 se lleva a cabo la selección de un folículo de la cohorte de folículos reclutados para ovular, y los folículos restantes sufrirán atresia. Para el día 8 del ciclo, un folículo ejerce su dominio promoviendo su propio crecimiento y suprimiendo la maduración de los otros folículos ováricos, convirtiéndose así en el folículo dominante. (Reed & Carr, 2018)

Los niveles de estradiol aumentan conforme el folículo dominante crece en tamaño debido a la proliferación de las células de la granulosa. En presencia de un aumento dramático de estradiol (mayor a 200 pg/mL), la FSH estimula la formación de receptores de LH en las células de la granulosa, lo que permite la secreción de pequeñas cantidades de progesterona y 17-hidroxiprogesterona, que pueden ejercer una retroalimentación positiva sobre la hipófisis para aumentar la liberación de LH. (Reed & Carr, 2018)

Un aspecto importante es que los niveles de estradiol caen dramáticamente antes del pico de LH. Esto puede deberse a la regulación del propio receptor LH o a la inhibición directa de la síntesis de estradiol por parte de la progesterona. (Reed & Carr, 2018)

La ovulación ocurre 10- 12 h. después del pico de LH (cerca del día 14), la cual estimula la luteinización de las células de la granulosa y la síntesis de progesterona responsable del pico de FSH, el cual libera al ovocito de las uniones foliculares. (Reed & Carr, 2018)

Se desconoce el mecanismo que causa la caída posovulatoria de LH, aunque puede deberse a la pérdida de la retroalimentación positiva de los estrógenos, al aumento de la retroalimentación inhibitoria de la progesterona, o a una

disminución del contenido de LH en la hipófisis debido a la regulación de los receptores de GnRH. (Reed & Carr, 2018)

La fase lútea o secretora dura aproximadamente 14 días. Después de la ovulación, las células de la granulosa restantes que no se liberan con el ovocito continúan aumentando de tamaño, adquieren una apariencia vacuolada y comienzan a acumular un pigmento amarillo llamado luteína. Las células luteinizadas de la granulosa se combinan con las células tecaluteínicas recién formadas para convertirse en lo que se conoce como cuerpo lúteo. (Reed & Carr, 2018)

El cuerpo lúteo es un órgano endocrino transitorio que secreta progesterona predominantemente, y su función principal es preparar el endometrio para la implantación del óvulo fertilizado. La lámina basal se disuelve y los capilares invaden la capa de células de la granulosa en respuesta a la secreción de factores angiogénicos por parte de las células de la granulosa y la teca. Ocho o nueve días después de la ovulación, aproximadamente en el momento de la implantación esperada, se alcanza el pico de vascularización. La función del cuerpo lúteo disminuye al final de la fase lútea, a menos que el embarazo produzca gonadotropina coriónica humana. Si no se produce el embarazo, el cuerpo lúteo sufre luteólisis bajo la influencia del estradiol y las prostaglandinas y forma un tejido cicatricial llamado cuerpo albicans. (Reed & Carr, 2018).

1.2.2 FISIOLÓGÍA

El Climaterio es el período de transición en la vida de la mujer, entre la etapa reproductiva a la no reproductiva, este período se inicia aproximadamente 5 años antes de la menopausia y su duración es de 10 a 15 años. (ISEM, 2018)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la menopausia natural o fisiológica como el “cese permanente de la menstruación, determinado de manera retrospectiva después de 12 meses consecutivos de amenorrea, sin causas patológicas” (Torres & Torres, 2018).

Fisiológicamente, en una mujer en la premenopausia, el 95% de estradiol se sintetiza en el ovario y sus concentraciones en plasma varían de acuerdo con el ciclo menstrual, teniendo concentraciones más elevadas en la fase preovulatoria y más bajas en la fase premenstrual (tabla 1). (Gruber et al., 2002)

Al alcanzar los 1000 folículos de reserva en el ovario, provoca la disminución de ovocitos, esto a su vez disminuye la secreción de Inhibina B que impide la retroalimentación negativa de la síntesis de FSH con concentración de estradiol que varía considerablemente (Tabla 1), es decir desde valores normales a ligeramente bajos. Estos primeros cambios hormonales dan lugar a un acortamiento de la fase folicular dependiente de estrógenos y en consecuencia a ciclos menstruales de menor duración, este periodo es conocido como

perimenopausia. (Gruber et al., 2002; Takahashi & Johnson, 2015; Torres & Torres, 2018)

El incremento de FSH se debe a que hay un mayor reclutamiento folicular, por lo que acelera el agotamiento. Cuando los folículos se agotan, el ovario es incapaz de responder incluso a grandes concentraciones de FSH, por consiguiente, se ve interrumpida la síntesis de estradiol en el ovario. (Gruber et al., 2002; Takahashi & Johnson, 2015; Torres & Torres, 2018)

En la menopausia cerca del 100% de la síntesis de estrógenos, principalmente estrona se lleva cabo en tejidos extragonadales por la ausencia de las células de la granulosa que expresan la enzima aromatasa. Los tejidos que sintetizan estrona son el tejido adiposo y la corteza suprarrenal por la aromatización de precursores esteroideos o andrógenos como la testosterona, androstenediona, dehidroepiandrosterona y su sulfato (Gruber et al., 2002; Takahashi & Johnson, 2015; Torres & Torres, 2018).

Tabla 1. Producción y concentración plasmática hormonal.

	(Purohit & Reed, 2002)	(Gruber et al., 2002).	
Premenopausia			
Molécula	Producción Promedio	Fase preovulatoria	Fase premenstrual
	µg/24 h	pg/mL	pg/mL
Estradiol	400	250-500	40-50
Estrona	180	50-200	15-40
FSH (Soules et al., 2001)		< 10 mIU/mL	
Postmenopausia			
Estradiol	6	<20	
Estrona	40	15-80	
FSH (Soules et al., 2001)		>30 mIU/mL	

1.2.3 EPIDEMIOLOGÍA

En el mundo, la menopausia se presenta en mujeres de 49 a 52 años (Takahashi & Johnson, 2015). En México en promedio aparece a los 48 años (Torres & Torres, 2018). De acuerdo con los datos proporcionados por el INEGI en el censo de población de 2020, hay 6,543,449 mujeres entre 45 a 54 años que muy posiblemente se encuentren en menopausia, cuya prevalencia es del 12%. Se espera que para el año 2035, una de cada 3 mujeres estará en la etapa del

climaterio o en la posmenopausia, y con una expectativa de vida de 83.4 años (Velasco Martínez de Vázquez et al., 2010)

Los niveles decrecientes de estrógenos y andrógenos juegan un papel importante en el deterioro de la respuesta sexual, por ejemplo, bajo deseo sexual, mala lubricación, síndrome genitourinario, entre otros; sin embargo, también deben tenerse en cuenta que aumenta el riesgo de padecer osteoporosis, depresión, aumento de peso, síndrome metabólico y enfermedades cardiovasculares (ECV) (Scavello et al., 2019).

En Estados Unidos, las enfermedades cardiovasculares siguen siendo la principal causa de muerte en mujeres, cobrando la vida de 399,028 personas en 2014. Este número es similar al número de muertes de mujeres por cáncer, enfermedades crónicas de las vías respiratorias inferiores y diabetes combinados (El Khoudary & Thurston, 2018).

En Reino Unido, las enfermedades cardiovasculares causan el 26% de todas las muertes; un promedio de 435 personas cada día. Alrededor de 42,000 personas menores de 75 años mueren de enfermedades cardiovasculares cada año (Newson, 2018).

En México según datos del INEGI, en 2017 murieron 66 mil 337 mujeres por enfermedades del corazón, (Aguilar Guzmán, 2020) entre las cuales se encuentran las siguientes: Hipertensión arterial sistémica (HTAS), Cardiopatía isquémica y enfermedades cerebrovasculares.

1.2.3.1 Hipertensión arterial sistémica

Considerada la principal causa de muerte por enfermedad cardiovascular a nivel mundial. En México, se calcula una prevalencia del 25.55%; siendo más frecuente en el sexo femenino con una prevalencia estimada del 26.1%, El grupo de edad más afectado fue el de 70 a 79 años, tanto para hombres como para mujeres (SSA, 2018).

En cuanto a los egresos hospitalarios, desde el año 2010 al 2018 hay predominio en el sexo femenino. La relación mujer: hombre fue de 1.38 mujeres por cada hombre, según los días de estancia, más del 50% correspondieron al grupo de 0 a 2 días de estancia hospitalaria (SSA, 2018).

- Diagnóstico (Martín Rosas et al., 2008). Aguilar

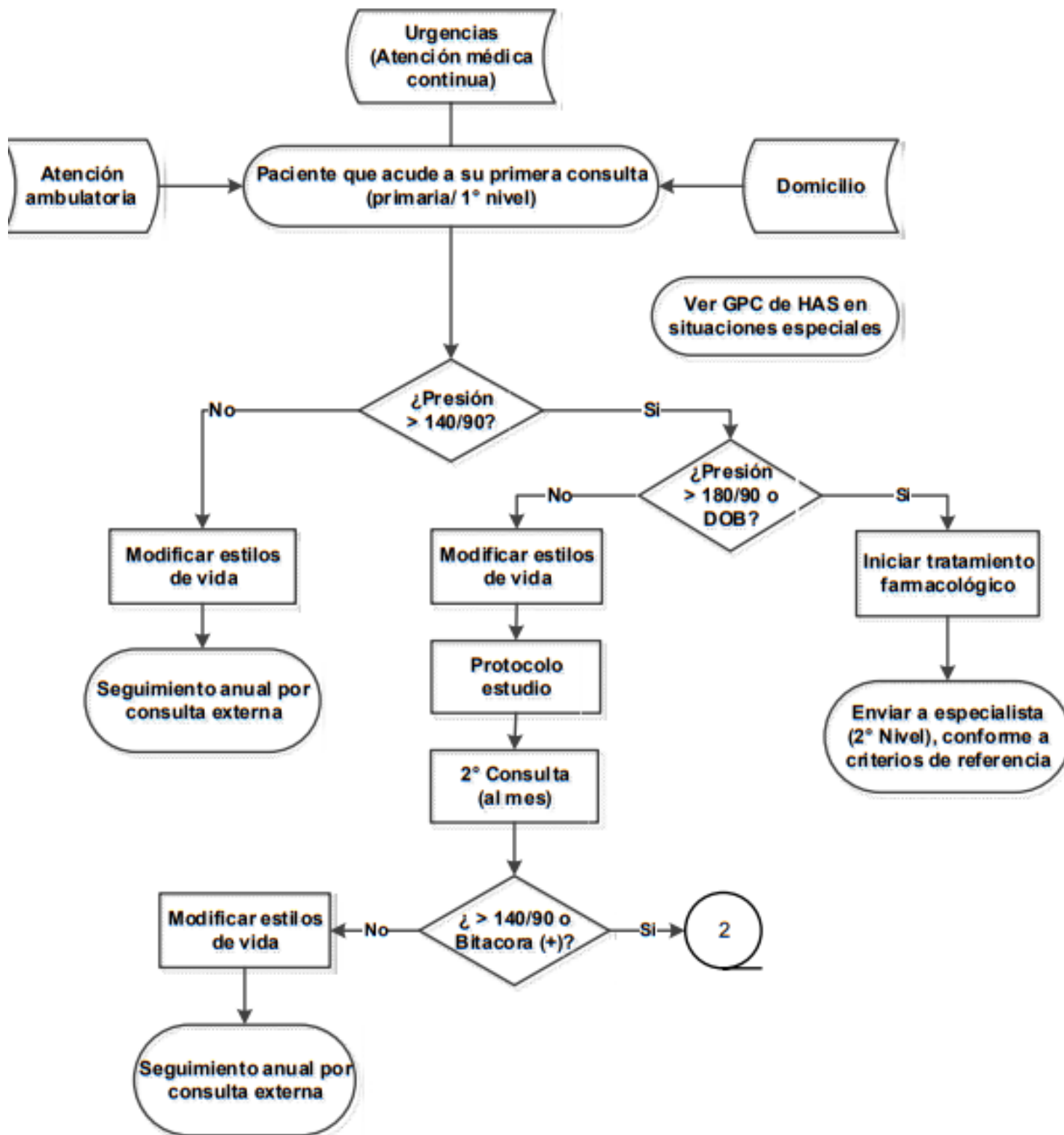


Figura 4. Algoritmo de diagnóstico HTAS.

Tomado de Diagnóstico y tratamiento de la hipertensión arterial en el primer nivel de atención. (p. 21, 22), IMSS, 2014, IMSS.

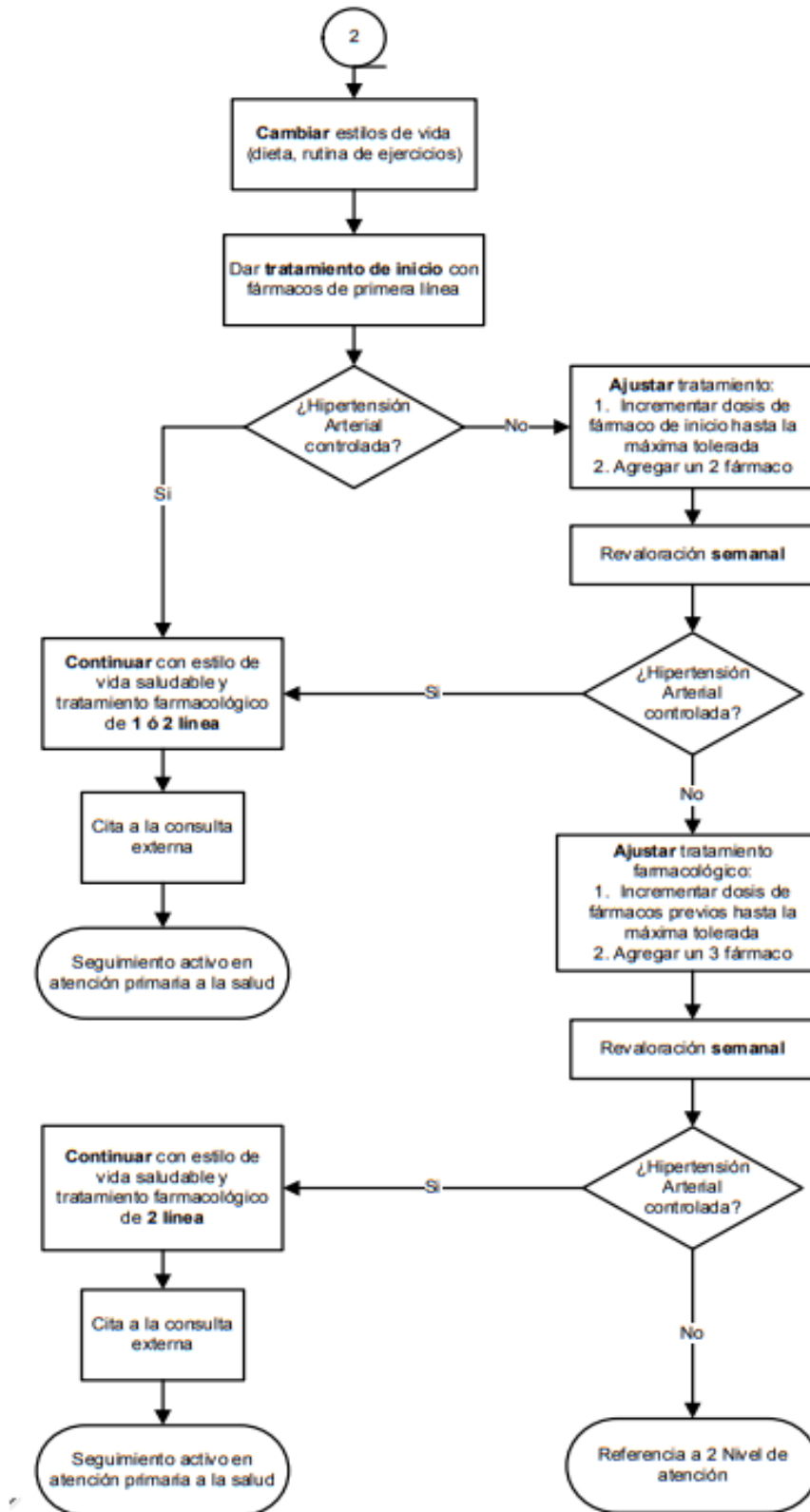


Figura 5. Continuación Algoritmo de diagnóstico HTAS.

Tomado de Diagnóstico y tratamiento de la hipertensión arterial en el primer nivel de atención. (p. 21, 22), IMSS, 2014, IMSS

- Tratamiento farmacológico.

Las medidas no farmacológicas, el mejoramiento en el estilo de vida y el ejercicio moderado, son pieza clave del tratamiento, sin embargo, cuando las cifras son muy elevadas o bien el tratamiento no farmacológico fracasa o da resultados incompletos; el tratamiento farmacológico estará indicado. Lo más importante en el tratamiento de la HTAS es la reducción en las cifras de presión (Aguilar et al., 2007).

Tabla 2. Tratamiento farmacológico de HTAS (Aguilar et al., 2007; Martín Rosas et al., 2008)

Clase	Fármaco
Diuréticos tiazídicos	Clortalidona
	Hidroclorotiazida
Betabloqueadores	Metoprolol
	Propanolol
Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA)	Captopril
	Enalapril
Antagonistas del receptor tipo 1 de angiotensina II (ARA II)	Candesartán
	Losartán
	Telmisartán
	Valsartán
Bloqueadores del canal del calcio (CCBs)	Diltiazem
	Verapamilo
	Nifedipino
	Amlodipino
	Felodipino
Alfa-bloqueadores	Prazocina
	Metildopa
Vasodilatadores directos	Hidralacina
Inhibidores directos del sistema nervioso	Clonidina
Inhibidores de ECA tipo 2 y bloqueadores del receptor de endotelina.	

1.2.3.2 *Cardiopatía isquémica*

El infarto agudo de miocardio y la angina de pecho son las manifestaciones clínicas de este tipo de enfermedad del corazón causada principalmente por el endurecimiento de las arterias. En la mujer presenta mayor mortalidad, debido, entre otras cosas, a la mayor frecuencia del infarto asintomático, el reinfarto, la insuficiencia cardíaca y otras enfermedades asociadas. De acuerdo con la OMS

constituye la principal causa de muerte prematura por enfermedades cardiovasculares para ambos sexos en nuestro país, con una mortalidad del 42% para mujeres (Marroquín Segura et al., 2008; SSA, 2018)

Durante el periodo 2010-2018, las mujeres representaron el 56.4% de los casos de enfermedad isquémica del corazón, según los días de estancia, el grupo de 0 a 2 días ocupó el primer sitio con un rango de 36.07% a 40.40% del total de egresos; seguido por el grupo de 3 a 5 días con proporciones dentro del rango de 29.18% y 30.76% (SSA, 2018).

o Diagnóstico (Magaña Serrano et al.)

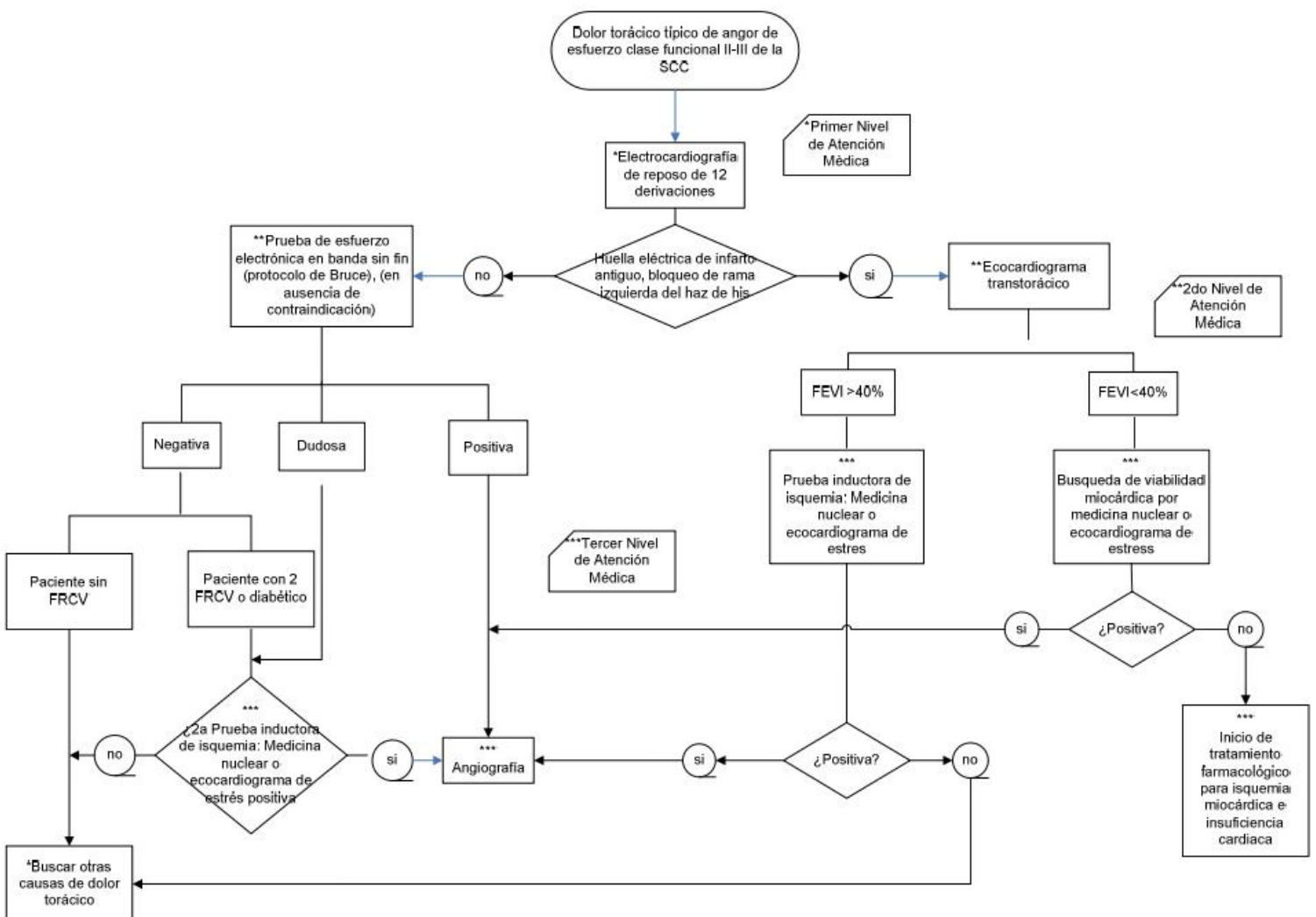


Figura 6. Algoritmo de diagnóstico de cardiopatía isquémica con dolor torácico típico.

Tomado de Guía de Práctica Clínica Diagnóstico y Tratamiento de la Cardiopatía Isquémica crónica, por Magaña Serrano, J. A., Torres A., L. d. P., Peralta Pedrero, L., Borrayo Sánchez, G., Estrada Alcántara, H., Flores Flores, J., . . . Saturno Chiu, G.

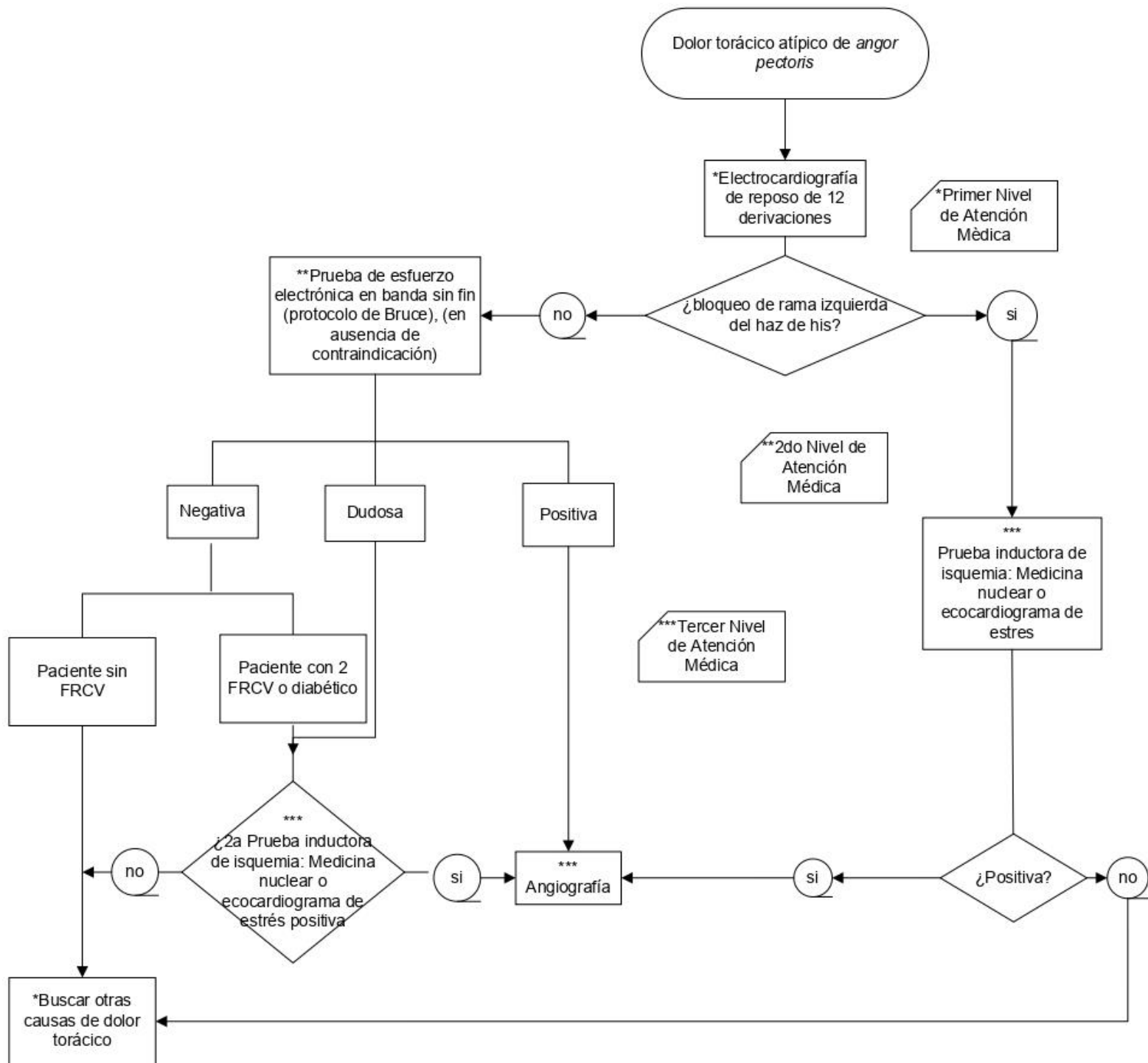


Figura 7. Algoritmo de diagnóstico de Cardiopatía isquémica con dolor torácico atípico.

Tomado de Guía de Práctica Clínica Diagnóstico y Tratamiento de la Cardiopatía Isquémica crónica, por Magaña Serrano, J. A., Torres A., L. d. P., Peralta Pedrero, L., Borrayo Sánchez, G., Estrada Alcántara, H., Flores Flores, J., . . . Saturno Chiu, G.

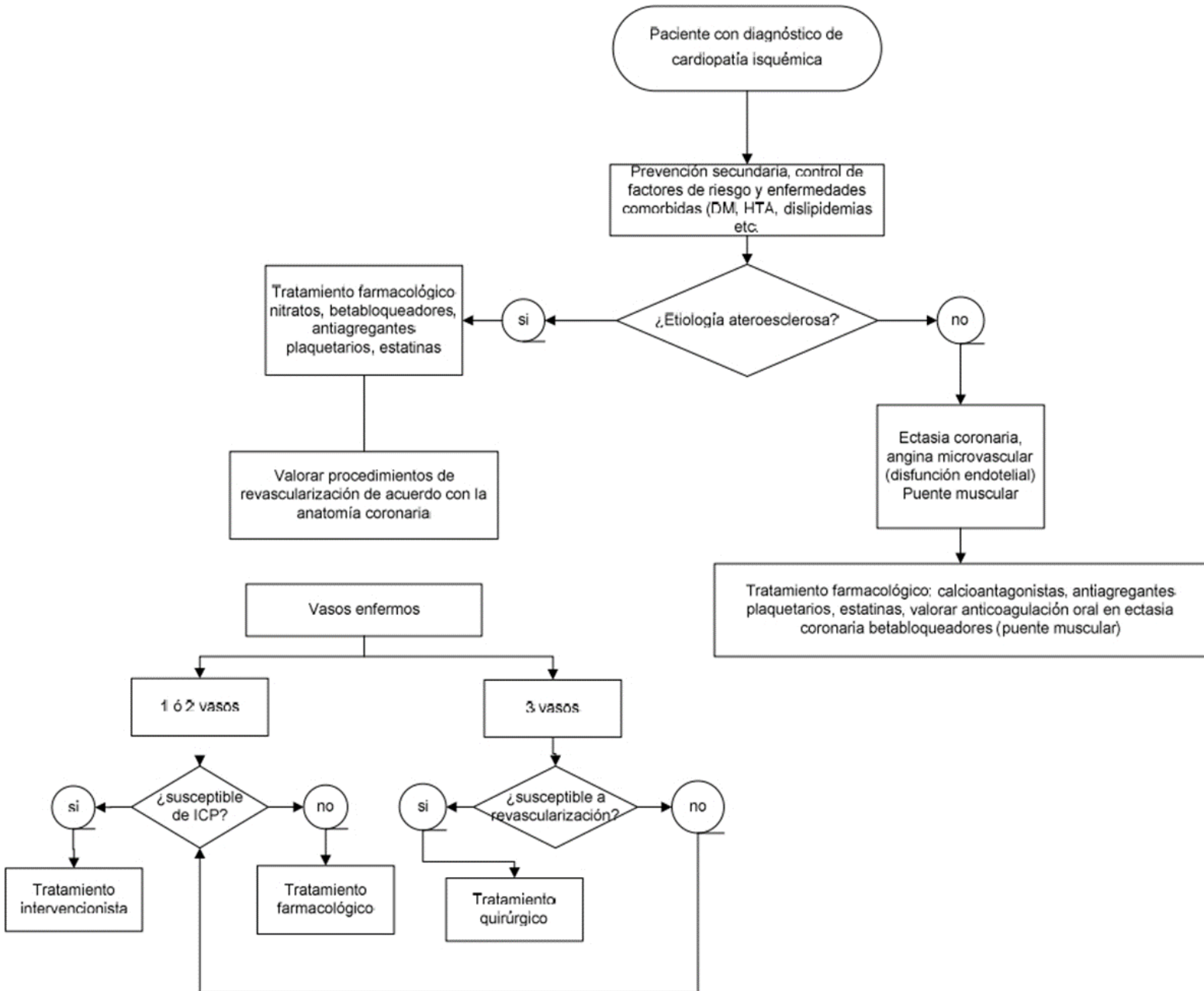


Figura 8. Tratamiento para el paciente diagnosticado con cardiopatía isquémica.

Tomado de Guía de Práctica Clínica Diagnóstico y Tratamiento de la Cardiopatía Isquémica crónica, por Magaña Serrano, J. A., Torres A., L. d. P., Peralta Pedrero, L., Borrayo Sánchez, G., Estrada Alcántara, H., Flores Flores, J., . . . Saturno Chiu, G.

- Tratamiento farmacológico para cardiopatía isquémica.

Tabla 3. Tratamiento farmacológico para cardiopatías isquémicas (Magaña Serrano et al.)

	Tratamiento
Prevención secundaria a eventos isquémicos	Hipolipemiantes Inhibidores de la Hidroximetilglutaril Coenzima A Reductasa (HMG-CoA reductasa) Estatinas
	Antiagregantes plaquetarios Ácido acetilsalicílico Clopidogrel (Tienopiridina)
	Terapia de reemplazo hormonal estrogénica NO se recomienda el empleo de hormonas como parte del manejo farmacológico de las pacientes con cardiopatía isquémica Crónica.
Alivio de los síntomas	Nitratos Dinitrato de isosorbida
	Bloqueadores del canal del calcio (CCBs) o Calcioantagonistas Dihidropiridinas de segunda y tercera generación (Amlodipino, Felodipino) Fenilalquilaminas (Verapamilo) Benzodiazepínicos (Diltiazem) No son recomendados en aquellos pacientes con insuficiencia cardiaca por disfunción sistólica
	Beta-bloqueadores Tartrato de Metoprolol
Control de las entidades comórbidas y las complicaciones a futuro de la cardiopatía isquémica crónica.	IECA Captopril Enalapril
	ARA II Losartan Valsartán Telmisartán
	Antagonistas de aldosterona Espironolactona Eplerenona
	Antiarrítmicos Amiodarona
	Anticoagulantes Warfarina

1.2.3.3 Enfermedades cerebrovasculares

Son todas aquellas alteraciones encefálicas secundarias a un trastorno vascular (Rodríguez Salgado, 2016).

Teniendo en cuenta las cifras de la OMS, representan la segunda causa de muerte en ambos sexos para algunos países incluido México, con una mortalidad del 26% para mujeres, y la primera causa de discapacidad. Se estimó una tasa de mortalidad promedio de 24.3 defunciones por cada 100 egresos hospitalarios en 30 días de estancia durante 2015 (Marroquín Segura et al., 2008; Rodríguez Salgado, 2016).

- Diagnóstico (véase Fig. 9, página 32)

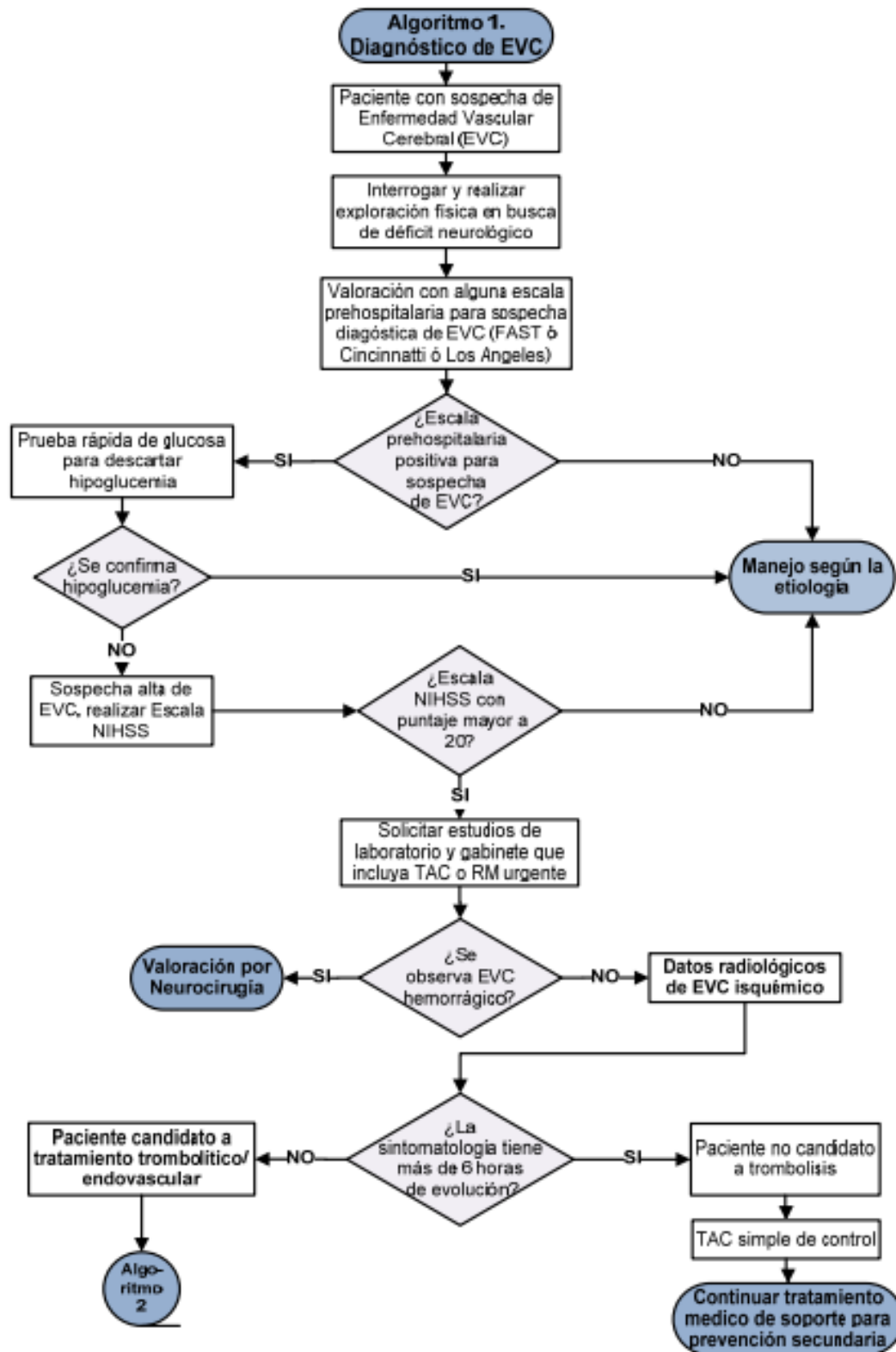


Figura 9. Algoritmo de diagnóstico para enfermedad vascular cerebral (EVC).

Tomado de Prevención secundaria, diagnóstico, tratamiento y vigilancia de la enfermedad vascular cerebral isquémica, por Rivera, N. S. C., Miranda Medrano, L. I., Flores, J. d. J., Pérez Rojas, A., Torres Arreola, L. d. P., Agüero y Reyes, L., . . . Hernández Santillán, D. L. J, 2008.

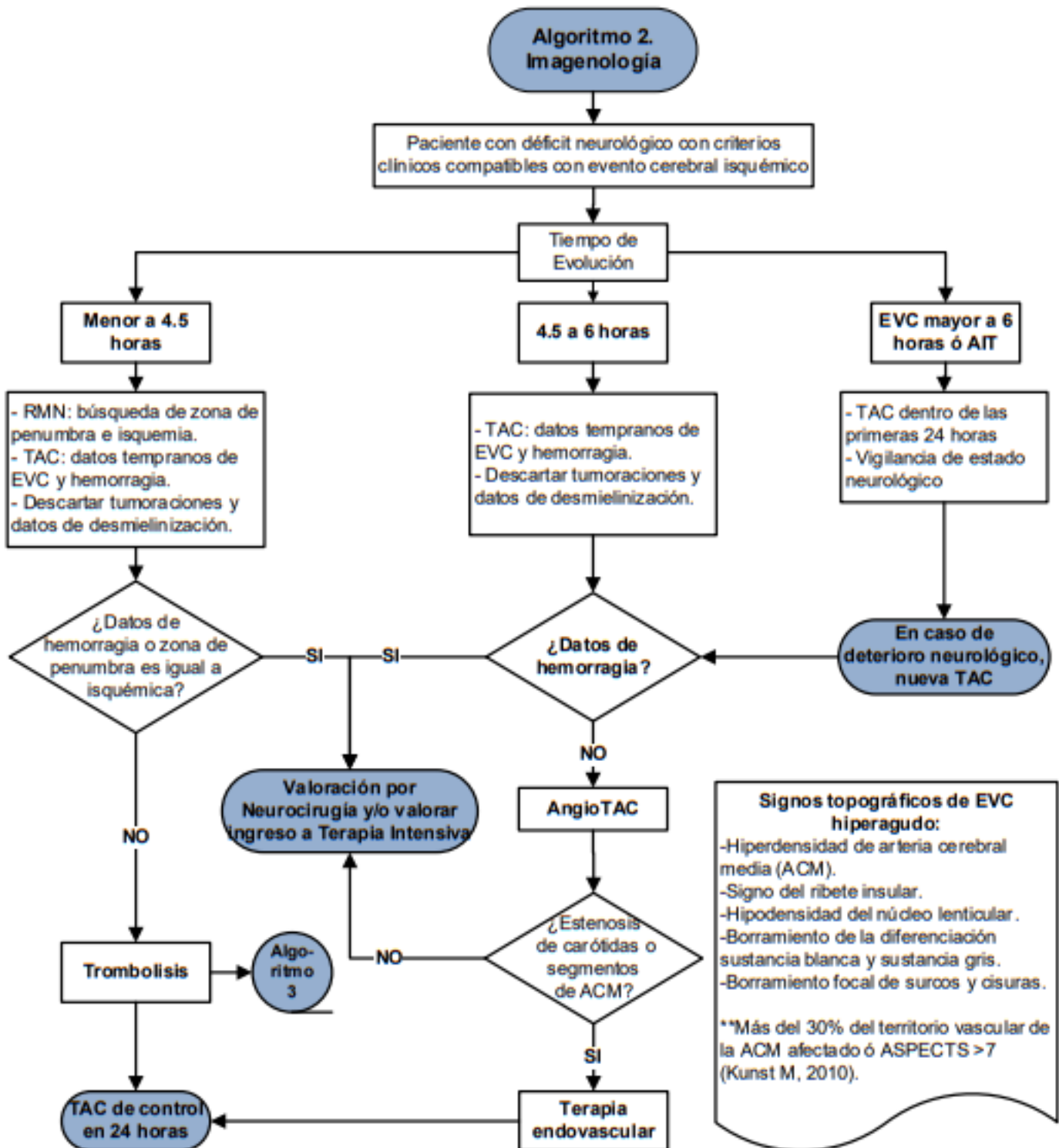


Figura 10. Algoritmo de diagnóstico EVC por imagenología.

Tomado de Prevención secundaria, diagnóstico, tratamiento y vigilancia de la enfermedad vascular cerebral isquémica, por Rivera, N. S. C., Miranda Medrano, L. I., Flores, J. d. J., Pérez Rojas, A., Torres Arreola, L. d. P., Agüero y Reyes, L., . . . Hernández Santillán, D. L. J, 2008.

○ **Tratamiento**

Tabla 4. Tratamiento farmacológico para enfermedades cerebrovasculares (Rivera et al., 2008)

	Tratamiento	
Control glucemia	Insulina Hiperglucemia persistente Glucosa intravenosa 10% al 20% Hipoglucemia severa	
Terapia trombolítica	Activador del plasminógeno tisular (rt-PA) Casos de enfermedad cerebrovascular isquémica aguda. Trombólisis intra-arterial	
Terapia anticoagulante	Warfarina Pacientes con enfermedad vascular cerebral isquémica aguda que presentan fibrilación auricular. La anticoagulación oral Recomendable después de una enfermedad vascular cerebral isquémica asociada con fibrilación auricular <ul style="list-style-type: none"> • Acenocumarina • Warfarina 	
Antidepresivos	inhibidores de la recaptura de serotonina <ul style="list-style-type: none"> • Sertralina • Flouxetina • Paroxetina 	<ul style="list-style-type: none"> • Venlafaxina • Imipramina • Duloxetina • Amitriptilina • Lamotrigina • gabapentina
Antineuréticos	<ul style="list-style-type: none"> • Lamotrigina • Gabapentina 	

1.2.4. MENOPAUSIA EN EL SISTEMA CARDIOVASCULAR

La menopausia es un factor de riesgo muy importante para desarrollar una enfermedad cardiovascular debido al cese de la producción de estrógenos puesto que se han observado en estudios varios desórdenes (Fig 10) como:

1.2.4.1 Estrés oxidativo

E2 mejora la función mitocondrial y reduce ROS principalmente a través de ER α y GPER-1. También mejora la estructura y función activando las vías de señalización cardioprotectora (PI3K / ERK1 / 2) e inhibiendo la apertura del poro de transición de permeabilidad mitocondrial (mPTP). Como se ha mencionado anteriormente, E2 reduce la producción de ROS y protege contra el estrés oxidativo al aumentar la producción de Cu/MnSOD. (Iorga et al., 2017).

En la menopausia y el envejecimiento van decayendo los antioxidantes, por lo que hay una sobreproducción de ROS, esto sumado a la pérdida constante de estrógenos puede causar que la mujer sea susceptible a padecimientos cardiovasculares en los cuales existe disfunción mitocondrial e incluso muerte celular como la isquemia en la que debido a la oclusión de un vaso sanguíneo se reduce el suministro de oxígeno al tejido, comúnmente el miocardio, por lo que hay una disminución de la fosforilación oxidativa, así como de ATP y una disminución de la despolarización de la membrana mitocondrial. Como consecuencia se da el cambio a la glucólisis anaeróbica dentro del miocardio, esto provoca una disminución del pH intracelular debido a la acumulación de lactato. La acumulación intracelular de protones activa la bomba de Na⁺/H⁺, que expulsa protones a expensas de acumular Na⁺. Este aumento de Na⁺ intracelular junto con el cese de la síntesis de ATP mitocondrial da como resultado la inhibición de la ATPasa de Na⁺/K⁺ y la posterior reversión de la función de la bomba de Na⁺/Ca²⁺, lo que lleva a una sobrecarga de Ca²⁺ citosólico.

Posterior a la isquemia se lleva a cabo la reperfusión isquémica que restaura el suministro de oxígeno, sin embargo, la reintroducción repentina de sangre rica en oxígeno en un tejido hipóxico sin captadores de oxígeno desencadena el daño por reperfusión isquémica, puesto que el Ca²⁺ citosólico conduce a una sobrecarga de Ca²⁺ mitocondrial, a la sobreproducción de ROS, la estimulación de la apertura de mPTP que durante la isquemia permanece cerrado, lo que provoca la permeabilización de la membrana interna mitocondrial y por lo tanto a la despolarización de las mitocondrias, hinchazón, ruptura y muerte celular. (Doshi & Agarwal, 2013; Iorga et al., 2017; Peoples et al., 2019).

1.2.4.2 Disfunción endotelial

Es un evento subclínico que precede aterosclerosis y que puede ser un indicador de futuras enfermedades cardiovasculares. (Witkowski & Serviente, 2018)

El endotelio vascular se encuentra en la superficie de los vasos sanguíneos. Las células endoteliales regulan la permeabilidad, la fibrinólisis y trombosis, la adhesión de plaquetas y leucocitos, la angiogénesis y el tono de los vasos, principalmente a través de la producción de NO. (Witkowski & Serviente, 2018) Como es conocido, los estrógenos principalmente estradiol tiene una función muy importante en la producción de NO, además reduce la inflamación y estrés oxidativo, sin embargo, se ha observado que las mujeres en menopausia presentan niveles bajos de óxido nítrico ($<1 \mu\text{M}$), sumado a otros factores como niveles elevados de LDL y mecanismos vasoconstrictores que provocan mayor incidencia de aterosclerosis. (Doshi & Agarwal, 2013).

1.2.4.3 Dislipidemia

Ocasionada por el incremento de colesterol total, triacilglicéridos, apolipoproteína B y LDL además de la disminución de HDL, de acuerdo con el estudio de la salud de la mujer a través de la nación o SWAN por sus siglas en inglés, este incremento se ha asociado a niveles elevados de FSH que es característico de la menopausia.

Se han propuesto 2 mecanismos. El primero propone que FSH activa al factor de transcripción de regulación de esterol unido a proteína-2 (SREBP-2), por lo cual se incrementa la actividad de la enzima reductasa HMG-CoA lo que ocasiona que aumente la velocidad de síntesis del colesterol en el hepatocito.

El segundo dice que FSH reduce la actividad del receptor de LDL en el hepatocito, de manera que disminuye también la endocitosis de LDL-c, por lo que este incrementa en sangre, en consecuencia, existe una mayor probabilidad de que estas mujeres presenten placa carotidea y por consiguiente endurecimiento de las arterias (aterosclerosis) (El Khoudary & Thurston, 2018; Taneja et al., 2019).

Por otro lado, se cree que HDL desempeñan un rol cardioprotector, sin embargo esto solo ocurre en mujeres en premenopausia, a diferencia de mujeres postmenopáusicas en donde se cree que la calidad de HDL puede cambiar en el periodo perimenopausia, esto de acuerdo a la prueba de grosor de la íntima media que mide la salud vascular y remodelación de los vasos sanguíneos, en donde las mujeres premenopáusicas mostraron un menor grosor, comprobando que hay una mayor remodelación del vaso sanguíneo a diferencia de las mujeres

postmenopáusicas que mostraron un mayor grosor. (El Khoudary & Thurston, 2018).

1.2.4.4 Peso corporal y síndrome metabólico

En la postmenopausia, las mujeres tienden a ganar peso y a que la grasa corporal se redistribuya, en algunos estudios se ha relacionado al incremento de FSH en la menopausia ya que cuando esta se inhibe en el ciclo menstrual regular, ocasiona que el tejido adiposo blanco disminuya y aumente el tejido adiposo pardo que son ricos en mitocondrias; no obstante, cuando se encuentra activa, disminuye la actividad de la proteína mitocondrial (UCP1) en adipocitos pardos (El Khoudary & Thurston, 2018; Rosano et al., 2007)

Esta ganancia de peso y redistribución de grasa puede causar resistencia a la insulina, lo que ocasiona una mayor cantidad de glucosa en circulación sistémica, esto a su vez provoca una mayor concentración de sodio sérico y con ello retención de fluidos y esto como resultado podría ocasionar una elevación en la presión sanguínea (El Khoudary & Thurston, 2018; Rosano et al., 2007).

1.2.4.5 Presión arterial e Hipertensión

La detención de biosíntesis de estradiol es responsable tanto directa como indirectamente del incremento de la presión arterial en mujeres en menopausia y por tanto el riesgo de padecer hipertensión, esto se debe a que promueve la expresión de eNOS y por consiguiente, producción de óxido nítrico, también inhibe la conversión de angiotensina I en angiotensina II, además de disminuir la expresión y sensibilidad de AT1 e impedir la síntesis de endotelina, de modo que modula la acción del sistema renina angiotensina (SRA), que es el principal regulador de la presión sanguínea, pero en la postmenopausia la angiotensina II puede afectar la presión sanguínea a través de un mecanismo vasoconstrictor mediante la desregularización del SRA, estrés oxidativo y sobreexpresión de AT1, además de la activación de endotelina que contribuye a que se desarrolle aterosclerosis (Newson, 2018; Taddei, 2009)

Junto con el SRA, el sistema nervioso autónomo es un importante regulador de la presión sanguínea, puesto que E2 tiene actividad moduladora en el sistema nervioso simpático. En mujeres postmenopáusicas el incremento de peso ocasiona que el sistema nervioso simpático se active con más frecuencia provocando un incremento de la presión (Newson, 2018; Taddei, 2009).

1.2.4.6 Hipertrofia

La hipertensión posmenopáusica favorece el desarrollo de hipertrofia ventricular izquierda y es el principal factor que contribuye a la enfermedad de las arterias coronarias, insuficiencia cardíaca crónica y accidente cerebrovascular en mujeres mayores (Taddei, 2009).

Los cambios en la matriz extracelular y la hipertrofia de los cardiomiocitos son el resultado de la activación de las vías de señalización y la reprogramación de la expresión génica. La calcineurina (CnA), dependiente de calcio-calmodulina y serina-treonina fosfatasa, juega un papel importante en la hipertrofia patológica de los cardiomiocitos, pues CnA desfosforila al factor nuclear de activación a células T (NFAT), una familia de factores de transcripción que activan la transcripción de genes hipertróficos (Donaldson et al., 2009).

Se ha observado en estudios, que E2 preserva la función sistólica del ventrículo izquierdo y contractilidad mediante un mecanismo ER dependiente, en el cual se promueve la expresión del proteosoma 26S provocando la ubiquitinación de CnA y su degradación proteosomal. (Donaldson et al., 2009)

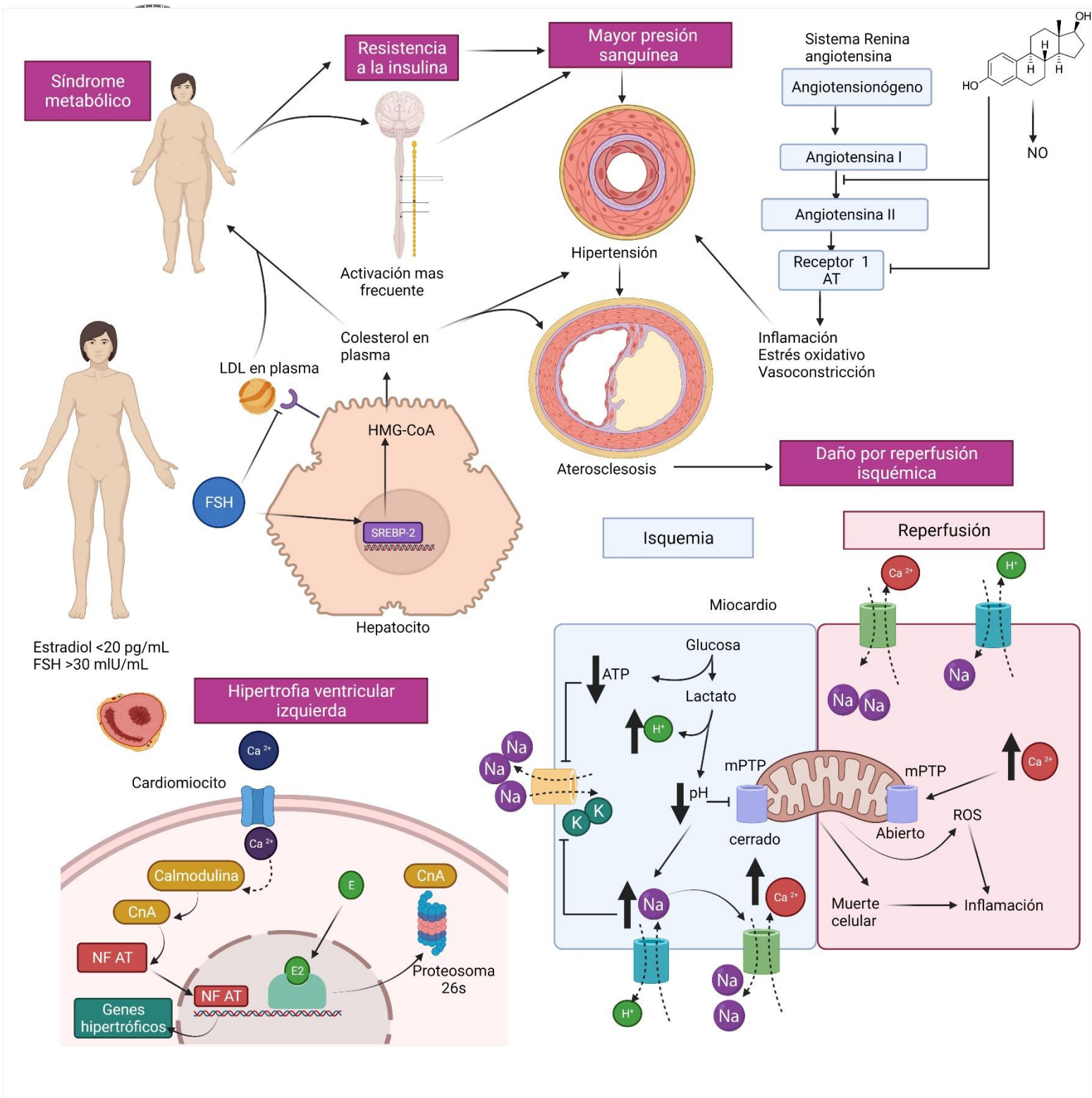


Figura 11. Efectos de la menopausia en el sistema cardiovascular.

Mecanismos que explican la incidencia del síndrome metabólico (Izquierda superior), Hipertensión y aterosclerosis (derecha superior), daño por reperfusión isquémica (Derecha inferior) e hipertrofia ventricular izquierda (Izquierda inferior) en mujeres menopáusicas. Adaptado de Protective approaches against myocardial ischemia reperfusion injury (p. 3825) por Li, X., Liu, M., Sun, R., Zeng, Y., Chen, S., & Zhang, P., 2016. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 12(6).

1.3 TERAPIA DE REEMPLAZO HORMONAL

1.3.1 HISTORIA

La menopausia se ha descrito desde el año 300 a. C, sin embargo, es hasta los 1800 cuando se consideró que el envejecimiento de la mujer merecía atención médica (Kohn et al., 2019).

A finales de 1800 y principios de 1900, específicamente en 1889 el Dr. Charles Edward Brown, mejor conocido como el padre de la endocrinología se inyectó a sí mismo extracto de testículos de conejillos de indias, describió una sensación de rejuvenecimiento y sugirió que algo similar ocurre en las mujeres. En la década de 1890 ocurren eventos muy importantes, por ejemplo, Merck & Company producen Ovariin[®], procedente de ovario de vaca; un tratamiento en polvo y en tabletas recomendado para la menopausia, mientras, en 1896, se obtiene extracto seco de tejido ovárico bovino y porcino que resultó efectivo para disminuir la disfunción sexual en mujeres con una dosis de 1.0- 7.5 g/ día (Kohn et al., 2019).

Por otro lado, en 1923 Allen & Doisy estudiaron la actividad estrogénica en conejillos de indias, además de algunas propiedades físicas y químicas de los estrógenos y con ello sentaron las bases para la investigación sobre la función de las hormonas y que fue un antecedente muy importante para la primera terapia de reemplazo hormonal empleada principalmente para tratar los síntomas vasomotores; derivada de orina de mujeres embarazadas vendida por Emmenin en 1933 en Estados Unidos, sin embargo, la comercialización era muy cara y en 1941 es reemplazada por Premarin[®] de administración oral que utilizaba estrógenos conjugados equinos.

En 1928 salieron al mercado parches elaborados por Searle y en 1937 Schering produjo etinilestradiol para administración por vía oral. Un año después se descubrió el dietilestilbestrol y en 1941 lo aprobó la FDA (Kohn et al., 2019).

Mas tarde, en 1972 la FDA establece que la terapia estrogénica podría ser efectiva para la prevención de osteoporosis, sin embargo, en esta misma década se observa un incremento de cáncer endometrial ligado a la THE, además la FDA obliga a los productores de medicamentos hormonales a advertir de riesgo de formación de coágulos y cáncer.

En la década de 1980 se descubre que la THE y progestina parecía revertir la hipertrofia endometrial asociada al cáncer en un 98%, además es el comienzo de la investigación de la relación de la terapia con la disminución de casos de osteoporosis y enfermedades cardiovasculares (Kohn et al., 2019).

El primer gran ensayo acerca del efecto postmenopausia de la terapia de estrógenos/progestina en el riesgo de ECV, HERS, se realizó en 1998. Se tomaron en cuenta 2763 mujeres postmenopáusicas con útero intacto, enfermedad coronaria y menores de 80 años, que fueron tratadas con 0.625

mg/día de estrógenos equinos y 2.5 mg/día de acetato de medroxiprogesterona o placebo por 4.1 años (Hulley et al., 1998).

Los resultados obtenidos contradicen la evidencia que sugiere menor tasa de ECV en mujeres postmenopáusicas que toman estrógenos, puesto que no hubo diferencias significativas en la ocurrencia de eventos primarios de cardiopatía coronaria como la muerte por ECV e infarto al miocardio no fatal, aunque en las gráficas se puede observar que las muertes por CHD difieren en el segundo año de observación, asimismo en el infarto al miocardio no fatal difieren durante el primer año, sin embargo convergen durante el tercer año. Por otro lado, otros eventos cardiovasculares como cirugía baipás de injerto de arteria coronaria, revascularización percutánea coronaria, hospitalización por angina inestable, entre otros, se obtuvieron resultados similares, es decir no hay diferencia significativa en su ocurrencia en los grupos con placebo y THE; aunque más mujeres tratadas con esta experimentaron trombosis venosa profunda y embolia pulmonar (Hulley et al., 1998).

No se observan diferencias significativas en los casos de cáncer de mama, cáncer endometrial, etc., en los grupos tratados con terapia de reemplazo hormonal y placebo (Hulley et al., 1998).

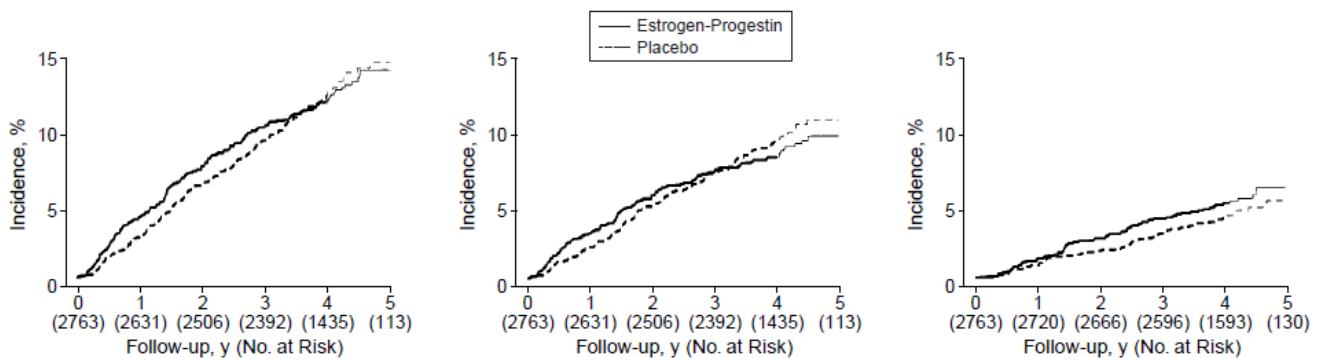


Figura 12. Estimación de la incidencia acumulada de eventos cardiovasculares.

Enfermedades cardiovasculares (ECV). (Izquierda) y sus componentes: Infarto al miocardio no fatal (centro), muertes por ECV (Derecha). El número de mujeres al año que están libres de cualquier evento se encuentra en paréntesis. Tomado de Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. Heart and Estrogen/progestin Replacement Study (HERS) Research Group (p. 609), por Hulley, S., Grady, D., Bush, T., Furberg, C., Herrington, D., Riggs, B., & Vittinghoff, E. 1998 JAMA, 280(7).

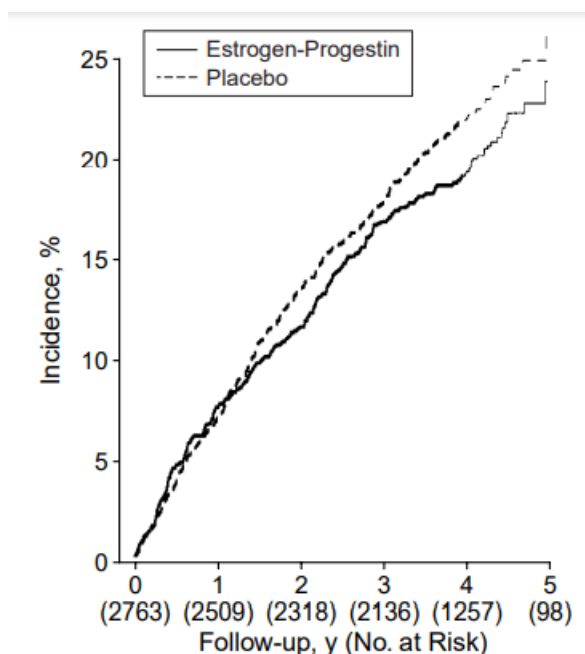


Figura 13. Estimación de incidencia acumulada de angina inestable, injerto baipás de arteria coronaria o revascularización percutánea coronaria.

El número de mujeres al año que están libres de cualquier evento se encuentra en paréntesis. Tomado de Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. Heart and Estrogen/progestin Replacement Study (HERS) Research Group (p. 610), por Hulley, S., Grady, D., Bush, T., Furberg, C., Herrington, D., Riggs, B., & Vittinghoff, E. 1998 JAMA, 280(7).

Con respecto a los niveles de LDL disminuyeron, a diferencia de HDL y triacilglicéridos que incrementaron en el grupo de mujeres tratadas con la terapia de reemplazo hormonal (Hulley et al., 1998).

Una posible explicación para la contradicción con la literatura es que en la mayoría de los estudios en donde se analiza la terapia de reemplazo hormonal involucra mujeres postmenopáusicas relativamente jóvenes y sanas que toman estrógenos, mientras que en HERS, las mujeres analizadas tenían una enfermedad coronaria que fueron tratadas con estrógenos/progestina; esta última se plantea que tenga un efecto adverso puesto que las progestinas regulan negativamente los receptores de estrógeno y también pueden tener efectos directos mediados por los receptores de progestina que se oponen a las acciones benéficas cardiovasculares de los estrógenos, aunque otros estudios han demostrado una disminución del riesgo de ECV con acetato de medroxiprogesterona y estrógenos (Hulley et al., 1998).

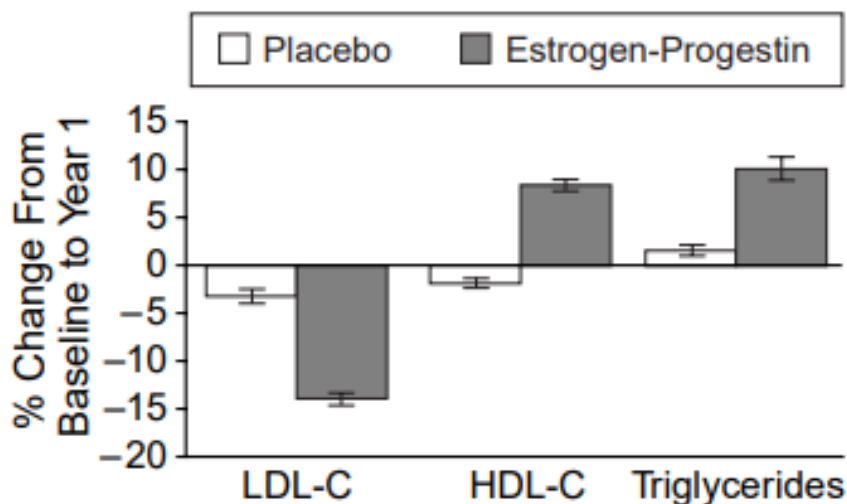


Figura 14. Cambio promedio en c-LDL, c-HDL y triacilglicéridos durante el primer año de seguimiento expresados en porcentaje.

Tomado de Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. Heart and Estrogen/progestin Replacement Study (HERS) Research Group (p. 610), por Hulley, S., Grady, D., Bush, T., Furberg, C., Herrington, D., Riggs, B., & Vittinghoff, E. 1998 JAMA, 280(7).

Como se ha observado en las gráficas al primer año de tratamiento hay un aumento de riesgo de un evento primario de CHD que podría deberse a un efecto protrombótico, arrítmico o isquémico inmediato y gradualmente tener un efecto subyacente en la progresión de aterosclerosis o quizá como resultado de un efecto benéfico en la disminución de LDL y aumento de HDL y que en consecuencia podría disminuir el riesgo de un evento primario a ECV (Hulley et al., 1998).

El incremento de casos de trombosis venosa en el grupo de la terapia hormonal probablemente es a consecuencia del hecho de que las mujeres involucradas en HERS son mayores y con múltiples riesgos de sufrir una trombosis (Hulley et al., 1998).

La conclusión de este estudio fue que las mujeres postmenopáusicas con una enfermedad coronaria establecida que siguieron el tratamiento con estrógenos/progestina diaria, en general no se reduce el riesgo de un infarto al miocardio no fatal, así como muerte por ECV y otros problemas cardiovasculares durante 4.1 años de seguimiento, además la terapia hormonal incrementa el riesgo de trombosis venosa. Los autores no recomiendan comenzar el tratamiento con el propósito de prevenir una ECV. (Hulley et al., 1998)

En el año 2000, se llevó a cabo el estudio Reemplazo estrogénico y aterosclerosis (ERA), en 309 mujeres postmenopáusicas con ECV cuyo objetivo como su nombre lo menciona fue examinar el efecto de la THE en la progresión de aterosclerosis. Estas mujeres fueron separadas en 3 grupos: estrógenos

equinos en una dosis de 0.625 mg/día, estrógenos equinos con acetato de medroxiprogesterona en una dosis de 0.625 mg/día y 2.5 mg/día respectivamente y el grupo placebo (Herrington et al., 2000).

Se observó que el grupo de mujeres tratadas con estrógenos y estrógenos con medroxiprogesterona tuvieron niveles más bajos de LDL y más altos de HDL en plasma en comparación con el grupo placebo (Herrington et al., 2000).

No se encontraron diferencias significativas en el diámetro de la arteria coronaria entre grupos con THE y placebo, al igual que en la proporción de eventos cardiovasculares como las muertes por ECV e infartos no fatales y tampoco hubo evidencia de casos de carcinoma endometrial (Herrington et al., 2000).

Lo anterior muestra que en 3.2 años de tratamiento no se disminuye la progresión de lesiones por aterosclerosis coronaria en mujeres. Los autores plantean dos posibles explicaciones para los resultados obtenidos: La primera señala la capacidad proinflamatoria de los estrógenos, provocando mayor cantidad de Proteína C reactiva (PCR) asociada con un mayor riesgo de eventos cardiovasculares. La segunda expone que los estrógenos son efectivos cuando se trata de prevenir la aterosclerosis en lugar de disminuir su progresión una vez que la enfermedad está declarada (Herrington et al., 2000).

En resumen, en 3.2 años de tratamiento con estrógenos y estrógenos con acetato de medroxiprogesterona, no disminuyó la progresión de aterosclerosis coronaria en mujeres con la enfermedad establecida, además se recomienda no usarla con expectativa de beneficio cardiovascular (Herrington et al., 2000).

En 2001 se realizó el estudio sobre los estrógenos en la prevención de aterosclerosis (EPAT), con el propósito de determinar los efectos de la THE en la progresión de aterosclerosis subclínica en mujeres postmenopáusicas sanas sin ECV preexistentes. Se analizaron 222 mujeres de 45 años o mayores con las características mencionadas, a las cuales se les administró una dosis de 1 mg/día de 17- β estradiol (Hodis et al., 2001).

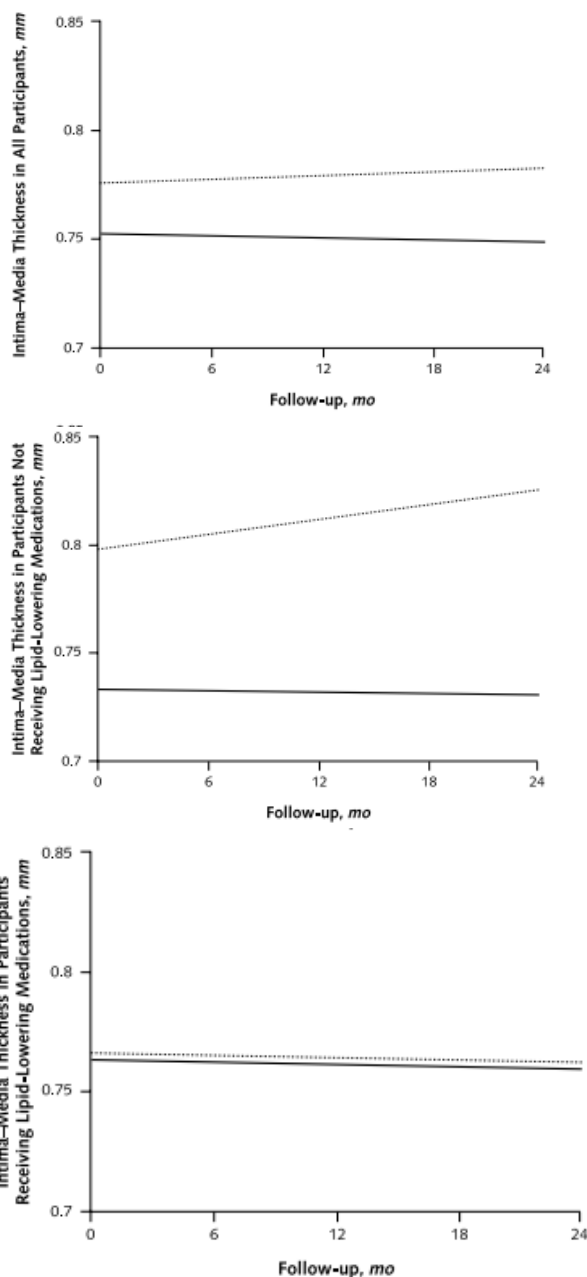


Figura 15. Tiempo de progresión del grosor de la íntima media.

Grupos con estradiol (línea sólida) y placebo (línea punteada). Tomado de Estrogen in the prevention of atherosclerosis. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. (p. 946), por Hodis, H. N., Mack, W. J., Lobo, R. A., Shoupe, D., Sevanian, A., Mahrer, P. R., . . . Group, E. i. t. P. o. A. T. R., 2001, *Ann Intern Med*, 135(11).

Los resultados muestran un menor grosor de la íntima media en las pacientes tratadas con la THE, a diferencia de las pacientes tratadas con un placebo. Sin embargo, no se muestran diferencias en dicho parámetro cuando se trata a pacientes tanto con THE y placebo con medicamentos hipolipemiantes (Hodis et al., 2001).

En conclusión, la aterosclerosis subclínica progresa más lentamente en mujeres que recibieron la THE, y puede servir como una alternativa a tratamiento hipolipemiante para mujeres que no desean o no pueden recibir dicho tratamiento (Hodis et al., 2001).

La iniciativa por el corazón de la mujer (WHI) realizó un estudio con el fin de evaluar los posibles riesgos y beneficios de la terapia de reemplazo hormonal más comúnmente utilizada en los Estados Unidos. Se analizaron 161 809 mujeres postmenopausia entre 50 a 79 años. Se dividieron en un grupo de mujeres con útero intacto que se trataron con 1 tableta al día que contenía 0.625 mg estrógenos equinos y 2.5 mg de acetato de medroxiprogesterona y un grupo placebo (Rossouw et al., 2002).

Después de un lapso promedio de 5.2 años de seguimiento se detuvo la investigación debido a que los beneficios de la terapia de reemplazo hormonal en el cáncer colorrectal y fracturas de cadera fueron opacados por los riesgos cardiovasculares y de cáncer de mama que se obtuvieron (Rossouw et al., 2002).

Se observó una gran disminución en los niveles de LDL, un incremento de HDL y triacilglicéridos en el grupo de terapia de reemplazo hormonal, asimismo la presión sistólica fue mayor en este grupo, mientras que no hubo diferencia significativa en la presión diastólica (Rossouw et al., 2002).

Con respecto a eventos por ECV, principalmente infartos al miocardio no fatales se incrementaron en el grupo de terapia de reemplazo hormonal; los casos de accidente cerebrovascular también fueron mayores para este grupo, al igual que los casos de tromboembolia venosa. En general, para ECV, incluidos eventos que requirieron hospitalización se incrementaron en el grupo con estrógenos/progestina (Rossouw et al., 2002).

En cuanto a los casos de cáncer de mama, no hay diferencia estadísticamente significativa, sin embargo, si puede observarse un incremento en el grupo de la terapia hormonal. En el cáncer colorrectal y en fracturas de cadera si se aprecia una disminución de casos estadísticamente significativa en este grupo (Rossouw et al., 2002).

Los autores comentan que ocurrieron suficientes eventos por ECV en 5.2 años de seguimiento, lo que sugiere que la continuación de la terapia de reemplazo hormonal que se tenía planeada no habría arrojado resultados favorables hacia las ECV. Los resultados obtenidos concuerdan con HERS en que la terapia combinada con estrógenos/progestina no tiene efecto benéfico en la prevención de ECV en mujeres con útero intacto que padecen una cardiopatía coronaria (Rossouw et al., 2002).

A diferencia de las ECV, el riesgo de accidentes cerebrovasculares en el grupo de la terapia hormonal no estuvo presente en el primer año, pero apareció en el segundo año y persistió hasta el quinto año, algunos estudios preliminares indican que la diferencia de presión no es una explicación suficiente al incremento de accidentes cerebrovasculares (Rossouw et al., 2002).

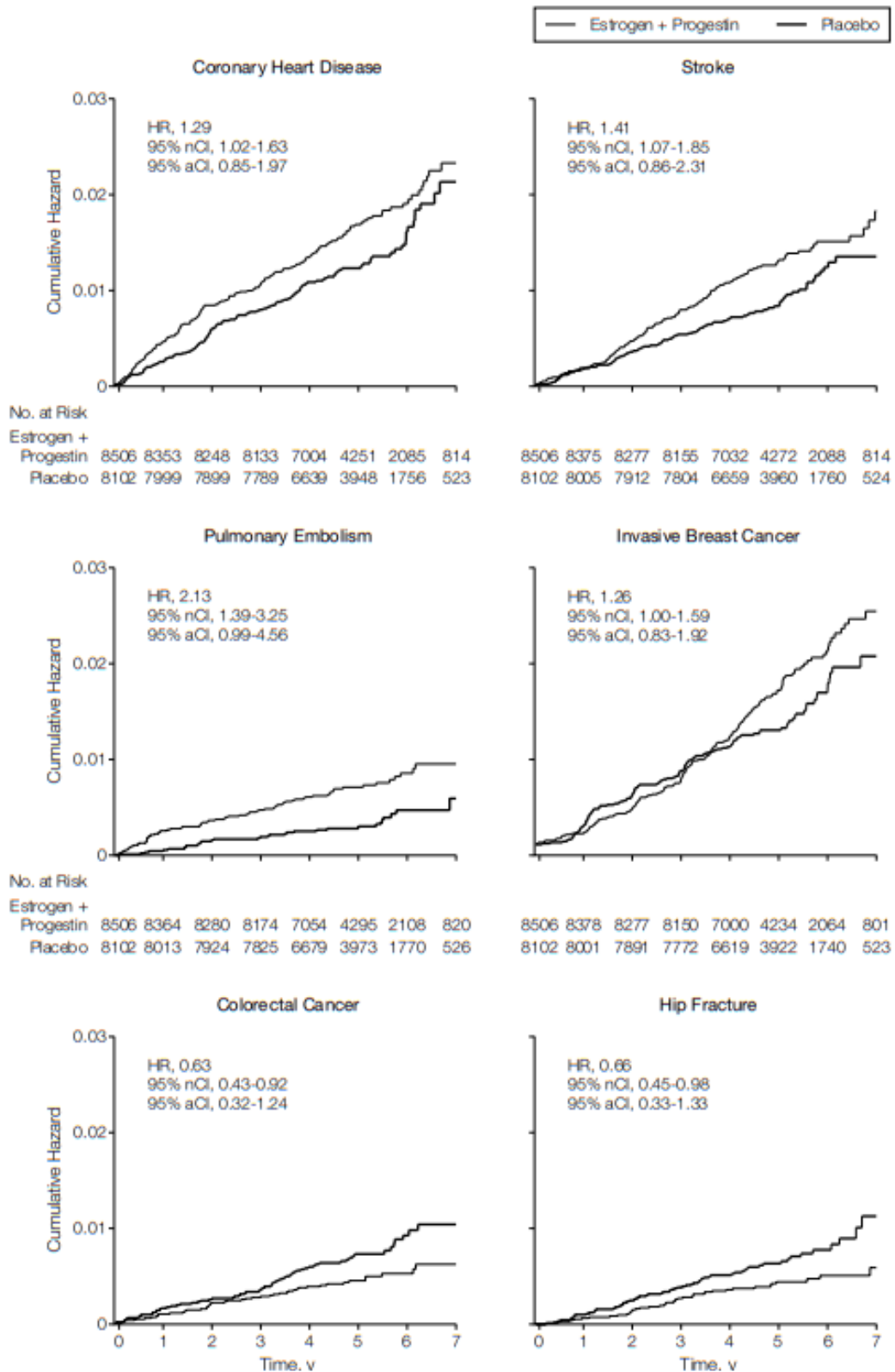


Figura 16. Incidencia acumulada de los padecimientos evaluados.

Tomado de Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. (p. 328), por Rossouw, J. E., Anderson, G. L., Prentice, R. L., LaCroix, A. Z., Kooperberg, C., Stefanick, M. L., . . . Investigators, W. G. f. t. W. s. H. I., 2002, JAMA, 288(3).

En este estudio no hubo indicios de que estos padecimientos se deban al uso de estrógenos/ progestina y ocurran en mujeres mayores, que tengan problemas previos cerebrovasculares, raza, etnia, o en mujeres que tengan presión sanguínea alta. Por lo que parece que el tratamiento con estrógenos/progestina incrementa el riesgo de sufrir accidentes cerebrovasculares en mujeres aparentemente sanas. Por otro lado, la tromboembolia es una complicación esperada que coincide con lo reportado en HERS (Rossouw et al., 2002).

Esta investigación ha sido la primera en confirmar que la terapia combinada de estrógenos con progestina incrementa el riesgo de padecer cáncer de mama, a diferencia de tratamiento con solo estrógenos, pues estos resultados coinciden con datos epidemiológicos de varios estudios (Rossouw et al., 2002).

El mecanismo por el cual existe una disminución en el riesgo de padecer cáncer colorrectal aún es incierto. La disminución en las fracturas de cadera es consistente con la capacidad ya conocida de los estrógenos, acerca de mantener la densidad ósea (Rossouw et al., 2002).

Los autores concluyen que los riesgos del uso de estrógenos/ progestina exceden los beneficios en un lapso de 5.2 años de seguimiento en mujeres postmenopausia sanas, además sugieren no usar este tratamiento para la prevención primaria de ECV (Rossouw et al., 2002).

Después de la terminación temprana de WHI, la comunidad científica se quedó con muchas preguntas sin resolver y muchas otras surgieron, por lo cual, en 2005 fue publicado el estudio Kronos de prevención temprana de estrógenos (KEEPS) para probar la hipótesis de que el inicio temprano de la terapia hormonal en mujeres al comienzo de la menopausia retrasará la aparición de ECV subclínicas en mujeres. Se analizaron 720 mujeres sanas entre 42 a 58 años, a las cuales se les asignó un grupo placebo, un grupo con 0.45 mg/día de estrógenos equinos administrados por vía oral y un grupo con estradiol transdérmico en una dosis de 50 µg semanalmente; ambos grupos con estradiol además fueron tratados con 200 mg de progesterona oral por 12 día de cada mes. (Harman et al., 2005).

Los resultados de este estudio respecto a ECV muestran que el incremento del grosor de la íntima media de la arteria carótida fue similar en los 3 grupos, es decir que la terapia hormonal tiene un efecto neutral (Miller et al., 2019)

El calcio arterial coronario (CAC) es una característica muy específica de la aterosclerosis coronaria. Actualmente, se considera que la aparición del CAC es un proceso patogénico activo que no es inevitable, y se han identificado mecanismos que subyacen en la calcificación vascular. La producción de hueso ectópico, que es una característica frecuente de la aterosclerosis, es la base de la calcificación arterial coronaria. (Greenland et al., 2018)

La puntuación de CAC permite valorar el depósito de calcio en las arterias coronarias evaluando el riesgo de eventos cardiovasculares mayores, que resulta especialmente útil en personas asintomáticas para planificar las intervenciones en prevención primaria. (Morcillo et al., 2007)

En las mujeres que presentaron CAC al inicio del estudio, así como 48 meses de tratamiento, no se observan diferencias significativas en el cambio de los niveles de CAC en los tres grupos. Por otro lado, el porcentaje de mujeres que presentaron niveles de CAC después de 48 meses de tratamiento tienden a ser menores en el grupo de estrógenos administrados por vía oral, a diferencia del placebo, sin embargo, esta diferencia no se aprecia entre los grupos con terapia hormonal. Además, se menciona que, si las dosis utilizadas en este estudio o mayores como las usadas en WHI habrían retrasado la presencia de CAC en 4 años o más, es una especulación. No se observaron cambios significativos en la presión sanguínea a lo largo del tratamiento (Miller et al., 2019).

Estudios auxiliares encontraron que en todos los grupos hubo disminución de la función endotelial asociada al incremento de la progresión de la aterosclerosis subclínica en la arteria carótida, pero no en la arteria coronaria, sin embargo, la terapia hormonal no tuvo un efecto benéfico en el funcionamiento del endotelio (Miller et al., 2019).

Aunque no hubo diferencias estadísticamente significativas en el número, capacidad de agregación o secretora de las plaquetas entre los 3 grupos durante el período de tratamiento, el contenido de vasoactivo y factores mitogénicos derivados del lisado plaquetario disminuyó dentro de los grupos de terapia hormonal en comparación con el placebo. Además, el contenido de plaquetas de 5-hidroxitriptamina y prostanoïdes vasoactivos (prostaciclina y tromboxano) difirió entre los grupos estrógenos vía oral y transdérmico, posiblemente contribuyendo, en parte, a un mayor riesgo de eventos trombóticos con el tratamiento oral. No se reportaron eventos trombóticos o algún otro efecto adverso (Miller et al., 2019).

En conclusión, KEEPS y sus estudios auxiliares han respaldado el valor y la seguridad del uso de THE en mujeres posmenopáusicas jóvenes y proporcionan una perspectiva para futuras investigaciones para optimizar la terapia hormonal y la salud de estas mujeres (Miller et al., 2019).

Finalmente, en 2008 se publica el estudio Efectos vasculares del tratamiento postmenopáusico con estradiol temprano vs tardío (ELITE), diseñado para probar la hipótesis de la relación la terapia hormonal y el tiempo en la progresión de aterosclerosis en mujeres postmenopáusicas. En el cual se consideraron 643 mujeres sanas que fueron asignadas en grupos con 1 mg/día de 17β -estradiol oral y placebo, ya sea en la menopausia temprana (menos de 6 años desde la menopausia) o menopausia tardía (10 años o más desde la menopausia). Las mujeres que recibieron estradiol y tenían útero intacto también recibieron 45 mg de progesterona por vía vaginal (Hodis et al., 2016).

Después de 5 años de seguimiento, el efecto de la THE en la progresión del grosor de la íntima media de la arteria carótida fue diferente entre la menopausia tardía y la menopausia temprana, siendo menor en el grupo de estradiol en esta última, mientras que en la menopausia tardía la progresión de la aterosclerosis es similar entre el grupo de estradiol y placebo, estos datos concuerdan con otros estudios que han sugerido que el efecto de la THE en enfermedades

cardiovasculares depende del momento en que se inicia la menopausia como WHI o “The Danish Osteoporosis Prevention Study ” en los que obtuvieron resultados similares, mientras que KEEPS como se mencionó anteriormente, no encontró efectos benéficos de la THE; una posible justificación para las diferencias entre KEEPS y este estudio podría ser la aparente dosis-respuesta del estradiol en el endotelio (Hodis et al., 2016).

Los niveles de c-LDL fueron más bajos en el grupo tratado con estradiol, mientras que los niveles de c-HDL y triacilglicéridos aumentaron, el índice de masa corporal (IMC) y presión sanguínea fueron similares en ambos grupos. Estas diferencias fueron similares tanto en la menopausia temprana como en la tardía (Hodis et al., 2016).

Los efectos adversos graves que se reportaron fueron muertes, cancer de mama, infarto al miocardio y trombosis venosa o embolia pulmonar, sin embargo, la frecuencia de estos eventos no difiere significativamente entre el tratamiento con estradiol y placebo en ningún estadio de la menopausia (Hodis et al., 2016).

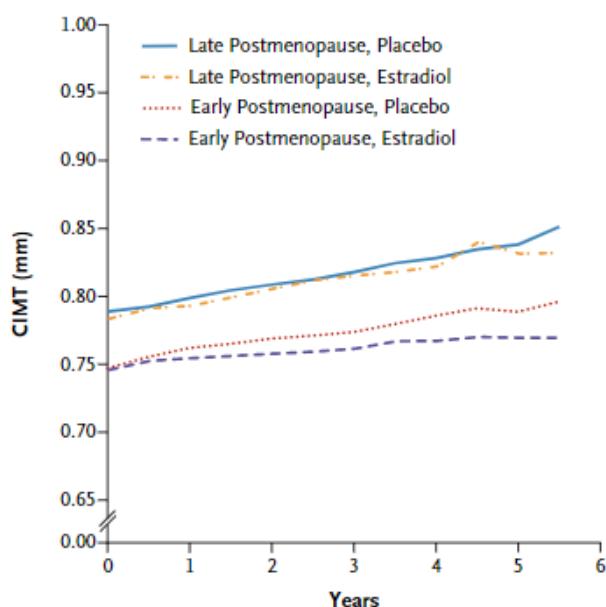


Figura 17. Progresión del grosor de la íntima media de la arteria carótida, de acuerdo con el grupo y estadio de la menopausia.

Tomado de Vascular Effects of Early versus Late Postmenopausal Treatment with Estradiol. (p. 1228), por Hodis, H. N., Mack, W. J., Henderson, V. W., Shoupe, D., Budoff, M. J., Hwang-Levine, J., . . . Group, E. R., 2016, N Engl J Med, 374(13).

En conclusión, se encontró que los efectos del estradiol (con o sin progesterona) en la progresión de la aterosclerosis difieren de acuerdo con el momento de inicio de la terapia, con beneficios observados cuando dicha terapia se inicia antes de los 6 años de la menopausia, pero no cuando se inicia a los 10 años o más (Hodis et al., 2016).

Actualmente, la THE se recomienda principalmente para tratar síntomas vasomotores y síndrome genitourinario, además de prevenir osteoporosis, fracturas de cadera y otros padecimientos dependiendo de la dosis, duración de la terapia, vía de administración y el tiempo de inicio de la terapia desde la última menstruación (Kohn et al., 2019).

1.3.2. FARMACOCINÉTICA DE 17 B-ESTRADIOL

1.3.2.1 Absorción

Tabla 5. Vías de administración y parámetros farmacocinéticos (Kuhl, 2005).

Vía de administración	Contenido estradiol (µg)	Cmax (pg/mL)	Tmax (h)
Oral	2000	40	6
	1000	25	
Intranasal	2 spray 300 000	1150	0.3 (20 min)
Sublingual	1000	450	-
Transdérmica	Parche Reservoir		
	50	40-60	36
	100	60-110	
	Parche Matrix		
	50	40-80	-
	100	96	
	Gel		
	0.06% estradiol 1.5 gel	60-90	-
	0.1% estradiol 1.5 mg gel	30	-
Vaginal	50	40	-
	200	125	-
Implante subcutáneo	25 000	90	24/6 meses
	2 pellets 25 000	180	
Intramuscular	4000	400	48

1.3.2.2 Distribución y metabolismo

Los estrógenos administrados exógenamente se distribuyen de manera similar a los endógenos. Se pueden encontrar en todo el cuerpo, especialmente en los órganos diana de las hormonas sexuales, como las mamas, los ovarios y el útero. Su unión a proteínas plasmáticas es de más del 95% y circulan unidos a Globulina transportadora de hormonas sexuales (SHBG) y a la albúmina. (NCBI, 2021)

Con respecto al metabolismo, también ocurre similarmente a estrógenos endógenos, puesto que se lleva a cabo principalmente en el hígado y puede ocurrir en el intestino delgado como pasa con mestranol y quinestrol. En el hígado el estradiol se transforma a estrona por la enzima 17-β estradiol-deshidrogenasa y ambos, estrona y estradiol son transformados a estriol por enzimas del Citocromo P450. Por otro lado, la estrona producida a partir de estradiol puede sufrir reacciones de glucuronidación por la enzima UDP-glucuroniltransferasa y formar compuestos glucurónicos como la 2-metoxiestrona 3-glucuronida y estrona glucurónica, así como reacción de sulfatación por medio de la enzima sulfotransferasa estrogénica en donde forma estrona sulfatada (NCBI, 2021)

1.3.2.3 Eliminación

Finalmente, el estriol se elimina mayormente por orina, aunque del 5- 8% se elimina como estradiol sin cambio. La Estrona y los compuestos glucurónicos y sulfatados también pueden eliminarse por vía biliar (NCBI, 2021).

Tabla 6. Vías de administración y parámetros farmacocinéticos (NCBI, 2021).

Vía de administración	Tiempo de vida medio ($t_{1/2}$)	Aclaramiento (mL/min/Kg.)
Intravenoso	16.9 ± 6.0 h	1.3
Oral	27.45 ± 5.65 min	29.9 ± 15.5

1.3.3 MÉTODOS DE TERAPIA DE REEMPLAZO ESTROGÉNICO

En el estudio “Ovariectomy and 17 β - Estradiol replacement in rats and mice: a visual demonstration”, probaron las vías de administración oral y subcutánea en ratas y ratones hembra ovariectomizadas, mediante una cápsula de silastic y Nutella, que contenían 17 β - Estradiol en distintas dosis. (Ström et al., 2012)

Tabla 7. Especie, vías de administración y sus componentes. (Ström et al., 2012)

Especie	Vía subcutánea Cápsula silastic	Vía oral Nutella
Rata Sprague-Dawley 300 g	180 μ g/mL de 17 β - Estradiol	<ul style="list-style-type: none"> • 28 μg de 17β- Estradiol • 5 μL de aceite de sésamo • 1 g/Kg de Nutella
Ratón C5/BL/6 25 g.	18-36 μ g/mL de 17 β - Estradiol	<ul style="list-style-type: none"> • 1.12 μg de 17β- Estradiol • 0.312 μL de aceite de sésamo • 60 mg/Kg de Nutella

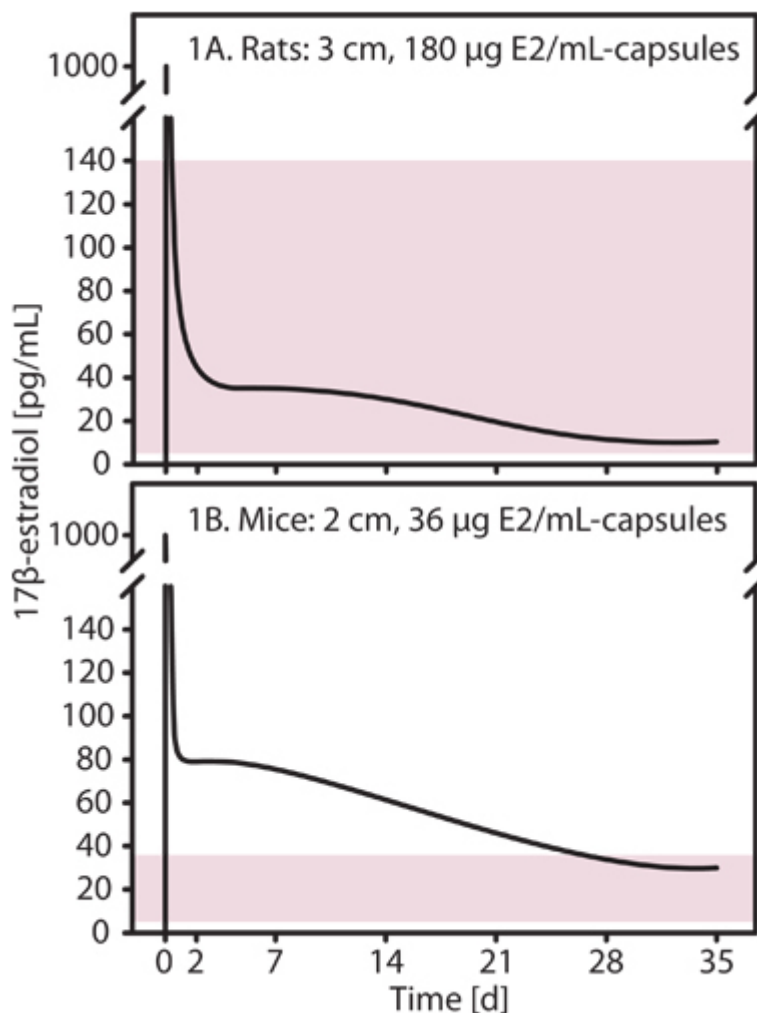


Figura 18. Concentraciones de 17 β -estradiol en ratas y ratones después de la administración subcutánea.

Las áreas sombreadas corresponden a las concentraciones séricas fisiológicas de 17 β -estradiol en ratas y ratones hembra intactos. Tomado de Ovariectomy and 17 β -estradiol replacement in rats and mice: a visual demonstration. Journal of visualized experiments, por Ström, J. O., Theodorsson, A., Ingberg, E., Isaksson, I. M., & Theodorsson, E., 2012 JoVE, 64.

Se observó que la cápsula de silastic produce una disminución lenta en las concentraciones séricas de 17 β -Estradiol, aproximadamente 40 pg/mL en el día 2 a 10 pg/mL en el día 35, inmediatamente después de la administración, se observó un pico de aproximadamente 1000 pg/mL, alcanzando concentraciones fisiológicas en 8h. Con respecto a los ratones también se obtuvo una disminución lenta de 90 pg/mL en el día 2 a 25 pg/mL en el día 35; probablemente se obtuvo un pico de concentración similar al obtenido con las ratas, sin embargo, no se investigó. (Ström et al., 2012)

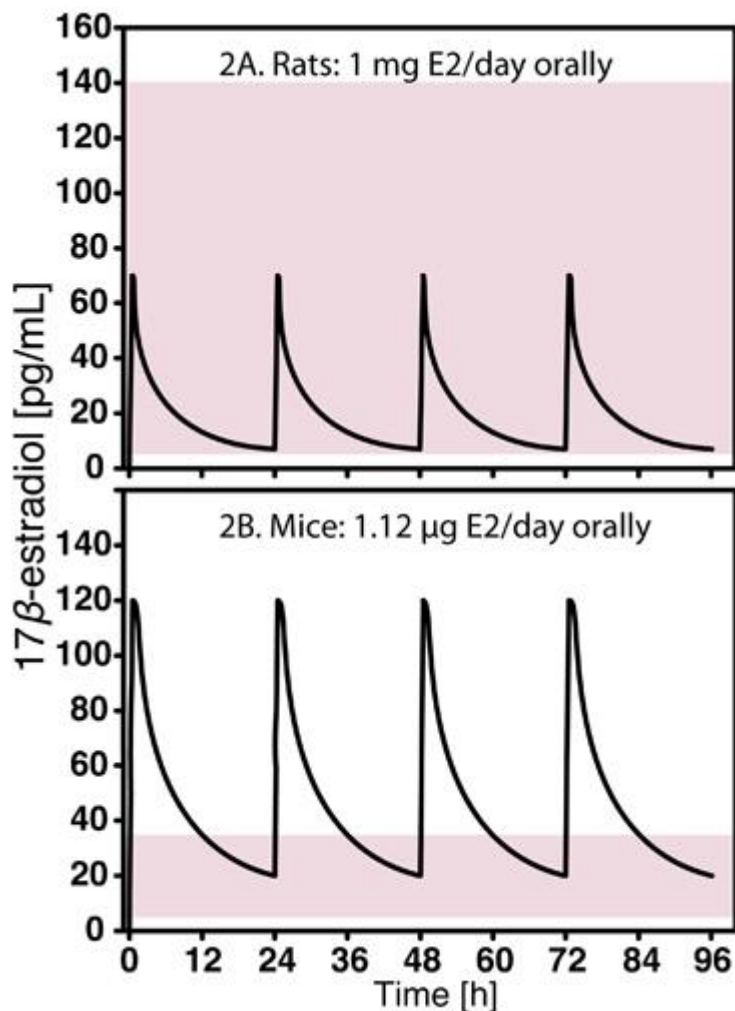


Figura 19. Concentraciones de 17β-estradiol en ratas y ratones como consecuencia de la administración diaria de hormonas en Nutella.

Las áreas sombreadas corresponden a las concentraciones séricas fisiológicas de 17β-estradiol en ratas y ratones hembra intactos. Tomado de Ovariectomy and 17β-estradiol replacement in rats and mice: a visual demonstration. Journal of visualized experiments, por Ström, J. O., Theodorsson, A., Ingberg, E., Isaksson, I. M., & Theodorsson, E., 2012 JoVE, 64.

Con respecto a la vía oral con Nutella, produce picos diarios, sin embargo, no tan altos como los producidos por vías subcutáneas o intravenosas. Esto imita la farmacocinética de la terapia de reemplazo hormonal humana, y el tratamiento oral puede continuar durante el tiempo que sea necesario. Las variaciones diarias se encuentran entre 10 y 70 pg/mL en ratas y en ratones, fueron aproximadamente de 20 y 120 pg/mL. (Ström et al., 2012)

Las vías de administración estudiadas se consideraron como una mejor opción de terapia de reemplazo hormonal, pues en el caso de la vía oral, es inocua, además de alcanzar concentraciones fisiológicas, a diferencia de pellets de liberación lenta e inyecciones, puesto que los pellets provocan picos de concentraciones muy eladas de 17β- Estradiol, y podría incrementar el riesgo de

daño cerebral, mientras que las inyecciones tienen variaciones diarias importantes, además de que implica un proceso de estrés diario para el animal.

Se consideran vías de administración aptas tanto para corta así como larga duración de hasta 5 a 6 semanas con las dosis recomendadas, si se utilizan dosis mayores, existe riesgo de efectos adversos como la oclusión uterina debido a la proliferación de la mucosa. (Ström et al., 2012)

Finalmente, no se observó incremento de peso con la dosis de crema de avellana (Nutella[®]) administrada. (Ström et al., 2012)

2. JUSTIFICACIÓN

La investigación sobre el efecto cardioprotector por parte de las hormonas sexuales, especialmente 17 β - estradiol, se realiza principalmente en animales de laboratorio, por lo que es de suma importancia contar con métodos de administración que no causen demasiado estrés al animal y que permitan mantener concentraciones fisiológicas similares a la etapa del ciclo estral en la que la rata alcanza el pico de esta hormona, es decir el proestro, sin embargo hasta el momento no se cuenta con dichos métodos. Este proyecto propone 2 vías administración, así como la identificación del método más efectivo.

3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Qué método de administración será más eficaz para mantener concentraciones de 17 β -estradiol similares a las encontradas en la etapa de proestro con terapia de reemplazo estrogénica en rata Wistar hembra ovariectomizada?

4. HIPÓTESIS

El método más eficaz será el implante subdérmico de liberación controlada para lograr concentraciones estables de 17- β estradiol similares a las encontradas en la etapa de proestro.

5. OBJETIVO GENERAL

Determinar las concentraciones séricas de 17 β -estradiol administradas a través de un implante subdérmico de liberación controlada y compararlo con la vía oral, en rata Wistar hembra ovariectomizada, para seleccionar el mejor método que permita mantener concentraciones estables de estrógenos similares a las encontradas en la etapa de proestro.

5.1. OBJETIVOS PARTICULARES

1. Realizar la ovariectomía bilateral dorsal en rata Wistar hembra de 12 semanas de edad.
2. Elaborar un implante de liberación controlada de 17 β -estradiol.
3. Administrar 17 β -estradiol en una dosis de 5 μ g/Kg/día disuelto en crema de avellanas por vía oral.
4. Colocar el implante subdérmico en el dorso superior de la rata Wistar hembra
5. Obtención de suero para la cuantificación de 17 β -estradiol a 0 h, 72 h, 10 y 18 días, 5, 8 y 10 sem en el grupo con implante subdérmico.
6. Obtención de suero para la cuantificación de 17 β -estradiol a 2, 24, 36, 8, 0, 72, 84, 96 h en el grupo administrado por vía oral.
7. Cuantificar 17 β -estradiol en suero de todos los grupos experimentales por medio de la técnica de ELISA.
8. Analizar la eficacia de ambos métodos de administración para la terapia de reemplazo estrogénica

6. MATERIALES Y MÉTODOS

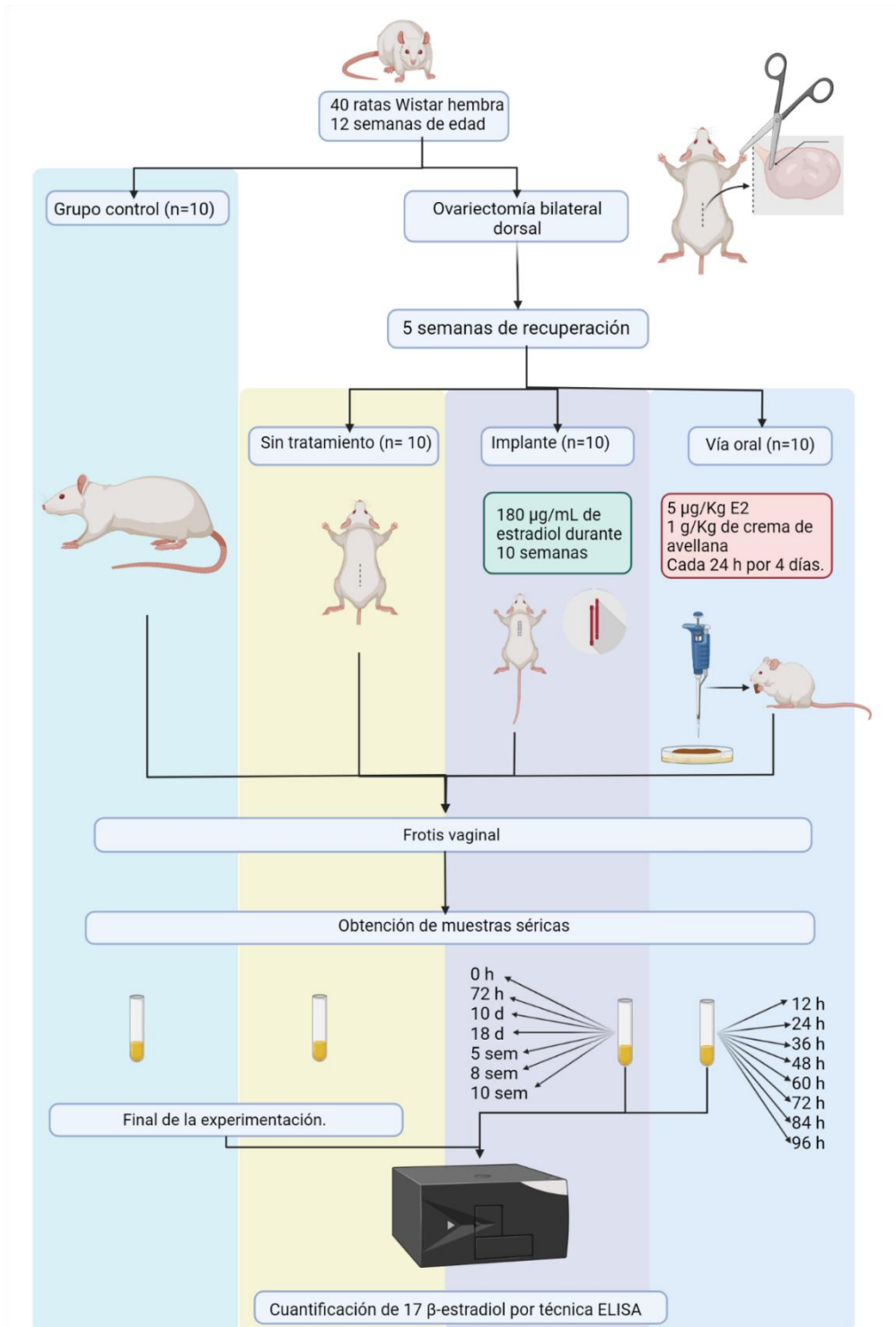


Figura 20. Metodología experimental

- Protocolo experimental

Se trabajó con 40 ratas Wistar hembra de 12 semanas de edad aleatorizadas en 4 grupos con n=10.

Grupo control	Grupo con ovariectomía (OVX)	Implante de liberación controlada (OVX- Implante)	Vía oral Crema de avellana (OVX-VO)
Hembras en etapa de proestro.	Hembras de 12 semanas de edad, sin tratamiento.	180 µg/mL 17 β-Estradiol.	5 µg/Kg/día de 17 β- Estradiol.

- Ovariectomía bilateral dorsal (Stout Steele & Avery, 2011).

Este procedimiento se realizó en rata Wistar hembra de 12 semanas de edad de los grupos Ovx, Ovx- implante y Ovx-VO. La rata se anestesió en una cámara con éter etílico, se recortó el pelaje en un área de 2 a 3 cm lateral a la apófisis espinosa dorsal, a continuación, se desinfectó el área con una solución de yodo. Posteriormente se realizaron 2 incisiones pequeñas en la piel de 1 a 2 cm de largo, caudal a la última costilla y aproximadamente a 1 cm ventral a la tercera vértebra lumbar. Llegado este punto se localizan los ovarios y una vez hecho esto, se ligaron con seda junto con el oviducto y los vasos sanguíneos, se seccionó distal a la sutura y extrajeron los ovarios, finalmente, se suturó la pared muscular y piel. Todos los animales recibieron analgesia posoperatoria con 6mg/Kg de tramadol por vía oral.

- Frotis vaginal

Para evaluar la fase del ciclo estral en el grupo control u ovariectomía con TRE, se realizaron frotis vaginales. Se introdujo una cánula con punta húmeda y solución salina, de forma suave y rápida en el orificio vaginal; la introducción fue poco profunda (aproximadamente 1 cm) para evitar estimulación cervical y un consecuente pseudo-embarazo. Posteriormente, se succiono un poco de líquido vaginal. Las ratas no se anestesiaron durante la recolección de frotis. Posteriormente, la muestra recogida de células epiteliales se colocó en portaobjetos de vidrio, se secó a 37 ° C y se fijó en una solución de etanol-éter (1: 1) por un minuto, para su tinción con violeta de genciana.

- Implante de liberación controlada de 17 β-estradiol (Ström et al., 2012)

Para la solución de estradiol (180 µg/mL), se pesaron 0.018 g de 17 β-estradiol (Sigma-Aldrich Sweden AB, CAS No. [50-28-2], Stockholm, Sweden), se disolvieron en 5 mL de aceite de sésamo (Sigma-Aldrich Sweden AB, CAS No.

[8008-74-0], Stockholm, Sweden). y se aforaron a 100 mL, se trasvasó a un contenedor ambar y refrigeró para conservar.

Para la elaboración del implante, se cortaron trozos de plástico Silastic de 3 cm de largo (implante), asimismo, se cortaron trozos de 0.5 cm de palillos de madera para brocheta. En un extremo del implante se colocó un trozo de madera y se rellenó con la solución de estradiol/aceite de sésamo teniendo cuidado de que no queden burbujas, se selló el otro extremo con otro trozo de madera y el implante se dejó reposar en la solución de estradiol 24 horas antes de la colocación.

El implante se colocó 3 semanas después de la ovariectomía y para ello, se realizó una incisión de 1 cm en la piel del dorso superior de la rata (cuello) previamente desinfectado y afeitado, se diseccionó un espacio subcutáneo para posteriormente insertar el implante, acomodarlo para que no cause molestia en el animal y se suturó la piel. Se administró 6 mg/Kg de tramadol por vía oral como analgesia posoperatoria.

- Administración vía oral de 17 β -estradiol en crema de avellana (Ström et al., 2012)

Para la solución de estradiol (0.3 μ g/mL), se pesaron 0.016 g de 17 β -estradiol (Sigma-Aldrich Sweden AB, CAS No. [50-28-2], Stockholm, Sweden), se disolvieron en 5 mL de aceite de sésamo (Sigma-Aldrich Sweden AB, CAS No. [8008-74-0], Stockholm, Sweden). y se aforó a 50 mL, posteriormente se trasvasó a un contenedor ámbar y se refrigeró para conservar.

Se pesó la cantidad adecuada de crema de avellana para cada rata (1 g/Kg) y se agregaron 10 μ L de la solución estradiol/ aceite de sésamo y se mezcló para integrar.

Una semana previa a la administración de estradiol, las ratas fueron entrenadas para comer crema de avellana sin hormonas (1 g/Kg).

La administración de 17 β -estradiol se llevó a cabo 5 semanas después de la ovariectomía.

- Obtención de sangre y posteriormente suero.

Se anestesió a la rata en una cámara con éter etílico, posteriormente, la cola se colocó en agua caliente y se masajeo para dilatar la vena lateral, se desinfectó el área y a continuación se insertó la aguja de una jeringa de tuberculina y se obtuvo como máximo 1mL de sangre. La muestra se dejó reposar por 30 minutos en tubo cónico de 2 mL para que coagule, se centrifugó a 3500 rpm y se separó el suero, se congeló para preservar a -70°C.

En el caso de la administración oral, se obtuvieron muestras séricas a las 2 h, 24 h, 36 h, 60 h, 72 h, 84 h y 96 h, mientras que para administración subdérmica se obtuvieron a 0 h, 72 h, 10 y 18 días, 5, 8 y 10 sem.

Para el grupo control y Ovx, se obtuvieron muestras al final de la experimentación.

- Cuantificación de 17 β -estradiol mediante técnica ELISA kit MONOBIND INC.

Primero se organizaron los pozos de la microplaca en los cuales se colocó el suero calibrador de referencia, muestras blanco de macho y hembra y muestras problema, por duplicado.

Se colocaron 25 μ L del suero calibrador de referencia, muestra blanco o muestra problema en cada pozo asignado, posteriormente se agregó 50 μ L del reactivo Biotin de Estradiol en cada pozo, se agitó de 20 a 30 s, se cubrió con una placa de aluminio autoadherible y se encubó por 30 minutos, a continuación se adicionaron 50 μ L del reactivo enzimático de Estradiol, la placa se agitó de 20 a 30 s, se cubrió nuevamente y se encubó 90 minutos, se decantó el contenido, y se agregó 350 μ L de buffer de lavado, se decantó y repitió 2 veces más este paso, a continuación, se añadió 100 μ L de solución de sustrato y se incubó por 20 minutos, se agregó 50 μ L de solución de paro y agitó 15-20 s, finalmente se leyó absorbancia a $\lambda = 450$ nm dentro de los primeros 15 minutos.

- Análisis estadístico

Los resultados se muestran como la media \pm el error estándar $n=10$.

El análisis estadístico se realizó con el programa Sigma Plot, donde se determinó significancia estadística con una $P < 0.05$ mediante la prueba U de Mann-Whitney y un análisis post hoc Student-Newman Keuls.

7. RESULTADOS



Figura 21. Implante que contiene 17 β -estradiol listo para su colocación.

Implante de 3 cm de largo, diámetro interno/ externo de 1.57/ 3.8 mm, sellado con 0.5 cm de madera para brocheta en ambos lados, contiene 180 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de 17 β -estradiol.



Figura 22. Implante colocado en el dorso superior de la rata ovariectomizada.

Implante recubierto por la fascia lumbodorsal, el cual se encuentra vacío al ser extraído a 10 semanas de su colocación.

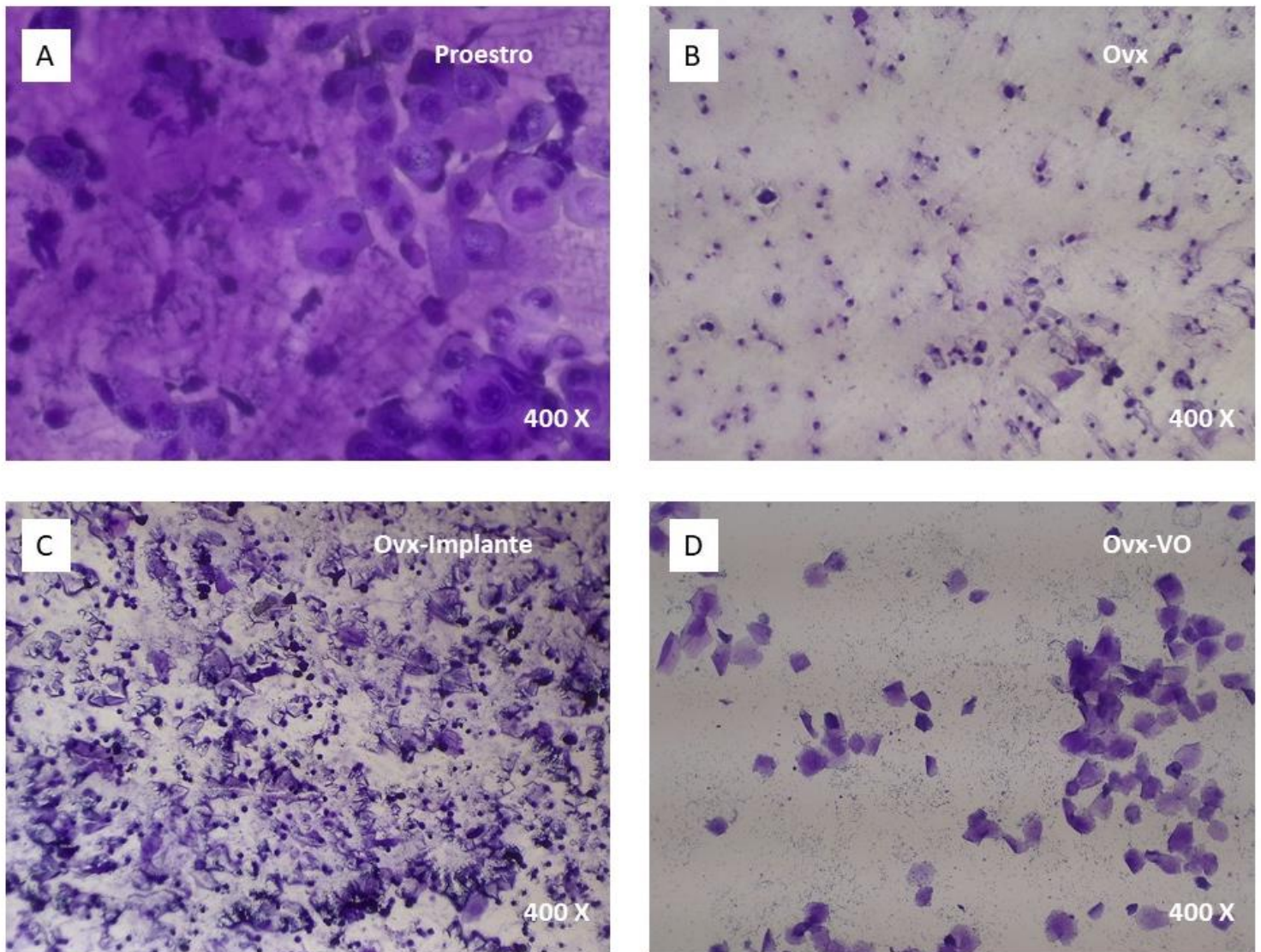


Figura 23. Células observadas en el frotis vaginal en los diferentes grupos.

A) Grupo control (proestro), se observan abundantes células epiteliales nucleadas. B) Grupo con ovariectomía (OVX), ausencia de células epiteliales nucleadas y abundantes leucocitos. C) Grupo OVX- implante, abundantes células epiteliales anucleadas y leucocitos. D). Presencia de células epiteliales queratinizadas. Tinción con Violeta de genciana, 400 X.

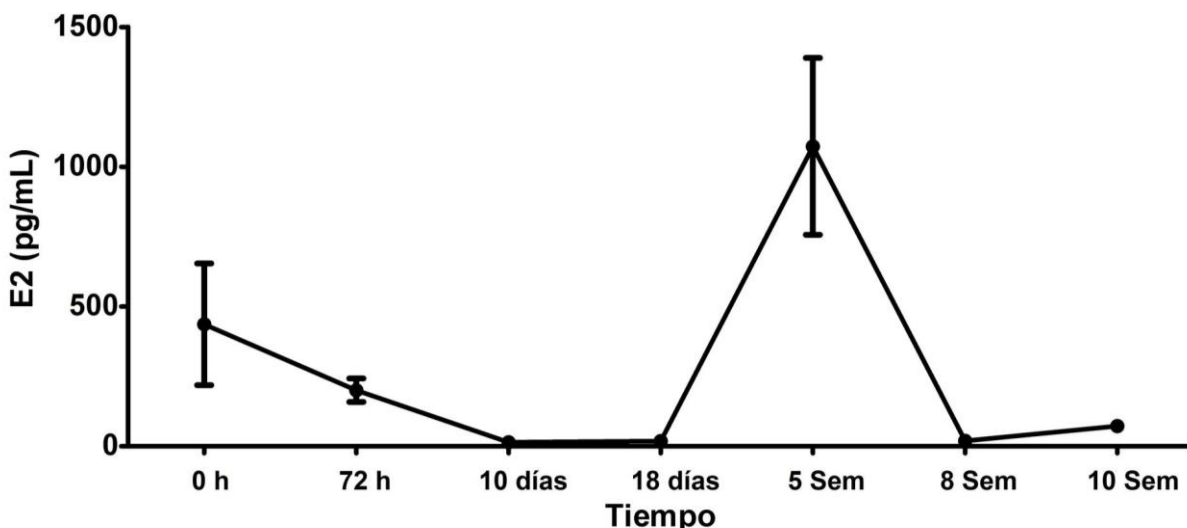


Figura 24. Concentración sérica de E2 por vía subcutánea.

Se observan variaciones con el implante subdérmico de liberación controlada. Estos resultados son la media ± el error estándar de una n=10.

Tabla 8. Concentración de E2 obtenida por vía subcutánea.

TIEMPO	E2(pg/ml)
0 H	436.37 ± 217.51
72 H	200.52 ± 42.10
10 DÍAS	14.54 ± 2.40
18 DÍAS	18.47 ± 2.62
5 SEMANAS	1072.79 ± 316.34
8 SEMANAS	19.18 ± 7.47
10 SEMANAS	72.49 ± 26.58

Estos resultados son la media ± el error estándar de una n=10

Se muestra la concentración sérica de 17-β estradiol en rata Wistar hembra ovariectomizada alcanzada mediante el método subcutáneo con un implante de liberación controlada. Se observan variaciones suprafisiológicas que van desde 14.54 ± 2.40 pg/mL a los 10 días, hasta los 1072.79 ± 316.34 pg/mL a las 5 semanas. A 0 h, la concentración alcanzada es de 436.37 ± 217.51 pg/mL, sin embargo, a las 72 h se ve disminuida (200.52 ± 42.10 pg/mL), a los 18 días la concentración baja a 18.47 ± 2.62 pg/mL, posterior al pico de concentración, disminuye drásticamente a 19.18 ± 7.47 pg/mL en la semana 8, finalmente en la semana 10 la concentración se encuentra en 72.49 ± 26.58 pg/mL.

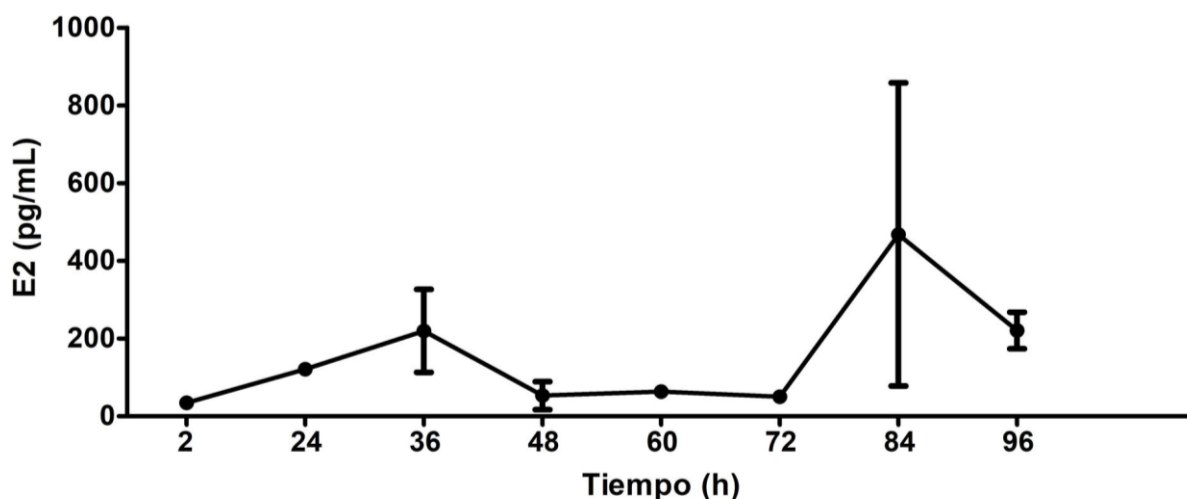


Figura 25. Concentración sérica de E2 por vía oral.

Las concentraciones séricas se mantienen estables a lo largo del tiempo con la vía oral. Estos resultados son la media \pm el error estándar de una n=10.

Tabla 9. Concentración de E2 obtenida por vía oral.

TIEMPO (h)	E2(pg/ml)
2	34.90 \pm 14.60
24	121.142 \pm 0.21
36	219.91 \pm 106.62
48	53.47 \pm 36.02
60	63.55 \pm 1.49
72	59.59 \pm 4.66
84	468 \pm 389.78
96	220,94 \pm 46.8022

Estos resultados son la media \pm el error estándar de una n=10

Se expone la concentración sérica de 17- β estradiol en rata Wistar hembra ovariectomizada alcanzada horas después de la administración mediante el método oral en crema de avellana, estos se muestran más estables, ya que las variaciones van de 34.90 \pm 14.60 pg/mL a las 2 h hasta 468 \pm 389.78 pg/mL a las 84 h. Después de 24 h de la administración, la concentración aumenta (121.142 \pm 0.21 pg/mL) hasta las 36 h (219.91 \pm 106.62 pg/mL), mientras que a las 48 h, 60 h y 72 h se mantienen estables en 53.47 \pm 36.02 pg/mL, 63.55 \pm 1.49 pg/mL y 59.59 \pm 4.66 pg/mL, respectivamente; finalmente a las 96 h disminuye a 220,94 \pm 46.8022 pg/mL.

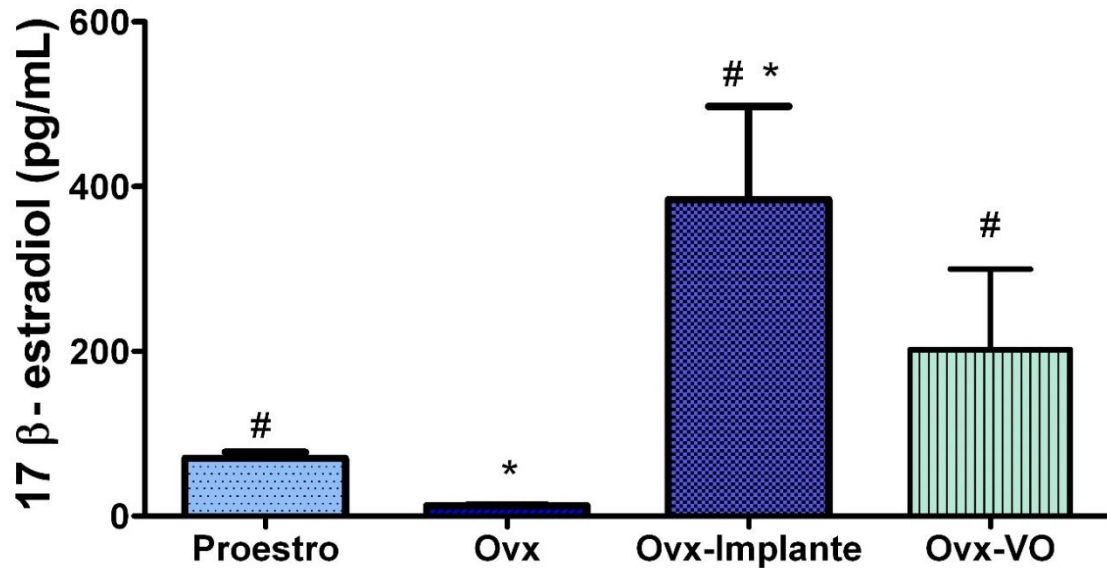


Figura 26. Concentraciones séricas promedio de 17 β -estradiol por grupos.

El método que produce concentraciones más estables es la vía oral. Estos resultados son la media \pm el error estándar por grupo. * $p < 0.05$ vs proestro, # $p < 0.05$ vs ovx.

Se observan concentraciones promedio de 17 β -estradiol obtenidas por grupos. Por medio de un análisis estadístico U Mann-Whitney, se determinó que existen diferencias significativas entre el grupo control en proestro y los grupos Ovx y Ovx-implante, mientras que no se observaron estas diferencias con el grupo Ovx-VO.

El grupo Ovx mostró diferencias significativas con el grupo control (proestro), Ovx-implante y Ovx-VO, mientras que no hay diferencias significativas entre el grupo Ovx-implante y el grupo Ovx-VO.

8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La vía de administración juega un papel muy importante en la farmacocinética de cualquier fármaco, por lo cual es muy importante la comparación de las vías de administración propuestas. En este caso es sabido que la vía oral tiene una desventaja, pues ocurre el primer paso de la biotransformación, donde el estradiol es transformado a estrona en el intestino delgado e hígado, en este último hay elevación de los niveles de los metabolitos del estradiol, provocando una disminución de la cantidad de estrógeno disponible en circulación, lo que no ocurre con una vía parenteral, este primer paso ocasionado por la administración oral afecta otras funciones hepáticas, por ejemplo el metabolismo de los lípidos, es decir, se observa un aumento en los triglicéridos totales, HDL, apolipoproteína A1 y A2, reducción de la apolipoproteína B, colesterol total y LDL, mientras que con la administración transdérmica también existe un aumento en HDL y una reducción en LDL, pero a diferencia del tratamiento oral, los niveles de triglicéridos totales se reducen (Kuhl, 2005; Ruggiero, 2002). Cabe destacar que cerca del 37% de los estrógenos en circulación sistémica está unido a SHGB, el 61% está unido a albúmina y la fracción libre (2-3%) es la fisiológicamente activa. (Ström et al., 2008)

Como se observa en la figura 22, el implante se encontraba cubierto por la fascia lumbodorsal, al extraerlo, se encontraba vacío, lo que asegura que se encontraba en el sitio anatómico correcto, es decir la capa subcutánea, por lo que la colocación se llevó a cabo de manera adecuada.

En el frotis vaginal, se corroboró que el grupo control se encontraba en proestro debido a que los cambios en la morfología celular se deben a estímulos producidos por las hormonas ováricas, además es una técnica confiable, muy común, no invasiva y no costosa, la cual se basa en la observación morfológica de las células que se encuentran en secreción vaginal (Ajayi & Akhigbe, 2020), en la Figura 23 A), se aprecian racimos de células epiteliales nucleadas de tamaño uniforme, sin presencia de leucocitos, característico de esta etapa (Ajayi & Akhigbe, 2020; Cora et al., 2015). Este incremento gradual hasta alcanzar el pico de estrógenos se debe a que dicha fase es el equivalente a la fase folicular de la mujer (Ajayi & Akhigbe, 2020), es decir ocurre el reclutamiento y maduración folicular, por lo tanto, para este proyecto, esta fase fue de suma importancia, ya que Ramírez-Hernández et al., en 2021, demostraron el efecto cardioprotector de las hormonas sexuales en concentraciones fisiológicas durante la fase de proestro, debido a que los estrógenos pueden ayudar a proteger el corazón durante el proceso de infarto, los mecanismos propuestos son variados, entre los que se encuentran la inhibición de la apoptosis y el mantenimiento de la estructura mitocondrial.

Por otro lado, en el grupo Ovx y Ovx-implante (Fig. 23 B, C), se observa una gran cantidad de leucocitos, sin presencia de células epiteliales nucleadas (Parhizkar et al., 2011), similar a lo que ocurre en el diestro, debido a la ausencia de hormonas (Ajayi & Akhigbe, 2020). Por otra parte, en el grupo Ovx-VO (Fig 23 D) se aprecia una gran cantidad de células epiteliales queratinizadas, que asemeja el estro o calor, sin embargo, se ha visto que en frotis realizados en ratas hembra ovariectomizadas administradas con estrógenos, las células observadas son tanto epiteliales nucleadas, queratinizadas y leucocitos, ya que estos pudieran inducir la proliferación maduración y exfoliación de la mucosa vaginal (Montes & Luque, 1988).

De acuerdo con la figura 24, a 0 h, se reporta 436.37 ± 217.51 pg/mL E2, es decir una concentración suprafisiológica (30-140 pg/mL), que puede ser debido a la absorción de la solución en la que el implante estaba embebido antes de su colocación, ya que normalmente en implantes no incubados en hembras ovariectomizadas antes de su colocación en los sujetos de estudio, se produce un pico hormonal transitorio (Wise et al., 1981) aunque este no es de tal magnitud como el reportado por Isaksson et al., en 2011.

En los próximos 10 días, la concentración sérica disminuye hasta encontrar valores similares a los de una hembra ovariectomizada sin tratamiento, (alrededor de 15 pg/mL) de acuerdo con Ramírez Hernández, en 2018, sin embargo, en estudios anteriores; se reportaron concentraciones de 5.4 ± 0.6 pg/mL (Wise et al., 1981) y 4.3 a 4.6 pg/mL (Böttner & Wuttke, 2005).

El pico de concentración que se observa en la semana 5 se debe a que, en la necropsia de uno de los animales, en dicha semana se observó que el implante se encontraba desarmado, por lo cual se asume que el contenido del implante se diseminó y fue absorbido, por lo que se obtuvo tal variación; posterior a este evento se vuelven a observar concentraciones similares a hembras ovariectomizadas.

De esta manera se puede evidenciar que la absorción y distribución por vía subcutánea no es tan eficaz, pues no se alcanzaron concentraciones fisiológicas similares a la etapa de protesta, es decir, cerca de 30 pg/mL (Ramírez Hernández, 2018) y 40- 50 pg/mL (Smith et al., 1975), No obstante, resulta interesante que Ström et al., en 2008 y Dubal & Wise, en 2001 reportan concentraciones estables y fisiológicas, cabe resaltar que se utilizó la misma dosis (180 µg/mL) y técnica de elaboración; lo que pudo haber influenciado estos resultados, es la diferencia en el grosor del tubo silastic; material con el cual se elaboraron los implantes, puesto que en las investigaciones mencionadas el diámetro interno y externo es de 1.57/ 3.17 mm, mientras que el utilizado para este proyecto es de 1.57/ 3.8 mm, similar al utilizado por Wise et al., en 1981, en donde la dosis administrada es de 150 pg/ mL y cuya concentración plasmática resultante es de 15.3 ± 0.9 pg/mL, similar a las obtenidas en este experimento. Esta diferencia en el grosor del implante pudiera dificultar la liberación, absorción y distribución de E2, por lo que es importante continuar

probando otros materiales, otras medidas de largo del implante, diámetro interno/ externo del tubo silastic, o inclusive variando las dosis.

Por otra parte, se eligió la vía oral ya que cuando se administra en su forma cristalina, como lo fue en este caso, se absorbe con rapidez e incrementa su biodisponibilidad (Smith et al., 2020), además de algunas ventajas como su facilidad y comodidad al ser administrado, es una vía no invasiva, por lo que el animal no se expone a estrés o anestesia, además de que es rápidamente reversible (Kuhl, 2005). Cabe destacar que, Isaksson et al., en 2011 fueron los primeros en proponer y probar este método en crema de avellana, ya que tiene un buen sabor, es mezclable con un componente suficientemente lipofílico, aunque podría usarse cualquier alimento con estas características, sin embargo se decidió utilizar crema de avellana porque es bastante común y está disponible en la mayoría de los países.

Para este proyecto, la dosis administrada es de 5 µg/Kg/día, pues se demostró que con esta dosis que se alcanzan concentraciones plasmáticas de estradiol similares a la etapa de proestro (Ramírez Reyes, 2020).

Como se observa en la Figura 25, a las 2, 48, 60 y 72 h de la administración se observa una concentración fisiológica (30 –120 pg/mL), parecida a la presentada en el proestro, consistente con la reportada (Ramírez Hernández, 2018) mientras que, a las 24 y 36 h, se observa un aumento que rebasa dicho parámetro, una posible explicación para este fenómeno, podría ser la propia biotransformación, los conjugados de estradiol disueltos en los ácidos biliares son hidrolizados por enzimas bacterianas en el colon y son reabsorbidos como estradiol y estrona por circulación enterohepática, ya que los niveles de estradiol se mantienen elevados hasta por 12 h y disminuyen con el tiempo (Kuhl, 2005), aunque esto no fue reportado por (Isaksson et al., 2011).

Otra explicación puede ser algo similar a lo ocurrido a las 84 h y 96 h, debido a que, tanto en el entrenamiento como en la administración, los animales se negaron a consumir su dosis diaria si no estaban agrupadas por lo menos en parejas, lo que pudo ocasionar que algún animal consumiera más de lo debido, lo que pudo haber causado tal variación, y por consiguiente, se considera una desventaja, pues requiere manipulación constante por parte del personal, lo que no sucede con el implante de liberación controlada (Isaksson et al., 2011).

En la figura 26, se observan las concentraciones séricas promedio de 17 β-estradiol, de cada grupo a lo largo de la experimentación, ya que el propósito de este proyecto es mantener concentraciones fisiológicas similares al grupo control. En esta misma figura, se observan diferencias significativas entre el grupo control en proestro vs Ovx, consistente con lo reportado (Böttner & Wuttke, 2005; Ramírez Hernández, 2018; Smith et al., 1975; Wise et al., 1981). También se observan diferencias significativas entre los grupos proestro vs Ovx-implante, lo que indica que existe una variación importante con este método, pues se obtienen concentraciones suprafisiológicas con un alto índice de error estándar dentro del grupo.

Por otra parte, no se encontraron diferencias significativas entre el grupo control (proestro) vs Ovx- VO, lo que sugiere que la vía oral es más efectiva, puesto que las concentraciones obtenidas son más estables. Finalmente, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos Ovx-implante vs Ovx-VO, sin embargo, en este último grupo se aprecia una tendencia muy evidente en cuanto a las concentraciones de estrógenos que se pueden alcanzar.

9. CONCLUSIONES

El método más eficaz que permite alcanzar concentraciones séricas similares a la etapa de proestro en rata Wistar hembra ovariectomizada es el método oral con crema de avellana, ya que mantiene concentraciones séricas estables evitando el estrés en los animales de experimentación, lo que no se observó con el implante de liberación controlada, pues hay variaciones importantes en las concentraciones séricas de 17 β -estradiol.

10. REFERENCIAS

- Aguilar, C., Barquera, S., Barriguet, J. A., Lara Esqueda, A., Lomeli, C., Méndez, A., . . . Pastelín, G. (2007). *Protocolo clínico para el diagnóstico y tratamiento de la Presión Arterial Sistémica*.
- Aguilar Guzmán, F. (2020). *Las mujeres mueren más por enfermedades del corazón*. Gaceta UNAM <https://www.gaceta.unam.mx/las-mujeres-mueren-mas-por-enfermedades-del-corazon/#>
- Ajayi, A. F., & Akhigbe, R. E. (2020). Staging of the estrous cycle and induction of estrus in experimental rodents: an update. *Fertility Research and Practice* 6. <https://doi.org/doi:10.1186/s40738-020-00074-3>
- Arias-Loza, P. A., Muehlfelder, M., & Pelzer, T. (2013). Estrogen and estrogen receptors in cardiovascular oxidative stress. *Pflugers Arch*, 465(5), 739-746. <https://doi.org/10.1007/s00424-013-1247-7>
- Baker, M. E. (2013). What are the physiological estrogens? *Steroids*, 78(3), 337-340. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2012.12.011>
- Barnabas, O., Wang, H., & Gao, X. M. (2013). Role of estrogen in angiogenesis in cardiovascular diseases. *J Geriatr Cardiol*, 10(4), 377-382. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1671-5411.2013.04.008>
- Böttner, M., & Wuttke, W. (2005). Chronic treatment with low doses of estradiol affects pituitary and thyroid function in young and middle-aged ovariectomized rats. *Biogerontology*, 6(4), 261-269. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s10522-005-2623-2>
- Chen, L., Yang, Y., Zhang, L., Li, C., Joel, Coffie, W., . . . Wang, H. (2017). Aucubin promotes angiogenesis via estrogen receptor beta in a mouse model of hindlimb ischemia. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 172, 149-159. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2017.07.007>
- Coelingh Bennink, H. J. (2004). Are all estrogens the same? *Maturitas*, 47(4), 269-275. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2003.11.009>
- Cora, M. C., Kooistra, L., & Travlos, G. (2015). Vaginal Cytology of the Laboratory Rat and Mouse: Review and Criteria for the Staging of the Estrous Cycle Using Stained Vaginal Smears. *Toxicol Pathol*, 43(6), 776-793. <https://doi.org/10.1177/0192623315570339>
- Cui, J., Shen, Y., & Li, R. (2013). Estrogen synthesis and signaling pathways during aging: from periphery to brain. *Trends Mol Med*, 19(3), 197-209. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2012.12.007>
- Donaldson, C., Eder, S., Baker, C., Aronovitz, M. J., Weiss, A. D., Hall-Porter, M., . . . Patten, R. D. (2009). Estrogen attenuates left ventricular and cardiomyocyte hypertrophy by an estrogen receptor-dependent pathway that increases calcineurin degradation. *Circ Res*, 104(2), 265-275, 211p following 275. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.108.190397>
- Doshi, S. B., & Agarwal, A. (2013). The role of oxidative stress in menopause. *J Midlife Health*, 4(3), 140-146. <https://doi.org/10.4103/0976-7800.118990>
- Dubal, D. B., & Wise, P. M. (2001). Neuroprotective effects of estradiol in middle-aged female rats. *Endocrinology*, 142(1), 43-48. <https://doi.org/10.1210/endo.142.1.7911>

- El Khoudary, S. R., & Thurston, R. C. (2018). Cardiovascular Implications of the Menopause Transition: Endogenous Sex Hormones and Vasomotor Symptoms. *Obstet Gynecol Clin North Am*, 45(4), 641-661. <https://doi.org/10.1016/j.ogc.2018.07.006>
- Fuentes, N., & Silveyra, P. (2019). Estrogen receptor signaling mechanisms. *Adv Protein Chem Struct Biol*, 116, 135-170. <https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2019.01.001>
- Greenland, P., Blaha, M. J., Budoff, M. J., Erbel, R., & Watson, K. E. (2018). Puntuación de calcio coronario y riesgo cardiovascular. *Journal of the American College of Cardiology*, 72(4), 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.05.027>
- Gruber, C. J., Tschugguel, W., Schneeberger, C., & Huber, J. C. (2002). Production and actions of estrogens. *N Engl J Med*, 346(5), 340-352. <https://doi.org/10.1056/NEJMra000471>
- Harman, S. M., Brinton, E. A., Cedars, M., Lobo, R., Manson, J. E., Merriam, G. R., . . . Santoro, N. (2005). KEEPS: The Kronos Early Estrogen Prevention Study. *Climacteric*, 8(1), 3-12. <https://doi.org/10.1080/13697130500042417>
- Herrington, D. M., Reboussin, D. M., Brosnihan, K. B., Sharp, P. C., Shumaker, S. A., Snyder, T. E., . . . Waters, D. (2000). Effects of estrogen replacement on the progression of coronary-artery atherosclerosis. *N Engl J Med*, 343(8), 522-529. <https://doi.org/10.1056/NEJM200008243430801>
- Hodis, H. N., Mack, W. J., Henderson, V. W., Shoupe, D., Budoff, M. J., Hwang-Levine, J., . . . Group, E. R. (2016). Vascular Effects of Early versus Late Postmenopausal Treatment with Estradiol. *N Engl J Med*, 374(13), 1221-1231. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1505241>
- Hodis, H. N., Mack, W. J., Lobo, R. A., Shoupe, D., Sevanian, A., Mahrer, P. R., . . . Group, E. i. t. P. o. A. T. R. (2001). Estrogen in the prevention of atherosclerosis. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med*, 135(11), 939-953. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-135-11-200112040-00005>
- Hulley, S., Grady, D., Bush, T., Furberg, C., Herrington, D., Riggs, B., & Vittinghoff, E. (1998). Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. Heart and Estrogen/progestin Replacement Study (HERS) Research Group. *JAMA*, 280(7), 605-613. <https://doi.org/10.1001/jama.280.7.605>
- Iorga, A., Cunningham, C. M., Moazeni, S., Ruffenach, G., Umar, S., & Eghbali, M. (2017). The protective role of estrogen and estrogen receptors in cardiovascular disease and the controversial use of estrogen therapy. *Biol Sex Differ*, 8(1), 33. <https://doi.org/10.1186/s13293-017-0152-8>
- Isaksson, I. M., Theodorsson, A., Theodorsson, E., & Strom, J. O. (2011). Methods for 17 β -oestradiol administration to rats. *Scand J Clin Lab Invest*, 71(7), 583-592. <https://doi.org/10.3109/00365513.2011.596944>
- ISEM. (2018). *Climaterio y Menopausia*. ISEM. https://salud.edomex.gob.mx/isem/climaterio_menopausia
- Klinge, C. M. (2008). Estrogenic control of mitochondrial function and biogenesis. *J Cell Biochem*, 105(6), 1342-1351. <https://doi.org/10.1002/jcb.21936>
- Knowlton, A. A., & Lee, A. R. (2012). Estrogen and the cardiovascular system. *Pharmacol Ther*, 135(1), 54-70. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2012.03.007>
- Kohn, G. E., Rodriguez, K. M., Hotaling, J., & Pastuszak, A. W. (2019). The History of Estrogen Therapy. *Sex Med Rev*, 7(3), 416-421. <https://doi.org/10.1016/j.sxmr.2019.03.006>
- Kuhl, H. (2005). Pharmacology of estrogens and progestogens: influence of different routes of administration. *Climacteric*, 8 Suppl 1, 3-63. <https://doi.org/10.1080/13697130500148875>
- Li, X., Liu, M., Sun, R., Zeng, Y., Chen, S., & Zhang, P. (2016). Protective approaches against myocardial ischemia reperfusion injury. *Exp Ther Med*, 12(6), 3823-3829. <https://doi.org/10.3892/etm.2016.3877>

- Magaña Serrano, J. A., Torres A., L. d. P., Peralta Pedrero, L., Borrayo Sánchez, G., Estrada Alcántara, H., Flores Flores, J., . . . Saturno Chiu, G. *Guía de Práctica Clínica Diagnóstico y Tratamiento de la Cardiopatía Isquémica crónica*.
- Marroquín Segura, A. A., Bravo Aguirre, D. E., Gutiérrez Menzdoza, I., Pérez Guzmán, C., De la Rosa Hernández, B., & González Martín, J. (2008). *Prevención y diagnóstico oportuno del riesgo de enfermedad cardiovascular en la mujer en el primer nivel de atención*.
- Martín Rosas, G. P., Vargas-Alarcón, G., Martínez-Reding, J., Celso Mendoza-González, C. L., Lorenzo, J. A., Méndez, A., . . . Attie, F. (2008). Guías clínicas para la detección, prevención, diagnóstico y tratamiento de hipertensión arterial en México (2008). *Archivos de Cardiología de México*, 5-57.
- Mendelsohn, M. E., & Karas, R. H. (1999). The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *N Engl J Med*, 340(23), 1801-1811.
<https://doi.org/10.1056/NEJM199906103402306>
- Mihm, M., Gangooly, S., & Muttukrishna, S. (2011). The normal menstrual cycle in women. *Anim Reprod Sci*, 124(3-4), 229-236. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.08.030>
- Miller, V. M., Naftolin, F., Asthana, S., Black, D. M., Brinton, E. A., Budoff, M. J., . . . Harman, S. M. (2019). The Kronos Early Estrogen Prevention Study (KEEPS): what have we learned? *Menopause*, 26(9), 1071-1084.
<https://doi.org/10.1097/GME.0000000000001326>
- Montes, G. S., & Luque, E. H. (1988). Effects of ovarian steroids on vaginal smears in the rat. *Acta Anat (Basel)*, 133(3), 192-199. <https://doi.org/10.1159/000146639>
- Morcillo, C., Valderas, J. M., Roca, J. M., Oliveró, R., Núñez, C., Sánchez, M., & Bechich, S. (2007). La determinación de calcio coronario con tomografía computarizada en la evaluación del riesgo cardiovascular: un estudio descriptivo. *Revista Española de Cardiología*, 60(3), 268-275. <https://doi.org/10.1157/13100278>
- NCBI. (2021). *Estradiol Compound Summary for CID 5757*
- Newson, L. (2018). Menopause and cardiovascular disease. *Post Reprod Health*, 24(1), 44-49.
<https://doi.org/10.1177/2053369117749675>
- Parhizkar, S., Latiff, L. A., Rahman, S. A., Aziz, M., Dollah, & Parichehr, H. (2011). Assessing estrogenic activity of *Nigella sativa* in ovariectomized rats using vaginal cornification assay. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5 (2), 137-142. <https://doi.org/10.5897/AJPP10.276>
- Peoples, J. N., Saraf, A., Ghazal, N., Pham, T. T., & Kwong, J. Q. (2019). Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in heart disease. *Exp Mol Med*, 51(12), 1-13.
<https://doi.org/10.1038/s12276-019-0355-7>
- Purohit, A., & Reed, M. J. (2002). Regulation of estrogen synthesis in postmenopausal women. *Steroids*, 67(12), 979-983. [https://doi.org/10.1016/s0039-128x\(02\)00046-6](https://doi.org/10.1016/s0039-128x(02)00046-6)
- Ramírez Hernández, D. (2018). *Efecto de las hormonas sexuales (17-β estradiol y progesterona) en la evolución del Infarto al Miocardio*. (Publication Number A170524) Instituto Politécnico Nacional]. Ciudad de México.
- Ramírez Reyes, M. (2020). *Bases moleculares y fisiológicas de las hormonas ováricas en la regulación del sistema cardiovascular*. Universidad Nacional Autónoma de México]. FESC, Cuautitlán Izcalli, EDOMEX.
- 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-Landmark*, 26(12), 1434-1443. <https://doi.org/10.52586/5037>
- Reed, B. G., & Carr, B. R. (2018). *The Normal Menstrual Cycle and the control of Ovulation*. (E. M. c. In K. R. Feingold (Eds.) et. al., Inc., Ed.).

- Rodríguez Salgado, M. (2016). Mortalidad intrahospitalaria por enfermedades cerebrovasculares en las principales instituciones públicas de salud de México. *Boletín CONAMED-OPS*, 7-11.
- Rosano, G. M., Vitale, C., Marazzi, G., & Volterrani, M. (2007). Menopause and cardiovascular disease: the evidence. *Climacteric*, 10 Suppl 1, 19-24.
<https://doi.org/10.1080/13697130601114917>
- Rossouw, J. E., Anderson, G. L., Prentice, R. L., LaCroix, A. Z., Kooperberg, C., Stefanick, M. L., . . . Investigators, W. G. f. t. W. s. H. I. (2002). Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA*, 288(3), 321-333.
<https://doi.org/10.1001/jama.288.3.321>
- Ruggiero, R. (2002). *Estrogen: physiology, pharmacology, and formulations for replacement therapy*. *Journal of Midwifery & Women's Health*, 47(3), 130-138.
[https://doi.org/doi:10.1016/s1526-9523\(02\)00233-7](https://doi.org/doi:10.1016/s1526-9523(02)00233-7)
- Santen, R. J., & Simpson, E. (2019). History of Estrogen: Its Purification, Structure, Synthesis, Biologic Actions, and Clinical Implications. *Endocrinology*, 160(3), 605-625.
<https://doi.org/10.1210/en.2018-00529>
- Scavello, I., Maseroli, E., Di Stasi, V., & Vignozzi, L. (2019). Sexual Health in Menopause. *Medicina (Kaunas)*, 55(9). <https://doi.org/10.3390/medicina55090559>
- 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 pseudopregnancy. *Endocrinology*, 96(1), 219-226. <https://doi.org/10.1210/endo-96-1-219>
- Smith, T., Sahni, S., & Thacker, H. L. (2020). Postmenopausal Hormone Therapy-Local and Systemic: A Pharmacologic Perspective. *J Clin Pharmacol*, 60 Suppl 2, S74-S85.
<https://doi.org/10.1002/jcph.1740>
- Soules, M. R., Sherman, S., Parrott, E., Rebar, R., Santoro, N., Utian, W., & Woods, N. (2001). Executive summary: Stages of Reproductive Aging Workshop (STRAW). *Climacteric*, 4(4), 267-272.
- SSA. (2018). *PANORAMA EPIDEMIOLOGICO 2018 Enfermedades No Transmisibles OBSERVATORIO MEXICANO DE ENFERMEDADES NO TRANSMISIBLES (OMENT)*. Secretaría de Salud.
- Stice, J. P., Lee, J. S., Pechenino, A. S., & Knowlton, A. A. (2009). Estrogen, aging and the cardiovascular system. *Future Cardiol*, 5(1), 93-103.
<https://doi.org/10.2217/14796678.5.1.93>
- Stout Steele, M., & Avery, B. R. (2011). Clinical Technique: Dorsal Ovariectomy in Rodents. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 20(3), 222-226.
<https://doi.org/10.1053/j.jepm.2011.04.008>
- Ström, J. O., Theodorsson, A., Ingberg, E., Isaksson, I. M., & Theodorsson, E. (2012). Ovariectomy and 17 β -estradiol replacement in rats and mice: a visual demonstration. *Journal of visualized experiments : JoVE*, 64.
<https://doi.org/https://doi.org/10.3791/4013>
- Ström, J. O., Theodorsson, E., & Theodorsson, A. (2008). Order of magnitude differences between methods for maintaining physiological 17beta-oestradiol concentrations in ovariectomized rats. *Scand J Clin Lab Invest*, 68(8), 814-822.
<https://doi.org/10.1080/00365510802409703>
- Taddei, S. (2009). Blood pressure through aging and menopause. *Climacteric*, 12 Suppl 1, 36-40. <https://doi.org/10.1080/13697130903004758>
- Takahashi, T. A., & Johnson, K. M. (2015). Menopause. *Med Clin North Am*, 99(3), 521-534.
<https://doi.org/10.1016/j.mcna.2015.01.006>

- Taneja, C., Gera, S., Kim, S. M., Iqbal, J., Yuen, T., & Zaidi, M. (2019). FSH-metabolic circuitry and menopause. *J Mol Endocrinol*, 63(3), R73-R80. <https://doi.org/10.1530/JME-19-0152>
- Torres, A., & Torres, J. M. (2018). Climaterio y menopausia. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*, 51-58.
- Velasco Martínez de Vázquez, J. E., Morfin Martín, J., & Motta Martínez, E. (2010). Estudio del climaterio y la menopausia. *Colegio Mexicano de Especialistas en Ginecología y Obstetricia.*, 235-256.
- Vrtačnik, P., Ostanek, B., Mencej-Bedrač, S., & Marc, J. (2014). The many faces of estrogen signaling. *Biochem Med (Zagreb)*, 24(3), 329-342. <https://doi.org/10.11613/BM.2014.035>
- Wise, P. M., Camp-Grossman, P., & Barraclough, C. A. (1981). Effects of estradiol and progesterone on plasma gonadotropins, prolactin, and LHRH in specific brain areas of ovariectomized rats. *Biology of reproduction*, 24(4), 820-830. <https://doi.org/https://doi.org/10.1095/biolreprod24.4.820>
- Witkowski, S., & Serviente, C. (2018). Endothelial dysfunction and menopause: is exercise an effective countermeasure? *Climacteric*, 21(3), 267-275. <https://doi.org/10.1080/13697137.2018.1441822>
- Xing, D., Nozell, S., Chen, Y. F., Hage, F., & Oparil, S. (2009). Estrogen and mechanisms of vascular protection. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 29(3), 289-295. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.108.182279>