T
1197

ITAM ITAM SERVICIOS DE INFORMACION
ARCHIVO HISTORICO

124 919

XOCHIMILCO SERVICIOS DE INFORMACION
ARCHIVO HISTORICO

Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTONOMA
METROPOLITANA

ACCION DE LOS ESTROGENOS CIRCULANTES SOBRE LA CONCENTRACION DE HORMONAS, NEUROTRANSMISORES Y β-ENDORFINAS EN EL CLIMATERIO.

RELACION A LAS ALTERACIONES PSICO-EMOCIONALES Y PSICO-SOMATICAS Y EL EFECTO DE LA TERAPIA HORMONAL DE REEMPLAZO.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS BIOLOGICAS

P R E S E N T A

MARIA EUGENIA FONSECA YERENA

TUTOR: DRA. MARIA LUISA CRUZ RUEDA

ASESORES: DR. ARTURO ZARATE TREVIÑO
DR. ARMANDO ISIBASI ARAUJO

MEXICO, D. F. 2001

XOCHIMILCO SERVICIOS DE INFORMACION
ARCHIVO HISTORICO

JURADO DEL EXAMEN

Presidente: **DRA. GABRIELA MORALÍ DE LA BRENA**

Secretario: **DRA. MARÍA EUGENIA CHAVARRÍA**

1er Vocal: **DRA. MARÍA LUISA CRUZ RUEDA**

2do. Vocal: **DR. ARTURO ZÁRATE TREVIÑO**

3er.Vocal: **DR. ARMANDO ISIBASI ARAUJO.**

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Arturo Zárate Treviño
Jefe y compañero de trabajo durante toda una vida.
Por sus enseñanzas, su experiencia y facilidades prestadas
para el desarrollo de esta investigación.

A la Dra. María Luisa Cruz Rueda
Por su valiosa y desinteresada ayuda,
por su esfuerzo, su tiempo, su amistad
y su gran calidad humana.

Al Dr. Armando Isibasi Araujo
Por sus valiosos consejos, orientación
y muestras de amistad y compañerismo.

A las Dras. Gabriela Morali de la Brena
y María Eugenia Chavarría
Por sus valiosas aportaciones para mejorar y
enriquecer el presente trabajo.

A la Dra Ana María Rosales
Por las facilidades proporcionadas
para los trámites de la titulación.

A todo el personal de la Unidad de investigación Médica en Enfermedades Endocrinas

Mi agradecimiento por su valiosa colaboración,
sin la cual no hubiera sido posible realizar este trabajo.
Gracias por su amistad, lealtad y sincero afecto.

Amar el trabajo y vivirlo plenamente
buscando continuamente la superación ,
da la satisfacción del deber cumplido
y el estímulo para continuar adelante.

Cuando deseamos algo, lo imaginamos,
lo visualizamos en la mente y le damos forma
el tiempo transcurrido o la edad no importa
solo alcanzar el sueño largamente anhelado

A mis queridos hijos

Regalo que medió la vida y razón de mi existencia
a quienes robe muchas horas de compañía y atención
a fin de poder realizar este estudio.
Gracias por su cariño, apoyo y comprehensión.

A la memoria de mi inolvidable madre.
A mi querido papacito y a todos mis hermanos
con cariño y afecto.

A todos aquellos que aún sin estar presentes
Han influido en mi vida y mis decisiones
Y siempre me apoyaron de una u otra forma.

INDICE

I-INTRODUCCION

Página

1- La función ovárica
1.1-Regulación neuroendocrina de la función ovárica----------3-4
1.2-Efecto de estrógenos en la regulación de la función ovárica----------5-6

2- Mecanismo de acción de los estrógenos
2.1-Acción de los esteroides sobre la membrana celular----------7
2.2-Respuestas dependientes de la unión a receptores----------8-10

3.- Acciones de los estrógenos en el Sistema Nervioso Central
3.1-Efectos en la morfología neuronal y la plasticidad de las neuronas-----11-12
3.2-En la diferenciación sexual cerebral y la conducta sexual----------14
3.3-Síntesis de proteínas, enzimas y receptores----------15
3.4-Acción sobre los neurotransmisores cerebrales----------16

4.-Neurotransmisores cerebrales
4.1-Clasificación y estructura----------17
4.2-Acetileolina----------18
4.3-Catecolaminas: noradrenalina (NA), dopamina (DA)----------19-22
4.4-Serotonina----------23-24
4.5-βEndorfina----------25-26

5.-La menopausia ----------27
5.1-Alteraciones psico-afectivas----------28-29
5.2-Ansiedad y depresión----------30-32
5.3-Alteraciones de la función cognoscitiva---------- 33
5.4-Alteraciones del sueño----------34
5.5-Alteraciones vasomotoras----------35-36

6.- Terapia hormonal de reemplazo (HRT)----------37
6.1-Estrógenos naturales----------37-38
6.2-Estrógenos sintéticos----------39-40
6.3-Moduladores selectivos de los receptores de estrógenos----------41-42

II.- PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

Planteamiento del problema Hipótesis Objetivos----------43
Metas. Diseño del estudio. Justificación.----------44
Análisis estadístico---------- 45

III.- MATERIAL Y MÉTODOS

1.-Material Clínico 2- Muestra biológica ----------46
3.-Determinaciones hormonales----------51
4.- Medición de los neurotransmisores (NTs)----------52-54
5.-Metabolitos urinarios de los neurotransmisores---------- -55
6.- Evaluación de las alteraciones climatéricas (Escala de Greene)----------56

IV.- RESULTADOS

1.- Estudio hormonal

1.1-Eje hipotálamo-hipófisis-ovario (FSH, LH, E2) ----------57
1.2-Eje Somatotrópico (GH-IGF-1) e insulina----------58
1.3- Eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal (ACTH, cortisol, DHEA-S)----------59

2.- Neurotransmisores cerebrales

2.1-Niveles circulantes en relación con la edad. ---------- 60
2.2-Efecto de la menopausia y la terapia hormonal de reemplazo (HRT)--------61
2.3-Correlación de los niveles de los NTs con E2---------- 61

3.- Metabolitos Urinarios

3.1-Concentración en relación con la edad---------- 62
3.2-Efecto de la menopausia y la terapia hormonal de reemplazo (HRT)--------62

4.- Alteraciones Clínicas (Ansiedad,depresión, somáticas, vasomotoras).

4.1- Puntuación en relación con la edad----------63
4.2- Alteraciones clínicas a la menopausia---------- ----------64
4.2.1-Frecuencia y severidad de las alteraciones----------65
4.2.2-Alteraciones clínicas en relación con el nivel de E2----------66-67
4.3-Efecto de HRT sobre las alteraciones climatéricas---------- 68
4.3.1-HRT y la frecuencia e intensidad de las alteraciones---------- 68-69
4.3.2-HRT y la puntuación de las alteraciones clínicas----------70-71
4.3.3-HRT y la puntuación total de las escalas---------- 72-73
4.3.4-Correlación de la puntuación de las escalas con E2----------73-74
4.4- Relación de las alteraciones climatéricas con los NTs----------75
4.4.1-Concentración de NTs y puntuación de las alteraciones clínicas-------75-76
4.4.2-Correlación de los NTs con la puntuación total de las escalas----------77-78

5.- Análisis de los resultados en relación con el estado psicológico

5.1-Estado psicológico de las mujeres participantes en el estudio----------79
5.2-Frecuencia de las alteraciones psicológicas----------79
5.3-Relación entre el estado menopáusico y las alteraciones psicológicas-------80
5.4-Puntuación de las escalas en relación con el estado psicológico----------80

V-DISCUSIÓN----------81-92

VI.-BIBLIOGRAFIA---------- 93-115

RESUMEN

Antecedentes.- El climaterio se acompaña de una serie de cambios hormonales y alteraciones psicosomáticas y psico-emocionales que afectan a la mujer menopaúsica y deterioran su calidad de vida, pensándose que se deben a cambios en la concentración de neurotransmisores cerebrales como consecuencia de la pérdida de la función ovárica y la profunda deprivación de estrógenos.

Objetivo.- Determinar si la deficiencia de los estrógenos y los cambios hormonales que ocurren a la menopausia, pueden modificar la concentración de los neurotransmisores cerebrales y si estos cambios son responsables de la sintomatología psico-afectiva de ansiedad y depresión que se presenta en algunas mujeres menopaúsicas.

Material y Métodos.- Se estudió un grupo de 75 mujeres menopáusicas, sanas, de 46 a 60 años, a las que se determinaron LH, FSH, E2, PRL, GH, IGF-1, ACTH, DHEA-SO4, cortisol e insulina; neurotransmisores como NA, DA, S, Ach y βE y los metabolitos urinarios de NA y S (VMA y el Ac. 5OHIIA) en condiciones basales y después de administrarles terapia hormonal de reemplazo (HRT) con estrógenos conjugados (EEC) a tres dosis diferentes (0.312, 0.625 y 1.25mg). Para esto las mujeres se dividieron al azar en tres grupos (n=25), seleccionando además 30 mujeres con función ovárica normal, como grupo testigo de comparación.

A todas las mujeres se les tomaron muestras de sangre y recolectaron orina de 24hs en condiciones basales y después de 3 ciclos de HRT, para determinar los cambios hormonales que ocurren en la mujer en relación con la edad y al presentarse la menopausia. Además se aplicó a todas las mujeres la Escala del climaterio de Greene para evaluar las alteraciones psico-emocionales y psicosomáticas que se presentan en el climaterio y relacionarlas con la concentración de E2 y de los neurotransmisores.

Resultados.- FSH, LH e insulina aumentaron significativamente a la menopausia; en contraste, E2, PRL, GH, IGF-1, ACTH, DHEA-SO4 y cortisol disminuyeron, en especial las hormonas del eje somatotrópico y la DHEA-SO4, encontrándose una relación positiva entre el nivel de E2 y la concentración de estas hormonas, mientras que la relación con FSH, LH e insulina fue inversa. La mayoría de las alteraciones hormonales corrigieron después de tres meses de HRT.

De los neurotransmisores la NA aumentó su concentración a la menopausia, por el contrario Ach, DA, S y βE disminuyeron y lo mismo ocurrió con los metabolitos urinarios: el VMA aumentó coincidiendo con el incremento de NA y el Ac.5OHIIA disminuyó, igual que la serotonina, lo que indica que a la menopausia ocurre un desequilibrio neuroendocrino, que puede ser responsable del síndrome climatérico, del cual las alteraciones de la esfera psico-afectiva, son un componente muy importante.

Las mujeres menopáusicas presentaron manifestaciones de ansiedad y depresión, algunas de ellas con elevada frecuencia y severidad. Entre las manifestaciones de ansiedad el *nerviosismo, el insomnio y la falta de concentración*, fueron las más importantes; de los síntomas de depresión la *falta de energía, la tristeza y la irritabilidad* alcanzaron la puntuación más elevada y se mantuvo hasta después de los 55 años. En consecuencia la escala psicológica, duplicó su puntuación a la menopausia, con diferencias significativas en relación a la puntuación de las mujeres jóvenes ($p < 0.001$).

De las alteraciones somáticas destacaron las artralgias, la cefalea y los adormecimientos y también fueron importantes las manifestaciones vasomotoras (bochornos y sudoración nocturna) y la abulia sexul. Estas alteraciones aumentaron su puntuación en relación directa con el incremento de NA y la disminución de βE y S, con coeficientes de correlación elevados entre la puntuación de las escalas y el nivel de los neurotransmisores. La DA en cambio, tuvo poca influencia sobre las alteraciones psico-afectivas, sin embargo su disminución se relacionó significativamente con la puntuación del cuadro vasomotor y la abulia sexual. La HRT produjo una recuperación importante del nivel de los neurotransmisores y sus metabolitos urinarios y disminuyó la puntuación de las escalas, indicando que la terapia estrogénica tiende a restablecer el equilibrio neuroendocrino, disminuyendo la sintomatología climatérica. Además se demostró elevada relación inversa entre la puntuación de las escalas y el nivel de E2, así como con la puntuación total de la escala de Greene.

Las alteraciones fueron dependientes del nivel de estrógenos, no se presentaron cuando la concentración de E2 fue mayor de 70pg/mL, se manifestaron cuando fue menor de 40pg/mL y en forma severa con niveles inferiores a 20pg/mL, mejorando notablemente con HRT. Las tres dosis tuvieron un efecto positivo sobre las alteraciones climatéricas y en especial sobre las manifestaciones psico-afectivas, que regresaron a la puntuación de las mujeres en edad reproductiva, con la dosis baja de estrógenos (0.312mg).

Por otra parte, también se encontró relación entre los neurotransmisores y la presencia y severidad de las alteraciones climatéricas, la elevación de NA y la disminución de S se relacionaron significativamente con la puntuación de la Escala de ansiedad, aumentando la puntuación de las palpitaciones, el insomnio, la excitabilidad, la falta de concentración y el nerviosismo. Los cambios en la concentración de NA, S y βE influyeron en la escala de depresión favoreciendo la anergia, la tristeza y la irritabilidad, mientras que los cambios de DA, no fueron importantes para la puntuación de la escala psicológica. En cambio la disminución de DA y el incremento de NA se relacionaron significativamente con la puntuación del cuadro vasomotor en el que no influyó la concentración de S, mientras que en la escala sexual la puntuación se relacionó con el nivel de los cuatro neurotransmisores.

En resumen, de los resultados de este estudio se puede concluir que la deficiencia estrógenica a la menopausia determina cambios en la concentración de las hormonas y los neurotransmisores cerebrales, ocasionando un desequilibrio neuroendocrino que a su vez puede condicionar la variada sintomatología clínica que constituye el síndrome climatérico, del cual las alteraciones de la esfera psico-afectiva, fueron muy importantes. Las mujeres menopaúsicas tuvieron manifestaciones de angustia y depresión, de las cuales algunas se presentaron con elevada frecuencia y severidad, además de alteraciones somáticas, vasomotoras y abulia sexual, mejorando significativamente con HRT. Los estrógenos conjugados, administrados a tres dosis diferentes, tuvieron un efecto positivo sobre las concentraciones hormonales y de los neurotransmisores, corrigiendo el desequilibrio neuroendocrino, a lo cual puede deberse su efecto positivo sobre las alteraciones climatéricas, en especial sobre las psico-afectivas, que corrigieron con la dosis baja de estrógenos. La dosis de 0.625mg fue más efectiva para corregir algunas alteraciones, sin embargo, el análisis de varianza mostró que los resultados con las diferentes dosis no son estadísticamente diferentes y que las tres dosis mejoraron las manifestaciones de ansiedad y depresión que presenta la mujer menopáusica

I- INTRODUCCION

1.- LA FUNCION OVARICA

La madurez sexual en la mujer se caracteriza por el establecimiento de la función ovárica o función cíclica de los ovarios, que se inicia poco después de la pubertad, condicionada por cambios en la actividad funcional del eje hipotálamo-hipófisis-ovario. La pubertad es una de las etapas de la vida, en la que ocurren los cambios más notables en el desarrollo de la mujer, debido al inicio de la actividad gonadal y la aparición de las características sexuales secundarias estrógeno-dependientes, como son: el desarrollo de la glándula mamaria, el vello axilar y pubiano y el crecimiento lineal del esqueleto (1).

A la pubertad el eje hipotálamo-hipofisario responde por primera vez al incremento de los estrógenos (determinado probablemente por la adrenarca) con un aumento en la secreción de la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH). Este estímulo positivo de los estrógenos sobre la secreción hipofisaria, conocido como "feed back" positivo o retroalimentación positiva, es típica de la etapa puberal y necesario para aumentar la síntesis de los estrógenos y alcanzar la madurez hipotálamo-hipofisaria (2). El hipotálamo responde a estos pequeños pero constantes incrementos de E_2 con discretos picos de la hormona liberadora de gonadotropinas (Gn-RH), neurohormona que estimula la producción hipofisaria de LH y FSH (3). A la pubertad, la retroalimentación positiva se alterna con etapas de retroalimentación negativa que impiden la completa maduración del folículo y originan el gran número de atresias foliculares, en folículos que inician su desarrollo sin alcanzar la ovulación, de ahí que los primeros ciclos sean anovulatorios. Poco después se observa un incremento progresivo de E_2 en las células de la granulosa, debido a la creciente aromatización de los andrógenos sintetizados en las células de la teca bajo el estímulo de LH (4), mientras que la aromatización y en consecuencia la síntesis de los estrógenos es dependiente de FSH (5).

Conforme el folículo madura, aumenta la concentración de E_2 hasta alcanzar un nivel capaz de ejercer un efecto positivo sobre la secreción de Gn-RH y la descarga de LH que determina la ovulación (6). Después de la ruptura folicular, las células de la granulosa proliferan y cambian sus características estructurales y bioquímicas, lo que resulta en la formación del cuerpo lúteo secretor de estrógenos y progesterona. Así el ovario cumple sus dos funciones más importantes: a) producir las células germinales necesarias para la reproducción y la preservación de la especie y b) la síntesis de los esteroides gonadales, estradiol (E_2) y progesterona (P).

Los estrógenos determinan a la pubertad, el desarrollo de las características sexuales femeninas y ejercen una amplia variedad de funciones en las células sensibles a estrógenos, como la vagina, el útero, la glándula mamaria, el aparato genito-urinario, la piel y otros, donde los estrógenos inducen la síntesis de enzimas, receptores y proteínas biológicamente importantes, teniendo además, numerosas acciones en el sistema nervioso central (7). La progesterona a su vez, es necesaria para la nidación del huevo recién fecundado y el mantenimiento del embarazo, por lo que el cuerpo lúteo del ovario se conserva activo hasta que la placenta puede asumir su función y sintetiza los esteroides.

1.1.-Regulación neuroendocrina de la función ovárica.

Los esteroides gonadales estradiol y progesterona regulan la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, mediante un mecanismo de retroalimentación que puede ser positivo o negativo dependiendo de su concentración y de la fase del ciclo menstrual y que se ejerce actuando a nivel hipotalámico o hipofisario para regular la secreción de Gn-RH o de las gonadotropinas (LH,FSH) respectivamente (**Fig-1**) (8). Sin embargo, la regulación neuroendocrina de la función ovárica es un mecanismo muy complejo que además de los esteroides sexuales, requiere la participación de neurotransmisores cerebrales (NT) como norepinefrina (NE), dopamina (DA), serotonina (S), Ac. γ amino butírico (GABA) y β-endorfinas (βE), compuestos que regulan la secreción de GH-RH y en consecuencia las gonadotropinas hipofisarias (9)

Las células que secretan Gn-RH son neuronas cuyo cuerpo celular o soma se localiza en el área preóptica, así como en el núcleo supraquiasmático, el ventromedial y el núcleo arcuato del hipotálamo y tienen prolongaciones nerviosas o axones que terminan y convergen en la eminencia media (EM) sitio donde se localiza la mayor concentración de Gn-RH cerca de los capilares que constituyen el sistema venoso porta hipofisario. Esta área se ha denominado área hipofisiotrópica, por regular la secreción de las hormonas hipofisarias (10).

El papel de las monoaminas cerebrales en la regulación de Gn-RH y las gonadotropinas ha sido demostrado ampliamente (11, 12); implica una serie de interacciones entre las neuronas que producen acetilcolina (Ach), NE, DA, S, GABA, y βE con las neuronas peptidérgicas de Gn-RH (**Fig-2**). Algunos de estos neurotransmisores como la NE, tienen un efecto estimulador sobre la secreción de Gn-RH y otros un efecto inhibidor (DA, GABA), de tal manera que su secreción depende de la interacción adecuada entre las neuronas aminérgicas y las neuronas peptidérgicas productoras de Gn-RH (13,14). Una vez liberada, Gn-RH pasa al sistema venoso porta hipofisario y llega a la adenohipófisis donde induce la secreción de gonadotropinas por un mecanismo que como se verá más adelante, requiere la participación de los estrógenos.

Los neurotransmisores relacionados con el control de Gn-RH han sido detectados en la EM, en el núcleo preóptico, supraóptico y paraventricular por técnicas inmunocitoquímicas, inmunofluorescencia y autoradiografía, demostrando que algunos como DA y GABA se encuentran en elevada concentración y otros en concentración moderada (NE, Ach, S y los opiodes) mientras que la adrenalina que no participa en este proceso, se localiza solo en muy baja concentración (15,16). En esta región se localizan también las neuronas que concentran estrógenos, han sido identificadas por autoradiografía con E2 tritiado, siendo prácticamente las mismas que producen las diferentes monoaminas o neurotransmisores que participan en la regulación de LH-RH, lo cual indica el papel regulador de los estrógenos sobre estos neurotransmisores (17).

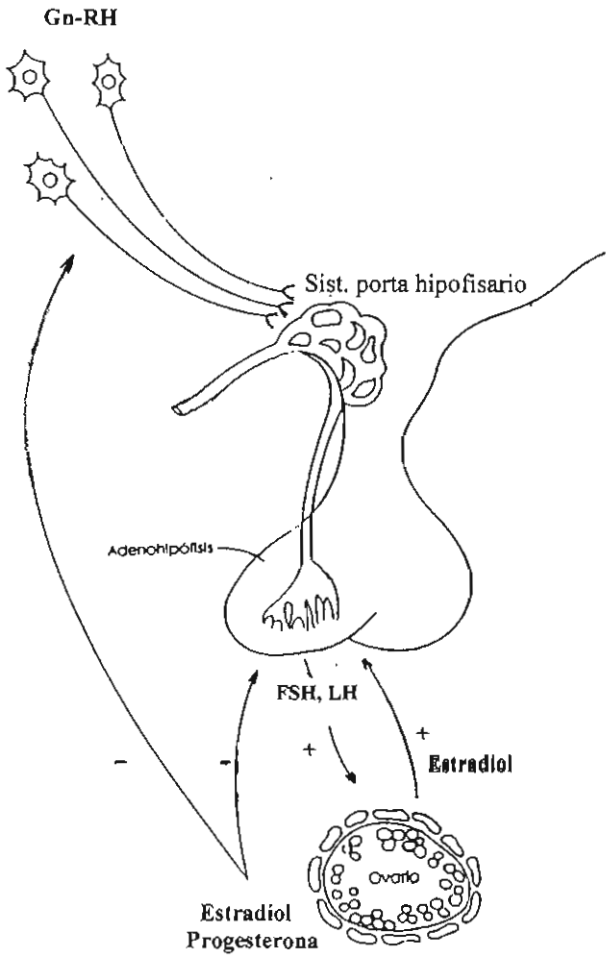


Fig. 1 – Interacción neuroendocrina entre el hipotálamo la adenohipófisis y el ovario.

Se representa de manera esquemática como las neuronas hipotalámicas productoras de Gn-RH secretan la neurohormona a nivel de la eminencia media; Gn-RH pasa al sistema porta hipofisario y llega a la hipófisis para estimular la secreción de FSH y LH, hormonas que a su vez estimulan la producción ovárica de estradiol y progesterona

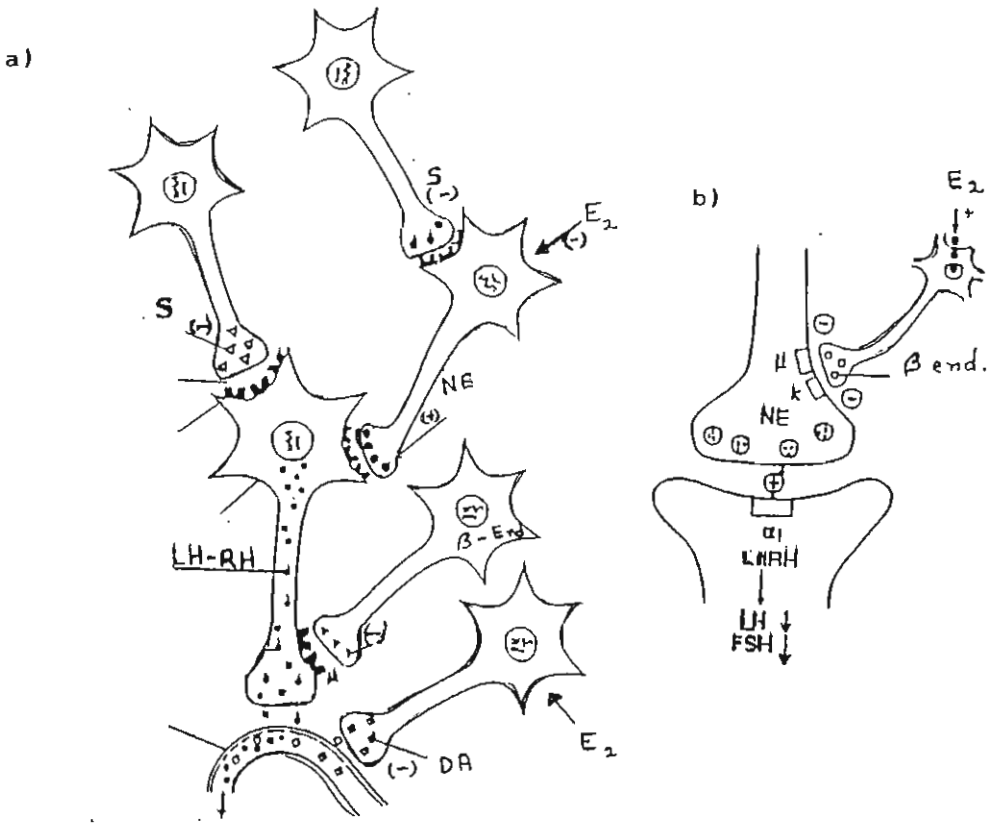


Fig 2. a) Mecanismo de regulación de LH-RH en el hipotálamo por diferentes neurotransmisores. Se observa el efecto estimulador de norepinefrina (NE) y la acción inhibidora de serotonina (S), β-endorfina (βEnd) y dopamina (DA).

b) Efecto estimulador de los estrógenos sobre la β-endorfina determinando la inhibición de NE y la disminución de LH-RH y las gonadotropinas hipofisarias (FSH,LH).

1.2- Efectos de los estrógenos en la regulación neuroendocrina de la función ovárica

1.2.1-A nivel hipofisario.

La presencia de E2 modifica la respuesta del gonadotropo al estímulo de Gn-RH, efecto que es dependiente del nivel de estrógenos. Cuando la concentración de E_2 es elevada, la sensibilidad del gonadotropo se incrementa en forma significativa, permitiendo el "feed-back" positivo de E_2 sobre la liberación de LH (18) Aunque el mecanismo molecular es complejo, se sabe que es de tipo genómico, inducido por la unión de E_2 a sus receptores en el gonadotropo, formando el complejo hormona-receptor (H-R) responsable de inducir diferentes mecanismos bioquímicos entre los que destacan:

a) Cambios en la actividad eléctrica de la membrana.

Los estrógenos interfieren en la actividad de los canales de Ca^{++} modificando la actividad eléctrica de la membrana del gonadotropo. En ausencia del estímulo hormonal, la actividad eléctrica es muy baja, aún cuando la célula sea depolarizada por el incremento de K^+ extracelular o la entrada de Ca^{++} a la célula. Sin embargo, cuando las células son expuestas a la acción de los estrógenos, la conductancia en los canales de Ca^{++} aumenta (20).

b) Síntesis de los receptores de Gn-RH en el gonadotropo.

Estudios en ratas han mostrado que los receptores de Gn-RH en la hipófisis se incrementan notablemente en respuesta a E_2 sensibilizando al gonadotropo para la acción de la hormona liberadora (19).

c) Inducción de metilasas fosfolípido específicas

La metilación de fosfolípidos de membrana es una de las acciones más importantes del E_2 sobre el gonadotropo para la integración de la respuesta a Gn-RH y su mecanismo de acción hormonal. Algunos fosfolípidos, en especial la fosfatidil etanolamina (PEA) pueden ser mono, di o trimetilados por metilasas específicas formando fosfatidil colina (PC) o lecitina. Este proceso de carácter genómico, se acompaña de cambios en la viscosidad de la membrana y afecta eventos intracelulares importantes como el mecanismo de exocitosis necesario para la liberación de LH y FSH. La capacidad de metilación y el contenido de PC se modifican en función de la concentración de E_2 en las diferentes fases del ciclo estral en ratas y otras especies, siendo más elevada la metilación en el proestro (21).

d) Activación de la protein cinasa C (PK_C)

Otra acción específica del E_2 sobre la membrana del gonadotropo, es su capacidad para incrementar la expresión de la PK_C, enzima que participa en el mecanismo de acción de Gn-RH, mediante la fosforilación de proteinas. En condiciones basales, la enzima se localiza en el citosol de la célula en una concentración muy baja; sin embargo, en presencia de E_2 la concentración de la enzima se incrementa rápidamente y se transloca a la membrana del gonadotropo (22)

Esta translocación es necesaria para que la enzima pueda ser activada una vez que se efectúa la unión de Gn-RH con su receptor de membrana, permitiendo la serie de eventos en cascada que culminan con la liberación de gonadotropinas .

1.2.2-. A nivel hipotalámico.

E_2 regula la secreción de Gn-RH por diferentes mecanismos entre los que destacan:

a) Cambios en el potencial de membrana

Los estrógenos actúan sobre las neuronas que sintetizan Gn-RH incrementando su actividad, efecto de carácter no genómico ya que estas neuronas no expresan receptores de E_2 (23). El estímulo de tipo eléctrico, origina cambios en el potencial de membrana de la neurona peptidérgica y es de gran importancia para el "feed back" positivo de los estrógenos a la mitad del ciclo y la liberación de LH. En presencia de E2 la membrana de las neuronas hipotalámicas se depolariza, ya sea por incremento de Ca++ intracelular o por la salida de K+, lo que favorece la liberación de Gn-RH; esto no ocurre en ausencia de estradiol. De esta manera, el incremento de los estrógenos, a la mitad del ciclo estimula la descarga de Gn-RH que determina la ovulación (24).

b) La secreción diferencial de gonadotropinas.

Dado que Gn-RH promueve la secreción de ambas gonadotropinas y no existe una hormona liberadora específica para FSH, ha sido de interés encontrar el mecanismo que explique la secreción diferencial de las gonadotropinas. Existen evidencias de que este mecanismo está regulado por el patrón de secreción de la misma Gn-RH en respuesta a la concentración de los esteroides gonadales. Como se sabe la liberación de Gn-RH es de tipo pulsátil y bajo la influencia de niveles elevados de estrógenos se secreta en pulsos de elevada frecuencia, que favorecen la liberación de LH como ocurre a la ovulación; después cuando la concentración de estrógenos es menor y se eleva la progesterona, la frecuencia de los pulsos disminuye y aumenta su amplitud, favoreciendo la secreción de FSH (25).

c) Acción sobre las neuronas aminérgicas y peptidérgicas que controlan la producción de LH-RH

Una observación importante realizada por Shivers fue demostrar que las neuronas hipotalámicas productoras de Gn-RH no expresan receptores de E_2 (23) y que la acción reguladora de este esteroide sobre la sintesis de la hormona liberadora no se ejercía en forma directa, sino actuando en otras neuronas que convergen sobre las neuronas de Gn-RH para modular su acción (**Fig.2**). Tal es el caso de las neuronas noradrenérgicas, dopaminérgicas, gabaérgicas, serotoninérgicas y las neuronas que liberan opioides, que responden a la acción moduladora de los estrógenos para controlar la secreción de Gn-RH (26,27).

Por todo lo anterior puede decirse que E_2 es el principal regulador de Gn-RH actuando a diferentes niveles y por diferentes mecanismos: directamente sobre la liberación de la neurohormona modificando la polaridad de la membrana e indirectamente por su efecto sobre los neurotransmisores que controlan la sintesis y liberación de Gn-RH, la inducción de sus receptores y la síntesis de enzimas que participan en el mecanismo de acción hormonal que culmina con la liberación de gonadotropinas (28) .

2.-MECANISMO DE ACCION DE LOS ESTROGENOS.

Los efectos de los estrógenos se ejercen mediante dos principales mecanismos:

2.1- Acción de los esteroides sobre la membrana celular

Como se mencionó anteriomente, estos efectos no requieren eventos transcripcionales, se realizan mediante cambios en la polaridad de la membrana celular, modificando el potencial eléctrico de la célula por interacción del esteroide con canales iónicos (29)

Se caracterizan por ser cambios rápidos, reversibles y de corta duración, con una latencia aproximada de 15 minutos. Por estudios electrofisiológicos se han determinado los cambios en el potencial eléctrico de la membrana y las corrientes iónicas de Ca++ y Cl- inducidas por los esteroides, observando su recuperación después de poco tiempo, lo que indica que la apertura y cierre del canal es un evento dinámico, que depende de la interacción reversible con el esteroide (30).

Actuando por este mecanismo, los estrógenos aumentan la actividad neuronal del hipotálamo, la corteza cerebral y el hipocampo y la liberación de neurohormonas y NTs (31)

Algunos investigadores han sugerido que las acciones de los estrógenos a nivel de membrana requieren la presencia de receptores que al unirse al esteroide, activan proteinas G como segundos mensajeros; sin embargo, existen controversias respecto a la presencia de tales receptores y su mecaismo de acción (32).

2.2- Respuestas dependientes de la unión del esteroide a receptores nucleares.

La activación de genes para la inducción o represión de la síntesis de proteinas, es el mecanismo de acción más conocido de los esteroides y a diferencia del mecanismo anterior, determina efectos de larga duración (horas, dias) que se ejercen en el núcleo de la célula como resultado de la unión del esteroide con su receptor (33).

Receptores de estrógenos (RE)

Son proteinas con un peso molecular aproximado de 66 KD, miembros de una gran familia que incluye a los receptores de las hormonas tiroideas, glucocorticoides, andrógenos, la vitamina D y el Ac. retinoico entre otros (34); tienen en común algunas características estructurales y mecanismos de acción similares (35). Desde el punto de vista estructural se caracterizan por presentar seis regiones o dominios (A-F) de los cuales tres son los más importantes **(Fig. 3)**

1) El dominio de unión del esteroide (E) es una región que comprende aproximadamente 250 aminoácidos (aa) localizada en la fracción COOH terminal del receptor, es la responsable de unir al ligando (E2 o algún otro compuesto estrogénico) y de la unión competitiva de los agonistas o los antagonistas de los estrógenos.

2) El dominio de unión al DNA (C) es una región de cerca de 70 aa, altamente conservada que se une con elevada afinidad a una secuencia especifica de nucleótidos del DNA conocida como elementos de respuesta al esteroide (ERE) que se encuentra en la región promotora del gen. El ERE puede ser definido como una secuencia poliandrómica de AGGTCA-nnn-TGACCT en la que n representa una región espaciadora de tres pares de bases que pueden ser variables.

RECEPTOR DE ESTROGENO

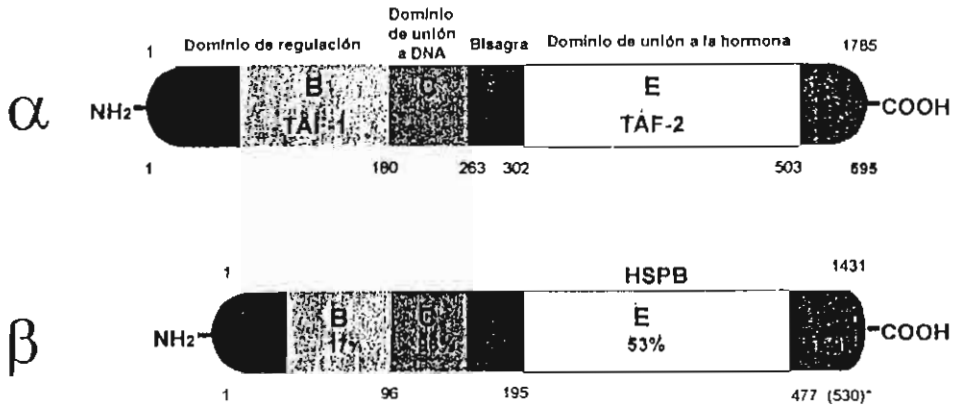


Fig. 3- Características estructurales de los receptores α y β

Se muestran las principales regiones y los sitios donde se regula la transcripción , TAF-1 Y TAF-2 (Transcriptional activator factor).

3) La región reguladora de la activación transcripcional (B) es una región muy variable, que se localiza en el extremo NH2-terminal del receptor y difiere marcadamente entre los diferentes receptores en cuanto a su longitud y secuencia de aminoácidos.

En esta área se localiza la región denominada AF-1 que interactúa con co-activadores de la transcripción (CoA) o proteinas específicas como las proteinas de choque térmico HSP 90, HSP70 y Ap 23, que en conjunto con el receptor, forman la unidad de transcripcion que se une el DNA a nivel del ERE para activar la síntesis del mRNA (36). Otros compuestos que inhiben la transcripción, actúan en la región AF-2 (localizada también. en la región reguladora) como co-represores(CoR) bloqueando la transcripción, generalmente por interacción con complejos anti-estrógeno-receptor (37) .

Recientemente se ha demostrado por técnicas de autoradiografia y de hibridación de mRNA que existen dos receptores de estrógenos; además del receptor tradicional conocido desde hace varias décadas, denominado receptor α (REα) que se creía era el mediador de todas las acciones transcripcionales de los estrógenos, existe un segundo receptor (REβ)que es codificado por un gen diferente al que expresa el REα (38). Como se observa en la Fig 3 ambos receptores tienen elevada homologia estructural en el dominio de unión al DNA y solo homologia parcial en el dominio de unión al esteroide y en otras regiones de la molécula, de ahí que presenten diferente especificidad por el ligando que unen y diferente distribución en los tejidos (39).

Los compuestos o ligandos que pueden interaccionar con el receptor de estrógenos (R) son variados y de estructura química diversa, sin embargo, requieren como requisito indispensable tener un anillo aromático **(Fig4)**.

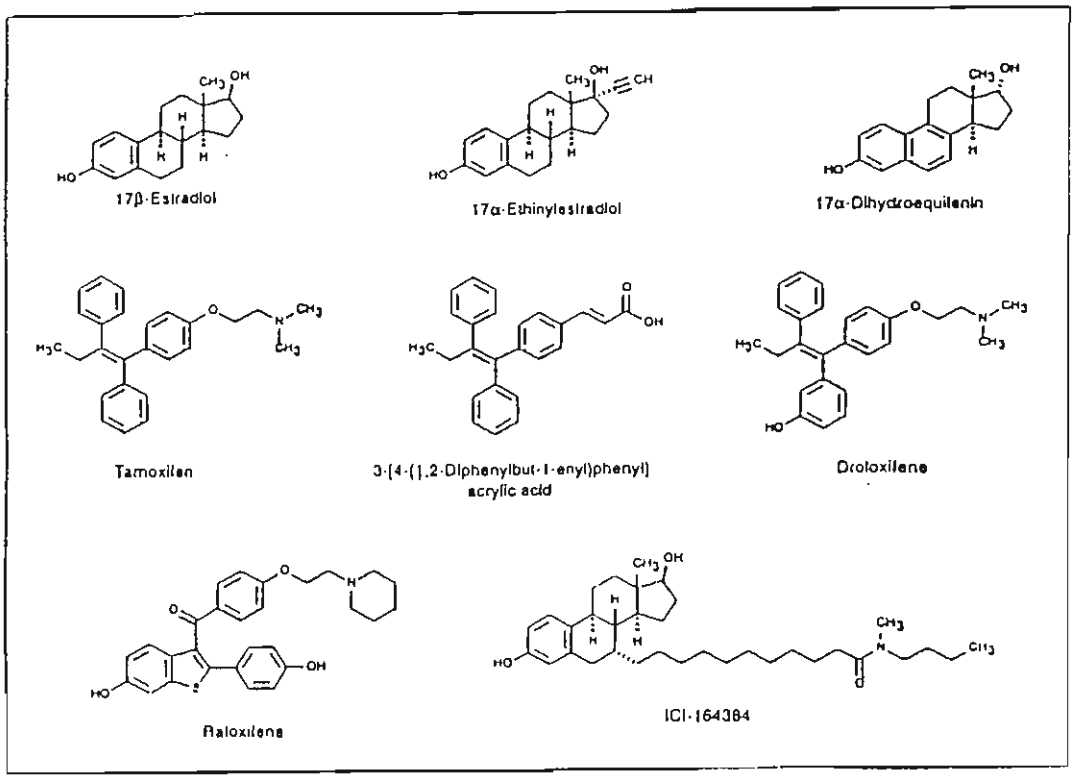


Fig.- 4 Compuestos que interaccionan con el receptor de estrógenos.

Estos ligandos, agonistas o antagonistas de los estrógenos, se unen al dominio de unión del receptor, en el mismo sitio y de manera similar a los estrógenos, pero dependiendo de su estructura inducen conformaciones distintas en el dominio de activación, y además el complejo proteico formado, puede interaccionar con los co-activadores o con los co-represores para activar o inhibir la transcripción (40)

En la actualidad se conocen numerosos compuestos agonistas y antagonistas de los receptores de estrógenos que pueden modular selectivamente la actividad del receptor (SERMs) en tejidos especificos, estimulando su actividad en algunos de ellos, sin interaccionar con otros, lo que parece tener gran utilidad en la práctica clínica (44-45).

La unión del receptor con su ligando desencadena cambios conformacionales en el receptor, su dimerización y una serie de reacciones en cascada, en las que el complejo E-R en concierto con los factores de activación, determinan la transcripción, sintesis de mRNA y finalmente la respuesta celular a la acción de los estrógenos (41).

A pesar de su localización nuclear el receptor no se mantiene estático, se moviliza constantemente, del núcleo al citoplasma libremente, mientras que el paso del citoplasma al núcleo es un proceso que requiere energía. En ausencia del ligando, el R se localiza principalmente en el núcleo celular como un complejo oligomérico formado por su unión a la HSP 90; la función de esta proteína es mantener al receptor inactivo y facilitar su transporte entre membranas. Después de unirse con la hormona, el complejo oligomérico se disocia liberando la HSP 90 y otras proteínas asociadas, el receptor se dimeriza y se une al ERE del ADN, en el gen que se regula (42). Considerando que los receptores se dimerizan una vez que se unen al esteroide, existe la posibilidad de que puedan formarse homodímeros (REα-REα y REβ-REβ) así como heterodimeros del receptor (REα-REβ) lo que diversifica más la especificidad de los receptores por el ligando y aumenta la complejidad de la respuesta, de tal manera que el resultado de la transcripción puede ser un efecto agonista o antagonista dependiendo del ligando y del tipo de receptor (43). En la actualidad se conocen numerosos compuestos, agonistas y antagonistas de los receptores de estrógenos que pueden modular selectivamente la actividad del receptor (SERMs) en tejidos específicos, estimulando su actividad en algunos de ellos, sin interaccionar con otros, lo que ha mostrado tener gran utilidad en la práctica clínica (44, 45).

Los receptores de estrógenos se distribuyen en numerosos tejidos a nivel periférico, y en el cerebro con una distribución similar a la de los receptores de andrógenos, principalmente en el hipotálamo y la amígdala y en menor concentración en el hipocampo, la corteza cerebral, y la médula espinal (46). Los dos receptores estrógenicos coexisten en áreas cerebrales como el área preóptica, el núcleo arcuato, la eminencia media, el núcleo ventromedial, la estria terminalis y el tracto solitario **(Fig. 5)** Los REα predominan en áreas que controlan la función reproductora y la secreción hormonal, mientras que los REβ son más abundantes en áreas relacionadas al control de la función cognoscitiva, la actividad motora y las emociones, como son: la corteza cerebral, el hipocampo, la substancia nigra y el sistema límbico, áreas que anteriomente se pensaba que estaban desprovistas de receptores (47).

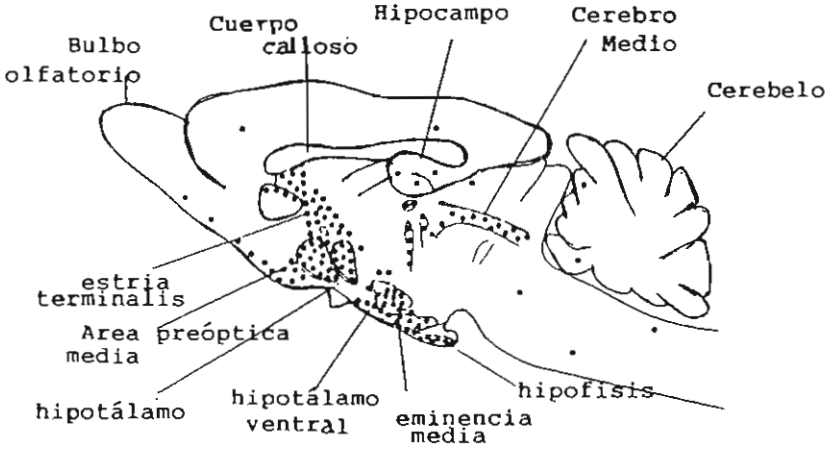


Fig.5 Representacíon esquemática de las áreas cerebrales que poseen receptores de estrógenos .

3- ACCIONES DE LOS ESTROGENOS EN EL SNC.

El cerebro está constituido por un conjunto de estructuras que se desarrollan a lo largo del tubo neural, entre las que destacan: la corteza cerebral, el hipotálamo, el sistema límbico (hipocampo y la amígdala) y el cerebelo; teniendo cada una de ellas una función especifica.

- **La corteza cerebral**. En el humano el cerebro tiene una gran porción cortical en la que se distinguen diferentes áreas: la corteza frontal, parietal, temporal y la occipital, todas relacionadas al desarrollo de la función cognoscitiva, la percepción, la atención y la memoria.

- **El sistema límbico** está constituido por diversas elementos entre ellos: el lóbulo límbico (girus fornicatus) la amígdala, el hipocampo (filogenéticamente las partes más antiguas del cerebro) los nucleos mamilares (partes del hipotálamo) y el núcleo anterior del tálamo. En el hombre, estas estructuras están ordenadas en forma de anillo en la porción cefálica cubiertas por las estructuras corticales. El sistema límbico es denominado *"el cerebro visceral"* por regular la conducta afectiva y las emociones. Su integridad funcional es importante para un desarrollo psicoemocional normal, controlando la emotividad (la sensación de alegría , enojo, ira, agresividad etc) y la conducta materna Las alteraciones del sistema límbico están relacionadas a conductas inadecuadas como ansiedad, depresión, esquizofrenia y psicosis.

- **El hipocampo** localizado en la parte media del lóbulo temporal es responsable de almacenar y procesar la información para la memoria reciente. Tiene amplia comunicación aferente y eferente con otras áreas de la corteza cerebral donde se almacena la memoria a largo plazo, con la corteza occipital donde se concentra la memoria visual con la información que proviene de las vías visuales. El hipocampo se comunica con el hipotálamo mediante numerosas fibras eferentes que constituyen *el fornix* y que se proyectan hacia el área preóptica, los cuerpos mamilares, el septum y los nucleos talámicos.

- **La amígdala** estructura telencéfalica considerada parte de la arquicorteza, recibe impulsos olfatorios y viscerales muy importantes para la integración del sistema límbico. Está conectada con el hipocampo y con el hipotálamo con vías eferentes que constituyen *"la estria terminal o estria terminalis"* que proyecta sus fibras al área preóptica, el hipotálamo anterior y la amígdala contralateral, además de alcanzar al septum, el tubérculo olfatorio y el tálamo .

- **El hipotálamo** centro integrador de gran número de funciones, es una estructura constituida por varios núcleos bien diferenciados **(Fig. 6)** de los cuales destacan: el núcleo arcuato (ARC) que contiene neuronas productoras de DA y hormona liberadora de hormona de crecimiento (GH-RH) regulando la secreción de PRL y GH respectivamente, el área preóptica (POA) que regula la diferenciación sexual cerebral y la conducta sexual, los núcleos supraóptico (SO) y supraquiasmático (NSQ) la temperatura y los ritmos circadianos, el núcleo paraventricular (PVN) regulador de la sed y el apetito y el núcleo ventromedial (VMN) las funciones relacionadas con la conducta sexual.

-**La eminencia media** (EM) situada en el infundíbulo cerca de la hipófisis, además de establecer contacto con los diferentes núcleos, recibe terminaciones nerviosas de tipo aminérgico y peptidérgico que secretan neurotransmisores y hormonas liberadoras respectivamente; es el área que comunica al hipotálamo con la hipófisis a través del sistema venoso porta hipofisario para el control de la secreción de las hormonas hipofisarias.
-**El cerebelo** situado en la parte posterior del encéfalo tiene como función principal el control de la función sensorial y la coordinación motora.

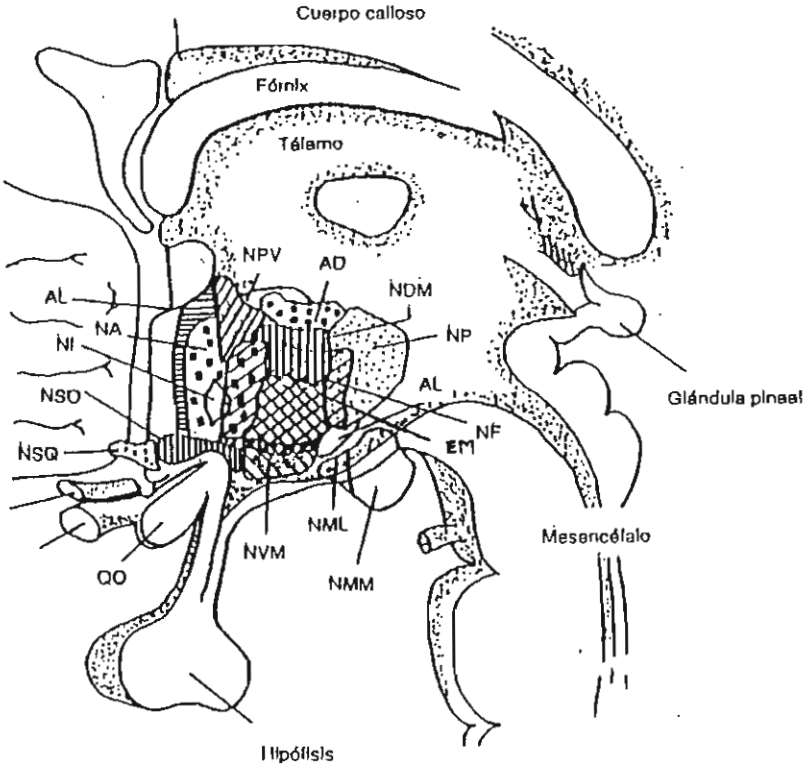


Fig. 6.- Representación esquemática de los principales núcleos del hipotálamo. NSQ-núcleo supraquiasmático; NPV- núcleo paraventricular; NA-núcleo arcuato; NSO-núcleo supraóptico; NI-núcleo intermedio; NDM-núcleo dorsomedial; NVM-núcleo ventromedial; NF-núcleo infundibualr; NP- núcleo posterior; NMM- núcleo mamilar medio; NML- núcleo mamilar lateral; AL-área hipotalámica lateral; AD- área hipotalámica dorsal; QO-quiasma óptico.

Células cerebrales.

El cerebro tiene dos tipos principales de células: *las células gliales y las neuronas.*

a) Células gliales.- Son las más abundantes en el cerebro, distinguiéndose tres diferentes tipos. *la astroglia, la microglia y la oligodendroglia.*

Las células de *la astroglia* las más numerosas, presentan una estructura muy ramificada, con prolongaciones nerviosas que se ponen en contacto con otras células para recibir y transmitir información local o a larga distancia. Estas células se entrecruzan con las neuronas a las que rodean, mediante contacto directo con el cuerpo neuronal o a tráves de dendritas, mecanismo que permite el transporte de substancias de una célula a otra para suplir deficiencias, desempeñando una función protectora o de reparación entre las neuronas Así por ejemplo, protegen a las neuronas recubriendo el axon con mielina, lo que asegura la eficiencia de la neurotransmisión.

Las células de *la oligodendroglia* son células con la maquinaria enzimática necesaria, para sintetizar esteroides de 21C como la pregnenolona, progesterona y sus productos de reducción allopregnanolona o tetrahidroprogesterona (THP) poderoso neuroesteroide con propiedades ansiolíticas y sedantes (49), además pueden aromatizar andrógenos y convertirlos a estrógenos (50).

Las células de *la microgla* son células especializadas muy complejas, relacionadas al sistema inmune. Realizan diferentes funciones, una de las más importantes es la producción de macrófagos que constituyen la barrera inmunológica cerebral, regulando la producción de interleucinas, su metabolismo y la producción de radicales libres, acción en la que los estrógenos desempeñan un papel protector por sus propiedades antioxidantes (51).

Neuronas cerebrales. - Son células nerviosas altamente especializadas, caracterizadas por su notable actividad metabólica, sintetizando compuestos como neurotransmisores, neurohormonas, proteínas, enzimas, receptores y muchos otros compuestos necesarios para el funcionamiento cerebral y la integración de las diferentes vias neurales. Aunque el soma o cuerpo de las neuronas productoras de los NTs se encuentra en regiones cerebrales distintas, la comunicación entre las neuronas es muy eficiente debido a que poseen numerosas prolongaciones nerviosas o axones que permiten la comunicación interneuronal por contacto axonal directo. La comunicación entre las diferentes áreas cerebrales se efectúa de manera rápida y eficiente, por la integración de diferentes vías neurales que utilizan a los neurotransmisores como mensajeros que facilitan la comunicación entre las neuronas (48).

Funciones de los estrógenos.- Dentro de este sistema cerebral tan especializado y complejo, los estrógenos desempeñan funciones importantes entre las que destacan las siguientes.

3.1- Efectos sobre la morfología neuronal y la plasticidad de las neuronas.

Hasta hace pocos años se consideraba que el cerebro tenía una capacidad muy limitada de regeneración y reparación en el adulto y que los cambios estructurales y de remodelación neuronal solo ocurrían en pequeña proporción. Actualmente se sabe que los estrógenos participan positivamente en el crecimiento, diferenciación y sobrevida de las células cerebrales, en especial en las células gliales del hipotálamo, la corteza y el hipocampo (52) favoreciendo la formación de sinapsis y la ramificacion de las prolongaciones nerviosas necesarias para la comunicación interneuronal y la plasticidad sináptica (53)

El efecto de los estrógenos sobre la remodelación neuronal se manifiesta principalmente sobre las células de la glia y las proteinas que constituyen el citoesqueleto como la proteina ácida fibrilar (GFAP), que permite modificar la forma de la neurona, rodear el cuerpo neuronal e interferir con las sinapsis, acción plástica que se manifiesta sobre todo en el núcleo arcuato durante el periodo preovulatorio y ovulatorio, permitiendo una desconección transitoria de las neuronas productoras de Gn-RH de las neuronas gabaérgicas y de otras neuronas inhibidoras, facilitando la descarga de Gn-RH para la ovulación; esta remodelación sináptica es inducida por estradiol. Pasada la ovulación las extensiones gliales se retraen y las sinapsis se restablecen permitiendo la comunicación interneuronal (54).

Estudios en roedores han mostrado que la densidad de las espinas dendriticas en el hipocampo de la rata hembra, cambian en forma cíclica en relación con la fase del estro, aumentando su densidad después del pico de estrógenos en el proestro. La progesterona produce el efecto opuesto, explicando los cambios que ocurren en la estructura neuronal durante el ciclo ovárico (55).

La remodelación neuronal es un mecanismo importante que explica el papel protector de los estrógenos al daño cerebral. Se ha puesto de manifiesto en situaciones experimentales que producen lesiones en el SNC, por ejemplo, lesiones que afectan las vías colinérgicas, disminuyen drásticamente el número de neuronas que expresan colina acetil transferasa (CAT) y la síntesis de Ach; sin embargo, las neuronas colinérgicas sobrevivientes se incrementan significativamente por tratamiento con estrógenos (56)

De manera similar, la administración de neurotoxinas como la 1-metil, 4-fenil,1,2,3,6 tetrahidropiridina(MPTP) daña las neuronas dopaminérgicas del sistema nigroestratial y provoca una marcada disminución de los niveles de DA, efecto que puede ser disminuido con estrógenos (57). En ratas hembras, la mortalidad y el volumen de los infartos producidos por oclusión vascular, se reduce sensiblemente en presencia de estrógenos aumentando el flujo sanguineo cerebral (58,59). Además, los estrógenos son poderosos antioxidantes que previenen los procesos neurodegenerativos originados por el metabolismo oxidativo y la formación de radicales libres (60). Otro papel protector de los estrógenos es en la regulación de genes envueltos en el proceso de apoptosis o muerte celular programada, controlando la producción de proteinas pro-apoptóticas y anti- apoptóticas y la producción de las llamadas proteinas de choque térmico (HSP70 y HSP90) que protegen a las células de la muerte inducida por oxidantes, neurotóxicos y otros (61).

3.2.- En la diferenciación sexual cerebral.

Los esteroides gonadales ejercen importantes acciones en la etapa embrionaria en la organización del cerebro y la diferenciación sexual cerebral, determinando las diferencias sexuales de la respuesta neuroendocrina (62). En el embrión masculino humano, la producción de testosterona por las células de Leydig que se inicia alrededor de la sexta semana, modifica permanentemente la estructura y función de las estructuras cerebrales sexualmente dimórficas y la organización de circuitos neuronales en el hipotálamo. En el área preóptica se producen cambios morfológicos que determinan el patrón endocrino típico masculino, caracterizado por la secreción tónica de gonadotropinas, existiendo una marcada relación entre la secreción de testosterona por el testículo fetal y el desarrollo y diferenciación de los tejidos neurales y periféricos sensibles a los andrógenos, efectos que persisten y son activados a la pubertad y la etapa adulta

En ausencia de testosterona la diferenciación cerebral se orienta hacia el sexo femenino, estableciéndose un patrón cíclico en la producción de gonadotropinas (63). Aunque el cerebro es un órgano esteroidogénico muy activo que sintetiza esteroides de 21C, no puede sintetizar andrógenos; no se ha demostrado la presencia de la Cit P450 17α la enzima que rompe la cadena lateral y permite la síntesis de andrógenos Por lo tanto, la testosterona y el estradiol no se producen in situ y provienen de la circulación periférica (64).

Numerosas evidencias experimentales han mostrado el papel activador de los andrógenos en la diferenciación sexual, sin embargo es necesaria su conversión a estrógenos en el tejido cerebral, para que se manifieste la acción organizadora de los esteroides sobre el SNC. Esto se ha comprobado porque la 5α dihidrotestosterona, andrógeno que no es aromatizable por tener el anillo A reducido, es incapaz de inducir la diferenciación sexual cerebral (65).
La aromatización de los andrógenos en las neuronas cerebrales, es una reacción dependiente de la aromatasa, también conocida como estrógeno sintetasa, enzima importante a nivel cerebral, debido a que durante la etapa fetal y neonatal existe una elevada concentración de α-feto proteina que une en forma específica y con elevada afinidad a los estrógenos circulantes impidiendo su acción, de modo que los únicos estrógenos disponibles, son los sintetizados a partir de andrógenos en el propio tejido cerebral (66). La aromatasa está presente tanto en las neuronas como en las células gliales, distribuida en el hipotálamo, el encéfalo, la corteza cerebral y el sistema límbico, áreas donde los estrógenos desempeñan importantes funciones (67).

3.2.1- En el desarrollo de la conducta sexual.
Aunque el sexo en los hombres y en los animales está determinado genéticamente, los andrógenos y los estrógenos son importantes reguladores de la conducta sexual en el adulto. Cuando los machos son castrados antes de la pubertad, el desarrollo sexual no ocurre, y si los animales se castran en la edad adulta, la conducta sexual se pierde, iniciando con fallas de la eyaculación, incapacidad para la intromisión y finalmente apatía por la monta. La testosterona facilita la cópula sexual a través de estimulos que se ejercen sobre el área preóptica, una de las áreas cerebrales más dimórficas entre los sexos, que se modifica estructural y funcionalmente en respuesta a los esteroides sexuales (68, 69).
Con el envejecimiento, la concentración de esteroides sexuales disminuye, en el hombre de manera lenta y paulatina a partir de los 50 años, produciendo una disminución de la potencia sexual; en la mujer después de la menopausia, se observa una notable disminución de la libido.

3.3- Síntesis de proteínas estructurales, enzimas y receptores.
Las acciones genómicas de los estrógenos se inician desde etapas tempranas, con la organización del SNC y el desarrollo de las diferentes áreas cerebrales (70)
Como ya se mencionó, los receptores de los estrógenos (RE) se han localizado en numerosas áreas cerebrales como el hipotálamo, el área preóptica, la corteza cerebral, el sistema límbico, el hipocampo, el cerebelo, el locus ceruleus y la amigdala entre otras, sitios donde los estrógenos desempeñan funciones importantes, interactuando con sus receptores nucleares (RE) determinando la síntesis de proteínas estructurales indispensables para la integridad funcional de las neuronas.

Entre estas se encuentran: la tubulina, la colágena, la mielina, la proteína tau (71) la proteína ácida glial y la proteina gap-43, que participan en el crecimiento neuronal (72). También regulan la sintesis de factores de crecimiento como el factor de crecimiento epidérmico (EGF), el factor de crecimiento neuronal (NGF) y otras neurotrofinas en diversas áreas cerebrales, sobre todo en el hipocampo, donde se ha localizado el RNAm de diversas neurotrofinas y sus receptores (73,74).
Otra acción importante de los estrógenos, es la inducción de las enzimas que participan en la síntesis de NTs y de sus receptores, como la colina acetil transferasa (CAT) para la síntesis de Ach (75), la tirosina hidroxilasa (TH) que participa en la biosíntesis de catecolaminas (76), los receptores de DA, GABA (77), serotonina (78), los receptores α adrénergicos (79), los receptores muscarinicos (80) y los receptores de progesterona (81). Hormonas peptídicas como la oxitocina y la vasopresina, el neuropéptido Y (82), la substancia P y la pro-opiomelanocortina (83) entre otras, son también dependientes de estrógenos.

3.4.- Acción sobre los neurotransmisores cerebrales.
El fenómeno fundamental en la fisiología del SNC es la comunicación entre las neuronas, que se lleva a cabo no por fenómenos eléctricos como se pensó durante mucho tiempo, sino por un mecanismo neuroquímico que consiste en la transmisión del impulso nervioso a través del espacio interpsináptico, mediante la acción de una molécula neurotransmisora que transmite la señal de una neurona a otra . Los NTs cerebrales son compuestos que se caracterizan por ser sintetizados y metabolizados en el propio sistema nervioso central sobre el cual actúan y por enzimas sintetizadas también en las estructuras cerebrales. Las hormonas esteroides entre ellas los estrógenos, son importantes reguladores de la actividad cerebral induciendo mediante efectos genómicos, la sintesis de las enzimas que a su vez sintetizan los neurotransmisores cerebrales y sus receptores (84) .

4- NEUROTRANSMISORES CEREBRALES.

Los NTs tienen gran importancia en el metabolismo cerebral debido a la versatilidad de sus funciones: permiten la comunicación entre las células nerviosas, regulan la sintesis de neurohormonas y neuropéptidos, controlan la actividad del sistema neuroendócrino y la secreción de las hormonas hipofisarias, el comportamiento sexual y los ritmos circadianos, además de coordinar la actividad neuromuscular, el sistema cardiovascular, el sistema inmune, el control de la temperatura, la sed, el apetito, la homeostasis metabólica, la función cognocitiva, la conducta y las emociones entre otras.
Los avances en las técnicas analiticas de laboratorio como la microscopía electrónica, la cromatografía de líquidos de alta presión (HPLC), la inmunocitoquímica, la autoradiografía, el radioinmunoanálisis (RIA) y la biología molecular, han hecho posible obtener valiosa información sobre la presencia de los neurotransmisores en las células cerebrales, permitiendo detectar las enzimas que participan en su biosíntesis y su catabolismo, asi como caracterizar sus receptores en los diferentes sistemas neuronales y evaluar su concentración, tanto a nivel central como periférico

4.1-Clasificación y estructura.

Desde el punto de vista estructural, los NTs se pueden clasificar en tres grupos principales (Fig 7):

-***Monoaminas*** como la norepinefrina (NE), la dopamina (DA), la serotonina (S) y la histamina (H) que derivan de aminoácidos y la acetilcolina (ACh) que es una amina terciaria

-***Aminoácidos*** como la glicina, y el ácido gama aminobutírico (GABA) son neurotransmisores inhibidores de la transmisión sináptica, mientras que otros como el ácido glutámico y el ácido aspártico son aminoácidos excitadores del disparo neuronal a nivel pos-sináptico

-**Péptidos.** En la actualidad se acepta que algunos péptidos llenan los requisitos para ser considerados verdaderos neurotransmisores ya que son sintetizados en el SNC a partir de sustratos y por enzimas presentes en las neuronas cerebrales, además de actúar sobre las células nerviosas facilitando la neurotransmisión. Tal es el caso de las β-endorfinas, la colecistocinina, la substancia P y el neuropéptido Y, los cuales son considerados como neurohormonas (85).

Los neurotransmisores clásicos son las *monoaminas* que se sintetizan en las neuronas cerebrales a partir de precursores como la fenil alanina o la tirosina (catecolaminas), el triptofano (la S), o la histidina (la histamina), por reacciones enzimáticas características.

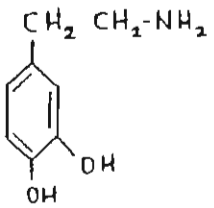
Los péptidos neurotransmisores se sintetizan como todas las proteínas, mediante la activación de genes específicos siguiendo el esquema general de la síntesis proteica, que implica duplicación del DNA, activación de la RNA polimerasa, síntesis de RNAm y su translado al retículo endoplásmico para la síntesis de la proteína.

Una vez sintetizados, los NT son empacados en gránulos secretores que se almacenan en vesículas localizadas en las terminaciones nerviosas presinápticas, de donde se liberan en respuesta a un estímulo nervioso que permite la apertura de los canales iónicos, el ingreso de sodio o calcio a la célula y la salida de potasio, a la vez que se depolariza la membrana originando un cambio en la actividad eléctrica de la célula y un potencial eléctrico que se propaga y determina la liberación del neurotransmisor (86). Así, la liberación de los NTs es regulada por estimulos de tipo eléctrico, que se originan en señales del medio interno o externo y que pueden ser moduladas por hormonas esteroides como los estrógenos, la progesterona o los neuroesteroides.

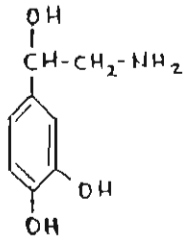
Una de las funciones más importantes de los NTs cerebrales, además de la comunicación interneuronal, es el control de la secreción de otros NTs o de las hormonas hipotalámicas, acción que requiere de la unión a receptores localizados en la membrana de la neuronas peptidérgicas desencadenando un mecanismo bioquímico complejo, en el que participan nucleótidos ciclicos como AMPc, GMPc o diacil glicerol e inositol trifosfato (87), compuestos que actúan como segundos mensajeros de la acción hormonal, iniciando una serie de reacciones de fosforilación por protein cinasas específicas, que culminan con la activación de enzimas, cambios en la permeablidad de la membrana, la liberación de otro neurotransmisor o de una hormona hipotalámica. (**Fig 8**).

De esta manera la información neuronal se convierte en una respuesta hormonal, que constituye las bases de la integración neuroendocrina

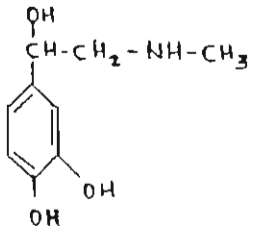
a) MONOAMINAS



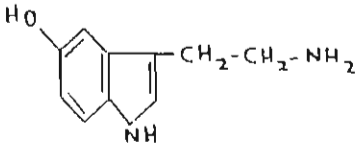
Dopamina



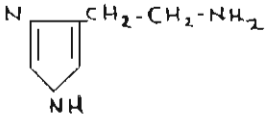
Norepinefrina



Epinefrina

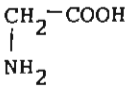


Serotonina

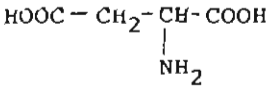


Histamina

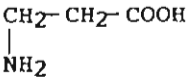
b) AMINOACIDOS



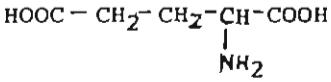
Glicina



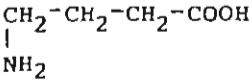
Ac. Aspártico



B Alanina



Ac. Glutámico



Ac. γ amino butírico

Fig.1 - Estructura química de los principales neurotransmisores cerebrales

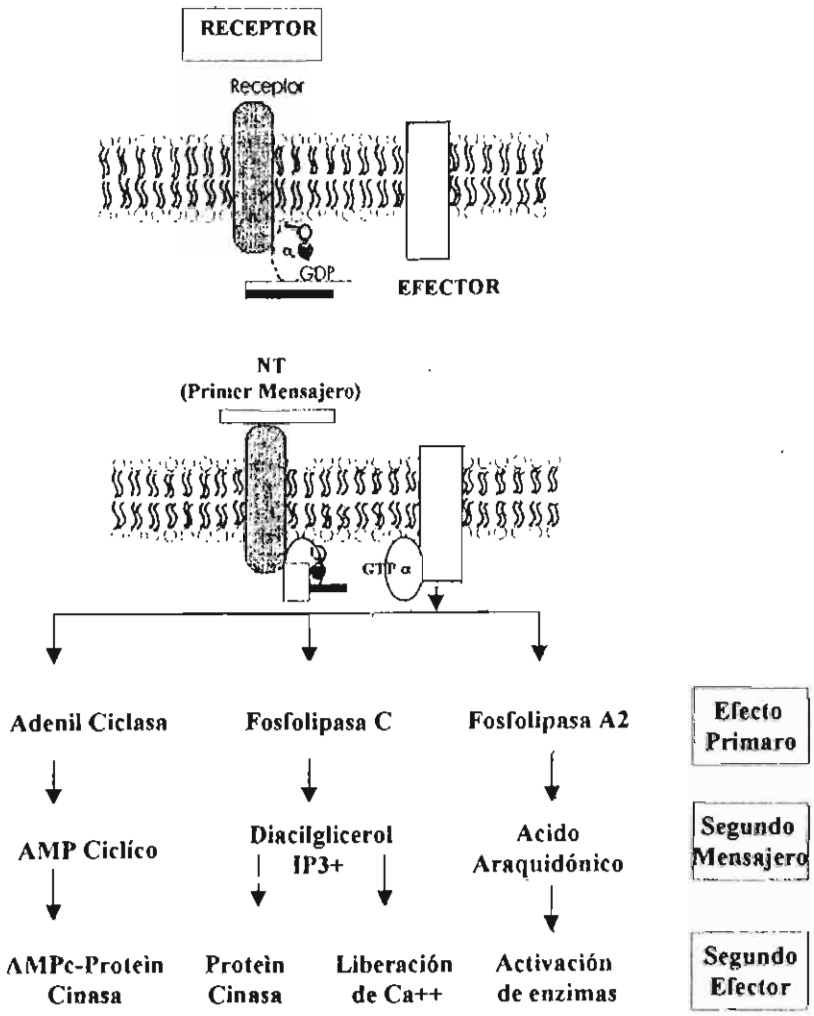
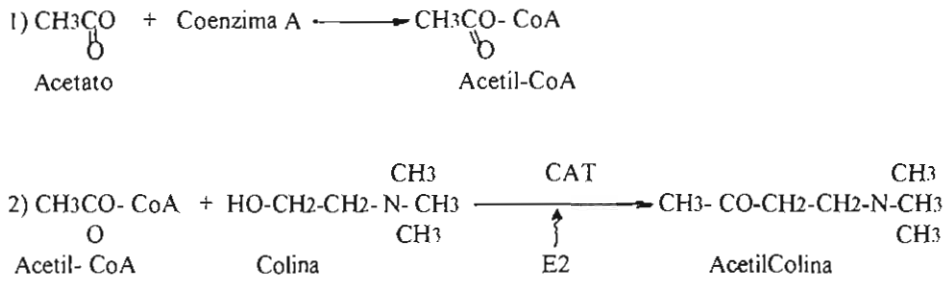


Fig. 8- Activación de receptores metabotrópicos por neurotransmisores (Nts)

Cuando un NT se une a su receptor, se modifica la estructura de la proteína G, la subunidad α se disocia de las subunidades β y γ; simultanemente GDP se transforma en GTP, compuesto que en presencia de un efector activa los sistemas enzimáticos de la Adenil ciclasa, la fosfolipasa C o la fosfolipasa A2 desencadenando una serie de reacciones en cascada que determinan la activación de protein cinasas, fosforilación de proteínas, liberación de Ca++ y cambios en la permeabilidad de la membrana y culminan con un efecto biológico.

4.2- Acetil colina.

La acetil colina (Ach) fue el primer mensajero químico identificado como neurotransmisor; tiene una acción selectiva sobre las terminaciones nerviosas simpáticas y parasimpáticas del sistema nervioso autónomo y del sistema nervioso central (88). La ACh se sintetiza en las neuronas colinérgicas a partir de colina y la acetil coenzima A (Acetil CoA) por la colina-acetil transferasa (CAT) enzima que une el acetato a la colina para sintetizar el neurotransmisor



La materia prima indispensable para la síntesis de ACh es la lecitina o fosfatidil colina proveniente de la dieta, que se degrada enzimáticamente liberando la colina, de tal manera que la disponibilidad de este precursor es la limitante de la biosíntesis (89).

La liberación de ACh de las neuronas colinérgicas, ocurre mediante la formación de un potencial eléctrico que depolariza la membrana y abre los canales iónicos permitiendo la liberación del neurotransmisor (**Fig.9**). La ACh actúa uniéndose a sus receptores a nivel pos-sináptico y es degradada en los espacios intersinápticos por acción de la acetilcolinesterasa, enzima que hidroliza la molécula produciendo acetato y colina la cual puede ser recapturada y nuevamente utilizada en la sintesis del NT (88).

Receptores de Acetil colina.

En la acción de la ACh participan dos tipos de receptores: *muscarínicos y nicotínicos* que deben su nombre a que son estimulados por la muscarina y la nicotina respectivamente

Los *receptores nicotínicos* se localizan en los nervios simpáticos del sistema nervioso autónomo donde estimulan la liberación de NE y en la médula suprarrenal donde Ach induce la liberación de adrenalina principalmente, hormona que pasa directamente al torrente circulatorio para ejercer importantes funciones metabólicas, mientras que en el sistema nervioso parasimpático, el NT liberado es la misma Ach, que actua en la unión neuromuscular activando receptores nicotinicos.

Los *receptores muscarínicos* reconocen especificamente a la muscarina, de ahí su nombre, y su unión produce los efectos clásicos de la estimulación parasimpática que en condiciones fisiológicas ocurre durante el sueño

En el SNC se localizan los dos tipos de receptores de Ach; participan en los mecanismos que regulan el aprendizaje, la memoria, el lenguaje, la función cognoscitiva, y la función motora, por lo que el uso de drogas anticolinérgicas puede interferir con la memoria reciente, provocar problemas de lenguaje y un cuadro similar al observado en la demencia senil o la enfermedad de Alzheimer (90).

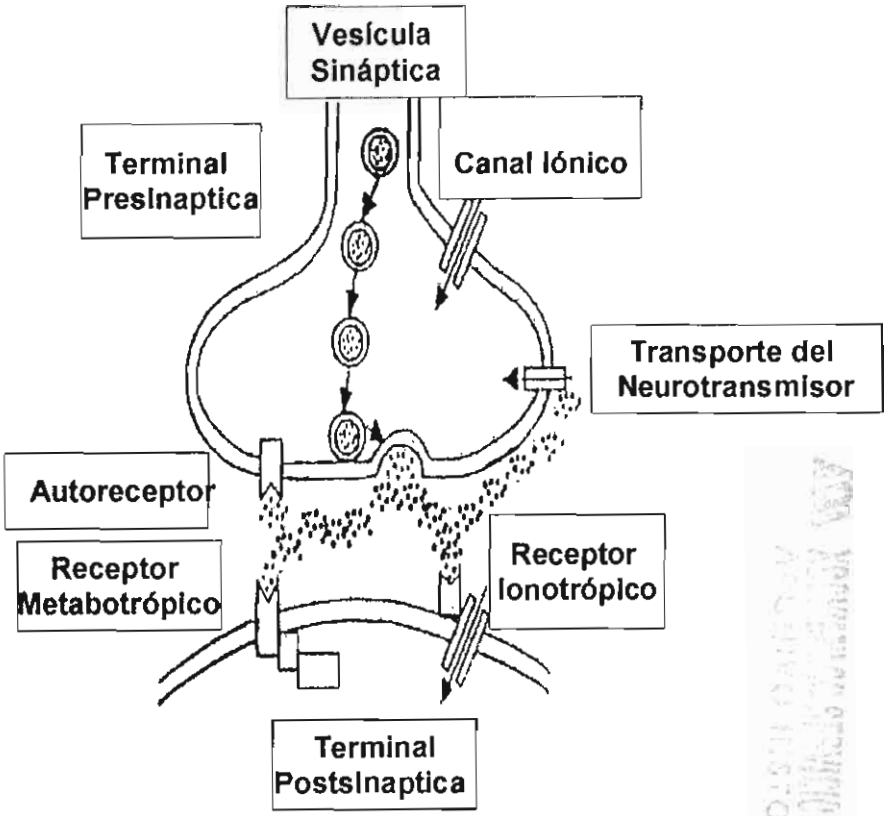


Fig. 9- Liberación de Acetil colina (Ach) por exocitosis
Ach liberada de las vesículas sinápticas puede interaccionar con autoreceptores presinápticos para inducir su propia liberación o con receptores metabotrópicos o ionotrópicos a nivel postsináptico.

Los estrógenos incrementan la síntesis de ACh activando la CAT enzima responsable de la biosíntesis (91) y regulan los receptores muscarínicos (92). Un estudio reciente en ratas mostró que después de practicarles ooforectomía, se reducía drásticamente la captación de colina en la corteza frontal y en el hipocampo, disminuía la actividad de CAT y la síntesis de ACh, cambios que revertían al administrar estrógenos (93); por otra parte, en los animales viejos se observa una notable disminución de las sinapsis y una drástica disminución de CAT, de la acetilcolinesterasa y de los receptores muscarínicos (94). Estas observaciones indican, que la pérdida de conecciones entre las neuronas y la disminución de Ach y sus receptores con la edad, es secundaria a la deficiencia estrogénica, señalando una estrecha asociación entre el déficit colinérgico y la concentración de estrógenos.

Catecolaminas.

Las catecolaminas son neurotransmisores que incluyen a la noradrenalina llamada también norepinefrina (NE), la adrenalina (A) y la dopamina (DA). El nombre genérico de catecolaminas se debe a que tienen un anillo aromático con dos oxhidrilos en posición orto, lo que se conoce como anillo catecol. Las tres catecolaminas se producen en circuitos neuronales separados y cada sistema es anatómica y funcionalmente diferente; sin embargo, se sintetizan a partir de un precursor común que es la fenilalanina o la tirosina de la dieta, por la misma vía biosintética. La tirosina pór acción de *la tirosina hidroxilasa* (TH) se convierte en dihidroxifenilalanina o L-dopa, compuesto que es descarboxilada para formar 3 hidroxitiramina, más conocida como Dopamina. En las neuronas noradrenérgicas la dopamina es transformada por la *dopamina B-hidroxilasa* en NA el producto final de la biosíntesis, mientras que en las neuronas adrenérgicas la NA es transformada en A por acción de *la N-metil transferasa* (**Fig 10**).

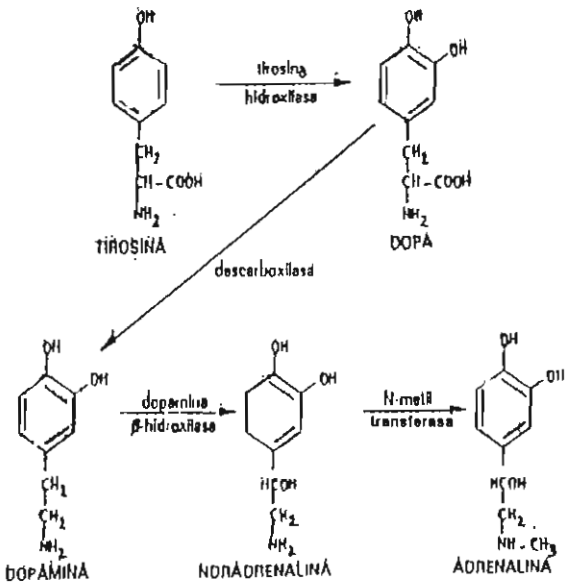


Fig. 10. BIOSINTESIS DE CATECOLAMINAS.

Las catecolaminas son inactivadas por enzimas catabólicas como *la monoamino oxidasa* (MAO) que efectúa el catabolismo intraneuronal de las aminas produciendo metabolitos de carácter ácido, y por la *catecol O-metil transferasa* (COMT) enzima que actua en el espacio interneuronal transformando la NA en su derivado metilado, la normetanefrina . La acción conjunta de las dos enzimas produce el ácido vanillin mandélico (VMA) a partir de A y NA, y ácido homovanillico (HVA) en el caso de la DA, metabolitos que son eliminados en la orina **(Fig 11).**

Los estrógenos tienen semejanza estructural con las catecolaminas y pueden ser sustratos de la TH bloqueando la biosíntesis y formando catecol estrógenos como el 2 hidroxi- estradiol (95). La reacción de hidroxilación de los estrógenos en el SNC por acción de la TH, es un fenómeno que ocurre normalmente, cuando la concentración de los estrógenos es elevada, ya que la enzima tiene mayor afinidad por el E2 que por la misma tirosina (96). Por otra parte, cuando los catecol estrógenos se acumulan, pueden ser utilizados como sustratos de la COMT formando metoxi estrógenos e impidiendo la inactivación de NE, lo que permite una mayor disponibilidad del neurotransmisor **(Fig12)**. La interacción de los estrógenos con las enzimas que participan en el metabolismo de estas aminas, es uno de los mecanismos de regulación más eficientes para el control de las catecolaminas a nivel pos-psináptico, incrementando la concentración de NE disponible para interactuar con los receptores (97).

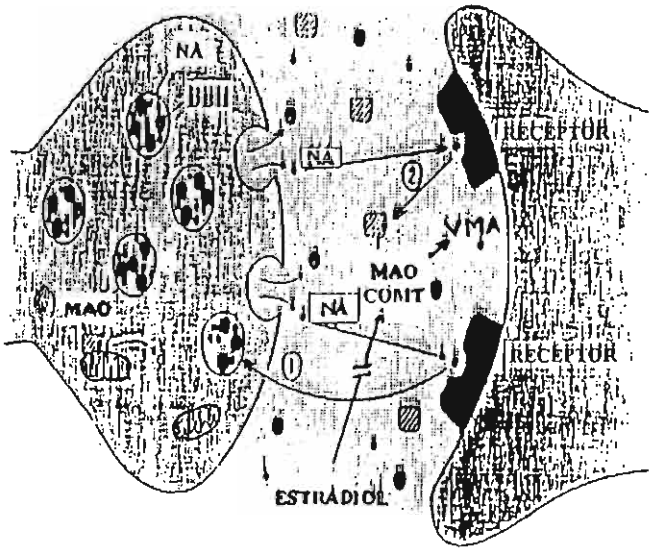


Fig.11- Metabolismo de las catecolaminas a nivel intraneuronal y en el espacio inter-sináptico.

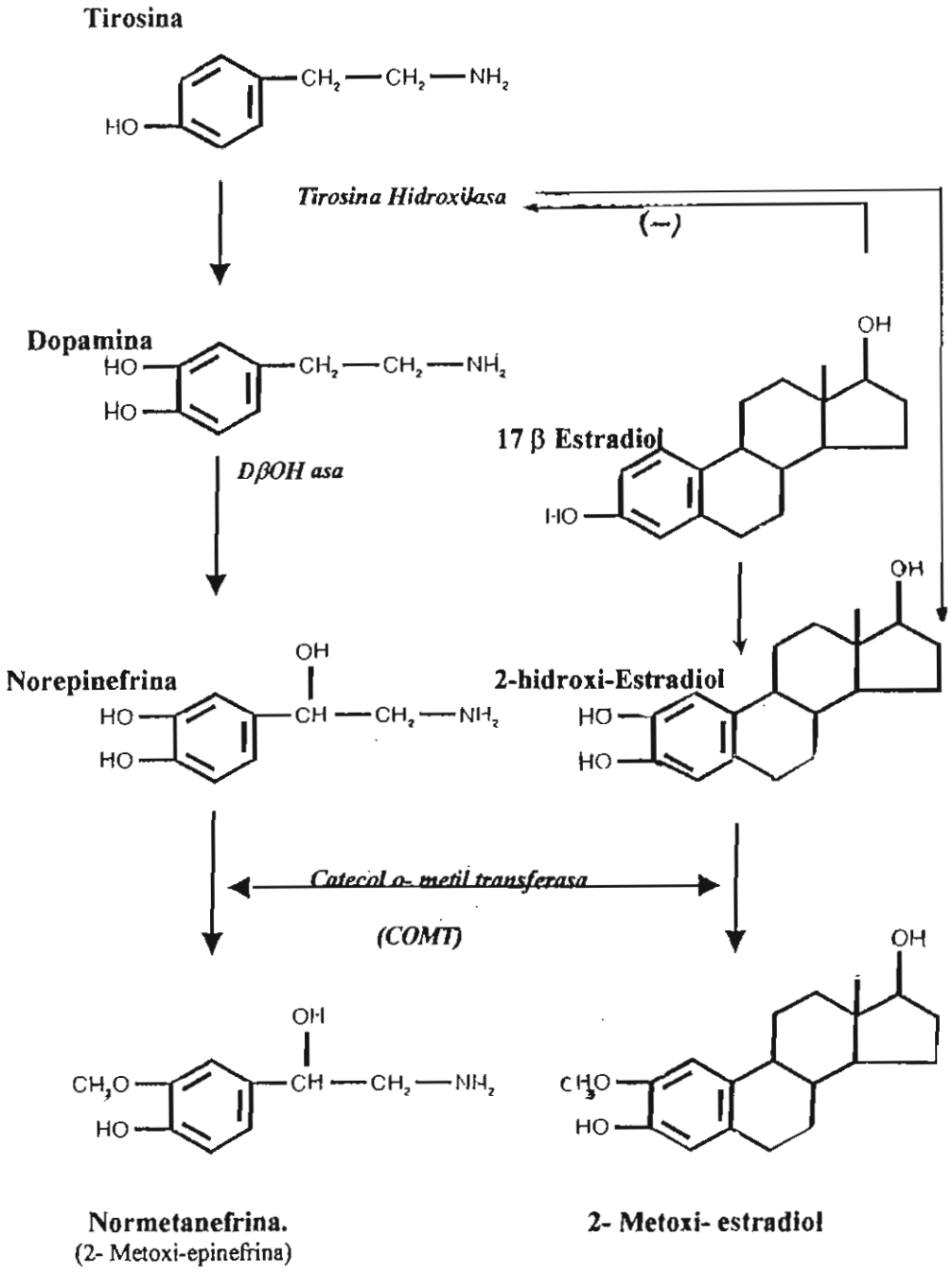


Fig.12. Interferencia de 17β E2 en el metabolismo de las catecolaminas mediante la formación de catecol estrógenos.

Norepinefrina.-

La noradrenalina o norepinefrina es uno de los Nts más importantes a nivel cerebral,ejerce su acción por unión a dos tipos de receptores denominados α y β adrenérgicos. El tipo de receptor en las terminales noradrenérgicas puede variar dependiendo del tejido y también su afinidad, por lo que se clasifican tomando como base la respuesta que presentan frente a drogas que funcionan como agonistas o antagonistas de las catecolaminas. Los receptores α adrenérgicos son más sensibles a la acción de NE y la fenilefrina y menos a la isoprenalina; en cambio los β adrenérgicos responden mejor a la isoprenalina y en menor grado a la NA y la fenilefrina.

Los receptores α adrenérgicos se localizan en los vasos sanguineos donde provocan vasocostricción; de manera similar, favorecen la contracción del músculo liso del tracto gastrointestinal, los esfinteres y el sistema genito-urinario. *Los receptores β adrenérgicos* en el corazón estimulan la velocidad y fuerza de la contracción, en los vasos sanguíneos determinan vasodilatación, así como en los bronquios, el aparato gastrointestinal y el genitourinario, mediando la relajación de la vejiga y el útero. Los receptores β participan también en las acciones metabólicas de las catecolaminas como la glucogenolísis , la lipolísis y la supresión de la secreción de insulina, que se llevan al cabo en el higado, los adipocitos y el páncreas respectivamente (98). En su mecanismo de acción, los receptores β adrenérgicos están intimamente ligados a proteínas G y al sistema enzimático de la adenilato ciclasa, incrementando la producción de AMPc; en cambio los receptores alfa adrenérgicos la disminuyen (99).

Por autoradiografía con E2 tritiado se ha encontrado, que las regiones cerebrales con actividad noradrenérgica tienen gran número de receptores estrogénicos y que su distribución muestra diferencias con relación al sexo (100). La más densa inervación noradrenérgica, se localiza en la eminencia media (EM), el area preóptica (APO) y el núcleo arcuato (AN) áreas conocidas como zona hipofisiotrópica, por ser donde se concentran las hormonas hipotalámicas que regulan la secreción hipofisaria. Otras áreas noradrenérgicas marcadas por estrógenos son la amígdala y otras estructuras del sistema límbico, relacionados al control de las emociones, así como el tracto solitario, el núcleo basal dorsal y el nucleo parvocelular, que se relacionan con la actividad cardiovascular y el control de la presión arterial (97).

Dopamina.

Durante un tiempo se consideró que la dopamina (DA) solo era un metabolito intermediario en la biosíntesis de NE; sin embargo, con técnicas inmunocitoquimicas especificas para la identificacion de las diferentes aminas se ha demostrado, que la distribución neuronal de DA y NA es distinta Más del 50% de las neuronas del SNC que producen catecolaminas son neuronas dopaminérgicas que se localizan en el núcleo arcuato y el núcleo paraventricular regulando la secreción hormonal, además en el núcleo auditivo, el tubérculo olfatorio, la amígdala, la eminencia media, y algunas zonas de la corteza frontal (101).

La DA también se encuentra en algunos ganglios simpáticos, en el aparato gastrointestinal en el músculo liso del intestino, en las arterias mesentérica y renal, así como en las glándulas salivales. Los receptores dopaminérgieos son especificos y no responden a NA ni a los bloqueadores alfa o beta adrenérgicos.

La DA al igual que la NA se sintetiza a partir de L-tirosina por la misma vía metabólica, siendo la limitante de la biosíntesis la tirosina hidroxilasa (TH) enzima que se expresa en el sistema dopaminérgico tubero-infundibular por efecto de estrógenos. La enzima se inhibe cuando la concentración intraneuronal de DA está elevada, en cambio si se administra L-Dopa, se acelera la biosíntesis (102). Su catabolismo similar al de la NA, se realiza en el interior de las neuronas por la MAO y en el espacio interneuronal por la acción de la COMT y la acción consecutiva de las dos enzimas, convierte a la DA en Ac. Homovanílico (HVA), principal metabolito eliminado en la orina
Las neuronas dopaminérgicas se distribuyen en tres ejes neuronales anatómica, funcional y morfológicamente distintos :

-Vía nigro estriada - Está formada por neuronas de la substancia nigra pars compacta en el cerebro medio. Estas neuronas tienen largas prolongaciones que terminan en el núcleo caudado y el putamen, áreas cerebrales relacionadas a la integración de los estímulos sensoriales, la coordinación de la función motora y el control de los movimientos.
Esta vía dopaminérgica es parte del sistema extrapiramidal de los ganglios basales y las lesiones en esta región producen alteraciones del movimiento. De manera similar, la pérdida de neuronas o el bloqueo de esta vía producen alteraciones de tipo parkinsoniano (103).

- Sistema mesolímbico. Las neuronas dopaminérgicas que se localizan en el área límbica emiten prolongaciones nerviosas que terminan en el núcleo caudado, el núcleo acumbens, el tubérculo olfatorio, la amígdala, la corteza cingulata y la neocorteza, áreas cerebrales relacionadas con control de la conducta afectiva y las emociones. Alteraciones en esta región se han relacionado con esquizofrenia y depresión (104)

-Sistema tubero-infundibular dopaminérgico. Se localiza en el núcleo arcuato y el núcleo periventricular del hipotálamo medio y a diferencia de las dos vías anteriores se caracteriza por tener axones cortos que terminan en la eminencia media muy cerca del plexo capilar primario del sistema venoso porta hipofisario La DA liberada de estas neuronas es transportada por el sistema venoso hasta la adenohipófisis donde ejerce una acción inhibidora de la secreción hormonal, en especial de TSH, PRL y gonadotropinas (105).

Receptores dopaminérgicos.
En la actualidad se han identificado varios receptores de DA que constituyen un sistema complejo, aún no bién entendido. Entre ellos se han caracterizado dos tipos de receptores. un receptor denominado D1 que al unirse a la DA estimula el sistema enzimático de la adenilato ciclasa e incrementa la concentración de AMPc. El otro es el receptor D2 que se une a la DA y sus agonistas inhibiendo la adenilato ciclasa (106, 107).
El receptor D2 se localiza en la parte anterior y en la parte intermedia de la hipófisis, en el cuerpo estriado y en las estructuras mesolimbicas, demostrándose que su síntesis es inducida por E2 (108). Su activación determina la inhibición de la adenilato ciclasa y de la fosfolipasa C, la apertura de los canales de Ca^{++} e hiperpolarización de la neurona .
En el lactotropo, la activación del receptor D2 inhibe la formación de AMPc y la liberación de prolactina (PRL) de ahí que se considere a la DA como el factor inhibidor de PRL (109).

La activación de este receptor es importante para la retroalimentación negativa que ejercen los estrógenos a nivel hipotalámico. Dado que las neuronas que producen Gn-RH no poseen receptores para E2 (23), la retroalimentación se ejerce a través de un incremento en la actividad dopaminérgica Por el contrario la elevación de LH a la mitad del ciclo es favorecida por la inhibición del sistema dopaminérgico como consecuencia de la elevación de los estrógenos, lo que favorece el incremento de PRL (110). Además de estas acciones que se ejercen en la adenohipófisis, la DA en el lóbulo intermedio de la hipófisis modula la liberación de la hormona estimulante de los melanocitos (MSH) y de las B endorfinas .
El sistema dopaminérgico de la región mesolimbica, participa en el control de la conducta afectiva y las emociones Alteraciones del sistema dopaminérgico en esta región determinan cambios de conducta, que pueden variar desde simples estados depresivos hasta la esquizofrenia (111) Por otra parte, durante el proceso de envejecimiento se presenta una pérdida progresiva de la actividad dopaminérgica, con decremento de la actividad motora, afectando la velocidad, el equilibrio, la fuerza de la contracción y la coordinación muscular. Datos acumulados en los últimos años indican que este deterioro psicomotor y la falta de coordinación de los movimientos en la senectud, son consecuencia de la disminución de los receptores D2 en el sistema nigro-estriado, receptores que como se mencionó anteriormente, se sintetizan por efecto de estrógenos (112).

4.4- Serotonina.

La 5 hídroxi triptamina o serotonina (S) es una amina biogénica detectada por primera vez en el suero, de ahí su nombre, sin embargo se le encuentra en mayor concentración en las plaquetas. Posteriormente se identificó en el intestino por lo que se le conoce también como enteramina y más tarde en el encéfalo
Las neuronas triptaminérgicas se localizan principalmente en el núcleo del rafé, proyectándose hacia el tallo cerebral, la médula espinal, el sistema límbico y las regiones corticales, con aferentes triptaminérgicas en el núcleo supraquiasmático, en el cuerpo geniculado y la amígdala (113). La S se sintetiza por una vía similar a la de las catecolaminas, a partir de L-triptofano, aminoácido aromático que es hidroxilado por la triptofano hidroxilasa (TH) produciendo 5-hidroxi-triptofano compuesto que de inmediato se descarboxila generando S **(Fig.13).** La TH es una enzima con elevada concentración en el citoplasma de las neuronas serotoninérgicas, de manera que la limitante de la biosíntesis es la cantidad de triptofano en la dieta. El triptofano es captado activamente de la circulación, mediante su unión a una proteína transportadora que permite el paso del aminoácido al interior de la neurona; este proceso de transporte puede ser inhibido por concentraciones elevadas de aminoácidos neutros como glicina y fenilalanina o por drogas que se unen al transportador de S bloqueando la captación (114). Una vez producida, la S se almacena en gránulos de donde se libera en respuesta a estímulos que determinan la depolarización de la membrana y la liberación del neurotransmisor
La S desempeña importantes funciones entre las que destacan el control de la secreción de las hormonas hipotalámicas como CRF, somatostatina, DA y beta endorfinas (115) y en consecuencia de hormonas hipofisarias como ACTH, GH y PRL

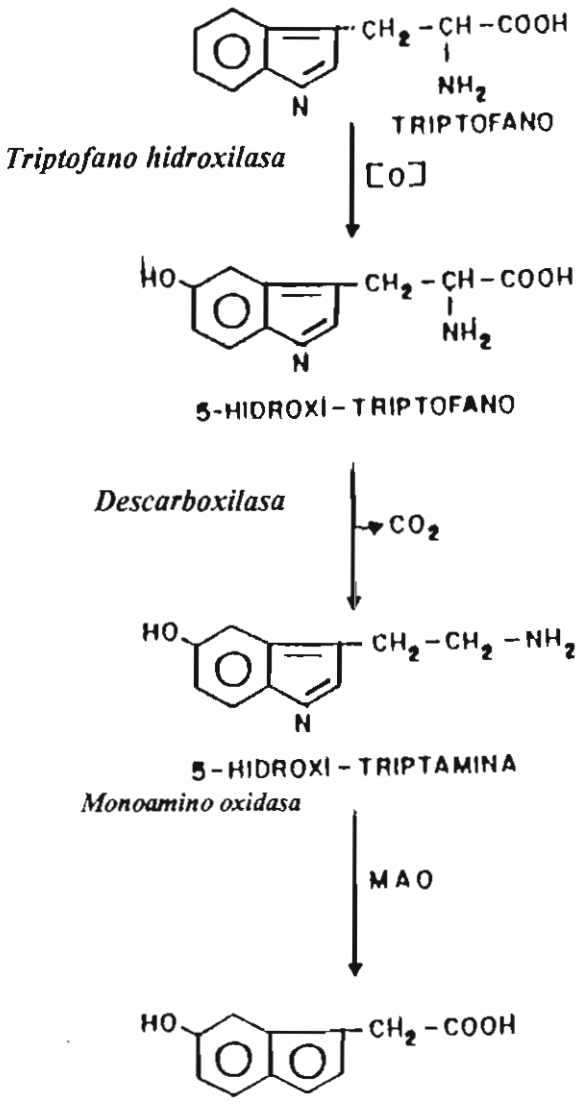


Fig.13.- Sintesis de serotonina (5OH-Triptamina) y su degradación por la MAO formando el AC. 5 OHI A

La S participa en el control de la función reproductora, en procesos fisiológicos tan importantes como la pubertad, el desarrollo sexual, el ciclo menstrual y la ovulación (116,117) y junto con otros neurotransmisores (ACh, NE y GABA) en el mantenimiento de los ritmos circadianos, proceso en el que la S desempeña un papel central (120).
Es importante además, en el control de la temperatura, el apetito y el sueño (121), junto con la DA en la regulación de la actividad extrapiramidal, además de participar con CRF, ACTH y cortisol en la regulación del sistema inmune. La S tiene un efecto inhibitorio sobre aferencias visuales y sensoriales, lo que parece explicar los efectos alucinógenos que ocurren por el uso de drogas antiserotoninérgicas. A nivel periférico la S regula la motilidad y el transporte de fluidos en el intestino, la actividad de las plaquetas, la agregación plaquetaria, la fagocitosis y la citotoxicidad de los linfocitos (122).
Su acción se manifiesta por unión a diferentes tipos de receptores, sin embargo, el estudio y la clasificación de los receptores de la 5-HT no ha sido fácil y aún es motivo de investigación Se han identificado por lo menos cuatro diferentes receptores denominados 5HT1, 5HT2, 5HT3 y 5HT4, conociéndose algunos subtipos del receptor 5HT1 (1a, 1b, 1c y 1d). Los diferentes tipos y subtipos de receptores han sido identificados en base a las características de su unión frente a ligandos que utilizan diferentes mensajeros intracelulares y emiten diferentes señales, lo que hace muy versátil y compleja las acciones de la S a nivel intracelular (123). Los receptores 5HT1 a, b y d asi como los 5HT4 son receptores metabotrópicos que actúan a través de su unión a proteinas G, activando o inhibiendo a la adenilato ciclasa y alterando los niveles de AMPc en la célula. Los receptores 5HT 1c y los 5HT2 estimulan la fosfolipasa C, catalizando la hidrólisis del fosfatidil inositol bifosfato, formando trifosfato de inositol (IP3) que actúa como segundo mensajero. En cambio los receptores 5HT3 estan unidos a canales iónicos, promueven la depolarización de la membrana y respuestas rápidas (124) Dependiendo del tipo de receptor, la S puede activar uno u otro mecanismo
Los estrógenos modulan los receptores de S en algunas áreas cerebrales, en especial los receptores 5HT1.Por efecto de E2, la densidad de los receptores serotoninérgicos se incrementa significativamente en el hipotálamo anterior, el area preóptica, el septum lateral, el núcleo arcuato y la eminencia media, áreas donde la actividad serotoninérgica se relaciona a los mecanismos de secreción hormonal y el control de la ovulación, detectándose cambios en el número de receptores, en las diferentes fases del ciclo estral de la rata. La captación de 5HT se incrementa en el proestro, coincidiendo con la elevación de los estrógenos (125) .

Serotonina y los ritmos circadianos

El patrón de la actividad serotoninérgica en las diferentes áreas del cerebro no es igual. En estudios en ratas se ha observado que en el hipotálamo, el núcleo del rafé y la substancia nigra, áreas influenciadas por la presencia de estrógenos, el ritmo de secreción de la S se caracteriza por ser un ritmo diurno, con un recambio rápido durante la fase de luz, mientras que el recambio es lento durante la noche Este ritmo se invierte en ausencia de estrógenos, como se ha podido observar en ratas ooforectomizadas que tienen un recambio de S lento durante el día, en comparación con la noche (126)

La importancia de los estrógenos en el mantenimiento de los ritmos circadianos ha sido comprobada por estudios que muestran que la disminución de estrógenos a la menopausia y el envejecimiento se asocia a cambios en los ritmos de S, NA y melatonina, lo que a su vez determina alteraciones en los ritmos circadianos de GH, PRL, ACTH y cortisol (127)
Otro hecho interesante son los cambios observados en los patrones del sueño durante el ciclo menstrual, en el síndrome premenstrual y en mujeres posmenopáusicas con alteraciones emocionales (128), así como en mujeres con hipogonadismo, efecto que puede ser revertido por la aplicación de estrógenos (129).
Los cambios en los patrones del sueño, en diversas situaciones clínicas ponen de manifiesto la importancia de los esteroides para el nivel de S y la regulación de los ritmos circadianos. A la menopausia el sueño disminuye y es más ligero, con tendencia al insomnio; después de tratamiento con estrógenos, estas alteraciones se corrigen, a la vez que se recuperan los ritmos circadianos de S y cortisol (130)

4.5 - Beta Endorfinas (βE)

Las beta-endorfinas pertenecen a una familia de neuropéptidos caracterizados por presentar propiedades similares a los opioides (drogas derivadas del opio) y reaccionar con sus receptores. Existen por lo menos tres familias de opioides endógenos: 1) la familia de las endorfinas 2) las encefalinas y 3) las dinorfinas o neo-endorfinas. Cada una de ellas tiene una localización y distribución diferente, así como características propias (131).
Las endorfinas se originan en neuronas del núcleo arcuato del hipotálamo y emiten prolongaciones que se extienden hacia otras áreas del SNC y la adenohipófisis. Estos péptidos se encuentran formando parte de la estructura de un gran polipéptido denominado pro-opiomelanocortina (POMC), que contiene a la α-MSH, la ACTH y la beta lipotropina (β-LPH). Este último es un polipéptido hipofisario de 91 aminoácidos que no tiene actividad opioide; de él derivan tres péptidos con elevada homología denominados endorfinas: la α endorfina (β-LPH 61-76), la β-endorfina (β- LPH 61-91) y la gama endorfina (γ LPH 61-77). En la adenohipófisis, las endorfinas se sintetizan como parte de la POMC **(Fig.14)** y son liberadas en respuesta al estrés, a las agresiones o por estímulos que provocan la secreción de ACTH (132) Las β- endorfinas se caracterizan por tener una acción depresora en el SNC y un efecto analgésico similar al de los opiodes. Son importantes en los mecanismos que regulan el sueño, produciendo embotamiento y somnolencia y junto con ACTH y αMSH participan en la regulación de la temperatura corporal; además modulan funciones cognocitivas como el aprendizaje y la memoria. Sus principales efectos sobre el SNC incluyen analgesia, somnolencia y alteraciones del estado de ánimo, produciendo euforia, mientras que la disminución de la actividad opioide se relaciona a trastornos de la conducta como melancolía, tristeza, sensación de malestar, cuadros neuróticos y depresión (133)

Receptores Opiodes.

La acción de la βE se debe a la interacción con diferentes tipos de receptores que constituyen un sistema complejo y que se distribuyen prácticamente en las mismas áreas donde se producen los opioides

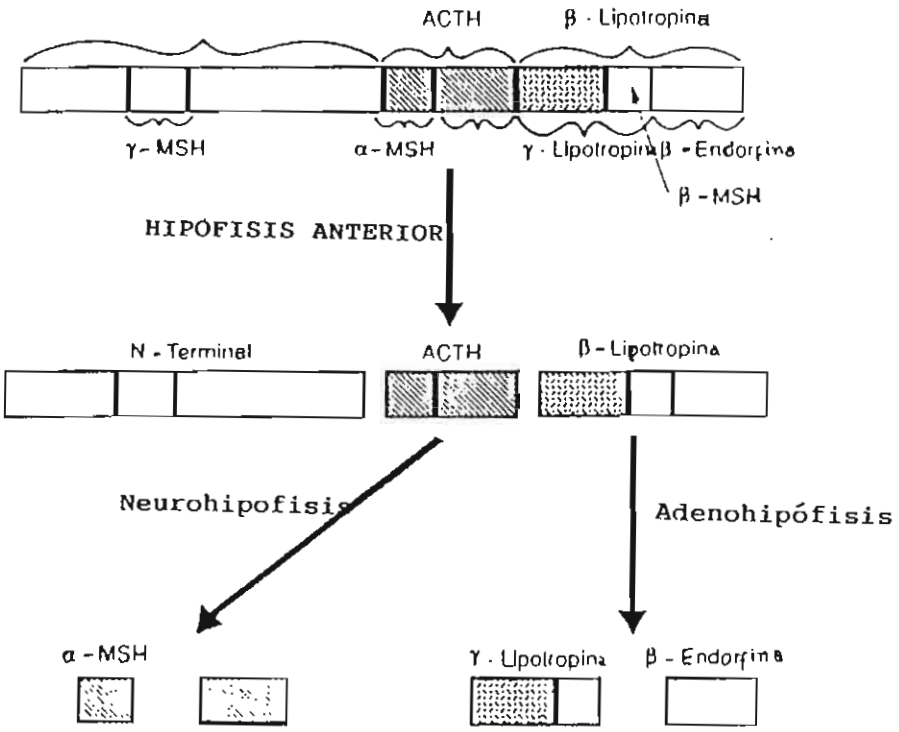


Fig. 14
Estructura de la pro-opiomelanocortina y su procesamiento en la hipófisis

Los receptores de las encefalinas se localizan en el hipotálamo y el sistema límbico participando en los mecanismos que controlan las emociones; los receptores de las β endorfinas en el hipotálamo y la hipófisis, tienen como función principal regular la secreción de las hormonas adenohipofisarias, el control del dolor y la conducta afectiva (134). Los receptores de las dinorfinas predominan en la neurohipófisis donde participan en el mecanismo que regula la secreción de oxitocina y vasopresina. A la fecha se han caracterizado diferentes tipos de receptores opiodes, en base a la reactividad que presentan frente a la morfina así como por su sensibilidad frente a la naloxona, antagonista opiode que ha sido de gran utilidad para la clasificación de estos receptores (135).
Los llamados receptores "μ" reconocen especificamente a la morfina y sus efectos pueden ser revertidos por la naloxona. Los receptores epsilon (ε) son especialmente sensibles a las β endorfinas a las que unen con elevada afinidad y también son bloqueados por la naloxona, en cambio los receptores delta (δ) sensibles a las encefalinas, no reconocen a la morfina y son resistentes a la acción de la naloxona. Otro tipo de receptores opiodes presentes en la neurohipófisis, son los denominados receptores kappa (κ) que reconocen selectivamente a las dinorfinas, compuestos considerados como sus ligandos endógenos naturales también son resistentes a la acción de la naloxona (136) .
La acción de los receptores opiodes sobre la secreción hormonal, es generalmente de tipo inhibitorio; inhiben la secreción de las hormonas hipotalámicas como Gn-RH, CRH y TRH y hormonas hipofisarias como LH, ACTH y TSH. Sin duda una de sus funciones más importantes es el control de la liberación de Gn-RH, acción que ejercen a través de la regulación de neurotransmisores como NA, DA y S que son regulados negativamente por los opiodes, participando asi en el mecanismo que regula la ovulación (137). En el humano, la administración de β-endorfinas produce elevación de la concentración de PRL y disminución de LH (138), mientras que la administración de naloxona antagonista opióide, aumenta los niveles de LH y disminuye la concentración de ACTH y cortisol. El incremento de PRL por la acción opioide se ejerce a nivel hipotalámico suprimiendo la liberación de DA, por lo que en la hiperprolactinemia puede estar aumentado el tono opioide y disminuida la actividad dopaminérgica. Por otra parte, el hipogonadismo hipogonadotrópico puede ser consecuencia de un marcado efecto inhibidor sobre Gn-RH por la hiperactividad conjunta del sistema opiode y el sistema dopaminérgico (139).
La aplicación de técnicas inmunocitoquímicas al estudio de las vías opiodes mostró que este sistema es regulado por estrógenos; la densidad de las fibras inmunoreactivas para beta-endorfinas en el área preóptica, se modifican en las diferentes fases del ciclo estral de los roedores, mostrando una elevada dependencia de la concentración de las hormonas gonadales (140). Las neuronas opiodes del núcleo arcuato, contienen receptores para estrógenos y por estimulo estrogénico sintetizan proopiomelanocortina (POMC), polipéptido que es procesado en la hipófisis liberando αMSH, ACTH y β lipotropinas de la cual derivan las B-endorfinas, encontrándose que la concentración del RNAm de la POMC se modifica en función del nivel de los estrógenos (141). En ratas ooforectomizadas, los estrógenos incrementan el número de neuronas opiodes e inducen la expresión del gen de la POMC después de iniciado el tratamiento A la menopausia, la disminución de los estrógenos ocasiona una notable disminución de la actividad opioide, en especial de la βE produciendo alteraciones del sueño y cambios en la temperatura corporal (142). Así, los estrógenos son importantes reguladores de la actividad opiode.

5- LA MENOPAUSIA.

El climaterio constituye el período final de la etapa reproductiva de la mujer, abarca de los 45-60 años aproximadamente, se inicia con la premenopausia, 3-5 años antes de que se presente la menopausia y se prolonga varios años después. Es el resultado del cese definitivo de la función cíclica de los ovarios al agotarse los folículos, razón por la que ya no se sintetizan estrógenos ni ocurre la ovulación. Una de las primeras manifestaciones en la perimenopausia son los cambios en la longitud del ciclo menstrual, con una fase folicular normal o ligeramente prolongada y una fase lutea corta, consecuencia de la elevación moderada de la concentración de FSH, como reflejo de una alteración temprana en el mecanismo de retroalimentación, por la disminución de los estrógenos y la inhibina. Cuando la disfunción se hace más evidente, la producción de estradiol es insuficiente para ejercer el efecto positivo sobre la secreción de LH a la mitad del ciclo y falla la ovulación (143).
En esta etapa, los ciclos son en su mayoría anovulatorios y por lo general se acompañan de irregularidades menstruales, hasta que finalmente se presenta la menopausia, que está determinada por la fecha de la última menstruación y puede establecerse solo en forma retrospectiva, cuando ha transcurrido un año sin que se presente el sangrado menstrual A la menopausia los niveles de estrógenos son muy bajos (E2 < 30pg/mL) y la concentración de las gonadotropinas hipofisarias elevada, en especial FSH que presenta cifras superiores a 50mUI/mL (144). En la posmenopausia aunque el ovario continúa produciendo cierta cantidad de andrógenos (androstendiona y testosterona) estos no pueden ser aromatizados, casi no se produce E2 y el estrógeno predominante es la estrona (E1) formada no en el ovario, sino por conversión periférica de la androstendiona de origen suprarrenal. La citocromo P 450 aromatasa (CYP 450 A) enzima responsable de transformar la androstendiona a E1, está presente en las células del tejido adiposo, que son muy activas en la síntesis de E1, por lo que es el estrógeno predominante en la menopausia. La E1 se encuentra conjugada como sulfato, por lo que su acción biológica es baja (145).

Coincidiendo con los cambios endocrinos del climaterio se presentan cambios fisiológicos en diversos órganos y sistemas con síntomas típicos de deficiencia estrogénica en los tejidos efectores de los estrógenos como son: los genitales externos, la vagina, el útero, la glándula mamaria, y la piel entre otros (146) También se presentan una serie de trastornos disfuncionales y alteraciones metabólicas entre las que destacan la osteoporosis que es causa de osteoaltralgias y predispone a las fracturas (147), dolores musculares (altralgias) y cambios en el metabolismo de lípidos, con incremento de los niveles de colesterol y lipoproteínas de baja densidad (LDL) mientras que las de alta densidad (HDL) disminuyen, favoreciendo el riesgo de ateroesclerosis, la enfermedad coronaria y los infartos del miocardio (148). Es común la aparición de un cuadro vasomotor, caracterizado por la presencia de bochornos, oleadas de calor y sudoraciones nocturnas, así como trastornos genito-urinarios como resequedad vaginal, dispauremia, incontinencia o urgencia urinaria (149) y cambios en el sistema inmunológico que se caracterizan por disminución de la respuesta inmune y de la producción de anticuerpos (150).

5.1-Alteraciones cerebrales a la menopausia.

Desde que Moos y Salomón publicaron en 1965 su original trabajo *"la mente, el cuerpo y la enfermedad"* ha habido una explosión de estudios y un gran avance en el conocimiento de la manera como la mente se comunica con el cuerpo para regular sus funciones, destacando que los cambios a nivel periférico, también repercuten en el funcionamiento cerebral, determinando alteraciones que pueden manifestarse por desórdenes de la conducta y enfermedades mentales.

En la actualidad se acepta que la menopausia constituye un síndrome muy complejo que no solo afecta al ovario y la producción de las hormonas sexuales, ya que la disminución de los estrógenos, por sus múltiples acciones, modifican la actividad funcional de numerosos órganos y sistemas, y no escapan a este efecto el hipotálamo, la hipófisis y las estructuras cerebrales. Después de la menopausia se observan, cambios en la morfología neuronal, falla de la transmisión nerviosa, desmielinización y pérdida de neuronas, alteraciones en la síntesis y metabolismo de los neurotransmisores, alteraciones en la secreción hormonal y en los ritmos circadianos y falla general de los mecanismos homeostáticos, lo que habla de la importancia de los estrógenos en el metabolismo cerebral y de su participación en la etiología de las alteraciones (151)

5.2- Manifestaciones Psico-afectivas

La deficiencia de estrógenos a la menopausia, determina además de los cambios bioquímicos y las alteraciones metabólicas mencionadas, cambios psico-emocionales, conductuales y afectivos. Entre estos trastornos destacan: irritabilidad, nerviosismo, excitabilidad, depresión, tristeza, crisis de llanto, tensión emocional, insomnio, sentimiento de soledad, infraestima, apatía, falta de concentración, dificultad para el aprendizaje, pérdida de la memoria y disminución de la libido. Algunos de estos síntomas pueden manifestarse desde una etapa temprana en la premenopausia y acentuarse después de la menopausia, coincidiendo con la notable disminución de las hormonas gonadales. Las alteraciones psico-emocionales y los cambios de conducta en mujeres menopaúsicas, se conocen desde hace mucho tiempo; sin embargo, aún existe controversia respecto a su origen, debido a que numerosos factores psicológicos y socioculturales pueden determinar la presencia y recurrencia de las enfermedades afectivas y solo recientemente se le ha considerado como una consecuencia de la deprivación de los estrógenos (152). En estadísticas recientes se ha imformado que las enfermedades psicoafectivas son tan frecuentes en la población general, como la enfermedad coronaria o el cáncer. Cerca de doce millones de personas en el continente americano sufren cambios de humor, disforias, angustia, depresión o son maniaco-depresivos, y de estos, las mujeres posmenopaúsicas representan un porcentaje importante (153)

El humor es un término, que en condiciones normales es sinónimo de sensación de bienestar; los desórdenes del humor, son referidos como *disforias*, siendo importante distinguir entre cambios de humor, disforia y verdadera depresión

La principal área anatómica relacionada con la regulación del humor es el sistema límbico incluyendo estructuras como la amígdala, el hipocampo, el girus solitario, los cuerpos mamilares, el tálamo y la corteza cingulata entre otras **(Fig.15)**

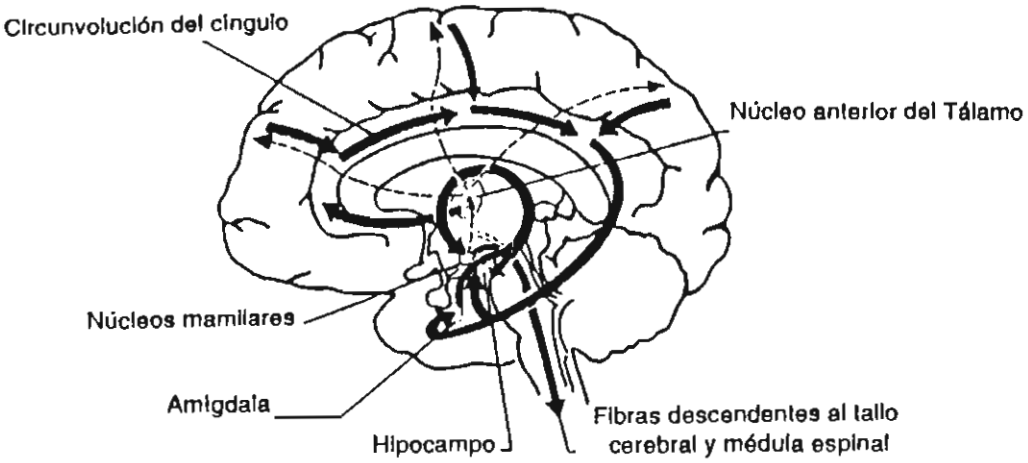


Fig 15 - Sistema Límbico

Estas estructuras interaccionan entre sí regulando las funciones cerebrales relacionadas al humor y las emociones, la sensación de placer, miedo, enojo etc. Los estrógenos actúan directamente en estas áreas, uniéndose a sus receptores sobre todo al REβ (47) que ha sido caracterizado en las estructuras límbicas **(Fig.15).** En apoyo al papel de los estrógenos en las alteraciones psico-emocionales de la menopausia, numerosos estudios clínicos han puesto de manifiesto que situaciones en las que ocurren cambios hormonales importantes favorecen los cambios de humor e incrementan la emotividad en las mujeres, sobre todo cuando ocurre una deficiencia estrogénica aguda o abrupta como en el posparto o la menopausia quirúrgica (155). En la actualidad se piensa que los cambios psicoemocionales a la menopausia, son condicionados por alteraciones en los NT cerebrales como consecuencia de la deficiencia de estrógenos (156)

La menopausia es un evento de gran trascendencia en la vida de la mujer, para muchas mujeres representa un periodo de crisis y por lo tanto requiere una respuesta de adaptación, que puede manifestarse por un cuadro de estrés que puede evolucionar a alteraciones psicológicas como ansiedad, depresión o ambas (157). Sin embargo, muchas mujeres atraviesan el climaterio sin alteraciones psicológicas importantes

5.2.1 ANSIEDAD

La ansiedad es un estado anímico por lo general transitorio, un estado emocional que se presenta en condiciones normales, como un mecanismo de defensa ante situaciones o sucesos desagradables e inesperados. Cuando la ansiedad se produce en exceso por la frecuencia, gravedad o duración del estimulo, puede llegar a comprometer el bienestar o la salud de los individuos Se le encuentra frecuentemente asociada a situaciones de estrés. La ansiedad puede considerarse como un sindrome constituido por una variada sintomatologia, entre la que se encuentran tres diferentes tipos de manifestaciones. somáticas, cognocitivas y afectivas

Alteraciones somáticas. Entre las más importantes se observan, cambios en la frecuencia cardiaca y la respiración, sensación de falta de aire, palpitaciones, taquicardia, vasoconstricción, incremento de la presión arterial, resequedad de boca y sudoración de variada intensidad, dependiendo del estimulo y la severidad del padecimiento.

Las alteraciones cognocitivas incluyen manifestaciones mediadas por una serie de procesos mentales intrínsecos, considerados negativos En este apartado se pueden incluir el temor, el miedo, crisis de pánico, inseguridad, falta de concentración, inquietud, tensión y nerviosismo.

Las afectivas se refieren a aquellas alteraciones que modifican la conducta y el estado emocional produciendo intranquilidad y desasosiego (158)

En algunos estudios se ha tratado de relacionar el ambiente hormonal, con los desórdenes psicológicos que cursan con ansiedad y aunque se pensaba que solo las determinaciones en líquido cefalo-raquídeo podían ser de utilidad, en la actualidad se acepta que los cambios hormonales a nivel periférico son útiles indicadores de lo que ocurre a nivel central. Esto se ha comprobado en estudios en los que se demuestra hiperactividad adrenérgica, con disminución del sistema serotoninérgico y un incremento moderado de las hormonas del eje suprarrenal (ACTH,cortisol), las hormonas tiroideas y la prolactina, coincidiendo con una disminución de las hormonas gonadales en pacientes con ansiedad (159). En otros estudios los pacientes con ansiedad tuvieron niveles elevados de norepinefrina (NE) con valores normales de adrenalina y una respuesta exagerada de la NE al ejercicio fisico, lo que indica hiperactividad del sistema nervioso autónomo (160). Es frecuente encontrar pacientes con ansiedad e hipertiroidimo, que también cursan con hiperactividad adrénergica, a lo que se debe la similitud en la sintomatologia de los pacientes tirotóxicos y los pacientes con ansiedad; en ambas se observa aumento del ritmo cardiaco, taquicardia, elevación de la presión arterial, dificultad para respirar y sudoración (161).

Los desórdenes de ansiedad son más frecuentes en la mujer que en el hombre: se presentan en la etapa premestrual, en el embarazo, el posparto, en la premenopausia y la menopausia, por lo que se piensa que los estrógenos y la progesterona tienen un papel en la etiología de la ansiedad (162). La ansiedad en la posmenopausia, aunque ha sido poco estudiada, no es rara, frecuentemente se relaciona a los cambios hormonales del climaterio, observándose que la angustia de los años premenopaúsicos, puede transformarse en depresión al llegar a la menopausia (163) Su estudio es importante porque cuando persiste la ansiedad, puede agudizarse durante la vejez, produciendo cuadros muy severos que llegan a constituir un problema familiar y social importante, siendo causa de muerte repentina por falla cardiaca, sobre todo en la mujer, aumentando también el riesgo de suicidio en los pacientes geriátricos (164).

5.2.2- DEPRESION

Los desórdenes de la conducta incluyendo depresión y manías, fueron descritos desde la época de Hipócrates, quien utilizó los términos de *melancolía y mania* para describir " las enfermedades de la substancia del cerebro" y no fue sino hasta el siglo XIX cuando se introdujo el término depresión.
La depresión se define como un estado anímico disfórico, displacentero, que cursa con apatia, desinterés por la mayoria de las cosas y pérdida de la capacidad para sentir placer. Por lo general se presenta con algunos de los siguientes síntomas. falta de apetito, pérdida de energía, pérdida de la libido, apatía, sentimiento inadecuado de culpa, retardo psicomotor, sensación de infelicidad, tristeza, crisis de llanto, estados de agitación e irritabilidad y hasta ideas suicidas en los casos de un trastorno depresivo mayor (165).
La depresión puede desencadenarse como resultado de una pérdida importante (como es la pérdida de la función ovárica a la menopausia, o la muerte de un ser querido) por experiencias negativas o como resultado de una enfermedad o una disfunción endocrina
El término *manía* implica un síndrome caracterizado por exageración de diversas actividades de la conducta con irritabilidad extrema que se alternan con euforia, enojo y respuestas inadecuadas asociadas a otros signos y síntomas (maniaco- depresivas). Se dice que el desorden es unipolar cuando solo se presenta depresión, sin actitudes de tipo maniaco y se habla de un desorden bipolar si se presentan ambas, mania y depresión (166). Generalmente el cuadro depresivo que se presenta en la menopausia es unipolar y raras veces se tienen actitudes maníacas. La depresión al igual que la ansiedad es más común en la mujer que en los hombres (3:1) y generalmente se presenta cuando el ambiente hormonal se modifica, como en la pubertad, el posparto y el climaterio (167).

Etiología de la depresión.
Papel de los neurotranmisores cerebrales.- Numerosas investigaciones realizadas en animales usando agonistas y antagonistas de neurotransmisores, han evidenciado la participación de los neurotransmisores en la etiología de la depresión.
Norepinefrina.-. En 1977 Adolphe, Dorsey y Napoliello propusieron la teoría catecolaminérgica de la depresión. En ella se postula que la depresión se debe al menos en parte, al incremento de las catecolaminas y específicamente a la hiperactividad del sistema noradrenérgico (165).
Algunos investigadores han mencionado que cuando existe una elevada excitabilidad de las neuronas noradrenérgicas se presenta hiperactividad de los receptores presinápticos, elevación de la NE liberada y en consecuencia hiperactividad de los receptores postsinápticos, lo que puede condicionar las manifestaciones clínicas observadas en la depresión (168). Esta teoría surgió en parte de la observación de que el uso de drogas antidepresoras disminuía la sensibilidad de los receptores presinápticos y la liberación de NE y con ello mejoraban las manifestaciones clínicas. La posibilidad de que la *NE* esté envuelta en la génesis de la depresión, ha sido objeto de numerosos estudios (169) Las neuronas productoras de NE localizadas en el locus coeruleus (LC) forman un circuito neuronal que responde a las agresiones y constituye un mecanismo de defensa ante cambios adversos del medio ambiente o de la homeostasis interna.

Los estresores son potentes estimuladores del LC por lo que su actividad se modifica en respuesta a estímulos psicológicos negativos, enfermedades de origen afectivo y disturbios neurovegetativos
La actividad del sistema noradrenérgico en pacientes deprimidos puede evaluarse a nivel periférico, por la concentración de la NE circulante, prueba que hasta la fecha parece ser el mejor indicador de la actividad del sistema nervioso simpático (170). Los linfocitos y las plaquetas, son células de gran utilidad como modelos para evaluar la acción de los neurotransmisores a nivel periférico; los pacientes deprimidos presentan mayor número de receptores B-adrenérgicos y disminución de los receptores α 2-adrenérgicos, coincidiendo con niveles elevados de NE y de sus principales metabolitos urinarios (171).

Dopamina .- Cuando se estableció la teoria catecolaminérgica de la depresión, no se estableció la participación de la DA pues la mayoría de los hallazgos señalaban solo las alteraciones de NA; sin embargo, estudios recientes han mostrado que los pacientes deprimidos tienen niveles de DA disminuidos en plasma y en el líquido cefaloraquídeo coincidiendo con concentraciones elevadas de NE, así como niveles bajos de HVA en orina (172). Otra observación importante es que en situaciones en las que está disminuida la actividad dopaminérgica es frecuente que los pacientes presenten depresión, como en la enfermedad de Parkinson, en el tratamiento con neurolépticos y en la ingestión crónica de anfetaminas, datos que indican la participación del componente dopaminérgico (103).

Serotonina (S).- Evidencias experimentales indican que la S es un neurotransmisor directamente involucrado en la etiología de la depresión. Desde hace años se observó que el nivel de triptofano precursor de S, así como la misma S se encuentran disminuidos en la depresión, así como el Ac 5-hidroxi indol acético (5OHIAA) su principal metabolito urinario (173). También la concentración plaquetaria de serotonina está disminuida en los pacientes deprimidos, así como el número de los receptores 5HT2 triptaminérgicos (174). Drogas como la reserpina y los agentes anti-hipertensivos que depletan las reservas de S, frecuentemente producen depresión, mientras que los inhibidores de la recaptación de serotonina tienen potentes efectos antidepresivos. Otro tipo de antidepresivos son inhibidores de la MAO enzima que tiene como función inactivar la S, por lo que la acción antidepresora de los inhibidores de la MAO se ejercen aumentando los niveles de S.
La HRT tiene efectos antidepresivos, determinados por la acción de los estrógenos sobre el sistema serotoninérgico incrementando la síntesis del transportador de serotonina (175) y del número de receptores 5HT2A triptaminérgicos en áreas cerebrales relacionadas con el control de las emociones (176)

β-Endorfinas.- Pocos estudios han evaluado la relación entre β-endorfinas y depresión. Un estudio reciente mostró que las β-Endorfinas y las encefalinas disminuyen en mujeres con depresión, coincidiendo con cambios en la concentración de ACTH y cortisol, lo que parece indicar una desregulación del sistema opioide (177) que pudo ser revertida con tibolona, compuesto que aumentó los niveles de β-endorfinas durante la terapia de reemplazo. (178).

Otras hormonas .- Las alteraciones de las hormonas de la suprarrenal y la pérdida de los ritmos circadianos se relacionan con la depresión y otras enfermedades afectivas (179),

siendo frecuente encontrar alteradas las hormonas tiroideas, las hormonas gonadales, la prolactina y la hormona de crecimiento, por lo que se cree que existe una estrecha relación entre los cambios hormonales y las enfermedades psico-afectivas como la depresión, las enfermedades maniaco-depresivas y la esquizofrenia (180)

El estudio de la depresión tiene gran relevancia para la psicobiologia de la mujer menopaúsica, ya que explica los cambios afectivos y de conducta que presentan algunas mujeres durante las diferentes fases del ciclo menstrual y en especial en la etapa premenstrual (181). En la menopausia, un elevado porcentaje de mujeres presenta cuadros depresivos que mejoran cuando las mujeres reciben terapia substitutiva con estrógenos(182), pacientes con depresión mayor, responden mejor a los antidepresivos cuando al tratamiento se añaden estrógenos (183) lo que puede explicarse por las acciones de los estrógenos a nivel central, que no solo regulan la síntesis y el catabolismo de los neurotransmisores, también modifican la expresión de sus receptores en el hipotálamo y la eminencia media, el núcleo paraventricular, el area preóptica media y el sistema limbico, áreas relacionadas al control de la secreción hormonal, los ritmos circadianos, la conducta y las emociones respectivamente

5. 3 - Alteraciones de la funcion cognoscitiva

Kolb y Whishaw definen *el conocimiento* como un término general utilizado para referirse a los procesos relacionados al pensamiento, y *la función cognoscitiva,* como las operaciones mentales que permiten el conocimiento: el tiempo de reacción, aprendizaje, memoria visual, memoria verbal, abstracción, capacidad para resolver problemas, formación de conceptos, etc (184). Aunque la edad se ha considerado el principal factor de riesgo para la declinación de la función cognoscitiva, muchos individuos viejos conservan su capacidad mental hasta edades muy avanzadas, pensándose que existen factores genéticos, ambientales, raciales, hormonales y otros, que en conjunto determinan la capacidad cognoscitiva (185). A la menopausia, la caida de los estrógenos es el cambio hormonal sobresaliente de la mujer en esta etapa de la vida, y las alteraciones de la función cognoscitiva, uno de los cambios más dramáticos que pueden presentarse durante el proceso de envejecimiento. Hasta hace pocos años, se pensaba que este deterioro atribuido a fallas del sistema colinérgico, era una consecuencia natural de la edad (186).

Sin embargo, mujeres jóvenes hipogonadales manifiestan cambios en las funciones cognocitivas reguladas por Ach como son: la capacidad para el aprendizaje y la memoria, la comunicación verbal, la función psicomotora, el estado psico-afectivo, el control del apetito y la calidad del sueño, alteraciones similares a las que se observan en la mujer climatérica y que mejoran notablemente cuando se administra THR (187). La influencia de los estrógenos en diferentes áreas del conocimiento ha sido estudiada en mujeres jóvenes durante el ciclo menstrual, encontrando que el incremento de estrógenos a la mitad del ciclo, mejora la capacidad para el razonamiento matemático y la velocidad y destreza en la expresión oral (188)

Las mujeres posmenopaúsicas sujetas a THR tienen un desempeño mejor en las pruebas diseñadas para estudiar la función cognoscitiva que aquellas que no tienen substitución hormonal y esto ha hecho pensar que la deficiencia de estrógenos en el periodo posmenopáusico puede ser un factor que predispone a la enfermedad de Alzheimer (189).

Otra observación es que la enfermedad de Alzheimer es más frecuente en la mujer que en el hombre, y también la formación de placas amiloideas que aumentan su proporción en relación con la edad, disminuyen con la HRT (190). Algunas mujeres con enfermedad de Alzheimer, mejoran su capacidad cognoscitiva en respuesta al tratamiento con estrógenos, sobre todo la memoria visual y la expresión verbal, indicando que al menos algunas áreas del conocimiento se relacionan con el nivel estrogénico y que el estradiol es un importante modulador de estas funciones, por lo que se piensa, que un beneficio adicional de la HRT a la que no se ha dado la importancia adecuada, es el efecto positivo que tiene sobre la memoria y otras áreas del conocimiento (191)

5.4.- Alteraciones del sueño

El sueño ha sido estudiado de manera sistemática durante muchos años, se sabe que la actividad eléctrica cerebral varia de acuerdo al nivel de vigilancia manifestado por los individuos durante las horas del sueño. En base al comportamiento eléctrico del cerebro, Loomis y colaboradores describieron cinco niveles del sueño: la somnolencia (I) el inicio del sueño (II) y las etapas de sueño profundo (III, IV y V) estas últimas caracterizadas por una disminución progresiva de la actividad cerebral, culminando con el establecimiento de ondas lentas de gran amplitud y sueño cada vez más profundo (192). Esta fase denominada de sueño lento dura aproximadamente 120 minutos y se alterna en forma ciclica con el sueño MOR o sueño paradójico, caracterizado por la presencia de movimientos oculares rápidos, actividad electroencefalográfica elevada y atonia muscular Además de los cambios en la actividad ocular, durante las dos fases del sueño, se manifiestan cambios en la frecuencia respiratoria que disminuye en el sueño lento, mientras que en el sueño MOR aumenta en frecuencia y amplitud; en el sistema cardiovascular se observa disminución de la presión arterial y de la frecuencia cardiaca en ambas fases del sueño (193). Conforme aumenta la edad se observan cambios en *los patrones del sueño* (tiempo real de sueño en un período de 24 hs, considerando el periodo de latencia, el tiempo de inicio, la continuidad, el tiempo total y el número de siestas al dia y su duración). El tiempo total de sueño disminuye con la edad, de 8-10 hs en el adulto joven a 5-7 hs después de los 60 años; en contraste, después de los 80-85 años aumenta el número de siestas durante el dia y su duración (indicando una alteración en el ritmo circadiano del sueño) por lo que en los ancianos mayores de 85 años, el tiempo real de sueño aumenta de 8.5-10 hs (194).
La dificultad para conciliar el sueño es una queja frecuente de la población general y se incrementa conforme aumenta la edad de los pacientes Es más frecuente en las mujeres que en los hombres, sobre todo después de los 50 años, coincidiendo con la etapa posmenopaúsica. En las mujeres menopáusicas el período de latencia para conciliar el sueño (fase I) se prolonga y el insomnio tiende a hacerse más acentuado, sobre todo en las mujeres que sufren bochornos, presentándose interrupciones y alteraciones de la fase MOR, mientras que la fase de sueño lento y profundo está menos afectada (195). Un hallazgo importante es que tanto el inicio como la duración del sueño dependen de la temperatura, que en condiciones normales muestra un ritmo circadiano descendente durante la noche, con la temperatura más baja entre las doce y las seis de la mañana, coincidiendo con las horas del sueño.

Durante la menopausia es frecuente observar una desregulación del control de la temperatura y de su ritmo circadiano, relacionada con las alteraciones vasomotoras como los bochornos y las sudoraciones nocturnas, alterándose los ciclos del sueño con un aumento de la fase MOR y de los períodos de vigilia, lo que disminuye la eficiencia del sueño (196).
No obstante el notable avance en el estudio electrofisiológico del sueño, los mecanismos bioquímicos que lo determinan aún no han sido totalmente aclarados, aunque se conoce la importancia de la interacción de estructuras cerebrales como el sistema límbico, el mesencéfalo y el tallo cerebral, con los neurotransmisores involucrados en el control del sueño, como son la Ach y la S que lo favorecen, mientras que la NE es importante para la vigilia y el estado de alerta (197). En el mecanismo del sueño, además de los NTs participan otras substancias neurohormonales de naturaleza polipeptídica como moduladoras o facilitadoras del sueño, entre ellas el polipéptido intestinal vasoactivo (VIP), la colecistocinina (CCK), péptidos pequeños derivados de ACTH y las β Endorfinas (198). Estudios realizados en mujeres posmenopaúsicas afectadas por el insomnio, muestran una notable mejoría con la terapia hormonal de reemplazo y aunque el mecanismo de los estrógenos sobre el sueño no se conoce con exactitud, puede estar mediado por su acción sobre los neurotransmisores cerebrales relacionados con el control del sueño (199).

5.5- Alteraciones vasomotoras.

Los bochornos son uno de los síntomas más frecuentes en la menopausia y una de las primeras manifestaciones del climaterio femenino. Se caracterizan por la sensación de calor intenso en el tórax y la parte alta del cuerpo (cuello y la cara) rubor y elevación de la temperatura de la piel, que puede durar de 1-5 minutos aproximadamente. Estas manifestaciones son precedidas por palpitaciones o cefalea y cursan frecuentemente con sensación de debilidad, desmayo o vértigo y ocasionalmente ansiedad, terminando con sudoración profusa seguida de frío. En los bochornos el aumento en la temperatura se relaciona con cambios en la actividad electrodérmica y cardiovascular y se piensa que las alteraciones son ocasionadas por una falla en el sistema termoregulador del hipotálamo (200). Por lo general los bochornos son nocturnos y despiertan a la paciente ocasionándole insomnio, fatiga, sensación de malestar e irritabilidad; aparecen con frecuencia desde la etapa premenopáusica, pudiendo durar de uno a dos, hasta cinco o más años y se piensa que son una consecuencia directa de la disminución de los estrógenos; sin embargo, llama la atención que no todas las mujeres presentan bochornos
Estadísticas recientes muestran que 18-65 % de las mujeres premenopaúsicas sufren bochornos de frecuencia e intensidad variable, y solo un 10-15% de las mujeres presentan un cuadro vasomotor severo (201). En estudios hormonales se ha observado, que durante los bochornos ocurre una elevación de norepinefrina, Gn-RH y LH (hormonas reguladas negativamente por los estrógenos) seguida de un incremento en la concentración de β - endorfinas, lo que parece indicar que estos cambios se deben a una falla hipotálamica y una respuesta inadecuada del sistema opioide, como consecuencia de la disminución de los estrógenos (202)

A este respecto se sabe que la síntesis de las β-Endorfinas se incrementa por efecto de estrógenos y que las β-Endorfinas son importantes reguladores de la liberación de Gn-RH, las gonadotropinas hipofisarias, Prl, ACTH y cortisol además de participar junto con ACTH y α MSH en el control de la temperatura, lo que apoya su participación en la etiología de los bochornos (203). Una de las causas más frecuentes por la que las mujeres menopáusicas ocurren a la consulta médica son los bochornos, que son más frecuentes y de mayor intensidad en las mujeres con menopausia quirúrgica, razón por la que se han intentado diferentes tipos de tratamiento para su control (clonidina, naloxona, antagonistas de Gn-RH, acetato de medroxi progesterona etc), sin embargo, el tratamiento de elección continúan siendo los estrógenos que por lo general remiten las alteraciones desde el primer ciclo de tratamiento (204).

6.- TERAPIA HORMONAL DE REEMPLAZO.

El estudio de la menopausia ha alcanzado gran relevancia en la actualidad, debido a que cada día se conocen mejor las acciones de los estrógenos a nivel periférico y en el SNC, asi como las numerosas alteraciones que resultan de la deprivación estrogénica. Si se considera que la menopausia se presenta alrededor de los 48-50 años y que la esperanza de vida para la mujer ha alcanzado un promedio de 75 años, significa que la mujer pasará cerca de la tercera parte de su vida en la posmenopausia, en un estado de hipoestrogenismo persistente. Esto pone de manifiesto la importancia de la terapia hormonal de reemplazo, para tratar de disminuir las alteraciones somáticas, aminorar los cambios metabólicos (en especial la osteoporosis y la enfermedad cardiovascular) y los efectos sobre el cerebro, proporcionando a la mujer una mejor calidad de vida

A pesar de los numerosos beneficios de la terapia hormonal de reemplazo (THR), existe resistencia entre las mujeres para aceptar el tratamiento, en parte por considerar que la menopausia es un evento fisiológico, por el temor al cáncer, o no querer volver a presentar sangrados menstruales, de ahí que menos del 20% de las mujeres posmenopáusicas reciban substitución hormonal.

Esta situación está cambiando gracias a una mayor difusión y conocimiento del problema en la población general y por las múltiples opciones terapéuticas que existen en la actualidad, que permiten la elección del tratamiento más adecuado para cada mujer en particular. La etapa de la menopausia no debe verse como una etapa de declinación y pérdida de funciones, sino como una etapa fisiológica asociada a cambios endocrinos en la que es necesario suplir la deficiencia hormonal, así como establecer un nuevo estilo de vida y un programa adecuado para la salud, orientado a mejorar las condiciones fisicas y mentales de la mujer climatérica, preparándola para una vejez más saludable y en mejores condiciones .

Principales tipos de terapia hormonal de reemplazo (THR)

- Terapia con estrógenos.-

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

6.1- Los estrógenos naturales incluyen el estradiol (E_2), la estrona (E_1) el estriol (E_3) y sus conjugados, así como los estrógenos de origen equino. **(Fig.16)**

Uno de los inconvenientes para el uso de E_2 como terapia de susbstitución es su baja absorción por la mucosa gástrica cuando se le administra por vía oral, siendo necesario administrarlo en forma conjugada o micronizado Otra desventaja de la administración oral es que el E_2 una vez en la circulación llega al hígado, donde es transformado a E_1 por la 17 β-esteroide deshidrogenasa (HSD); la E_1 tiene menor potencia biológica que E_2, de ahi que tengan que administrarse dosis relativamente elevadas de E_2 para lograr el efecto terapéutico deseado (1-2 mg). Asi el principal estrógeno circulante después de administrar E_2 es siempre E_1.

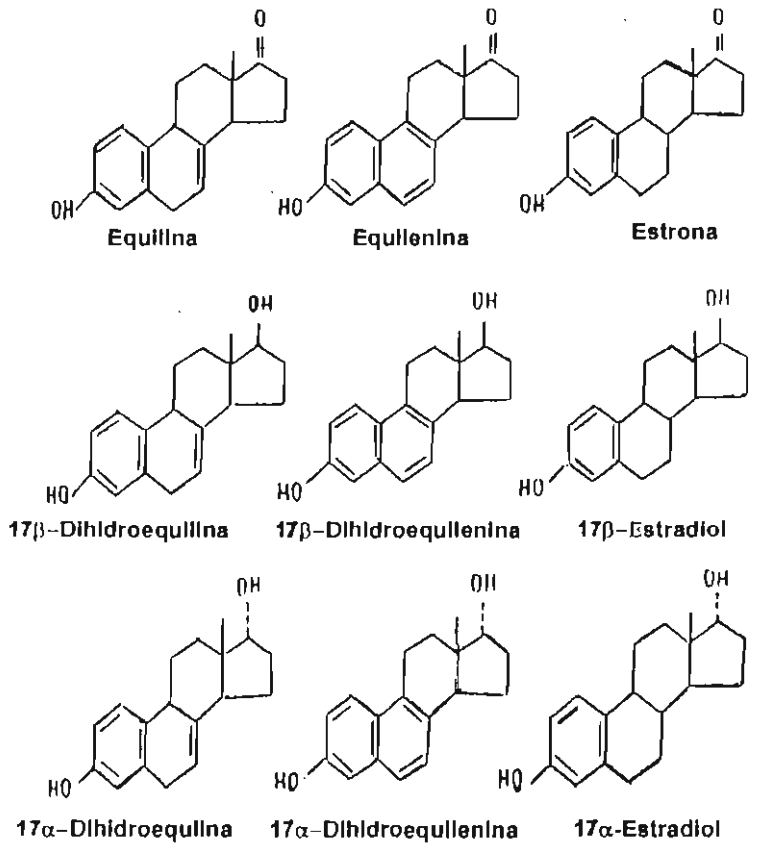


Fig. 16. Estructura química de los estrógenos de origen equino en comparación con estrona y estradiol

Por otra parte, una ventaja del paso de los esteroides por el hígado, es la interacción de los estrógenos con sus receptores en los hepatocitos, para inducir la síntesis de proteínas biológicamente importantes, como son la globulina transportadora de esteroides sexuales (SHBG), la globulina transportadora de corticoesteroides (CBG), y de la tiroxina (TBG), de albúmina, transferrina, renina, IGF-1 y lipoproteínas de alta densidad (HDL) entre otras (205). En contraste al tracto gastrointestinal, la mucosa vaginal absorbe E1 y E2 eficientemente, por lo que existen en el mercado cremas que contienen estos compuestos para aplicación local Con el uso de estas cremas, los niveles circulantes que alcanzan los estrógenos es aproximadamente la mitad de los que se tienen a igual concentración, con la terapia oral (206).
Las presentaciones más utilizadas de E1 y E2 en la actualidad son el E2 micronizado y algunas formas conjugadas como el *valerato de Estradiol* (E2V) a dosis de 1 o 2 mg y el *estropipato de estrona* (Sulfato de E1- piperazina a dosis de 1.2 y 1.5 mg). En algunos estudios se ha encontrado que la administración de 1.2 mg de estropipato, 1 mg de E2 micronizado o 0.625mg de estrógenos equinos conjugados producen concentraciones similares de E1 y E2 en la circulación, 4-6 horas después de ser administrados, siendo siempre mayor la concentración de E1 (207).

Estrógenos equinos conjugados (EEC). Son el tipo de estrógenos que han sido más utilizados en la THR; se obtienen de la orina de yegua preñada y constituyen una mezcla heterogénea de compuestos. Aunque incluyen los tres estrógenos clásicos E1, E2 y E3, el sulfato de estrona (E1- SO4) es el esteroide predominante (45%) conteniendo además otros estrógenos que tienen el anillo B insaturado, debido a la presencia de uno o dos dobles enlaces (**Fig 16**).y que no se producen en el humano.
Son la equilina que se encuentra en una proporción del 15% y la equilenina (5-10%) semejantes a la E1, la 17β dihidroequilina y 17β dihidroequilenina que son similares a 17βE2 (5-10%) y la17α dihidroequilina y 17α dihidroequilenina (15%) similares a 17 α E2; en cambio. 17β E2, 17 α E2 y E3, solo se encuentran en muy baja proporción (208).
La conversión de equilina y equilenina a 17β dihidroequilina y 17β dihidroequilenina respectivamente, por acción de la 17β HSD, es similar a la conversión de E1 a E2 por la misma enzima. Cuando se administran EEC por vía oral, son absorbidos a través del intestino y pasan a la circulación pudiendo alcanzar los diferentes tejidos donde ejercen su acción, mediante la unión a los receptores estrogénicos. Por la circulación entero-hepática llegan al hígado donde inducen la síntesis de numerosas proteínas como las mencionadas anteriormente. La equilina al igual que la E1 circula unidad a la albúmina con la que tienen alta afinidad, mientras que equilenina, 17 α y 17β dihidroequilenina al igual que 17 β E2, se unen a la globulina transportadora de esteroides sexuales (SHBG). Los EEC son inactivados tanto en el hígado como en el riñón por conjugación con Ac.Glucurónico eliminándose en la orina como glucuronidatos o sulfatos (209)
En la actualidad la dosis más utilizada de EEC para el tratamiento de los síntomas menopáusicos es 0 625mg, sin embargo también se utilizan dosis de 0.3 y 1.25 mg diarios por vía oral. Las concentraciones séricas de E2 que se alcanzan después de administrar estos compuestos, presentan gran variabilidad interpersonal a las diferentes dosis administradas, oscilando de 40-50 pg /ml para la dosis de 0.3 mg y de 60-120 pg/mL con la dosis de 0.625 mg de EEC (210)

Por otra parte, la potencia biológica y la afinidad de los diferentes componentes al receptor estrogénico (α o β) en los diversos tejidos, también es variable y dependiente de la estructura de cada compuesto, mostrando el siguiente orden: 17βdihidroequilina > 17βEstradiol >17βdihidroequilenina >estrona =equilina>equilenina> 17α dihidroequilina > 17α estradiol > 17α dihidroequilenina . Puede observarse que los compuestos con un doble enlace en el anillo B tienen mayor potencia biológica que sus análogos de origen humano (211).

6.2- *Estrógenos sintéticos*.

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

El etinil estradiol es un esteroide sintético caracterizado por presentar una cadena lateral de dos átomos de carbono con un triple enlace en posición 17α y a diferencia del E2, es rápidamente absorbido por la mucosa intestinal después de administrarse por vía oral. Su uso más común es como anticonceptivo a una dosis de 50 mg diarios, produciendo un nivel sérico de 400 – 450 pg/mL La presencia del grupo etinilo en C17 evita la oxidación del E2 a E1, por lo que presenta un efecto biológico muy superior al del E2 natural debido a su lento proceso de inactivación, ya que al impedirse el metabolismo del anillo D, solo puede ser inactivado en C3 por conjugación como sulfato o en C2 por la COMT que produce el catecol estrógeno. Debido a su elevada potencia biológica, etinil E2 tiene un marcado efecto en el metabolismo hepático, a igualdad de masa es 75-1000 veces más potente que los EEC, el estropipato de E1 y el E2 micronizado respecto a la síntesis de las proteínas hepáticas (212)

El mestranol y el quinesterol, actúan de manera similar al etinil estradiol del cual derivan, caracterizándose por tener una vida media extraordinariamente larga, debido a los cambios estructurales de la molécula y al igual que etinil E2 circulan unidos exclusivamente a la albúmina . Aunque hace algunos años se intentó utilizar el etinil estradiol y sus derivados para el tratamiento de la menopausia, su uso no se popularizó debido a que después de probar diferentes dosis, se observó que aún la dosis mínima necesaria para lograr un efecto terapéutico adecuado tenía efecto hepatotóxico, produciendo una gran elevación de las proteínas hepáticas (213). En otros estudios se intentó su aplicación vaginal, tratando de disminuir el efecto sobre el hígado con resultados similares, razón por la que no se utiliza en el tratamiento de la menopausia (214)

Otras vías de administración.

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

Administración percutánea.-

En algunos países europeos se utiliza la administración percutánea de estradiol en forma de gel para el tratamiento de los síntomas menopáusicos. Se aplica diariamente en los brazos, los hombros o el abdomen; generalmente 5g de gel que contiene 1.5 o 3 0 mg de E_2. La piel actúa como un reservorio que libera el E2 en forma continua y el nivel de E_2 se estabiliza después de 4-5 días de tratamiento, alcanzando una concentración sérica de 68 $\pm$ 14 pg de E2 con la dosis de 1.5mg y de 103 $\pm$40 pg/mL con la de 3 mg. Los niveles con esta última dosis se dice que son similares a los que se tienen con 2 mg de estradiol micronizado por vía oral (215).

Administración transdérmica.

Se ha mencionado que uno de los principales inconvenientes de la THR por vía oral, es que una vez administrado el medicamento se libera a la circulación en elevada concentración, 2-6 horas después de tomarlo, para luego disminuir gradualmente a muy bajas concentraciones hasta la siguiente dosis. Se piensa que la THR ideal debe liberar el medicamento en forma continua y sostenida, como ocurre durante la secreción de estrógenos por el ovario y a una concentración de E2 similar a la que tiene la mujer en la etapa premenopáusica. Con la administración transdérmica, la liberación de E2 se asemeja a las condiciones anteriores, es una manera sencilla de administrar la terapia, exenta de efectos secundarios, con un esquema fácil de seguir y con la ventaja de que evita el paso primario por el hígado y su efecto sobre la síntesis proteica (216)

A la fecha existen diferentes sistemas de administración transdérmica, mediante parches que se pueden colocar en el abdomen, la espalda o algún otro lugar. El parche contiene el E_2 en forma de gel en una base alcohólica, funcionando la matriz del parche como un reservorio del que se libera el E_2 en una cantidad predeterminada y relativamente constante. Los más usuales están diseñados para liberar 0.025, 0.05 o 0.1 mg de E_2 por día, durante 3.5 o 7 días, de ahí que los parches deban cambiarse dos veces por semana o cada semana, respectivamente. Una vez aplicado el parche, el nivel de estradiol se estabiliza 4-8 hs después, alcanzando un nivel máximo de 30-40 pg/mL de E_2 con los parches de 0.025 mg y de 40-65 pg/mL con los de 0.05mg. Estas concentraciones son similares a las que se obtienen con 0.3mg de EEC, mientras que con los parches de 0.1mg el nivel de E_2 es equivalente al de la dosis de 0.625mg de EEC (217).

Riesgos de la THR.-

Uno de los principales argumentos en contra de la THR con estrógenos es el riesgo de cáncer cérvico-uterino o de desarrollar un proceso maligno en la mama. Los estrógenos estimulan la mitosis y la diferenciación celular en el endometrio, favoreciendo la hiperplasia endometrial y un proceso adenomatoso que puede desencadenar una condición maligna, sobre todo cuando se administran a dosis elevadas y por un tiempo prolongado (218). La aparición de las alteraciones posterior al uso de estrógenos, la naturaleza bien diferenciada de las alteraciones y la reducción del riesgo una vez que se suspende el tratamiento, sugiere que los estrógenos actuán como promotores del cáncer endometrial, más que como iniciadores de la carcinogénesis (219)

Cuando se administran estrógenos, la adición de un progestágeno protege el endometrio, evita la hiperplasia endometrial y disminuye el riesgo de cáncer debido a que la progesterona disminuye la expresión nuclear de los receptores de estrógenos bloqueando así su efecto biológico, por lo que se considera que tiene un efecto antimitótico Por esta razón, toda mujer con útero que va a recibir terapia de substitución con estrógenos, debe recibir un esquema secuencial o continuo en el que se incluya un progestágeno (220).

6.3- Moduladores selectivos de los receptores de estrogenos (SERMS).

El término antiestrógenos se utilizó durante algunos años, para designar un grupo de compuestos que presentan una acción antagónica frente al receptor de estrógenos, considerando como tales a aquellos compuestos capaces de bloquear la acción de los estrógenos y su efecto biológico Sin embargo se observó que algunos de ellos podían tener una acción agonista/antagonista, dependiendo del tejido en el que actuaban. La respuesta del receptor frente a estos compuestos no fue claramente entendida, hasta que los nuevos conocimientos sobre la estructura del receptor, de los sitios de unión para substancias que actúan como activadores o correpresores, y la existencia de dos diferentes receptores (α y β) en los tejidos, permitió que el mecanismo de acción de estos compuestos comenzara a aclararse, explicando porqué un mismo compuesto, puede tener una acción agonista en un tejido y funcionar como antagonista en otro (221). Debido a lo anterior resultó obvio que el término "*antagonista estrogénico o antiestrógeno*" no es adecuado, siendo substituido por el de "*moduladores selectivos de los receptores de estrógenos*" (222)
El primer compuesto con estas caracteristicas (agonista/antagonista) fue el *citrato de clomifén*, producido en 1960 como un anticonceptivo, que después demostró paradójicamente que era capaz de inducir la ovulación en mujeres infértiles. Otro es el *tamoxifen*, también utilizado originalmente como un anticonceptivo oral, que por sus potentes propiedades antiestrogénicas resultó ser adecuado para el tratamiento del cáncer de mama, bloqueando la unión de E_2 a su receptor y el crecimiento del tumor.
Esta acción antagonista en la mama se ejerce por unión del tamoxifeno al dominio TAF-2 bloqueando la acción del E_2. Este compuesto aprobado en 1978 como droga antineoplásica es el compuesto más utilizado hasta la fecha para el tratamiento del cáncer de mama Después de varios años de utilizarlo se demostró que tiene un efecto agonista en el endometrio, lo que originó problemas de hiperplasia endometrial en algunas pacientes durante el tratamiento (223).
El Tamoxifeno también presenta un efecto agonista en el hueso previniendo la osteoporosis y mejorando el metabolismo óseo, teniendo así propiedades claramente agonistas y antagonistas en los diferentes tejidos donde actúa, razón por la que se considera un verdadero SERM (224) Lo mismo puede decirse del *clomifeno y del raloxifeno*, los tres son compuestos no esteroidales derivados del trifenil etileno o benzotiofeno **(Fig.4)**, mientras que los verdaderos antiestrógenos tienen una estructura esteroidal similar a la del E_2 y bloquean su efecto uniéndose al receptor en el sitio de unión del esteroide, impidiendo la dimerización del receptor (225).

El Raloxifeno tiene una fuerte acción agonista de los estrógenos en el hueso, mejorando su metabolismo, por lo que en la actualidad se le utiliza en el tratamiento de la osteoporosis en mujeres posmenopáusicas. A diferencia de la terapia con estrógenos no estimula el endometrio, ni tiene acción sobre la mama, lo que le confiere una acción específica antirresortiva sobre el esqueleto y permite su uso a largo plazo, sin el riesgo de desencadenar un problema neoplásico; también mejora el metabolismo de las lipoproteínas y la enfermedad cardiovascular (226).

El estudio de los SERMs es un campo que abre grandes espectativas para la THR, mediante la búsqueda de nuevos compuestos agonistas/antagonistas que permitan tomar ventaja de los efectos positivos de los estrógenos en diversos tejidos, y bloquear aquellos que son indeseables como su acción sobre la mama y el útero (227).

II- PROTOCOLO DE INVESTIGACION

Planteamiento del problema.

Numerosas observaciones clínicas apoyan el concepto de que las alteraciones psico-emocionales del climaterio, se relacionan con cambios en la concentración de hormonas y neurotransmisores cerebrales y que estos cambios pueden ser ocasionados por la deficiencia de estrógenos. Por esta razón, este estudio propone estudiar los factores neuroendocrinos (hormonas y neurotransmisores) en mujeres climatéricas con niveles bajos de estrógenos y relacionarlos a las alteraciones psico-afectivas del climaterio, así como las modificaciones que puedan ocurrir al administrar HRT. Esto es importante porque se sabe que a la menopausia ocurren cambios en la concentración circulante de las hormonas, sin embargo :

1.- No se conocen con exactitud los cambios que ocurren en los neurotransmisores a la menopausia, ni si estos cambios bioquímicos tienen relación con el hipoestrogenismo.

2.- No se han establecido las alteraciones de los neurotransmisores que son responsables de las manifestaciones psico-emocionales y conductuales que se presentan en el climaterio.

3.- No se ha estudiado en forma sistemática el efecto de la deficiencia de estrógenos y de la HRT sobre la sintomatología psicoafectiva de la mujer posmenopáusica.

Hipótesis.

Las manifestaciones psico-afectivas y psicosomáticas que se presentan en la mujer climatérica se deben a cambios en los neurotransmisores cerebrales, como consecuencia de la deficiencia de estrógenos y pueden corregirse por tratamiento hormonal de reemplazo, mejorando la sintomatología de las pacientes.

Objetivos

1.- Estudiar la relación entre la concentración de hormonas, neurotransmisores y β-endorfinas , con el nivel de los estrógenos circulantes.

2.- Determinar las alteraciones psico-afectivas de la menopausia y relacionarlas con la concentración de neurotransmisores.

3.- Evaluar los cambios en los neurotransmisores y en la conducta psico-afectiva en respuesta a la THR y determinar si el tratamiento puede corregir las alteraciones.

4.- Establecer la participación de los estrógenos en la etiopatogenia de las alteraciones psicológicas y psicosomáticas que ocurren a la menopausia.

Metas.

1.- Medir la concentración sérica de las hormonas : FSH, LH, E2, PRL, GH, IGF-1, insulina, ACTH, DHEA y cortisol como indicadores de la actividad de los principales ejes endocrinos en mujeres climatéricas, antes y después de THR.

2.- Determinar la concentración de neurotransmisores : NA, DA, S y B-Endorfinas y Ach en el suero y en la orina (metabolitos urinarios) de mujeres climatéricas, antes y después de THR, en comparación con los niveles de mujeres en edad reproductiva.

3.-Conocer el efecto de la deficiencia de los estrógenos sobre la concentración de neurotransmisores y B-Endorfinas y saber si estos NTs se relacionan con las alteraciones psico-afectivas y psicosomáticas del climaterio.

4.- Determinar si la THR modifica la concentración de neurotransmisores y B-Endorfinas y si los cambios que ocurren mejoran la sintomatología climatérica.

Diseño del estudio.

Estudio prospectivo, randomizado, comparativo y abierto. Se realizó de acuerdo con los principios de investigación clínica establecidos en Helsinki, después de haber sido aprobado por el Comité de Investigación del Hospital de Especialidades del IMSS. Todas las mujeres participantes en el estudio dieron su consentimiento previo para ser incluidas en el protocolo.

Variable independiente : La concentración sérica de estradiol (E2)
Variables dependientes :
a) La concentración sérica de las hormonas: LH, FSH, PRL, GH, IGF-1, insulina, ACTH, DHEA-SO4 y cortisol
b) La concentración sérica de neurotransmisores (NA,DA, S, ACh, βE) y de sus metabolitos urinarios.
c) Las alteraciones clínicas del climaterio
d) La puntuación de la escala del climaterio

Justificación

Las espectativas de vida de la mujer se han incrementado en la actualidad alrededor de los 75 años, lo que significa que pasará cerca de la tercera parte de su vida después de la menopausia, etapa en la que se presentan una serie de alteraciones en numerosos tejidos y sistemas sensibles a la acción de los estrógenos como son : el sistema cardiovascular, los huesos, el aparato genito-urinario y el cerebro entre otros; alteraciones que deterioran su calidad de vida. Estudios recientes han mostrado que el número de mujeres posmenopáusicas que sufren cambios psico-emocionales como angustia y depresión, es cada día mayor y se piensa que estas alteraciones pueden ser condicionadas por cambios en la concentración de los neurotransmisores cerebrales como resultado de la deprivación de estrógenos, de ahí el interés por el presente estudio.

Análisis Estadístico.

Todos los resultados se expresan como la media ± la desviación estándar (M±DE) de los valores obtenidos. con excepción de GH que se representa como la media ± error estándar (M ± ES).

Las diferencias entre las concentraciones hormonales antes y después de HRT se establecieron por la prueba t de student para grupos dependientes, a un nivel de significancia de 0.05 y las diferencias entre el grupo control y los grupos con tratamiento por análisis de varianza de un factor (ANOVA) para lo cual se utilizó el paquete estadístico SPSS 10.

Se realizaron también estudios de correlación por regresión lineal (análisis de Pearson) entre la concentración de las diferentes hormonas y de los NTs con la concentración de E2, así como entre la puntuación de las escalas del climaterio y la concentración de E2 y entre la puntuación de las escalas y la concentración de los neurotransmisores.

III- MATERIAL Y METODOS

1.- Material Clínico.

Grupo de estudio
Se incluyeron 90 mujeres de 45-60 años, sanas, sin antecedentes clínicos de importancia, con menopausia establecida por lo menos un año antes de iniciar el estudio, con niveles elevados de LH y FSH (> 50 mUI/mL), una concentración baja de E2 (< 30pg/mL) y síntomas clínicos de climaterio, lo que permitió establecer el diagnóstico de menopausia. Ninguna de las mujeres había recibido THR por lo menos seis meses antes de iniciar el estudio, y no tenían ninguna enfermedad endocrina aparente.
Criterios de Exclusión..- Se excluyeron del estudio mujeres con obesidad, diabetes mellitus, hipertensión arterial o algún padecimiento orgánico que contraindicara el uso de estrógenos, como una neoplasia mamaria o endometrial, insuficiencia venosa, problemas tromboembólicos e insuficiencia hepática o renal.

Grupo testigo
30 mujeres sanas de 35-44 años de edad, con función ovárica normal y niveles hormonales dentro de los límites normales para mujeres en edad reproductiva, fueron seleccionadas como grupo de comparación.

Terapia hormonal de reemplazo (HRT).
Las mujeres menopáusicas (n=90) fueron divididas de forma aleatoria en tres grupos (n=30) para recibir THR, que consistió en estrógenos equinos conjugados (EEC) a las dosis de 0.312, 0.625 y 1.25 mg diarios respectivamente, por vía oral durante 21 días, seguidos de cinco días de clormadinona (tabletas de 2mg). Una vez terminada la menstruación, se repitió el esquema durante tres ciclos. Las dosis utilizadas fueron seleccionadas tratando de encontrar la dosis óptima para el tratamiento; las dos últimas son las administradas en la práctica clínica a nivel institucional, la más baja para saber si dosis menores tienen utilidad en el tratamiento de las alteraciones climatéricas.

2.- Muestra biológica

Sangre venosa.- A todas las pacientes se les tomaron muestras de sangre, por punción de la vena cubital en la mañana entre las 7 y las 9hs, con ayuno de 10-12 hs y quince minutos de reposo previo a la toma de la muestra. En las mujeres del grupo testigo la toma de la sangre se realizó entre los días 12-14 del ciclo menstrual y qualquier día en las mujeres posmenopáusicas. Una vez obtenida la sangre se dividió en dos tubos, uno de ellos sin anticoagulante, permitió la obtención de suero que se utilizó para la medición de todas las hormonas (con excepción de ACTH) y de los neurotransmisores (NE, DA, S y β-Endorfinas). Del otro tubo que contenía EDTA se separó plasma para la determinación de ACTH y cortisol. Las muestras fueron divididas en alícuotas de 500uL y almacenadas a –35°C hasta el momento de realizar las determinaciones hormonales.

Orina de 24 hs. Todas las pacientes recolectaron orina de 24hs en frascos de plástico conteniendo 5mL de HCL 6N (evita la degradación de las monoaminas) para medir acetil colina , Ac. vanillin mandélico y Ac 5 hidroxi indol acético El volumen total de la orina fue medido, separando 50mL que se almacenaron a -35°C hasta el momento de realizar la cuantificación de los metabolitos de los neurotransmisores
Una vez tomada la muestra basal, se inició el tratamiento con EEC a las dosis indicadas durante tres ciclos, y al finalizar se tomó una segunda muestra para medir nuevamente la concentración de las hormonas y de los neurotransmisores

3- Determinaciones hormonales.

La mayoría de las determinaciones hormonales se realizaron por la técnica de radioinmunoanálisis (RIA). Las gonadotropinas hipofisarias (LH,FSH), PRL, GH e insulina por la técnica de segundo anticuerpo Para LH y FSH se utilizaron estuches comerciales de Clinical Assay (Stillwater Min, USA), GH y PRL con estuches de Diagnostic Products Corporation (Los Angeles, CA) e insulina con reactivos de Cis-Sorin International (Cedex, Francia)
E_2 y cortisol se cuantificaron por RIA de fase sólida, con estuches de Bio Cis-Sorin International (Cedex, Francia) y el factor de crecimiento insulinoide (IGF-1) por análisis inmunoradiométrico (IRMA) tipo sandwich, utilizando dos anticuerpos monoclonales para la identificación y cuantificación de IGF-1, previa separación de las proteinas de unión por precipitación con una mezcla de etanol-HCl (7:1 vol/vol) con reactivos de Diagnostic System Lab (Webster Texas, USA).
La hormona adrenocorticotrópica (ACTH) y la dehidroepiandrosterona sulfato (DHEA-SO_4) se determinaron por inmunoanálisis enzimático automatizado, con detección por quimioluminiscencia (QLA), utilizando el equipo "Immulite" de Diagnostic Products Corporation (Los Angeles, CA) y reactivos de la misma marca.

3.1.-Radioinmunoanálisis (RIA).

Conceptos generales.
El RIA es un procedimiento descrito por primera vez en 1959 por Salomon A Berson y Rosalyn S.Yalow para la cuantificación de insulina (228). Ha tenido gran trascendencia para la endocrinologia por ser el primer método capaz de medir con sensibilidad, precisión y exactitud, la concentración circulante de las hormonas, y es la base de todos los inmunoensayos que se utilizan en la actualidad, siendo hasta la fecha una poderosa herramienta para la medición de numerosos compuestos biológicamente importantes
Debe su elevada especificidad al uso de los anticuerpos como reactivos de unión y su sensibilidad al empleo de un radioisótopo (generalmente I-125) como indicador del sistema, de ahí el nombre de radioinmunoanálisis (RIA).
El principio del RIA se basa en una reacción inmunológica de competencia, que se establece entre el antígeno que se va a cuantificar, en este caso la hormona presente en la muestra biológica (Ag) y el mismo antígeno marcado con I-125 (Ag*) Ambos

antígenos compiten por ocupar los sitios de unión en el anticuerpo (Ab) que se encuentra en cantidad limitada. De esta manera, la cantidad de Ag* que se une al Ab será inversamente proporcional a la concentración del antígeno en la muestra de suero.

$$Ag^* + Ab + Ag \dashrightarrow Ag^*Ab + AgAb + Ag^*$$

En el RIA se utiliza una concentración fija de Ag* y de Ab que se incuban con 50-100 uL de la muestra de suero (Ag) durante un tiempo determinado, en el cual se realiza la reacción de competencia y se alcanza el equilibrio de la reacción después los complejos antígeno-anticuerpo formados (Ag*-Ab y Ag-Ab) se separan del Ag* libre que quedó sin reaccionar, por algún procedimiento adecuado. Una vez separadas las dos fracciones radiactivas del ensayo, se procede a cuantificar la radiactividad presente en el complejo (Ag*-Ab), que como ya se mencionó será inversamentente proporcional a la concentración del Ag en la muestra

Existen diferentes técnicas para separar las dos fracciones radiactivas del ensayo, una de las más utilizadas en el RIA de hormonas proteicas, es la adición de un segundo anticuerpo (AB) elaborado contra la γ globulina del primero, de modo que al agregarse al sistema de reacción, este 2° AB se une al complejo antígeno-anticuerpo previamente formado, (Ag*Ab y Ag-Ab) para dar un complejo terciario (Ag*Ab-AB) que por su peso molecular pierde solubilidad y precipita. En cambio la fracción radiactiva libre (Ag*) que no reaccionó con el primer anticuerpo, no puede precipitar y queda en el sobrenadante (**Fig 17**). Después de centrifugar, basta decantar los tubos y llevarlos al contador para conocer la radiactividad unida al Ab e indirectamente la concentración de la hormona que se mide (229).
Otro método utilizado para la separación de las dos fracciones del ensayo, es el uso de una suspensión de Carbón- Dextrán. El carbón está constituido por partículas porosas y al añadirse a la mezcla del sistema de ensayo, adsorbe al Ag* libre, mientras que el complejo Ag*-Ab por su tamaño molecular, no puede penetrar en los poros y permanece en el sobrenadante, de modo que después de centrifugar, el Ag* queda en el precipitado y los complejos (Ag*-Ab y Ag-Ab) en el sobrenadante. Finalmente el sobrenadante se decanta en un tubo limpio y se lleva al contador, para conocer la radiactividad unida al anticuerpo (230).

Curva de calibración.- En el RIA simultáneamente con las muestras de suero, se trabaja un blanco de reactivos (Bk) y una curva de calibración con 5 diferentes concentraciones del estándar hormonal, iniciando con una concentración cero (Bo), en la que la unión del Ag* al Ab (% U) es máxima (ya que no hay hormona que compita con el Ag*) comenzando a disminuir el %U conforme se incrementa la concentración del estándar, de ahí que la curva de calibración del RIA sea descendente. Al final del ensayo, todos los tubos se llevan a un contador de radiaciones para conocer la radiactividad de cada tubo (cpm) relacionando las cpm de los problemas con las cpm de la curva de calibración, para asi poder calcular la concentración de la hormona en las muestras de suero. La curva de calibración del RIA no es lineal, tiene la forma de una hipérbola y se recomienda linearizarla mediante el sistema logit-log, como se muestra, en la parte superior e inferior respectivamente de la **fig. 18**, que representa la curva de calibración de estradiol, en las dos modalidades, como un ejemplo representativo de la calibración de los ensayos hormonales por RIA. Se observa la relación inversa entre la radiactividad unida al Ab (%B) y la concentración de la hormona, así como la pendiente (m) y la correlación entre los diferentes puntos de la recta

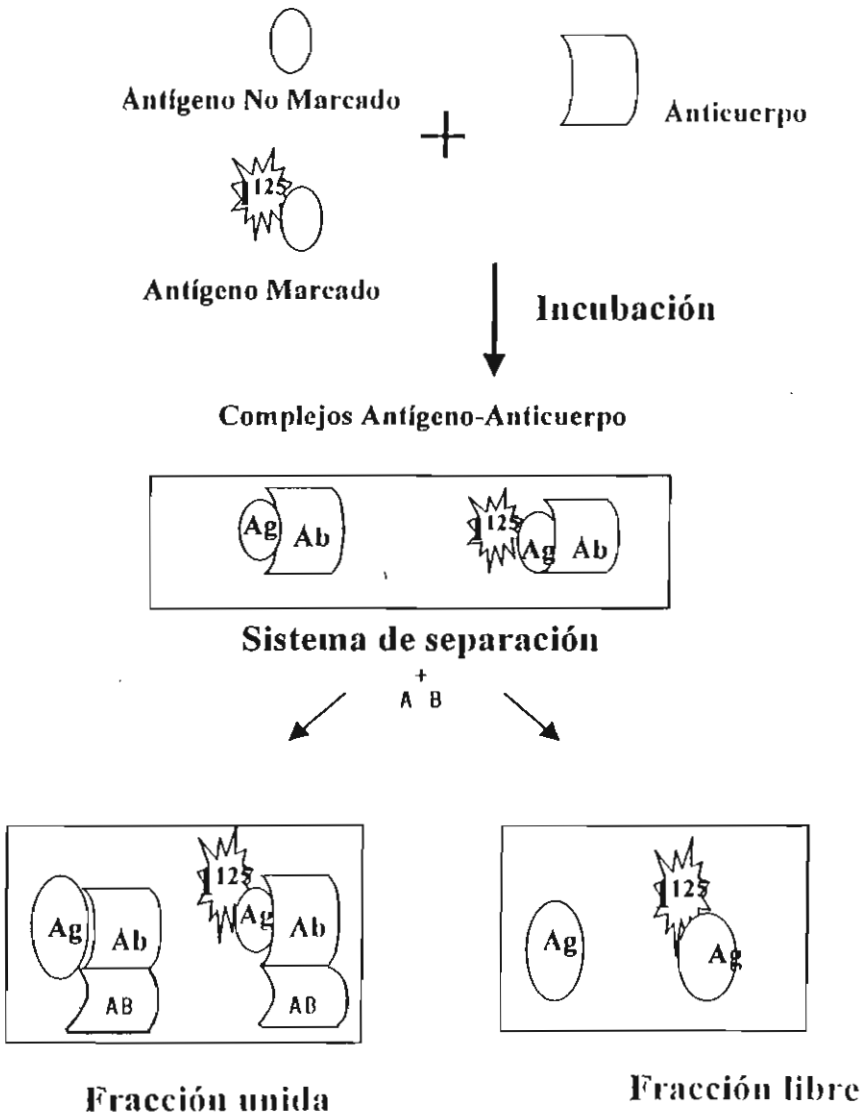
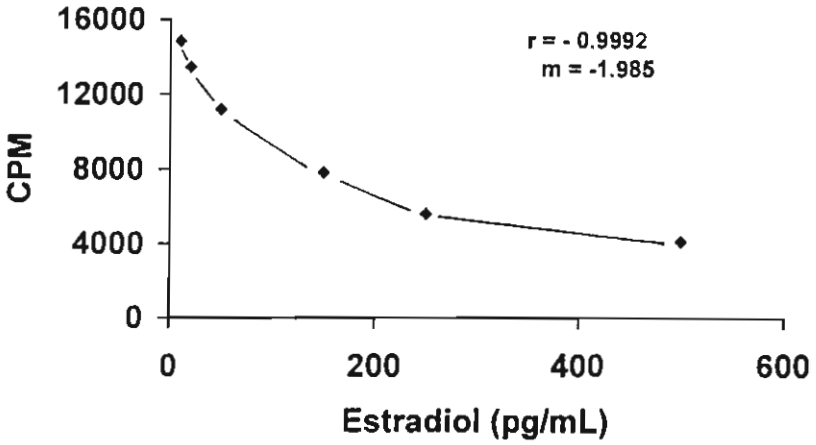


Fig.17 Radioinmunoanálisis (RIA) de doble anticuerpo.

CT	31836	31815	31825	
Bk	28.1	27.1	27.6	
St	cpm		Conc.	cpm (X)
1	16316	15580	0	15948
2	14901	14796	10	14848
3	13508	13429	20	13469
4	11269	11121	50	11195
5	7752	7867	150	7810
6	5700	5510	250	5605
6	4237	4020	500	4128



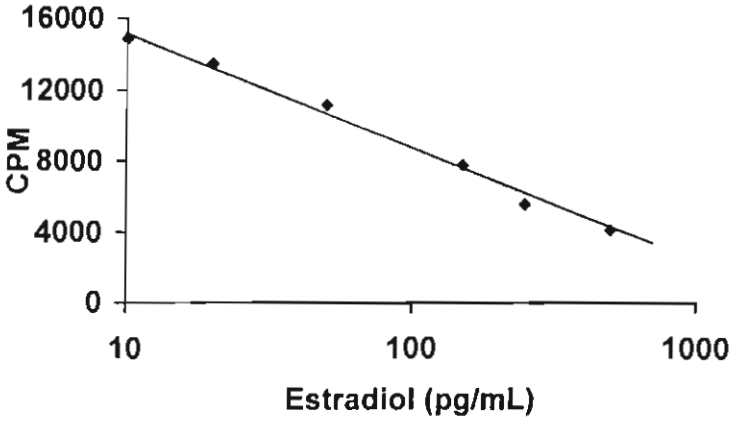


Fig.18- Curva de calibración de Estradiol y su ajuste lineal en escala logarítmica a partir de los datos numéricos

El RIA es en la actualidad uno de los procedimientos más utilizados para la medición de numerosos compuestos de importancia biológica como: hormonas, marcadores tumorales, antígenos bacterianos y virales, enzimas, vitaminas, nucleótidos y numerosas proteínas, debido a la versatilidad del procedimiento, rapidez y bajo costo, siendo una de los métodos de laboratorio de mayor sensibilidad, precisión y exactitud que existen hasta la fecha. La elevada especificidad del procedimiento permite distinguir al Ag por medir entre estructuras muy similares como son: las diferentes formas moleculares de las hormonas, las isoenzimas de una misma enzima, los esteroides de un mismo grupo o las diferentes catecolaminas (NA, A y DA). Todas las técnicas de RIA utilizadas en la medición de las hormonas en este estudio, se realizaron de acuerdo a las indicaciones proporcionadas por los fabricantes; han sido estandarizadas previamente y se someten continuamente al programa de Control de Calidad del laboratorio (**tabla 1**).

3.2.-Análisis Inmunoradiométrico (IRMA).

Los métodos inmunoradiométricos, conocidos como técnicas IRMA (immuno radiometric assay) son sistemas de medición que como el radioinmunoanálisis, se basan en una reacción inmunológica, en la que el indicador del sistema es un isotópo que permite detectar y cuantificar la reacción. Sin embargo los métodos IRMA tienen dos diferencias fundamentales con las técnicas de RIA: 1) el sistema no es competitivo, sino inmunométrico es decir, de medición directa y 2) la marca radiactiva no se encuentra en el antígeno, sino en el anticuerpo.
Este método también conocido como sistema de dos plazas o tipo "sandwich", utiliza dos anticuerpos monoclonales contra la hormona o antígeno por medir, el primero unido a una fase sólida en la que se coloca la muestra de suero o líquido biológico por cuantificar (50-100ul) y el segundo marcado con un isótopo radiactivo. El primer Ab extrae al Ag de la muestra biológica y lo une con elevada especificidad quedando el complejo Ag-Ab sobre la fase sólida.

Después de decantar el líquido sobrenadante y lavar, se añade el segundo anticuerpo marcado con I-125 (AB*) que está dirigido también contra el antígeno, de modo que al reaccionar con el complejo, se une a la fase sólida formando un complejo terciario Ab-Ag-AB*.

La reacción puede ejemplificarse de la manera siguiente:

1) Fase sólida- Ab + Ag ----------→ Fase sólida – Ab –Ag

2) Fase sólida- Ab –Ag + AB* -------→ Fase sólida- Ab-Ag-AB*

La radiactividad incorporada al complejo Ab-Ag-AB*, es directamente proporcional a la concentración del compuesto que se mide en el suero y se calcula, extrapolando la radiactividad presente en los tubos problema, en una curva de calibración que se elabora con estándares de concentración conocida.

Tabla 1.Control de calidad de los inmunoensayos para cuantificar hormonas

Hormona	Sensibilidad	Precisión CV(%) Intraensayo (n = 20)	Precisión CV(%) Inter-ensayo (n = 10)	Exactitud Recuperación (%) (M ± DE)
FSH	0.6 mUI/mL	3.5	6.3	100.6 ± 4.6
LH	1.2 mUI/mL	3.7	6.8	98.6 ± 2.9
PRL	0.5ng /mL	4.2	7.1	96.4 ± 4.4
E2	8 pg / mL	4.1	8.6	97.2 ± 5.4
GH	0.25 ng /mL	2.7	4.2	98.2 ± 3.1
IGF-1	0.32 ng/mL	2.6	4.7	95.6 ± 4.8
Insulina	3.6 uUI/mL	5.7	7.3	97.8 ± 4.2
ACTH	8 pg / mL	3.2	6.5	97.4 ± 5.3
DHEA-S	30 ng /mL	4.5	5.8	101.5 ± 3.7
Cortisol	2 ng / mL	6.6	8.9	102 ± 3.1

Este procedimiento propuesto por Miles en 1974 para medir Ferritina (231) es ampliamente utilizado en la actualidad para la medición de numerosos compuestos de naturaleza proteica, entre ellos las hormonas (232).
El factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-1) se determinó por este método usando estuches comerciales de Diagnostic System Laboratories (Texas USA), que miden IGF-1 total. El método requiere separar IGF-1 de sus proteínas de unión y extraer la hormona con una mezcla de alcohol-ácido (7:1 vol/vol) previo al ensayo. La curva de calibración de IGF-1 se presenta en la **Fig. 19** donde se puede observar la relación lineal entre la radiactividad (cpm) unida al anticuerpo (eje de la Y) y la concentración de IGF- eje de la X) También se observa, la pendiente de la recta y la elevada correlación entre los diferentes puntos de concentración.

Control de calidad.- Este método inmunométrico para IGF-1, es muy especifico debido al uso de dos anticuerpos monoclonales, tiene una sensibilidad de 0 32 ng/mL, excelente precisión con coeficientes de variación (CV) intraensayo e interensayo de 2.6 y 4.7% respectivamente y una elevada recuperación **(Tabla 1).**

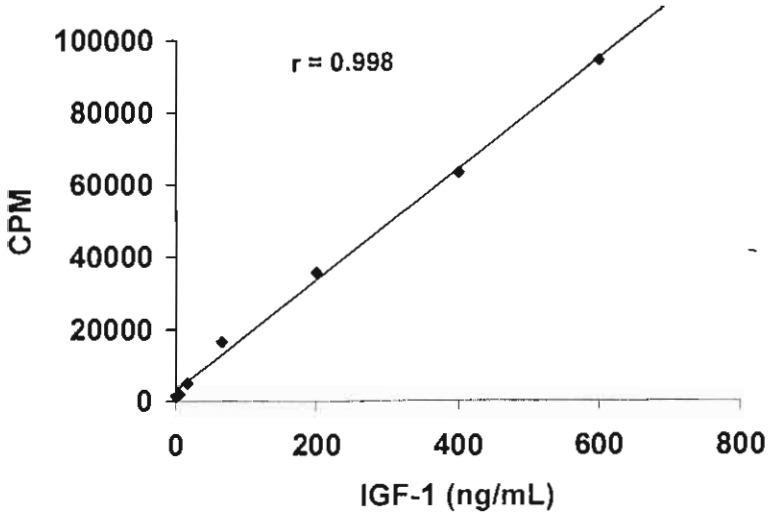
3.3.- Quimioluminiscencia.

La quimioluminicencia (QL) puede ser definida como el fenómeno mediante el cual se produce luz a partir de una reacción química; implica la emisión de fotones de una molécula que es excitada a determinada longitud de onda, pasando a un nivel energético menor. Existe una amplia variedad de moléculas que son quimioluminiscentes y producen luz, aún cuando la reacción se realice a concentraciones muy bajas, a lo que se debe que la QL sea extraordinariamente sensible, más aún que la bioluminiscencia (BL).
En la BL a diferencia de la QL, la producción de luz se realiza dentro de un sistema biológico y requiere la participación de una enzima específica como la luciferasa (233).
Un problema común tanto de la BL como de la QL es la rapidez con la que decae la producción de luz, sin embargo, en los equipos automatizados que utilizan QL este problema se ha resulto por la adición de una molécula que incrementa la señal luminosa y estabiliza la reacción (QL enhancer).
La presencia de esta substancia dentro de la reacción determina que la producción de luz se incremente de manera muy importante y que sea estable durante un tiempo más prolongado que en la reacción original, lo que permite tener mayor tiempo para realizar la lectura.
La elevada sensibilidad que alcanzan estos sistemas, se ha aprovechado en procedimientos analíticos similares al RIA o las técnicas IRMA, en los que alguno de los reactivos de la reacción inmunológica, ya sea el antígeno (Ag) o el anticuerpo (Ab) se marcan con un compuesto quimioluminiscente, en substitución de la tradicional marca isotópica, dando origen a inmunoensayos que utilizan como sistema de medición la producción de luz (QLA) En ellos la reacción Ag-Ab se valora por la luz producida durante la reacción y se cuantifica en un luminómetro.

Existen dos principales tipos de inmunoensayos quimioluminiscentes (QLA) que se utilizan en la medición de hormonas: a) Ensayos competitivos similares al RIA, en los que se marca el Ag con un compueso quimioluminiscente (Ag*) como el isoluminol o sus derivados, por ser compuestos que emiten luz cuando son oxidados en un sistema enzimático como el de la peroxidasa

Sistema inmunoradiométrico

Tubos	cpm		Conc.ng/mL	cpm X
CT	158803	154552		156678
Bk	166	178		172
St 1	1300	1419	0	1360
2	1856	1858	4.5	1857
3	4939	4910	16	4924
4	16530	16786	65	16658
5	38221	33071	200	35646
6	63240	63248	400	63244
7	94913	93585	600	94249

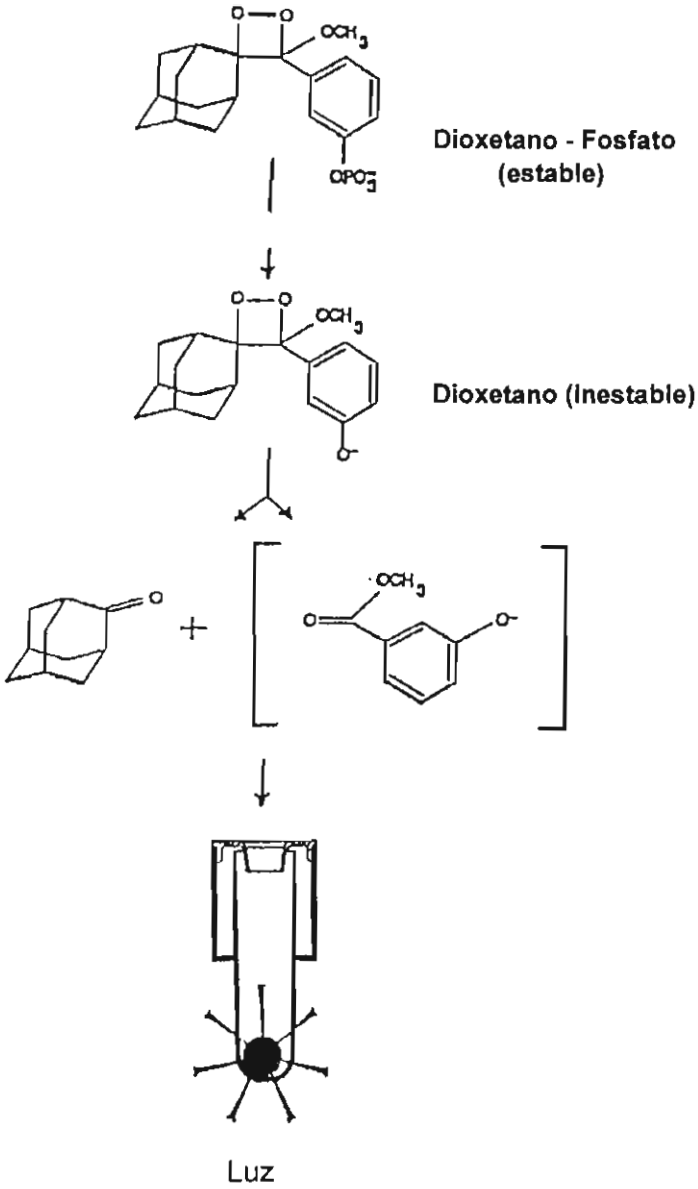


XOCHIMILCO SERVICIOS DE INFORMACION
ARCHIVO HISTORICO

Fig. 19. Curva de calibración del Factor de Crecimiento Insulinoide (IGF-1) Por técnica inmunométrica (IRMA).

El peróxido de hidrógeno producido en la reacción, oxida al isoluminol o sus derivados produciendo luz, lo que permite cuantificar la reacción inmunológica. Los ensayos competitivos se realizan por lo general en fase líquida, son más utilizados para la cuantificación de moléculas pequeñas como los esteroides y se identifican por las siglas LIA (234) . Una característica de estas reacciones es que la señal luminosa es tiempo-dependiente y el tiempo que dura la emisión de luz es muy corto, por lo que la lectura debe ser realizada rápidamente, o en presencia del estabilizador como se mencionó anteriormente.
El otro tipo de inmunoensayo quimioluminiscente es de tipo inmunométrico y requiere dos Abs monoclonales, uno de ellos extrae al Ag de la muestra formando el complejo (Ag-Ab) sobre la fase sólida, el otro conjugado con una enzima (AB-enzima) se une al complejo AgAb previamente formado, en relación directamente proporcional a su concentración, dando un complejo terciario Ab-Ag-AB-enzima. La incorporación de la enzima tiene como función hidrolizar al sustrato catalizando la reacción química en la que se produce la luz. La enzimas más usadas en los métodos inmunométricos son la fosfatasa alcalina y la peroxidasa de rábano, que pueden utilizar como sustratos algunos compuestos quimioluminiscentes como los ésteres de acridina o el dioxetano-fosfato.

Este último es uno de los sustratos quimioluminiscentes más utilizados para la fosfatasa alcalina, y al ser hidrolizado por la enzima libera el dioxetano, compuesto inestable que para estabilizarse emite fotones y produce luz en cantidad proporcional al antígeno presente el muestra **(Fig 20)**.
Debido al uso de enzimas como marcadores, la metodología puede considerarse como un inmunoensayo enzimático, sin embargo, la diferencia fundamental es el tipo de sustrato utilizado, que al hidrolizarse produce luz que se cuantifica en un sistema de detección diseñado para medir fotones con una sensibilidad muy elevada y muy superior a la detección fotométrca . Se conocen como inmunoensayos enzimáticos con detección por quimioluminiscencia (QLA) y su principal ventaja frente al RIA y otros inmunoensayos es la elevada sensibilidad que puede alcanzarse, aun en el orden de femtomolas
Estos inmunoensayos han sido automatizados, y son ampliamente utilizados en la actualidad para la medición de hormonas, marcadores tumorales, interleucinas, antígenos virales y otros compuestos biológicamente importantes (235).
En este estudio se utilizó QLA para medir la ACTH y la DHEA-S, la primera por un método inmunométrico y la segunda por un sistema competitivo El control de calidad de estos inmunoensayos, respecto a sensibilidad, especificidad, precisión y exactitud, se presenta en la **tabla 1**.



Degradación del Dioxetano- PO4 por la fosfatasa alcalina para la producción de luz en los inmunoensayos con detección por quimioluminiscencia

Fig. 20

4- MEDICIÓN DE LOS NEUROTRANSMISORES.

La medición de las aminas biogénicas en suero o plasma, es una de las herramientas más valiosas de que se dispone en la actualidad para estudiar desórdenes endocrinos, alteraciones psico-emocionales y enfermedades mentales. Se piensa que estas alteraciones se relacionan, por lo general con cambios en la concentración de los neurotransmisores cerebrales (113) y algunos investigadores han encontrado una excelente correlación entre las concentraciones hormonales en plasma y orina con las del líquido cefaloraquideo (112), asi como entre la concentración de las monoaminas en los extractos de cerebro y los niveles circulantes (114), correlación que se ha observado tanto en condiciones basales como por efecto de estimulos fisiológicos o farmacológicos .
En la actualidad la medición de los neurotransmisores puede realizarse por diferentes métodos de los cuales dos han demostrado ser suficientemente sensibles, precisos y especificos para la medición de las aminas biogénicas

a) Por cromatografia de líquidos de alta presión.(HPLC)
b) Por técnicas de radioinmunoanálisis (RIA).

Se acepta que ambos procedimientos son adecuados para la medición de los neurotransmisores en liquido cefalo-raquideo, suero o plasma Dada la dificultad para contar con un equipo de HPLC con detector electroquímico, se decidió utilizar el RIA, con algunas ventajas como su sencillez, facilidad de procesamiento, por utilizar un volumen muy pequeño de muestra (20-100uL) y no requerir la purificación previa de las aminas como ocurre en el HPLC, lo cual es posible debido a la elevada especificidad de los anticuerpos que pueden distinguir y reaccionar en forma especifica con las diferentes aminas y además la rapidez del procedimiento.

4.1- Medición de las concentraciones de NA y DA por RIA

Se realizaron por RIA de doble anticuerpo con reactivos de *International Bio Laboratories (IBL) de Hamburgo, Alemania* La técnica requiere que las catecolaminas presentes en la muestra de suero o en la solución estándar sean transformadas en sus respectivos derivados metilados, lo cual se logra haciendo reaccionar los sueros con la catecol o-metil transferasa (COMT) enzima que en presencia de S- adenosil metionina (donador de metilos) introduce un metilo en el oxhidrilo del C2 del anillo catecol, convirtiendo a la NE en normetanefrina y a la DA en 3 metoxi tiramina, compuestos que de inmediato son acetilados para dar la N- acil normetanefrina y N-acil 3 metoxi tiramina respectivamente, compuestos contra los cuales están dirigidos los anticuerpos que se utilizan en estos inmunoensayos, los cuales se caracterizan por su elevada afinidad y gran especificidad.
Como un ejemplo representativo de estos inmunoensayos se presenta la **Fig 21** que corresponde a la curva de calibración de la NE; se indican los datos referentes a dicha curva y los controles indispensables en el inmunoensayo como son . las cuentas totales del Ag* añadidas a cada tubo (CT), el % de unión del ensayo (Bo), la unión no especifica (NBS) y el coeficiente de correlación entre los puntos (r), datos que son indispensables para la validación del procedimiento

Radioinmunoanálisis de Norepinefrina

Tubos	cpm	cpm ($\bar{X}$)	cpm - NSB
Cuentas Totales	51,505 51076	51291	51120
NSB (BK)	178 165	171	
Sts (ng/mL) 0 conc.(Bo)	16994 16984	16989	16818
0.1	14296 15741	15018	14847
0.3	12608 13078	12843	12692
1	9566 9324	9445	9272
3	6847 6924	6885	6714
10	2786 2767	2777	2606

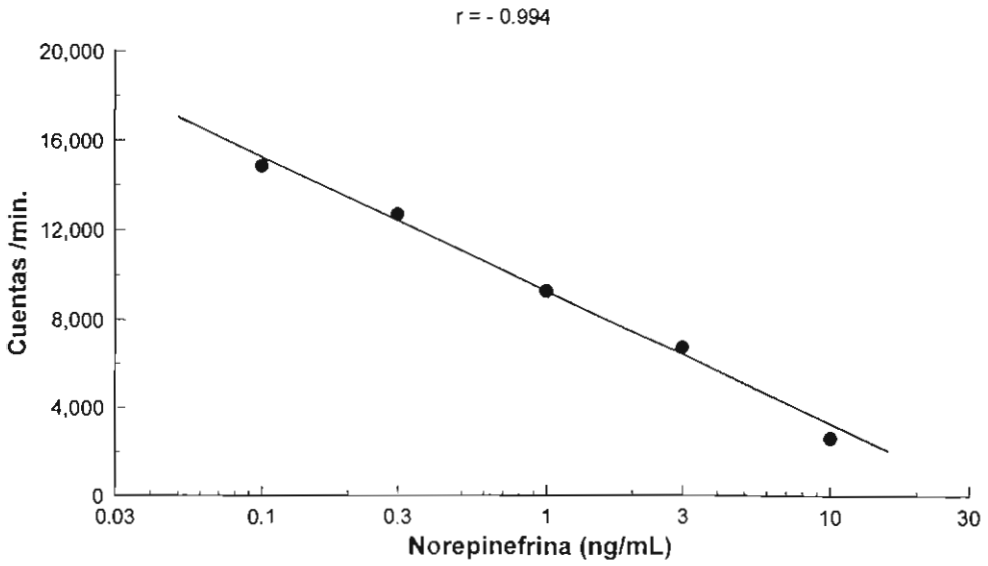


Fig. 21- Curva de calibración de norepinefrina.

4.2.- Radioinmunoanálisis de la β- endorfina.

La β -endorfina es un neuropéptido de 31 aminoácidos, cuya estructura se encuentra en la fracción COOH- terminal de la β-lipotropina., polipéptido a su vez derivado de la pro-opiomelanocortina (POMC). El problema principal para la cuantificación de la β - endorfina en las primeras técnicas de RIA fue la inespecificidad de los anticuerpos que tenían elevada reacción cruzada con la β-lipotropina. Este problema se solucionó originalmente, purificando la β-endorfina por cromatografía de afinidad en columnas de sílica gel. Wiedemann y su grupo fueron los primeros en obtener un antisuero específico que no presentaba reacción cruzada significativa con la β-lipotropina, surgiendo después RIAs más específicos (236). Otro problema adicional es la presencia en el suero de proteínas que unen a la β-endorfina e interfieren en el RIA, por lo que se recomendó la extracción del péptido con una mezcla de alcohol-ácido que precipita las proteínas eliminando su interferencia (237). Más recientemente se ha utilizado la cromatografía por afinidad en Sephadex, método que se considera excelente para purificar y concentrar la β-endorfina de los líquidos biológicos, facilitando su determinación por RIA. Sin embargo, tiene el inconveniente de que las columnas utilizadas son costosas y el procedimiento no resulta práctico para su uso en la rutina diaria.

En este estudio, la β- endorfina presente en las muestras de suero, se cuantificó con. reactivos de *INCSTAR Corporation (Stillwater MN, USA)* previa separación de las proteínas de unión por tratamiento con una mezcla de alcohol-ácido (etanol-HCL 7:1 vol/vol), de acuerdo a lo recomendado por Orf JW y colaboradores (237) quienes describieron el procedimiento, utilizando el reactivo proporcionado por la misma casa comercial para tal objeto.

4.3. Serotonina.

La medición de serotonina se realizó con un método inmunoenzimático de fase sólida (ELISA) usando reactivos de *International Bio Laboratories (IBL) de Hamburgo, Alemania.*

El método permite cuantificar la indolamina en el suero, el plasma o la orina y en homogenados de diversos tejidos, previa formación de un derivado acilado, la N-acilserotonina. El ensayo de tipo competitivo, se basa en la reacción de competencia que se establece entre la serotonina del suero o plasma (Ag) y una serotonina conjugada con biotina (Ag-biotinilado o Ag*), compitiendo ambos antígenos por los sitios de unión en el anticuerpo que se encuentra en cantidad limitada, de tal modo que la cantidad de Ag-biotinilado que se une al Ab será inversamente proporcional a la serotonina presente en la muestra Después que la reacción alcanza el equilibrio, el exceso de Ag* libre es eliminado lavando la fase sólida donde se encuentra el complejo (Ag-Ab y Ag*-Ab) y éste es cuantificado por la adición de un suero anti-biotina conjugado con fosfatasa alcalina (PA)

Finalmente se agrega p-nitro-fenil fosfato el sustrato para la enzima, compuesto que al ser hidrolizado produce p–nitrofenol de color amarillo, en cantidad proporcional a la enzima incorporada al complejo. La reacción puede esquematizarse de la siguiente manera:

Inmunoensayo de Serotonina.

Tubos	Absorbancia DO (405 nm)	DO- NSB
NSB (BK)	0.04	
ST conc 0 (Bo) (ng/mL)	1.648	1.608
0.05	1.522	1.482
0.14	1.336	1.296
0.4	1.05	1.01
1.2	0.69	0.65
3.7	0.355	0.315
11	0.18	0.14

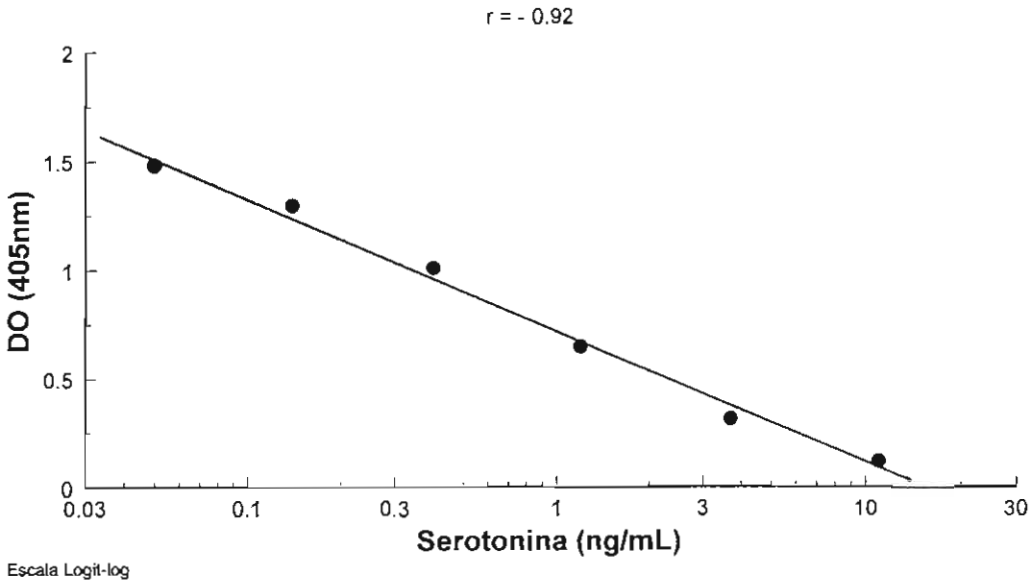


Fig. 22.- Curva de Calibración de Serotonina
Técnica de ELISA (competitivo)

1) Ag + Ab + Ag- Biotina ----------→ Ag-Ab + Biotina-Ag-Ab

2) Biotina-Ag-Ab
+ ----------→ PA-anti Biotina-Biotina-Ag-Ab
Anti Biotina-PA

3) Ag-Ab-biotina-anti biotina-PA Ag-Ab-biotina-anti biotina-PA
+ ----------→ +
p- nitrofenil fosfato p -Nitrofenol + Fosfato

La concentración de serotonina en las muestras se obtiene interpolando la lectura (DO) de los problemas en la curva de calibración que se elabora con cinco diferentes concentraciones de serotonina.(**Fig 22**)

4.5.- Acetilcolina (ACh).

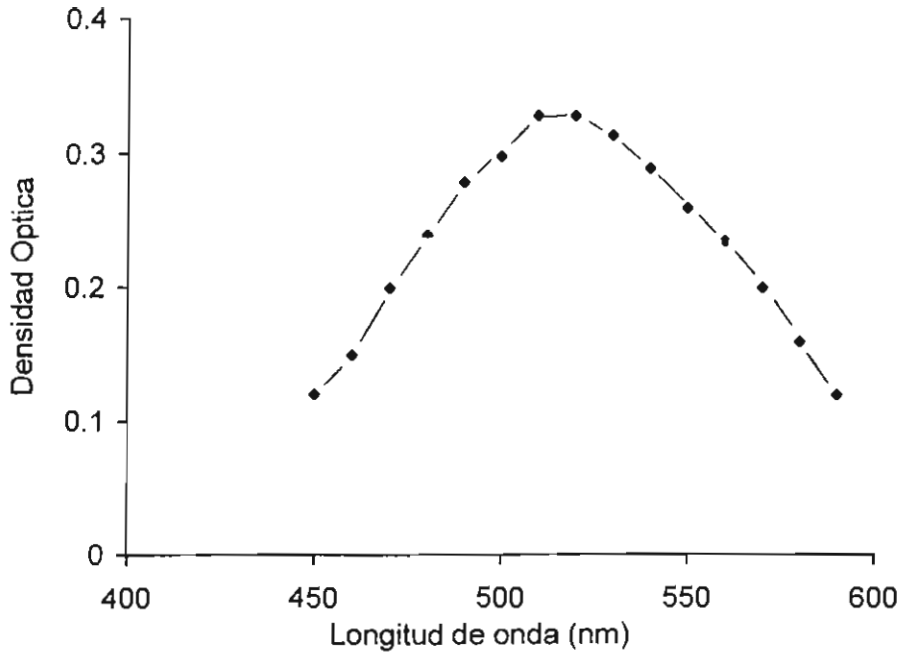
La medición de Ach se realizó por la técnica de Hestrin y Sabine (238) modificado para incrementar su sensibilidad (239) y poder realizar su cuantificación en la orina. El método se basa en la formación de un cromógeno muy específico que se forma al hacer reaccionar la Ach con hidroxilamina en medio alcalino, formándose colina y acetato de hidroxilamina; esta última a pH ácido, en presencia de cloruro férrico produce un complejo férrico hidroxámico de color café con absorbancia característica a 520nm que se forma en cantidad proporcional a la concentración de Ach en la muestra.(**Fig 23**).
El mecanismo de la reaceión se representa en el siguiente esquema.

1) CH3-COO-CH2-CH2-$\overset{+}{N}$(CH3)3
Acetil Colina

+
NH2-OH ----------→ OH-CH2-CH2-$\overset{+}{N}$(CH3)3 + CH3-CO-NH-OH
Hidroxilamina pH 10 Colina Acetato de Hidroxilamina

3 CH3-CO-NH-OH + FeCL3 ----------→ Fe (CH3-CO-NH-O)3 + 3HCL
Acetato de hidroxilamina pH 2-3 Complejo Férrico-hidroxámico

El control de calidad de los métodos utilizados para medir los NTs se encuentra en la **tabla 2**



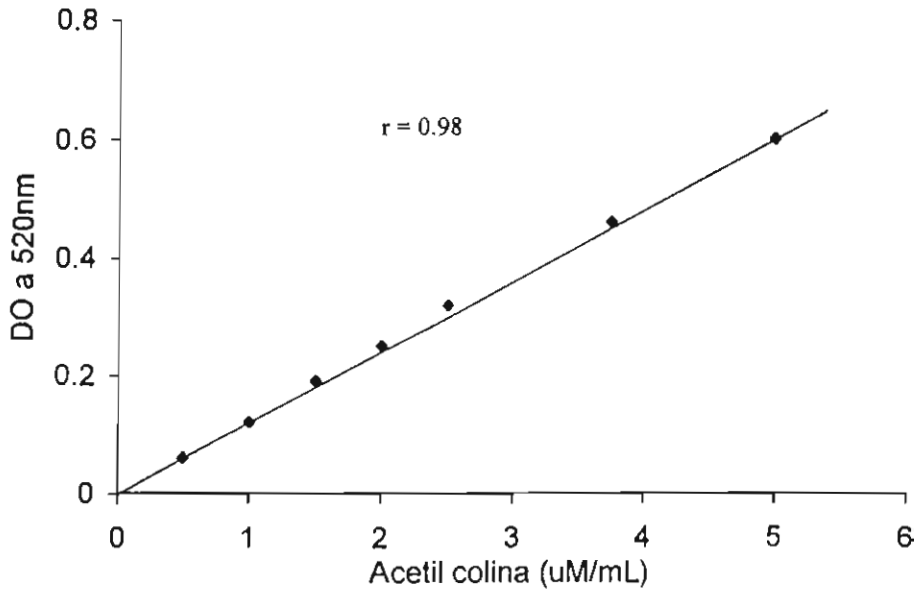


Fig. 23-Espectro de absorción del cromógeno (gráfica superior) y curva de calibración de Acetilcolina.(gráfica inferior)

Tabla 2.- Control de Calidad

Métodos para medir neurotransmisores

	Sensibilidad	Precisión (CV%)		Exactitud	Especificidad	
		Intraensayo	Interensayo	Recuperación (%)	Reacción Cruzada	(%)
					N- acil normetanefrina	100
Norepinefrina	0 1ng /mL	7 7	9 6	95 6	N- acil metanefrina	3

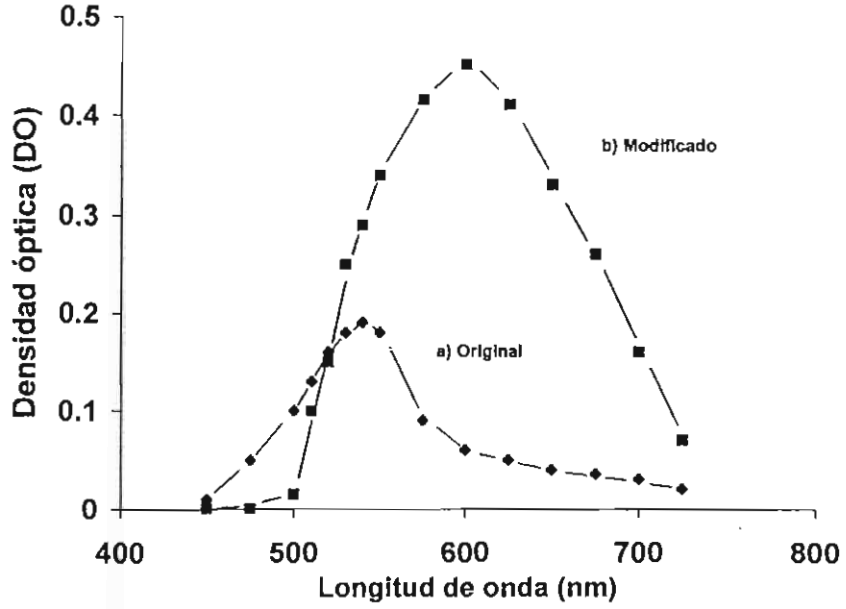
5.- METABOLITOS URINARIOS DE NEUROTRANSMISORES

5.1. Cuantificación de Ac. 5-Hidroxi -Indol acético (5OHIAA).

La medición del 5OHIAA se realizó por el método de Udenfriend modificado por Goldenberg (240). El método original se basa en la reacción del 5 OHIAA con nitroso 2- naftol y Ac. Nitroso para dar un cromógeno de color violeta con absorbancia máxima a 535 nm. Esta reacción tiene el inconveniente de no ser específica para el 5OHIAA, ya que reconoce otros indoles y algunos compuestos fenólicos, por lo que fue modificado por Goldenberg quien propuso extraer el cromógeno violeta una vez formado, con β mercapto etanol lo que modifica la reacción produciendo un cromógeno de color azul que se extrae con acetato de etilo. Este cromógeno es muy específico y tiene una absorbancia característica para el 5OHIAA a 645 nm (**Fig. 24**).

5.2. Determinación de Ac. Vanillin Mandélico (VMA).

(Método Oxford.)
El método proporcionado por el Dr. C:E Wilde del Dpto de Química Clínica del Hospital Royal Infirmay, Doncaster Inglaterra, se basa en la reacción de diazotación del VMA con el diazo-reactivo (nitrito de sodio y p-nitro anilina) en medio fuertemente alcalino, formándose un cromógeno que se extrae con una mezcla de cloroformo-butanol, formando un compuesto de color rosado con absorvancia máxima a 590nm. Este método requiere la extracción y purificación previa del VMA de la orina, por extracción del cromógeno con acetato de etilo, para evitar la interferencia de otros metabolitos de catecolaminas que también pueden dar la reacción de color, ya que no es muy específica .
Los datos del control de calidad de los métodos para el 5OHIIA y el VMA se muestran en la **tabla 3.**



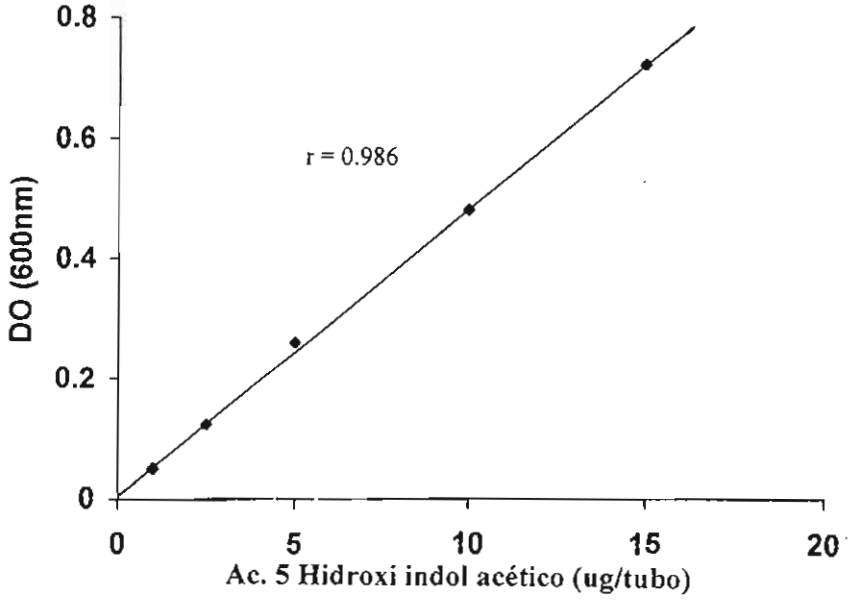


Fig.24.- Espectro de absorbancia del cromógeno del 5OHIAA y su curva de calibración

Tabla 3.- Métodos para medir metabolitos urinarios de los neurotransmisores

Control de Calidad

6- METODO PARA EVALUAR EL ESTADO PSICO-AFECTIVO Y LAS ALTERACIONES CLINICAS

Escala del climaterio de Greene

El estado psico-afectivo de las mujeres participantes en el estudio se realizó mediante la aplicación de *"la escala del climaterio de Greene"* (241), propuesta en 1979 para evaluar las alteraciones clínicas y psico-afectivas de las mujeres climatéricas, siendo posteriormente validada por diferentes investigadores y por el mismo autor en repetidas ocasiones en las que se ha demostrado su utilidad en la clinica (242).
Los principales alteraciones que afectan a la mujer climatérica son consideradas en el formato de Greene (Anexo 1) clasificadas en 4 diferentes escalas:

	Alteraciones
1- Escala psicológica	**1-11**
Escala de Depresión	1- 6
Escala de Ansiedad	7- 11
2- Escala somática	**12-18**
3- Cuadro vasomotor	**19-20**
4.- Esfera Sexual	**21**

La *escala psicológica*, una de las de mayor interés para los objetivos de este trabajo, se subdivide a su vez en dos escalas. la *escala de ansiedad* que incluye seis de las manifestaciones que se presentan más frecuentemente en las pacientes con ansiedad (palpitaciones cardíacas, nerviosismo, insomnio, excitabilidad, miedos o temores y dificultad para concentrarse) y la *escala de depresión* que comprende cinco síntomas (cansancio o falta de energía, pérdida de interés o apatía, irritabilidad, sentimiento de infelicidad o tristeza y accesos de llanto)
Cada una de las alteraciones se califica con una puntuación de 0-3 dependiendo de su intensidad : el cero (0) para indicar la ausencia de la alteración, uno = leve, dos = moderada y 3 = intensa. Una vez contestadas las preguntas se suma la puntuación de cada una de las escalas y finalmente la puntuación total alcanzada en la escala de Greene. Debe mencionarse que los formatos de la escala de Greene fueron llenados por las mismas pacientes una vez que se les explicó en que consistía el formulario y la manera de contestarlo, explicando además las dudas que pudieran tener al respecto.
Este cuestionario fue aplicado dos veces, una en la entrevista de la primera visita, antes de iniciar el tratamiento y la segunda vez al terminar el tercer ciclo de EEC, antes de iniciar el progestágeno del tercer ciclo, día en que se tomó también la segunda muestra de sangre para las determinaciones hormonales y de los neurotransmisores.

ESCALA DE CLIMATERIO DE GREENE

NOMBRE: _____ FECHA: _____
NUMERO: _____

Marque con una cruz en la casilla que corresponda, de acuerdo a la intensidad de los sintomas que presente en el momento actual.

SINTOMA	Ninguno	Ligera o Leve	Moderada	Intensa o Severa	Calificar de 0 a 3
1. Palpitaciones cardiacas rápidas o fuertes					
2. Sensasión de tensión o nerviosismo					
3. Dificultad para dormir					
4. Excitable					
5. Crisis de pánico					
6. Dificultad para concentrarse					
7. Sensación de cansancio o falta de energía					
8. Pérdida de interés en la mayoría de las cosas					
9. Sensación de infelicidad o depresión					
10. Accesos de llanto					
11. Irritabilidad					
12. Sensación de vértigo o desvanecimiento					
13. Presión o tensión en la cabeza o el cuerpo					
14. Adormecimiento del cuerpo					
15. Dolores de cabeza					
16. Dolor en músculos o articulaciones					

IV.- RESULTADOS

1.- ESTUDIO HORMONAL.

1.1-Hormonas del eje hipófisis-ovario en relación con la edad.

En la **Fig.25** se representan los niveles de E2, FSH y LH (de arriba hacia abajo respectivamente) en las mujeres del estudio en relación con la edad, incluyéndose el grupo de mujeres en edad reproductiva y las mujeres menopáusicas. En la gráfica superior se observa, la máxima concentración de E2 en las mujeres de menor edad, descendiendo paulatinamente para alcanzar la concentración más baja después de los 50 años. FSH y LH por el contrario tuvieron concentraciones bajas en las mujeres jóvenes y aumentaron en forma progresiva después de los 45-46 años, alcanzando su mayor concentración alrededor de los 50 años, descendiendo después ligeramente hasta los 60 años.

La Prolactina (**fig. 26**) al igual que el E2 disminuyó significativamente ($p < 0.001$) al aumentar la edad de las mujeres, con una correlación lineal negativa entre su concentración y la edad ($r = -0.44$). La **Fig. 27** muestra la media $\pm$ desviación estándar ($M \pm DE$) de los valores FSH, LH, PRL y E2, al distribuir a las pacientes en grupos de cinco años de acuerdo con su edad; destaca en las gráficas de la parte superior, el notable incremento de la concentración de ambas gonadotropinas que tuvieron niveles más elevados en el grupo de 51-55 años, lo que contrasta con la marcada disminución de PRL y E2 (gráficas de la parte inferior) observándose que los cambios son significativos para las cuatro hormonas a partir de los 46 años.

Efecto de la terapia hormonal de reemplazo. (HRT).

Cuando las mujeres menopáusicas fueron tratadas con tres ciclos de estrógenos (**Fig. 28**), las concentraciones de FSH y LH que estaban muy elevadas, disminuyeron significativamente con el tratamiento, aún con la menor dosis (0.312mg), en cambio, las concentraciones de E2 y PRL aumentaron en relación directa con la dosis administrada. Además se observó una elevada correlación lineal entre los niveles de PRL y la concentración de E2 (**Fig.29**) tanto en el grupo de mujeres del grupo testigo, como en las menopáusicas tratadas con estrógenos. Puede verse, que en respuesta a la terapia algunas de las mujeres presentaron ligera hiperprolactinemia con cifras mayores de 30ng/mL.
El Análisis de varianza (**ANOVA**) realizado con objeto de evaluar la diferencia entre los diferentes grupos, demostró que en el caso del E2 (**tabla 5**), la diferencia entre los grupos es altamente significativa ($p < 0.0001$). Por otra parte la prueba **Post-Hoc de Tukey** aplicada para saber en que grupos se encuentra la diferencia mostró que las diferencias en la concentración de E2 son altamente significativas ($p< 0.0001$) entre todos los grupos, es decir, entre el grupo no tratado (sin tx) y los que recibieron tratamiento con las diferentes dosis Por otra parte, también las diferencias en la concentración de E2 entre los tres grupos que recibieron tratamiento comparados entre si, son altamente significativas ($p< 0.0001$).

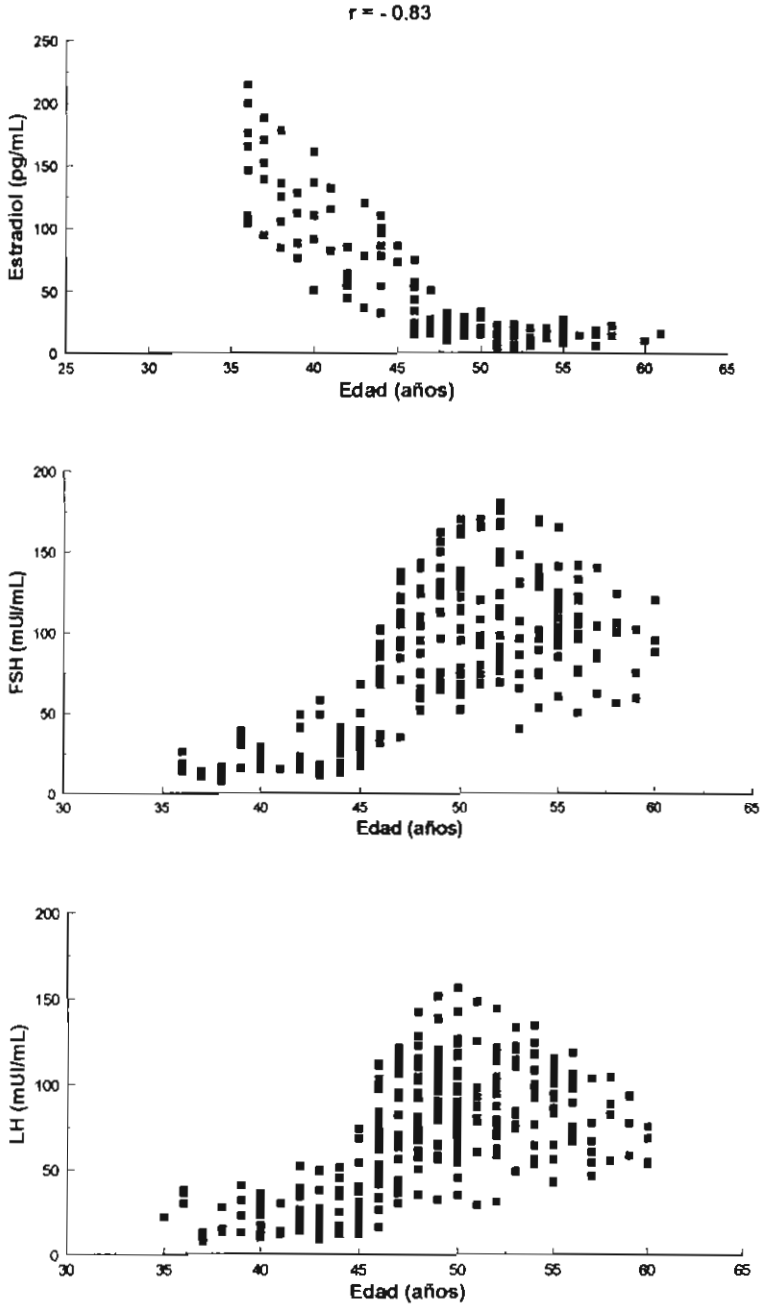


Fig.25 Niveles de estradiol (E2), hormona folículo estimulante (FSH) y hormona luteinizante, en relación con la edad de las mujeres.

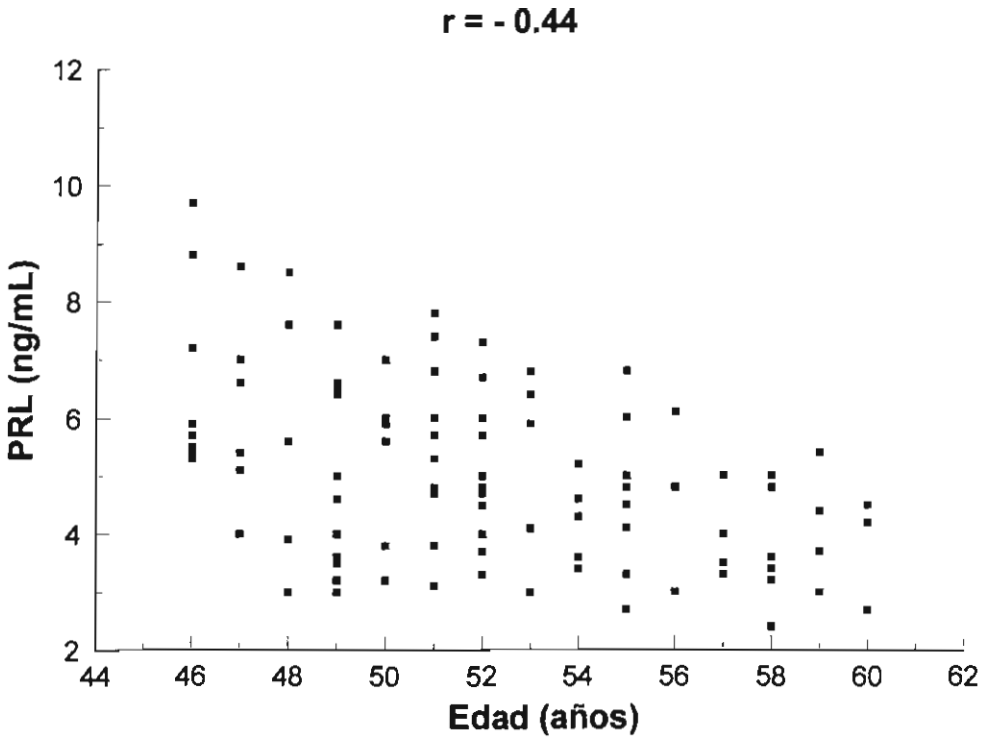
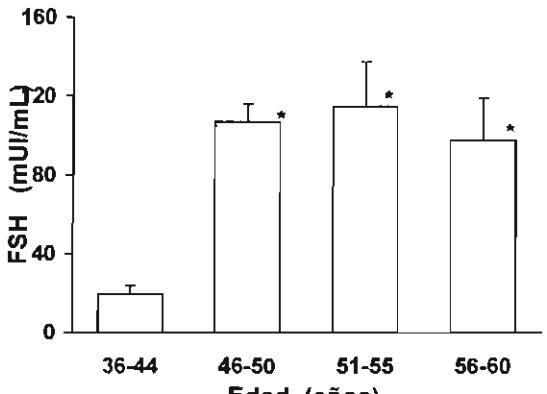
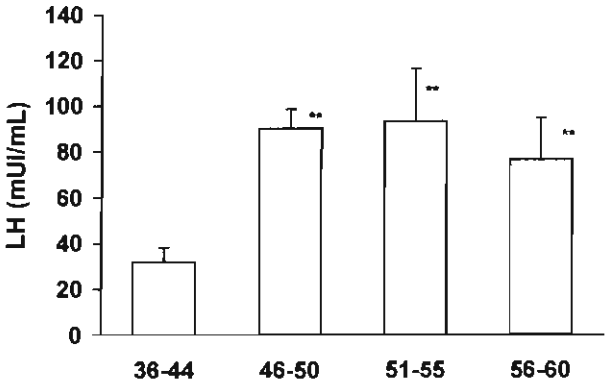
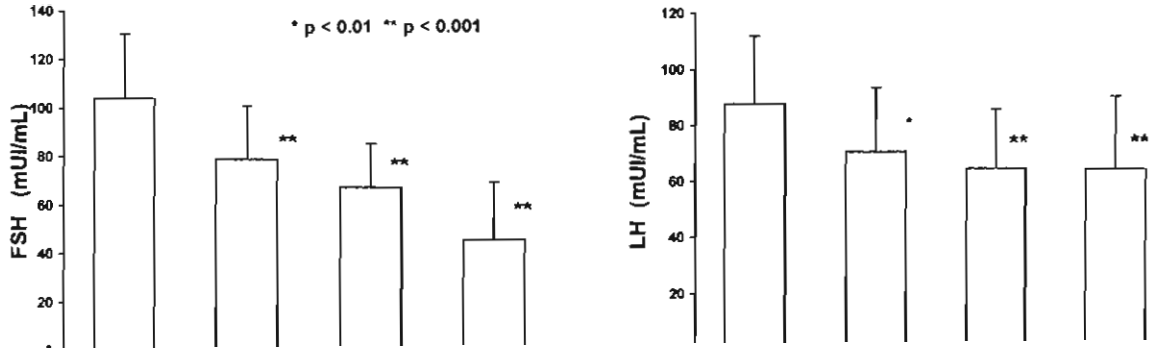
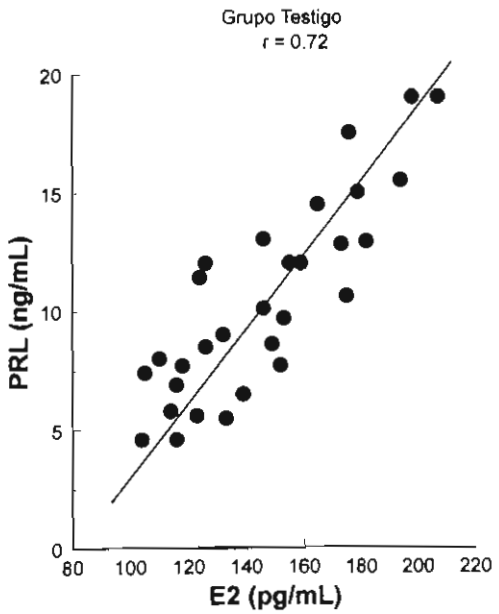


Fig 26 Disminución de los niveles de prolactina (PRL) en el grupo de mujeres menopáusicas con relación a la edad.


160
120
80
40
0
FSH (mUI/mL)
*
*
*
36-44
46-50
51-55
56-60


140
120
100
80
60
40
20
0
LH (mUI/mL)
**
**
**
36-44
46-50
51-55
56-60


* p < 0.01 ** p < 0.001
FSH (mUI/mL)
140
120
100
80
60
40
20
**
**
**
LH (mUI/mL)
120
100
80
60
40
20
*
**
**



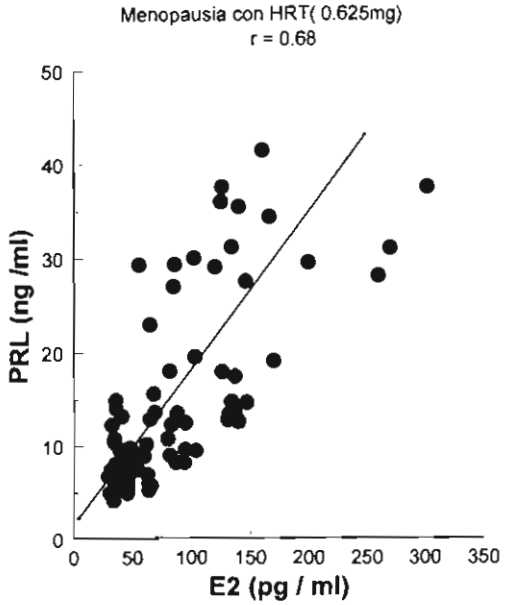


Fig. 29- Correlación entre las concentraciones de Prolactina (PRL) y estradiol (E2) en mujeres en edad reproductiva (gráfica superior) y en mujeres menopáusicas (gráfica inferior) luego de ser tratadas con 0.625mg de EEC. En ambas se observa una marcada relación lineal positiva.

ANALISIS DE VARIANZA DE 1 FACTOR ESTRADIOL

E2

Tabla 5

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	457355.53	3	152451.843	399.638	.000
Within Groups	34714.227	91	381.475		
Total	492069.76	94			

PRUEBA POST-HOC DE TUKEY ESTRADIOL

Dependent Variable: E2
Tukey HSD

(I) TX	(J) TX	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval Lower Bound	95% Confidence Interval Upper Bound
sin tx Vs	0.312 mg	-35.8705*	5.3264	.000	-49.8105	-21.9304
	0.625	-92.0652*	5.8073	.000	-108.1638	-77.7666
	1.25 mg	-194.0986*	5.8073	.000	-209.2972	-178.8999
0.312 mg	sin tx	35.8705*	5.3264	.000	21.9304	49.8105
	0.625	-57.0947*	6.7461	.000	-74.7503	-39.4392
	1.25 mg	-158.2281*	6.7461	.000	-175.8836	-140.5725
0.625	sin tx	92.9652*	5.8073	.000	77.7666	108.1638
	0.312 mg	57.0947*	6.7461	.000	39.4392	74.7503
	1.25 mg	-101.1333*	7.1319	.000	-119.7985	-82.4681
1.25 mg	sin tx	194.0986*	5.8073	.000	178.8999	209.2972
	0.312 mg	158.2281*	6.7461	.000	140.5725	175.8836
	0.625	101.1333*	7.1319	.000	82.4681	119.7985

*. The mean difference is significant at the .05 level.

1.2.Eje Somatotrópico.

Las hormonas del eje somatotrópico (GH - IGF-1) disminuyeron sensiblemente con la edad **(Fig. 30)**, en especial GH que tuvo concentraciones muy bajas en la mayoría de las mujeres mayores de 50 años, y cifras no detectables en 12 de las mujeres menopaúsicas estudiadas. De manera similar IGF-1 también disminuyó con la edad, presentando ambas hormonas una relación lineal negativa entre su concentración y la edad. ($r= -0.56$ y -0.63 respectivamente)

Efecto de la terapia hormonal.
La concentración ($M \pm DE$) de GH e IGF-1 en las mujeres menopáusicas (M) fué significativamente menor ($p< 0.001$) que en las mujeres en edad reproductiva (ER), sin embargo, después de HRT **(Fig.31)** las bajas concentraciones de GH e IGF-1 aumentaron, siendo el incremento mayor en las mujeres que recibieron 0.625mg de EEC ($p< 0.001$); con 1.25mg de EEC la respuesta fue menor. Una observación importante fue que al finalizar el estudio, los niveles de GH e IGF-1 en las mujeres tratadas con estrógenos fueron similares a los de las mujeres no menopáusicas, y aún con la dosis de 0.312 mg se obtuvo una elevación significativa, de magnitud similar a la obtenida con 1.25mg.
Por otra parte, el estudio de correlación mostró una elevada relación lineal entre los niveles de las dos hormonas con la concentración de estradiol **(Fig. 32).** En la parte superior se representa la correlación entre GH y E2 ($r = 0.775$, $p < 0.001$), en la parte media la correlación con IGF-1 ($r = 0.71$, $p < 0.001$) y en la gráfica inferior la elevada correlación entre la concentración de GH e IGF-1 después que las mujeres fueron tratadas con estrógenos (0.625mg de EEC).

1.3. Insulina.

Relación a la edad.
La insulina otra de las hormonas metabólicas analizadas en el estudio, presentó una elevación moderada de su concentración ($p< 0.05$) al aumentar la edad de las mujeres **(Fig. 33)** A diferencia de las hormonas del eje somatotrópico que disminuyeron con la edad, la insulina aumentó, con cambios significativos a partir de los 46 años ($p < 0.05$), y sobre todo en las mujeres mayores de 55 años que tuvieron mayor diferencia con la concentración del grupo control ($p< 0.01$). Por otra parte la elevación de la concentración de insulina tuvo una relación lineal positiva con la edad ($r = 0.336$)

Efecto de la terapia con estrógenos.
En comparación con las mujeres en edad reproductiva (ER), las mujeres menopáusicas (M) tuvieron niveles de insulina más elevados **(Fig. 34)** que disminuyeron cuando se administró THR sobre todo en las mujeres que tomaron 1.25mg de EEC, observándose además, una marcada relación inversa (gráfica inferior de la misma figura) entre la concentración de la insulina y los niveles de E_2 ($r = -0.63$, $p< 0.005$). Los resultados que se ilustran son los obtenidos con la dosis de 0.625 mg de EEC.
En la **tabla 4**, se indican las concentraciones basales de GH, IGF-1 e insulina en las mujeres menopáusicas y la respectiva concentración de E2, así como la respuesta a HRT con las tres dosis utilizadas, para su comparación

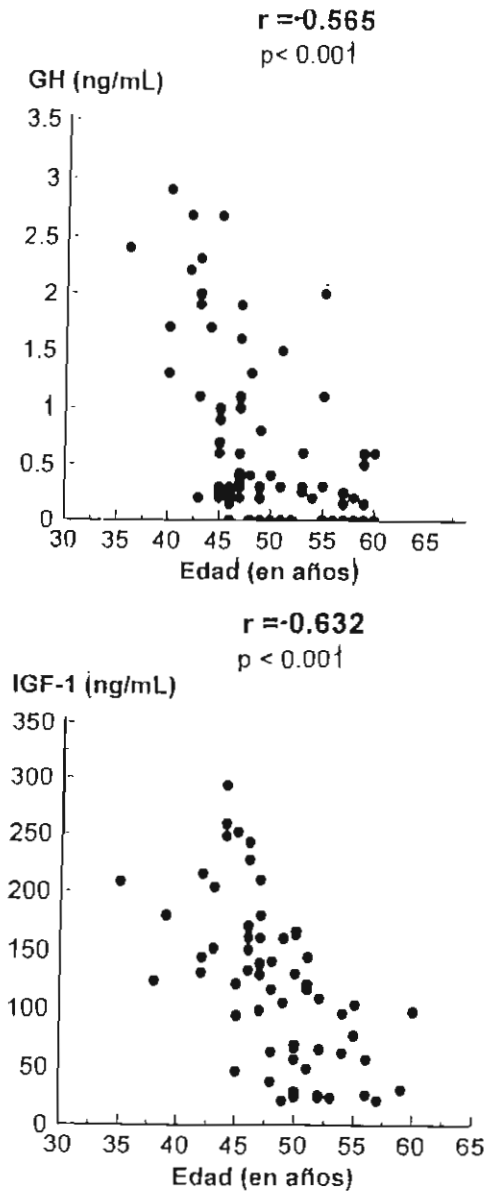


Fig. 30 Se representan en la gráfica superior e inferior respectivamente, los niveles descendentes de hormona de Crecimiento (GH) y del factor de crecimiento insulinoide (IGF-1) conforme aumenta la edad de las mujeres.

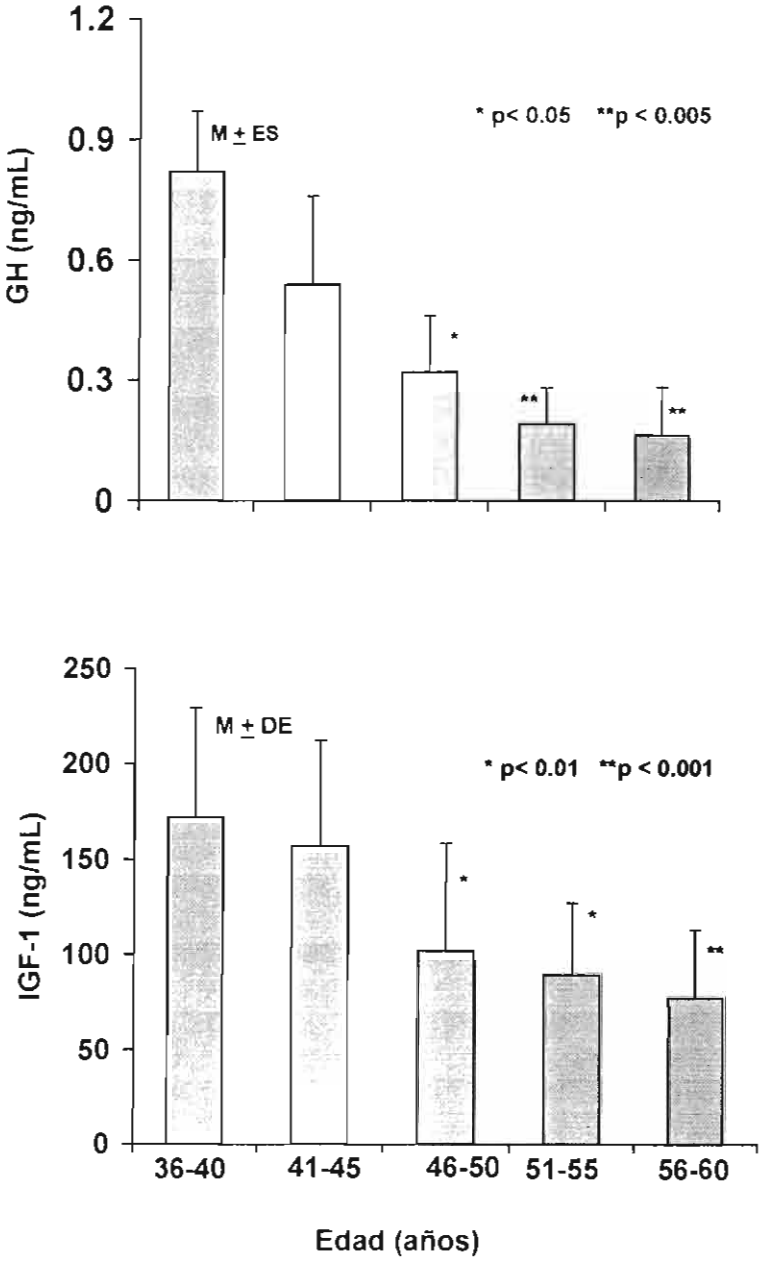


Fig.30- Niveles séricos de Hormona de Crecimiento (gráfica superior) y de el factor de crecimiento similar a la insulina (gráfica inferior) en las mujeres del estudio al ser clasificadas de acuerdo con su edad. Se observa la notable disminución de las dos hormonas al avanzar la edad de las mujeres

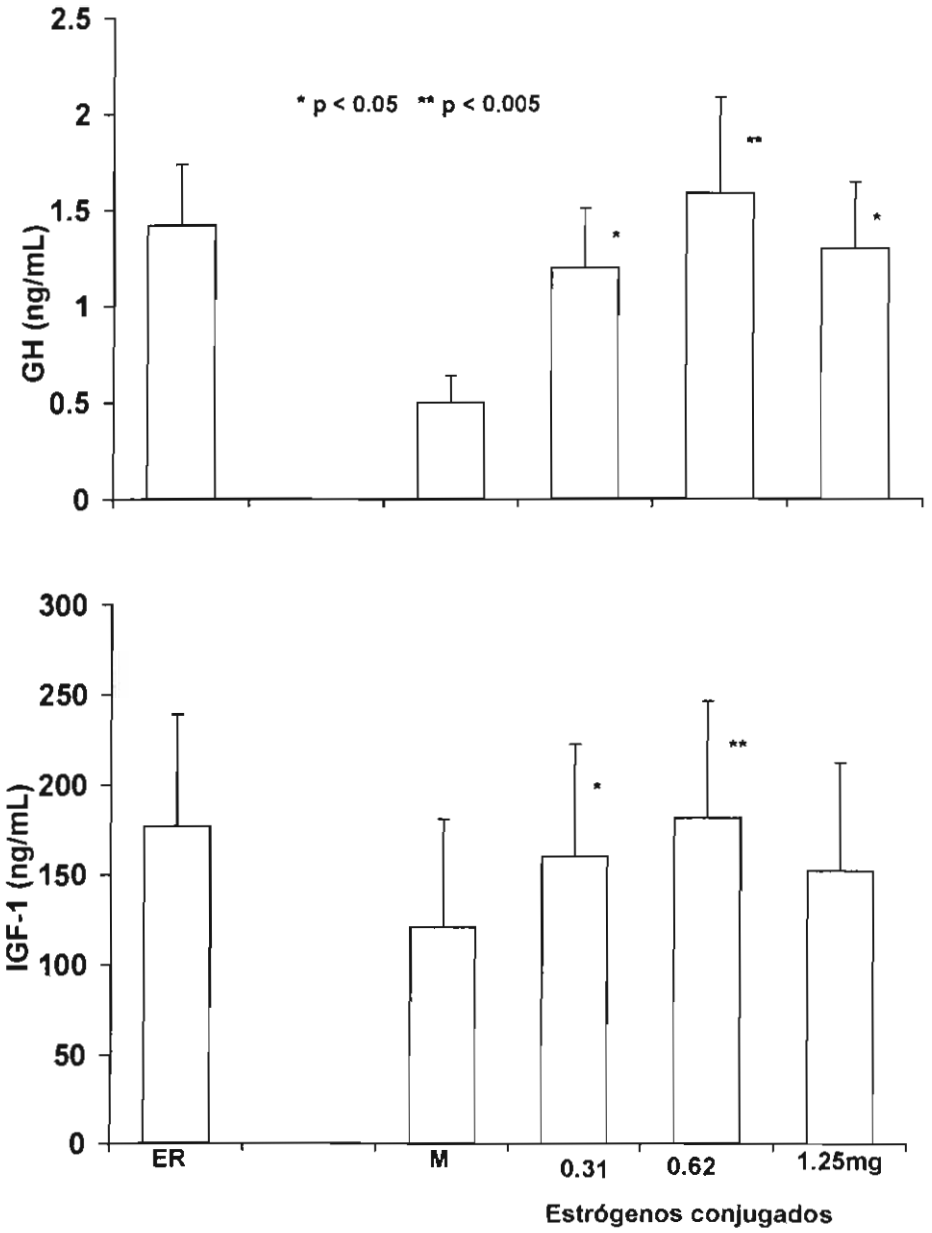
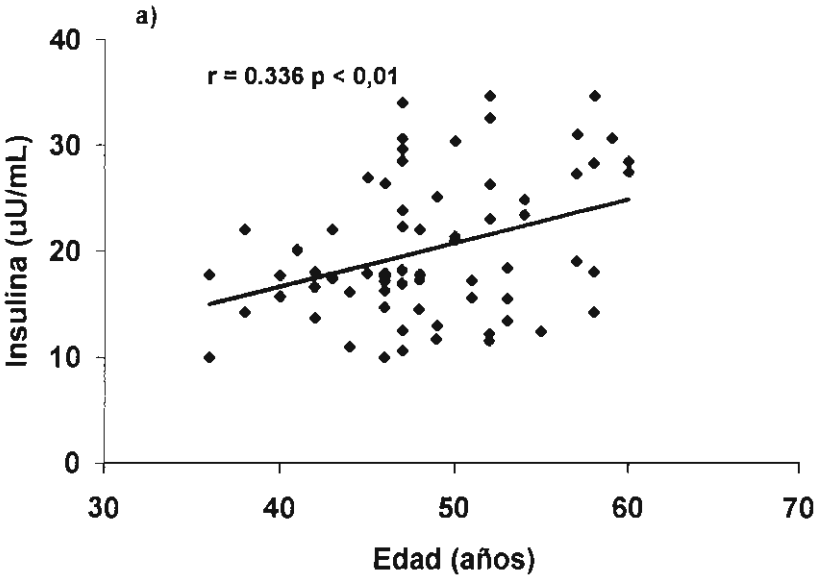
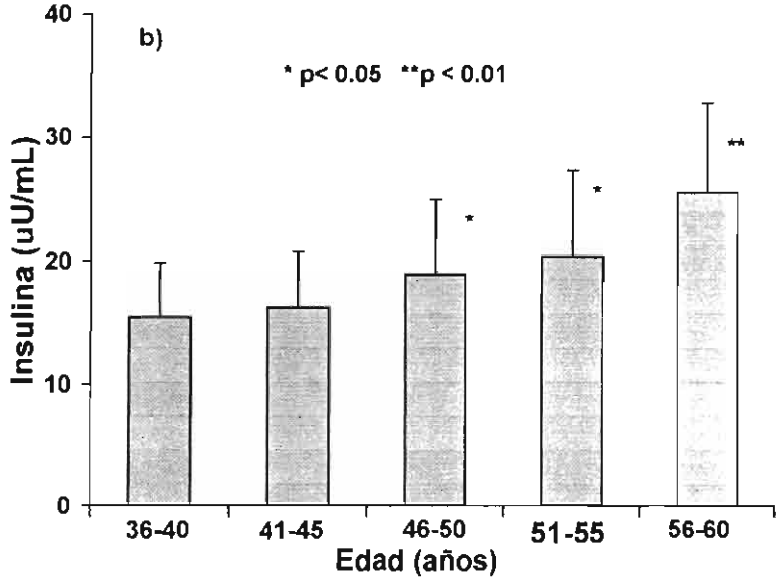


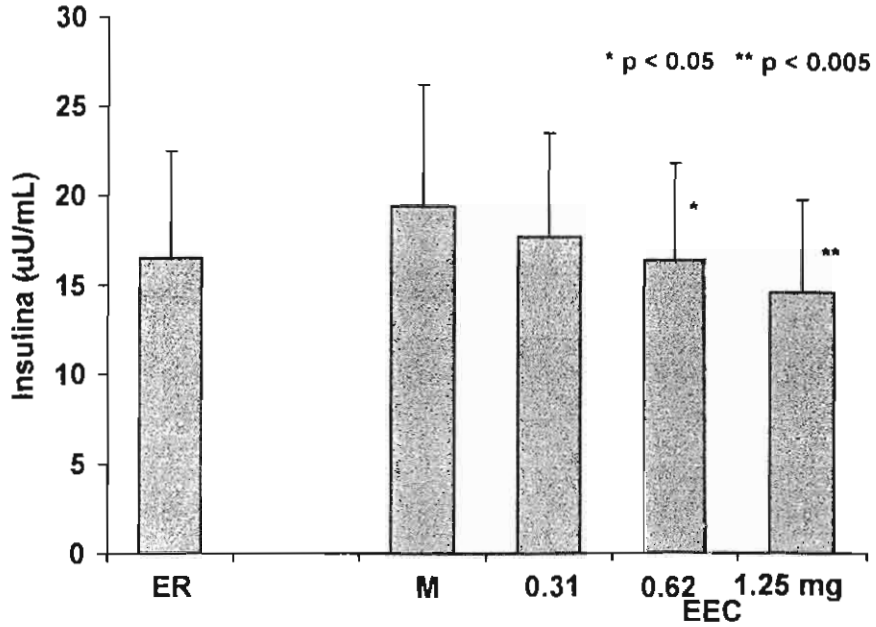
Fig. 31- En la menopausia (M) las concentraciones de GH e IGF-1 disminuyeron en comparación con los niveles de mujeres en edad reproductiva (ER). Cuando las las mujeres recibieron HRT a diferentes dosis los niveles de GH e IGF-1 aumentaron ($p < 0.05$ y $p < 0.005$) en comparación con las cifras registradas a la menopausia y de acuerdo a la dosis.





a) Fig. 33- Correlación de los niveles de insulina con la edad en las mujeres del estudio

b) Concentración de insulina en mujeres normales de diferente edad Se observa el incremento significativo de los niveles de la insulina al aumentar la edad de las mujeres.



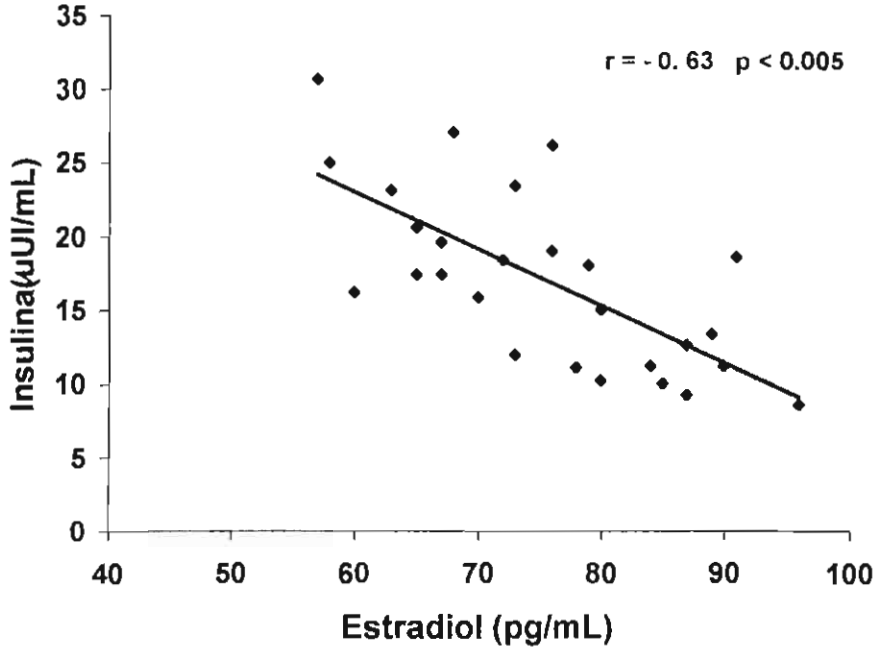


Fig. 34.-Niveles de insulina ($\overline{X} \pm$ DE) en mujeres menopáusicas antes (M) y en respuesta a diferentes dosis de estrógenos conjugados. (gráfica superior). Se observa la disminución de la insulina en respuesta a la HRT ($p < 0.05$ y $p < 0.005$) en comparación con los valores de las mujeres menopáusicas antes del tratamiento. En la gráfica inferior la relación inversa entre la concentración de insulina y los niveles de estradiol

1.4.- Eje suprarrenal.

Concentraciones hormonales en relación con la edad.
Las hormonas del eje suprarrenal (ACTH, DHEA-S y cortisol) también mostraron una tendencia a disminuir con la edad **(Fig. 35).** Esta disminución fue cuantitativamente más importante para la DHEA-S hormona que después de los 55 años presentó su concentración más baja, a diferencia del cortisol que en el grupo de 55-60 años se elevó ligeramente, en comparación con su concentración en las mujeres de 50-55 años. Sin embargo, en las tres hormonas se observó una relación lineal negativa entre su concentración y la edad, con un coeficiente de correlación ligeramente más elevado en el caso de la DHEA-S y el cortisol.

Eje adrenal a la menopausia y el efecto de la HRT
Los niveles circulantes de DHEA-S en las mujeres menopáusicas **(Fig. 36)** fueron significativamente menores que en las mujeres en edad reproductiva ($p< 0.001$) y también disminuyeron los niveles de ACTH y cortisol ($p < 0.05$)
Después de tres ciclos de terapia con estrógenos, la concentración de las tres hormonas presentó una marcada elevación, altamente significativa para la DHEA-S ($p< 0.001$) con las dosis de 0.625 y 1.25mg de EEC; en paralelo se observó un moderado aumento de la ACTH y el cortisol **(tabla 4)** que fue significativo con 0.625mg y 1.25mg de EEC ($p< 0.05$).
Después que las mujeres recibieron HRT pudo demostrarse **(Fig. 37)** una correlación lineal positiva entre los niveles de ACTH y E2 ($r = 0.48$), DHEA-S con E2 ($r= 0.60$) y entre el cortisol y E2 ($r = 0.50$) y tanto DHEA-S como cortisol tuvieron una relación lineal positiva con la concentración de ACTH **(Fig. 38).**

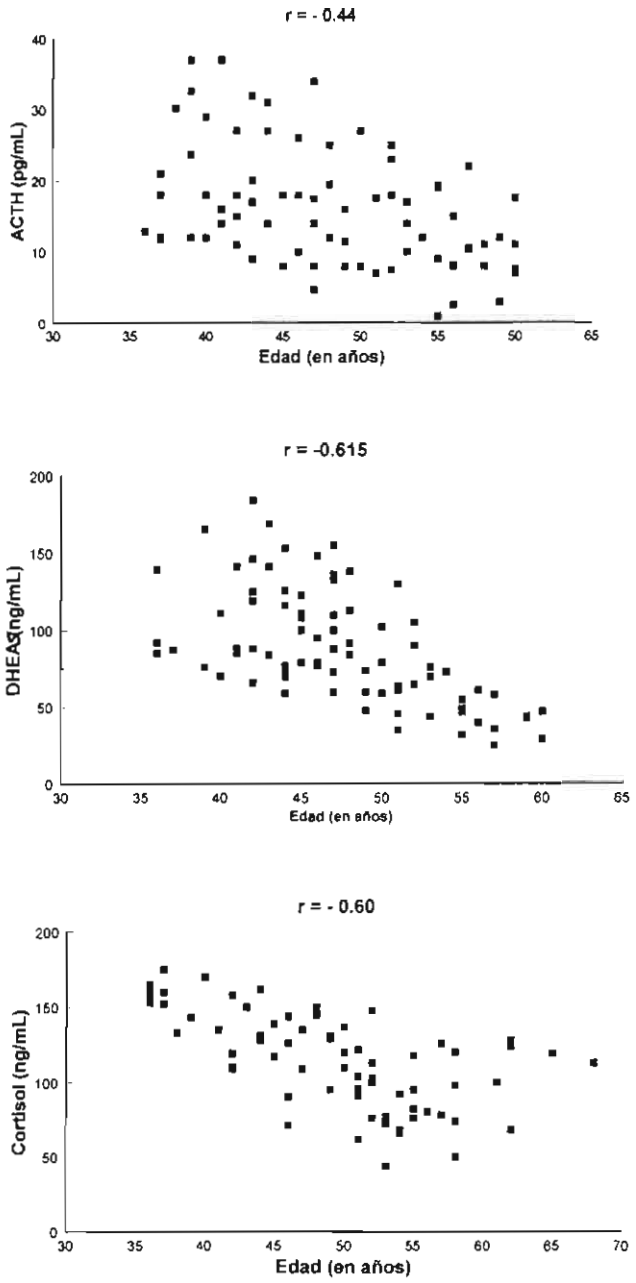


Fig.35- Niveles de ACTH, DHEA-S y cortisol en relación con la edad . Se observa la relación inversa entre la concentración de estas hormonas y la edad.

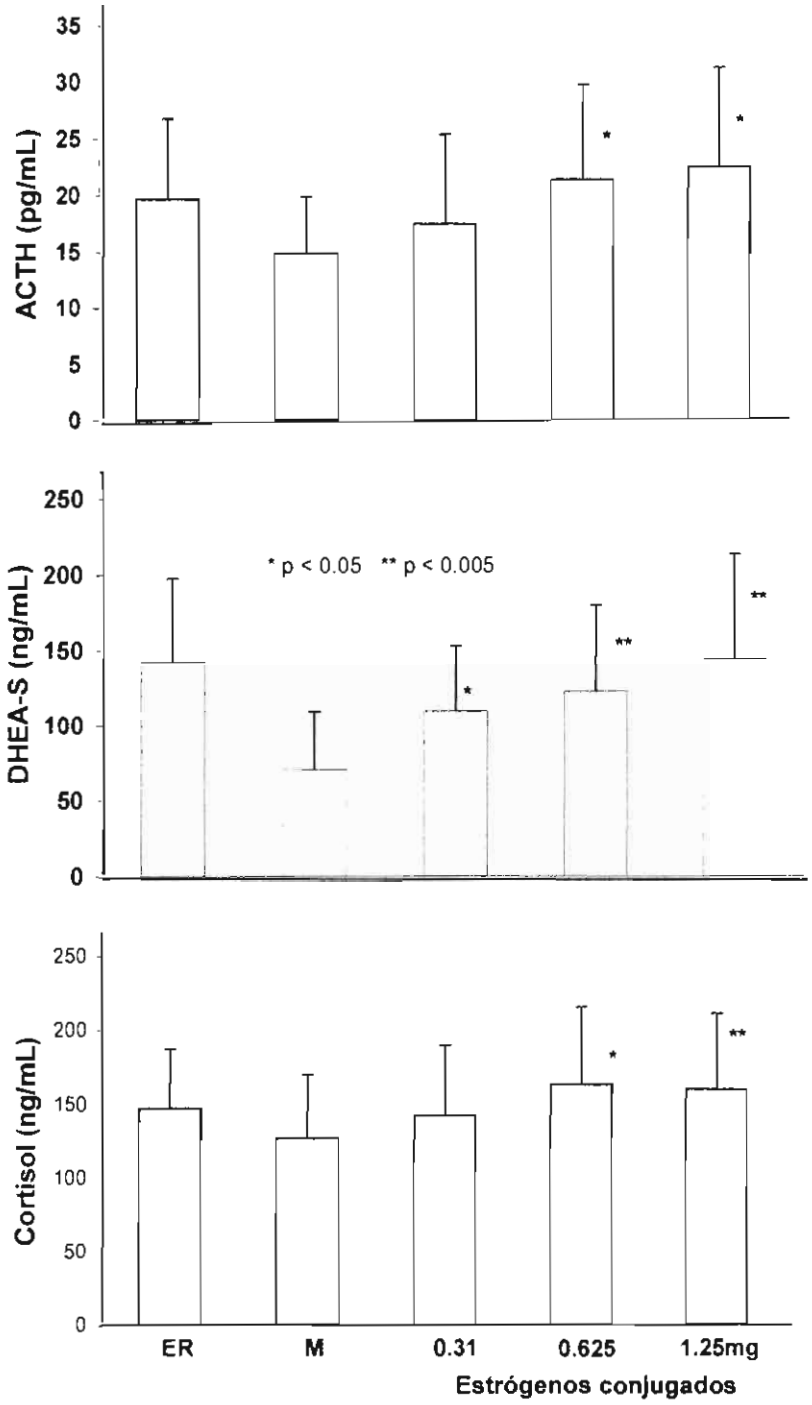


Fig.36- Niveles séricos de ACTH, DHEA-S y cortisol en mujeres menopáusicas (M) y en respuesta a diferentes dosis de estrógenos mostrando diferencias significativas (*p< 0.05 y ** p < 0.005) en comparación con niveles de mujeres en edad reproductiva

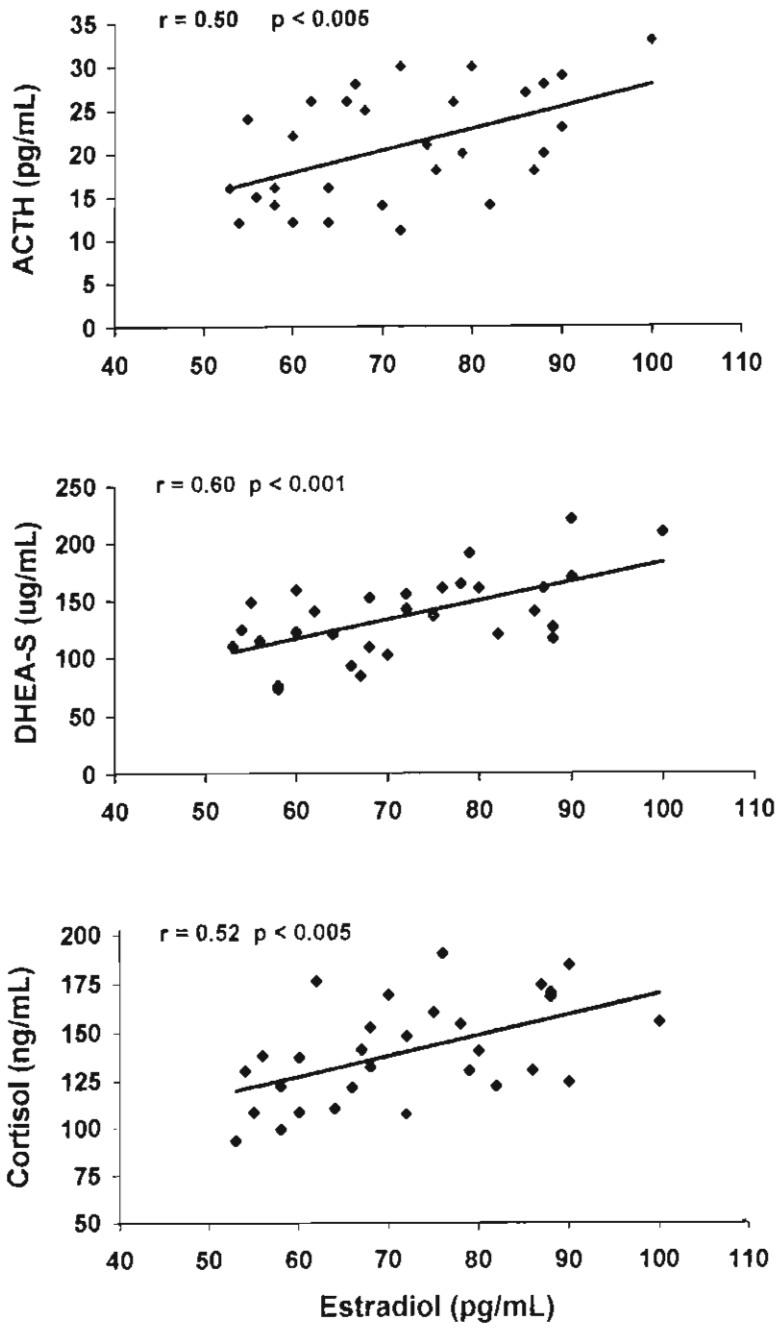
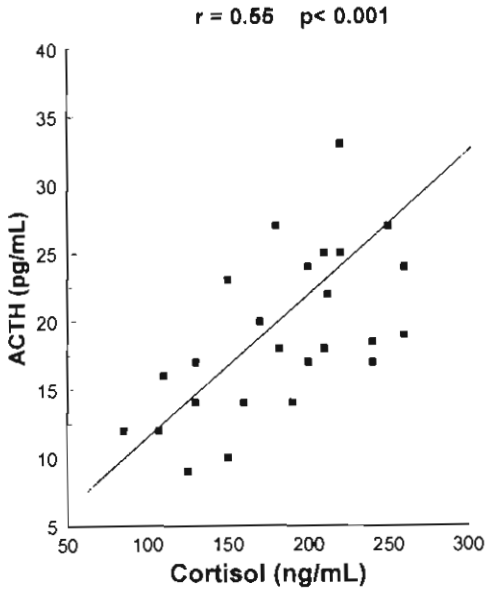


Fig. 31.- Correlación de los niveles de ACTH, DHEA-S y cortisol con la concentración de E2 en mujeres menopáusicas tratadas con 0.625 mg de EEC.



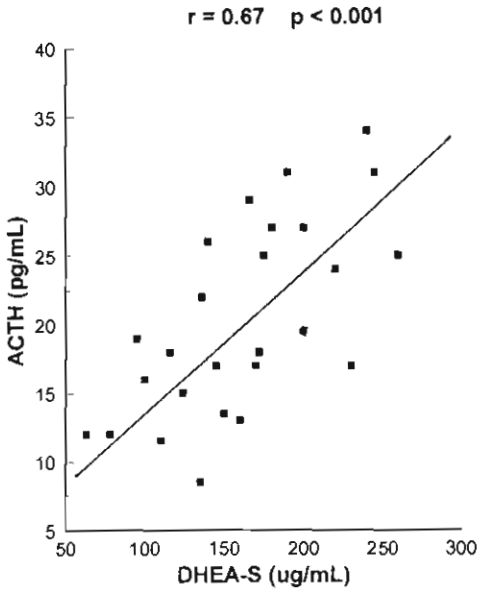


Fig.38- Correlación de la concentración de cortisol y DHEA-S con los niveles de ACTH en mujeres menopáusicas con HRT (0.625mg)

Tabla 4.- Concentraciones hormonales en mujeres menopáusicas antes y después de HRT, en comparación con mujeres mestruando regularmente

HORMONA	G.TESTIGO (F.Folicular)	MENOPAUSIA BASAL	0.312mg	0.625mg	1.25mg
			Estrógenos equinos conjugados.		
E2 (pg/mL)	145.4 ± 34	16.5 ± 6	53.1 ± 10	86.1 ± 15	165.5 ± 44
FSH (mUI/mL)	19.6 ± 5.0	105 ± 30	76.7 ± 28	62.8 ± 38	44.8 ± 17
LH (mUI/mL)	32 ± 13.4	89.5 ± 25	63.8 ± 36	52.2 ± 27	53.6 ± 26
PRL (ng/mL)	10.6 ± 3.4	5.6 ± 1.4	9.0 ± 4.7	14.4 ± 10	14 ± 8.4
GH (ng/mL)	1.4 ± 0.32	0.51 ± 0.1	1.2 ± 0.35	1.69 ± 0.5	1.35 ± 0.6
IGF-1(ng/mL)	176.8 ± 8[illegible]	121 ± 72	168.2 ± 79	181 ± 75	152 ± 81
Insulina (µUI/mL)	16.5 ± 6.2	19.4 ± 9.0	17.8 ± 6.5	16.4 ± 7.6	14.2 ± 8.4
ACTH (pg/mL)	19.6 ± 7.1	14.8 ± 5.0	17.4 ± 7.9	21.3 ± 8.4	22. 4 ± 9.8
DHEA-S (ng/mL)	152 ± 55	70.8 ± 38	110 ± 43	122 ± 57	143.8 ± 69
Cortisol (ng/mL)	147 ± 40	127 ± 42.8	142 ± 47	163 ± 52	159.6 ± 51

2.- NEUROTRANSMISORES CEREBRALES.

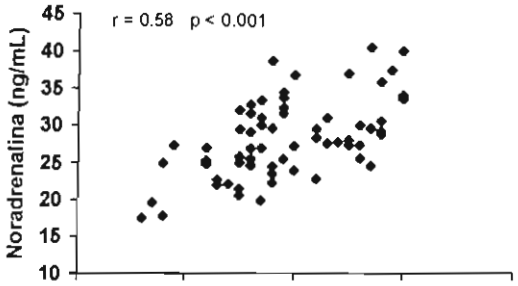
2.1 - Niveles circulantes en relación con la edad

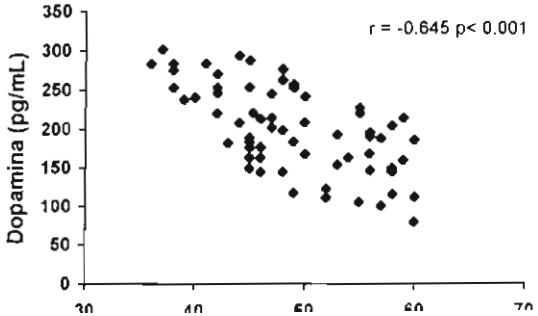
Los niveles séricos de dopamina (DA), serotonina (S) y β-endorfinas (βE) en las mujeres participantes en el estudio, presentaron una disminución progresiva conforme aumentó la edad, con una correlación lineal negativa altamente significativa ($p < 0.001$) entre la concentración y la edad (**Fig. 39**), sobre todo para las β-endorfinas ($r = -0.76$). La Noradrenalina (NA) por el contrario, aumentó progresivamente su concentración al aumentar la edad de las mujeres. ($r = 0.58$, $p < 0.001$)
La concentración de estos neurotransmisores ($X \pm DE$) que se obtuvo al clasificar a las mujeres en grupos de cinco años de acuerdo a su edad, se muestran en la **Fig. 40**, donde se aprecia que los cambios para la S fueron significativos desde los 41-45 años, para NA y βE después de los 46 –50 años y para DA solo en las mujeres mayores de 50 años
.

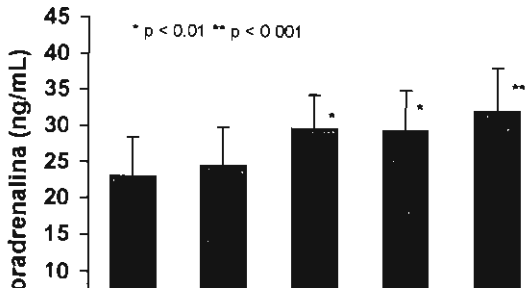
2.2.- Efecto de la menopausia y el tratamiento con estrógenos.

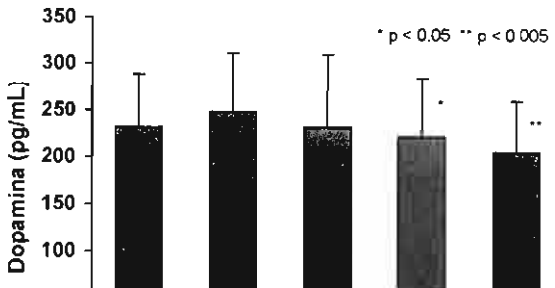
A la menopausia (M) la concentración de NA ($\bar{X} \pm DE$) fue significativamente más elevada ($p < 0.001$) que en las mujeres en edad reproductiva (ER) como se observa en la **Fig. 41**. Sin embargo, después de tres ciclos de HRT a las diferentes dosis, la elevada concentración basal de NA disminuyó, sobre todo en las mujeres que recibieron 0.312 y 0.625 mg de EEC. Por el contrario, la DA disminuida a la menopausia, con la terapia elevó su concentración hasta cifras similares a las de las mujeres en edad reproductiva, aunque el efecto fue mayor en las mujeres que tomaron 0.312 mg .
En el caso de la β-endorfina y la S, las bajas concentraciones observadas a la menopausia, se elevaron significativamente con HRT; con 0.625mg la β-endorfina se recuperó hasta cifras similares a las del grupo de mujeres jóvenes, en cambio la recuperación de los niveles de S no fue total.
En la tabla 5A se presenta para su comparación la concentración ($X \pm DE$) de los 4 neurotransmisores en las mujeres menopáusicas sin tratamiento y después que recibieron HRT con EEC a las diferentes dosis (0.312, 0.625 y 1 25mg); así mismo se muestran los valores de estradiol (E2).

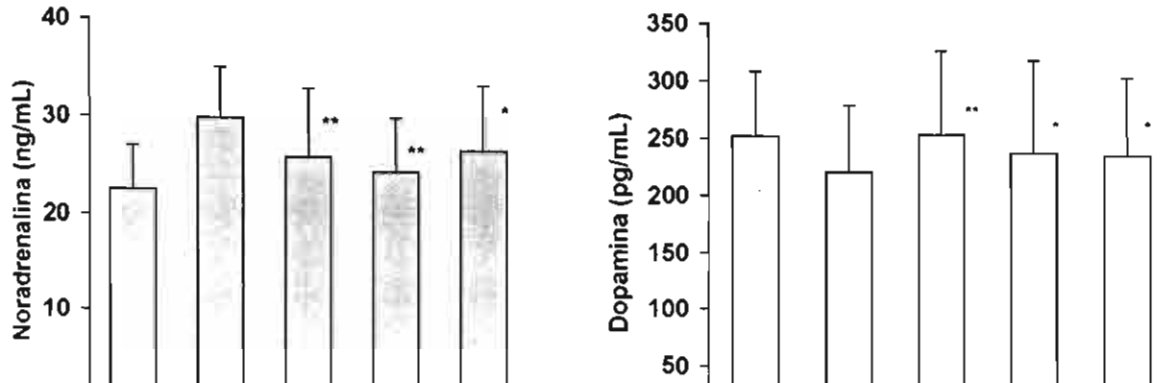
El análisis de varianza (ANOVA) aplicado a los datos de NA (**Tabla 5B**) mostró que existe una diferencia altamente significativa ($p < 0\ 0001$) entre los diferentes grupos (con y sin tratamiento a las diferentes dosis) y de acuerdo a la prueba post- hoc de Tukey (que se muestra en la parte inferior de la tabla) las diferencias se encuentran entre el grupo sin HRT y los grupos tratados con las diferentes dosis, siendo mayor la significancia estadística entre el grupo sin tratamiento y el que recibió 0.312mg de EEC ($p < 0.0001$) . Con las dosis de 0.625mg y 1.25mg la diferencia aunque significativa fue menor. ($p<0.005$ y $0\ 05$ respectivamente). Por el contrario los cambios en la concentración de NA entre las tres dosis utilizadas (0.325 0.625 y 1.25mg) no son significativos.


r = 0.58 p < 0.001
Noradrenalina (ng/mL)
45
40
35
30
25
20
15
10


r = -0.645 p< 0.001
Dopamina (pg/mL)
350
300
250
200
150
100
50
0
30
40
50
60
70


* p < 0.01 ** p < 0.001
Noradrenalina (ng/mL)
45
40
35
30
25
20
15
10


* p < 0.05 ** p < 0.005
Dopamina (pg/mL)
350
300
250
200
150
100


Noradrenalina (ng/mL)
40
30
20
10
**
**
*
Dopamina (pg/mL)
350
300
250
200
150
100
50
**
*
*

Concentración de estradiol y neurotransmisores antes y después de HRT

Case Summaries

Tabla 5

TX		E2	NA	DA	SEROT	BENDORF
sin tx	N	46	46	46	46	46
	Mean	16.8348	30.2522	181.9457	206.4370	11.2389
	Std. Deviation	5.5713	4.7669	47.8776	94.2496	1.8220
0 312 mg	N	19	19	19	19	19
	Mean	52.7053	24.0553	202.9737	279.2105	13.8484
	Std. Deviation	9.5281	4.7098	32.8600	67.9490	2.4449
0.625	N	15	16	16	16	16
	Mean	109.8000	24.7344	241.7188	329.9375	17.4862
	Std. Deviation	22.8229	6.7033	81.6727	114.8981	4.9196
1.25 mg	N	15	14	15	15	14
	Mean	210.9333	25.6786	234.8000	287.3000	17.2043
	Std. Deviation	41.7398	6.6668	78.3253	94.7805	5.6445
Total	N	95	95	96	96	95
	Mean	69.3347	27.4095	204.3281	254.0583	13.6921
	Std. Deviation	72.3518	6.0279	62.2312	104.2097	4.2708

ANALISIS DE VARIANZA DE 1 FACTOR ESTRADIOL

E2

Tabla 5A

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	457355.53	3	152451.843	399.638	.000
Within Groups	34714.227	91	381.475		
Total	492069.76	94			

PRUEBA POST-HOC DE TUKEY ESTRADIOL

Dependent Variable: E2

Tukey HSD

(I) TX	(J) TX	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval Lower Bound	95% Confidence Interval Upper Bound
sin tx Vs	0.312 mg	-35.8705*	5.3264	.000	-49.8105	-21.9304
	0.625	-92.9652*	5.8073	.000	-108.1638	-77.7666
	1.25 mg	-194.0986*	5.8073	.000	-209.2972	-178.8999
0.312 mg	sin tx	35 8705*	5.3264	.000	21.9304	49.8105
	0.625	-57.0947*	6.7461	.000	-74.7503	-39.4392
	1.25 mg	-158.2281*	6.7461	.000	-175.8836	-140.5725
0.625	sin tx	92.9652*	5 8073	.000	77.7666	108.1638
	0.312 mg	57.0947*	6.7461	.000	39.4392	74.7503
	1.25 mg	-101.1333*	7.1319	.000	-119.7985	-82.4681
1 25 mg	sin tx	194.0986*	5.8073	.000	178.8999	209.2972
	0.312 mg	158.2281*	6.7461	.000	140.5725	175.8836
	0.625	101.1333*	7.1319	.000	82.4681	119.7985

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Tabla 5B

ANALISIS DE VARIANZA DE 1 FACTOR NORADRENALINA

NA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	741.930	3	247.310	8.417	.000
Within Groups	2673.651	91	29.381		
Total	3415.581	94			

PRUEBA POST-HOC DE TUKEY NORADRENALINA

Dependent Variable: NA
Tukey HSD

(I) TX	(J) TX	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval Lower Bound	95% Confidence Interval Upper Bound
sin tx	0.312 mg	6.1969*	1.4782	.000	2.3282	10.0656
	0.625	5.5176*	1.5732	.004	1.4004	9.6352
	1.25 mg	4.5736*	1.6545	.034	.2435	8.9037
0.312 mg	sin tx	-6.1969*	1.4782	.000	-10.0656	-2.3282
	0.625	-.6791	1.6392	.983	-5.4926	4.1344
	1.25 mg	-1.6233	1.9092	.830	-6.6200	3.3733
0.625	sin tx	-5.5176*	1.5732	.004	-9.6352	-1.4004
	0.312 mg	.6791	1.6392	.983	-4.1344	5.4926
	1.25 mg	-.9442	1.9837	.964	-6.1358	4.2474
1.25 mg	sin tx	-4.5736*	1.6545	.034	-8.9037	-.2435
	0.312 mg	1.6233	1.9092	.830	-3.3733	6.6200
	0.625	.9442	1.9837	.964	-4.2474	6.1358

*. The mean difference is significant at the .05 level.

En el caso de la DA los resultados del Análisis de varianza (en la **tabla 5C)** muestran que existe una diferencia significativa de su concentración entre los diferentes grupos ($p< 0.001$) y la prueba post-hoc de Tukey que no existe diferencia entre el grupo sin tratamiento y el grupo tratado con 0.312mg ($p= 0.545$) pero si entre el grupo sin HRT y los grupos tratados con 0 625 ($p < 0.005$) y 1.25mg ($p < 0.05$). No obstante lo anterior, las diferencias entre los grupos que recibieron las diferentes dosis de EEC no son significativas.

Respecto a los datos de serotonina (**Tabla 5D**) el análisis de varianza mostró que la diferencia entre los diferentes grupos (sin tratamiento y con EEC a las diferentes dosis) es altamente significativa ($p< 0.0001$) y la prueba de Tukey (cuarta columna de la tabla) que la mayor diferencia se encuentra entre la basal (sin Tx) y el grupo tratado con 0 625mg ($p < 0.0001$) mientras que con la dosis de 0.312 y 1.25mg la diferencia aunque también significativa fue menor ($p< 0.05$) y como en el análisis de NA y DA, en el caso de S las diferencias entre los grupos que recibieron las diferentes dosis de EEC no son significativas.

Finalmente la prueba de ANOVA aplicada a los datos de las β-endorfinas (**Tabla 5E**) también muestró una diferencia altamente significativa entre los diferentes grupos ($p< 0.0001$) y la prueba de Tukey que la diferencia es mayor entre la basal (menopaúsicas sin tratamiento) y los grupos tratados con 0.625 y 1.25mg ($p < 0.0001$) mientras que con 0.312 mg la diferencia aunque significativa es menor ($p<0.05$). Respecto a los resultados de las diferentes dosis comparadas entre si, contrario a lo observado con los otros neurotransmisores los resultados de las βE sí muestran diferencias significativas entre la dosis de 0.325mg y 0.625, así como entre 0.325 y 1.25mg ($p < 0.05$), mientras que entre 0.625 y 1.25mg los resultados no son estadísticamente diferentes.

2.3- Correlación entre la concentración de E2 y los neurotransmisores.

El estudio de la regresión lineal mostró (**Fig.42**) que la NA tiene una relación lineal negativa ($r = -0.419$) altamente significativa ($p< 0.001$) con los niveles de E_2, en cambio con la DA la relación con E2 es lineal positiva y el coeficiente de correlación mayor ($r = 0.67$, $p< 0.001$). De manera similar, los niveles de Serotonina y β-endorfina (que se representan en la parte inferior de esta misma figura) también tuvieron una relación lineal positiva con la concentración de E_2 ($r = 0.54$ y 0.70 respectivamente) y una $p< 0.0001$.

ANALISIS DE VARIANZA DE 1 FACTOR DOPAMINA

DA

Tabla 5C

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	59376.679	3	19792.226	5.902	.001
Within Groups	308532.48	92	3353.614		
Total	367909.15	95			

PRUEBA POST-HOC DE TUKEY DOPAMINA

Dependent Variable: DA
Tukey HSD

(I) TX	(J) TX	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
sin tx	0.312 mg	-21.0280	15.7927	.545	-62.3518	20.2957
	0.625	-59.7731*	16.8079	.003	-103.7532	-15.7930
	1.25 mg	-52.8543*	17.2186	.015	-97.9090	-7.7997
0.312 mg	sin tx	21.0280	15.7927	.545	-20.2957	62.3518
	0.625	-38.7451	19.6496	.206	-90.1608	12.6707
	1.25 mg	-31.8263	20.0020	.389	-84.1642	20.5116
0 625	sin tx	59.7731*	16.8079	.003	15.7930	103.7532
	0.312 mg	38.7451	19.6496	.206	-12.6707	90.1608
	1.25 mg	6.9187	20.8129	.987	-47.5408	61.3783
1.25 mg	sin tx	52.8543*	17.2186	.015	7.7997	97.9090
	0.312 mg	31.8263	20.0020	.389	-20.5116	84.1642
	0.625	-6.9187	20.8129	.987	-61.3783	47.5408

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Tabla 5D

ANALISIS DE VARIANZA DE 1 FACTOR SEROTONINA

SEROT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	225036.11	3	75012.037	8.555	.000
Within Groups	806631.82	92	8767.737		
Total	1031667.9	95			

PRUEBA POS-HOC DE TUKEY SEROTONINA

Dependent Variable: SEROT
Tukey HSD

(I) TX	(J) TX	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
sin tx	0.312 mg	-72.7736*	25.5355	.027	-139.5906	-5.9565
	0.625	-123.5005*	27.1769	.000	-194.6126	-52.3885
	1.25 mg	-80.8630*	27.8410	.023	-153.7126	-8.0135
0.312 mg	sin tx	72.7736*	25.5355	.027	5.9565	139.5906
	0.625	-50.7270	31.7717	.386	-133.8619	32.4080
	1.25 mg	-8.0895	32.3415	.994	-92.7154	76.5364
0.625	sin tx	123.5005*	27.1769	.000	52.3885	194.6126
	0.312 mg	50.7270	31.7717	.386	-32.4080	133.8619
	1.25 mg	42.6375	33.6526	.586	-45.4190	130.6940
1.25 mg	sin tx	80.8630*	27.8410	.023	8.0135	153.7126
	0.312 mg	8.0895	32.3415	.994	-76.5364	92.7154
	0.625	-42.6375	33.6526	.586	-130.6940	45.4190

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Tabla 5E

ANÁLISIS DE VARIANZA DE 1 FACTOR BETA ENDORFINAS

BENDORF

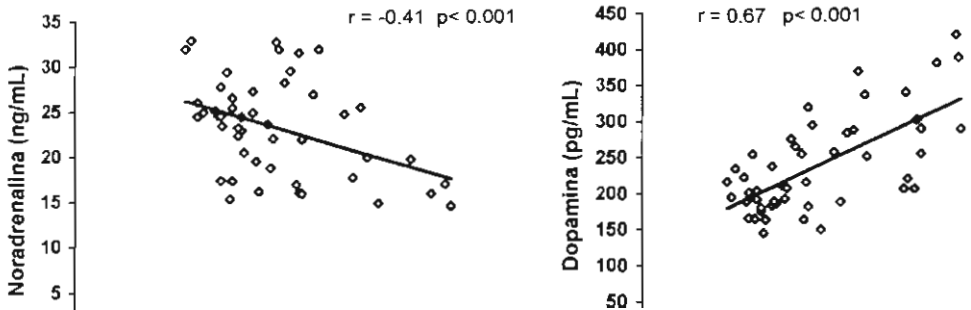
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	680.324	3	226.775	19.954	.000
Within Groups	1034.220	91	11.365		
Total	1714.544	94			

PRUEBA POST-HOC DE TUKEY BETA ENDORFINAS

Dependent Variable: BENDORF
Tukey HSD

(I) TX	(J) TX	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
sin tx	0.312 mg	-2.6095*	.9194	.028	-5.0156	-.2034
	0.625	-6.2473*	.9785	.000	-8.8081	-3.6866
	1.25 mg	-5.9654*	1.0290	.000	-8.6585	-3.2723
0.312 mg	sin tx	2.6095*	.9194	.028	.2034	5.0156
	0.625	-3.6378*	1.1439	.011	-6.6316	-.6441
	1.25 mg	-3.3559*	1.1874	.029	-6.4635	-.2482
0.625	sin tx	6.2473*	.9785	.000	3.6866	8.8081
	0.312 mg	3.6378*	1.1439	.011	.6441	6.6316
	1.25 mg	.2820	1.2337	.996	-2.9469	3.5109
1.25 mg	sin tx	5.9654*	1.0290	.000	3.2723	8.6585
	0.312 mg	3.3559*	1.1874	.029	.2482	6.4635
	0.625	-.2820	1.2337	.996	-3.5109	2.9469

*. The mean difference is significant at the .05 level.


r = -0.41 p< 0.001
Noradrenalina (ng/mL)
35
30
25
20
15
10
5
r = 0.67 p< 0.001
Dopamina (pg/mL)
450
400
350
300
250
200
150
100
50

3.- METABOLITOS URINARIOS DE LOS NEUROTRANSMISORES.

3.1 . Concentración urinaria en relación con la edad.

Acetil colina (Ach)

La concentración de Ach en la orina de todas las mujeres participantes en el estudio tuvo un marcado perfil descendente en relación con la edad **(Fig.43)** La concentración más elevada que se obtuvo alrededor de los 40 años, comenzó a disminuir notablemente después de los 45, hasta una concentración muy baja en las mujeres mayores de 55 años, con una relación lineal negativa ($r = -0.71$) altamente significativa ($p<0.001$) entre los niveles de Ach y la edad

Ac.5 hidroxi-indol acético (5OHIAA)

Al igual que la ACh, el 5OHIAA el metabolito urinario más importante de la serotonina, mostró un perfil descendente con relación a la edad; la concentración máxima alrededor de los 36-38 años descendió paulatinamente, hasta alcanzar su concentración más baja después de los 55 años, teniendo también una relación lineal negativa elevada con la edad ($r = -0.76$, $p < 0.001$).

AC. Vanillin Mandélico.

El Ac. Vanillin mandélico (VMA) principal metabolito urinario de las catecolaminas tuvo un perfil similar al de la NA sérica en relación con la edad. Como puede verse en la gráfica inferior de la **Fig. 43,** su concentración aumentó progresivamente al aumentar la edad de las mujeres; correspondiendo las más altas concentraciones de VMA a las mujeres de mayor edad.

En la **Fig. 44** se representa la concentración ($\bar{X} \pm DE$) de los tres metabolitos urinarios en las mujeres del estudio al ser clasificadas en grupos de cinco años, de acuerdo a su edad . Se aprecia que la disminución de Ach y del AC. 5OHIAA fue significativa desde la etapa premenopáusica (41-45 años) y las diferencias con la concentración del grupo testigo de 36-40 años son altamente significativas ($p < 0.001$) para Ach a partir de los 46 años y para el 5OHIAA después de los 50 años.

En la gráfica inferior de la misma figura, se muestra la concentración ($\bar{X} \pm DE$) del VMA que contrario a los resultados de los dos metabolitos anteriores aumentó su concentración de manera importante desde la etapa premenopáusica (41-45 años) teniendo su concentración más elevada en las mujeres mayores de 55 años, en las que los niveles de VMA fueron el doble de los observados en la edad reproductiva

3.2. Efecto de la menopausia y del tratamiento con estrógenos sobre los metabolitos de los neurotransmisores.

A la menopausia (M) las concentraciones de ACh y 5OHIIA (gráficas de la parte superior y media de la **Fig.45** respectivamente) fueron significativamente menores que en las mujeres en edad reproductiva (ER) y la diferencia entre los dos grupos altamente significativa ($p< 0.0001$).

Tres ciclos de tratamiento con EEC produjeron una clara respuesta en la concentración de los metabolitos urinarios; la Ach y el Ac 5OHIAA aumentaron su concentración en relación directa con la dosis administrada siendo mayor el incremento con 1.25 mg de EEC. Por otra parte, el VMA elevado a la menopausia (gráfica inferior de la **Fig. 45**) disminuyó su concentración con el tratamiento, aún con la dosis de 0.312 mg; sin embargo, la disminución fue mayor en las mujeres que recibieron 1.25mg . No obstante, la recuperación de los niveles hormonales solo fue parcial, ya que las concentraciones no regresaron a los valores obtenidos en las mujeres en edad reproductiva.

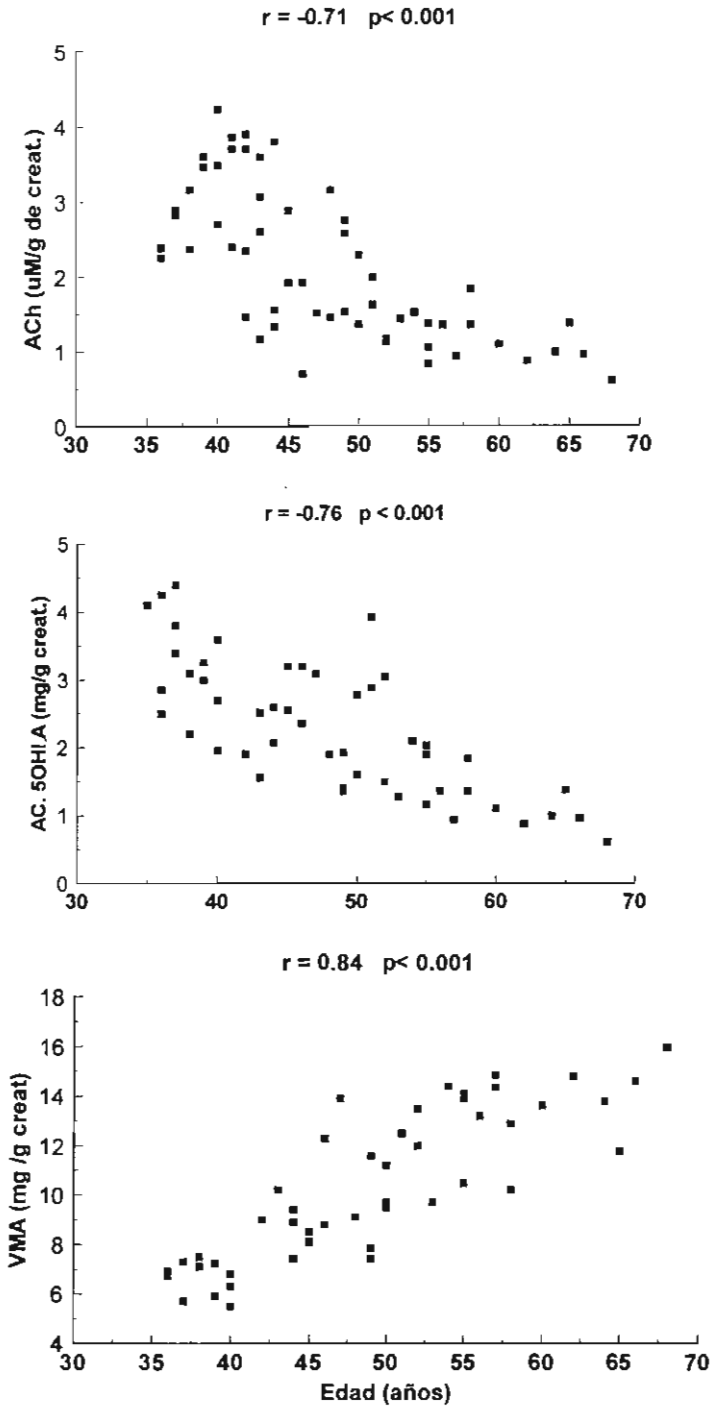


Fig. 43 Concentración de los metabolitos urinarios de los neurotransmisores con relación a la edad de las mujeres.

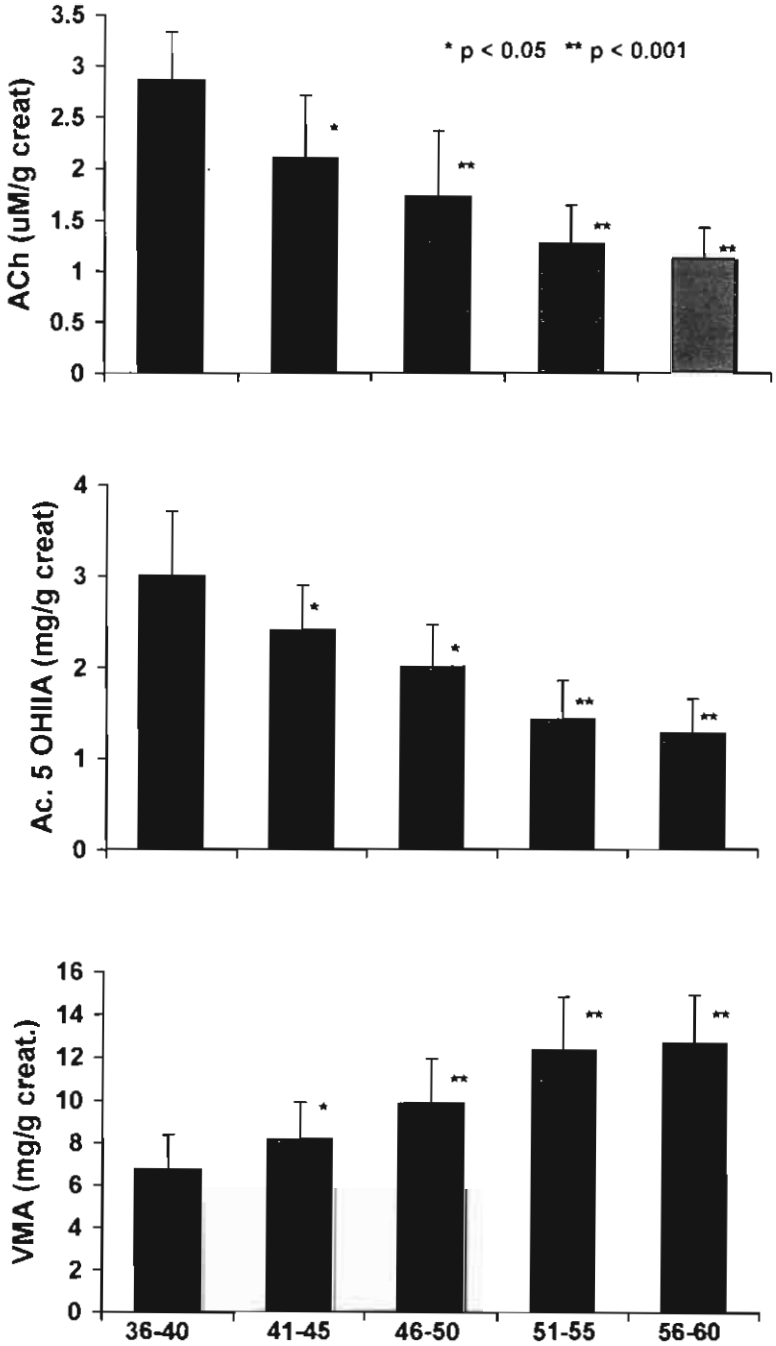


Fig.- 44 Concentración (M ± DE) de los metabolitos urinarios de los neurotransmisores en grupos de mujeres de diferentes edades.

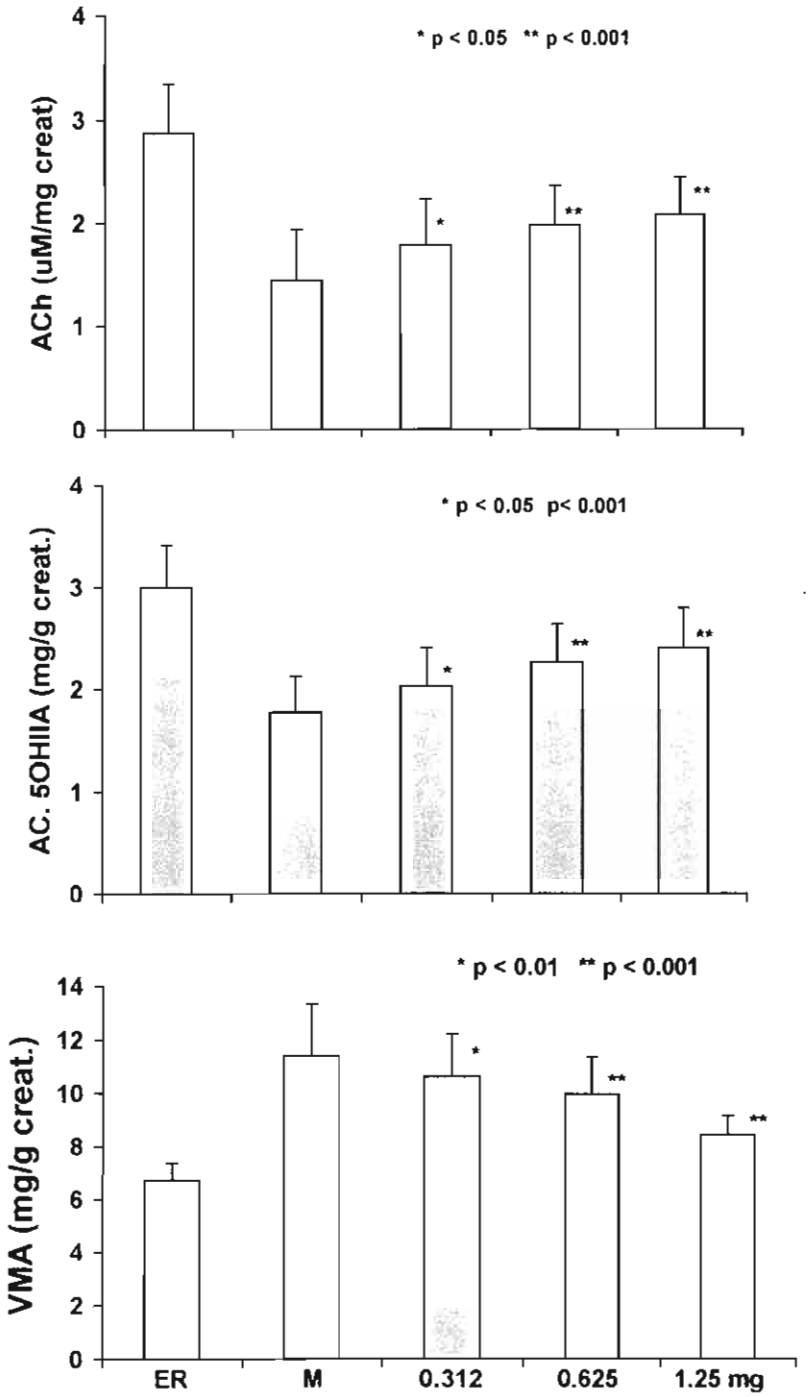


Fig. 45 Efecto de HRT sobre la concentración de los metabolitos urinarios de los Neurotransmisores en mujeres menopáusicas, en comparación con su concentración en mujeres en edad reproductiva.

4.-ALTERACIONES CLINICAS
Evaluación mediante la escala del climaterio de Greene.

4.1.-Puntuación de las alteraciones en relación con la edad.

Manifestaciones de Ansiedad.
El análisis de los resultados de la escala de Greene en las mujeres del estudio, indica que las mujeres durante el climaterio presentan síntomas de ansiedad que se manifiestan por una elevación de la puntuación de las alteraciones desde la etapa premenopáusica (grupo de 41-45 años), como ocurrió con *el insomnio* (**Fig. 46**), *la excitabilidad, la inseguridad (miedos y temores) y la falta de concentración* (**Fig. 47**), y sobre todo después de los 46 años, edad en la que todos los indicadores de ansiedad se encontraron elevados, alcanzando la puntuación máxima entre los 51 y los 55 años. De estas manifestaciones de ansiedad, *el nerviosismo, el insomnio y las palpitaciones* tuvieron la puntuación más elevada y *la inseguridad* (miedos y temores) la más baja. La puntuación ($\bar{X} \pm DE$) de cada una de estas alteraciones en diferentes edades se muestran en la **tabla 6,** donde se observa que de las manifestaciones de ansiedad, solo el insomnio se elevó desde la etapa premenopáusica.

Síntomas de Depresión.
De las manifestaciones clínicas de depresión algunas como *la anergia* (cansancio o falta de energía), *la tristeza* (**Fig. 48**) y *la irritabilidad* (**Fig. 49**), aumentaron desde los 41-45 años, mientras que otras como *la apatía* y *los accesos de llanto* mostraron un aumento importante hasta los 46-50 años, edad en la que las manifestaciones depresivas aumentaron en forma significativa. La puntuación más elevada se observó también en el grupo de 51-55 años, disminuyendo ligeramente en las mujeres de mayor edad. De las manifestaciones depresivas *la anergia y la irritabilidad* fueron las más importantes, alcanzaron mayor puntuación y se mantuvieron elevadas desde los 46 hasta los 60 años. La puntuación alcanzada por estas alteraciones ($\bar{X} \pm DE$) en los grupos de mujeres de diferente edad, se indica en la **tabla 7** donde se observa que a partir de los 46-50 años, las diferencias en comparación con las mujeres del grupo testigo, son significativas.

Alteraciones Somáticas.
En las **Figs. 50 y 51** se muestra la puntuación de las alteraciones de la escala somática, en relación con la edad. De ellas, los *dolores articulares (artralgias), la presión en la cabeza y la cefalea,* fueron las de mayor puntuación, presentando una tendencia ascendente hasta los 55 años; después la puntuación de los diferentes alteraciones disminuyó en forma significativa, con excepción de la cefalea que se mantuvo elevada hasta los 60 años. En cambio, *los mareos o desvanecimientos,* no presentaron variaciones importantes en los diferentes grupos. La puntuación ($\bar{X} \pm DE$) de las alteraciones somáticas en relación con la edad, se presentan en **la tabla 8** .

Cuadro Vasomotor.
Los bochornos y la sudoración nocturna fueron manifestaciones clínicas de temprana aparición que elevaron su puntuación desde los 41-45 años en una proporción elevada de mujeres premenopáusicas (**Fig.52**). Ambas alteraciones aumentaron progresivamente hasta los 55 años; después los bochornos disminuyeron ligeramente, aunque mantuvieron una puntuación elevada hasta los 60 años; mientras que la sudoración nocturna disminuyó significativamente después de los 55 años (**Tabla 9**).

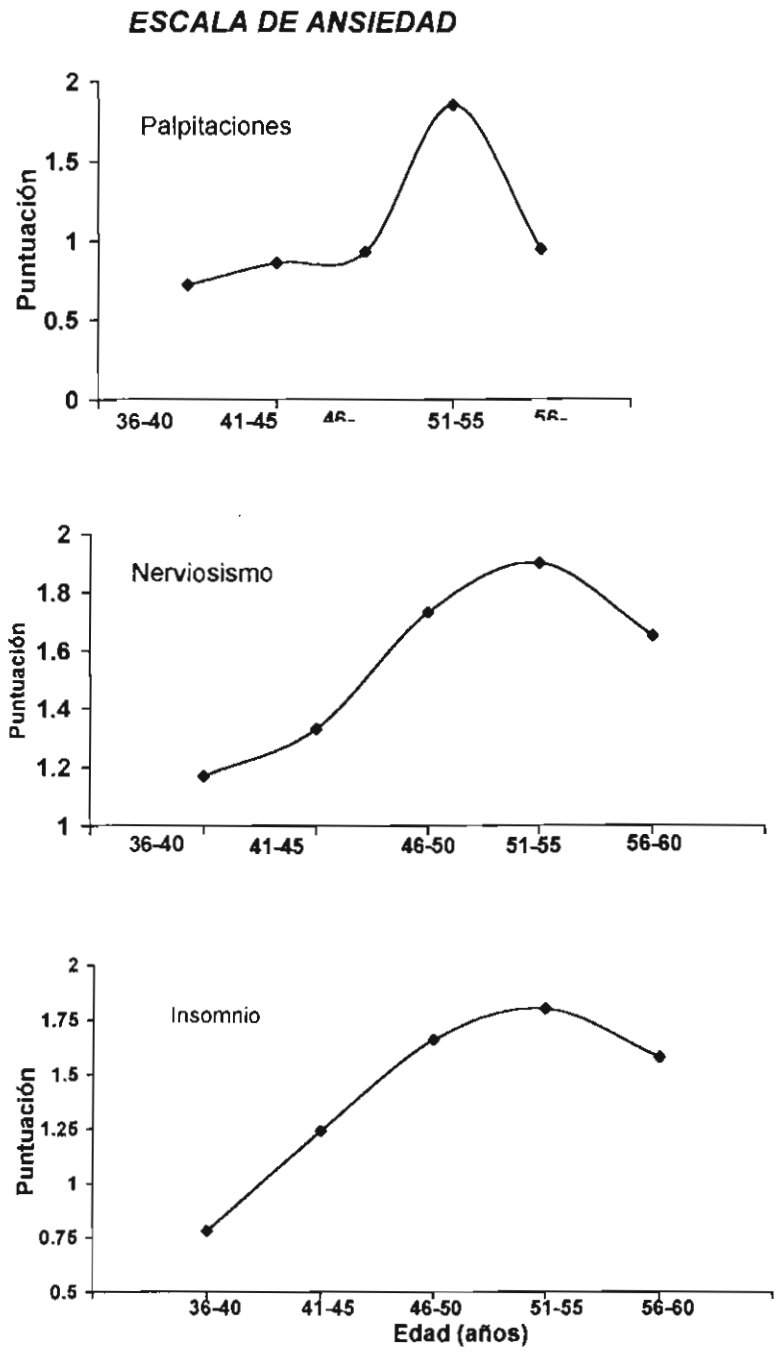


Fig. 46. Incremento en la puntuación de las palpitaciones el nerviosismo y el insomnio al aumentar la edad en las mujeres

ESCALA DE ANSIEDAD

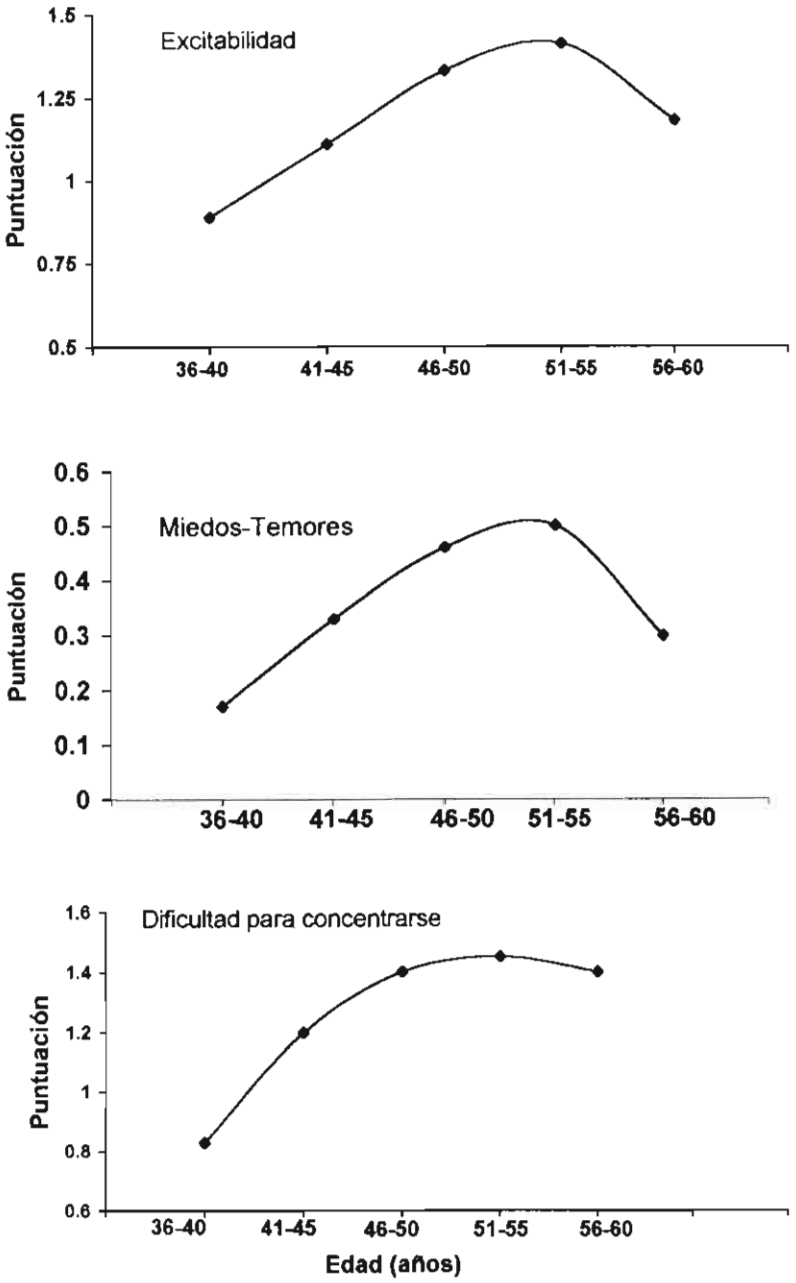


Fig.47. Se ilustra la puntuación de la excitabilidad, los temores y la falta de concentración en mujeres normales, alteraciones que aumentaron desde la etapa premenopáusica.

Tabla 6.- ESCALA DE ANSIEDAD

Alteraciones clínicas en mujeres normales en relación con la edad

Puntuación (M ± DE)

	Edad (años)

ESCALA DE DEPRESION

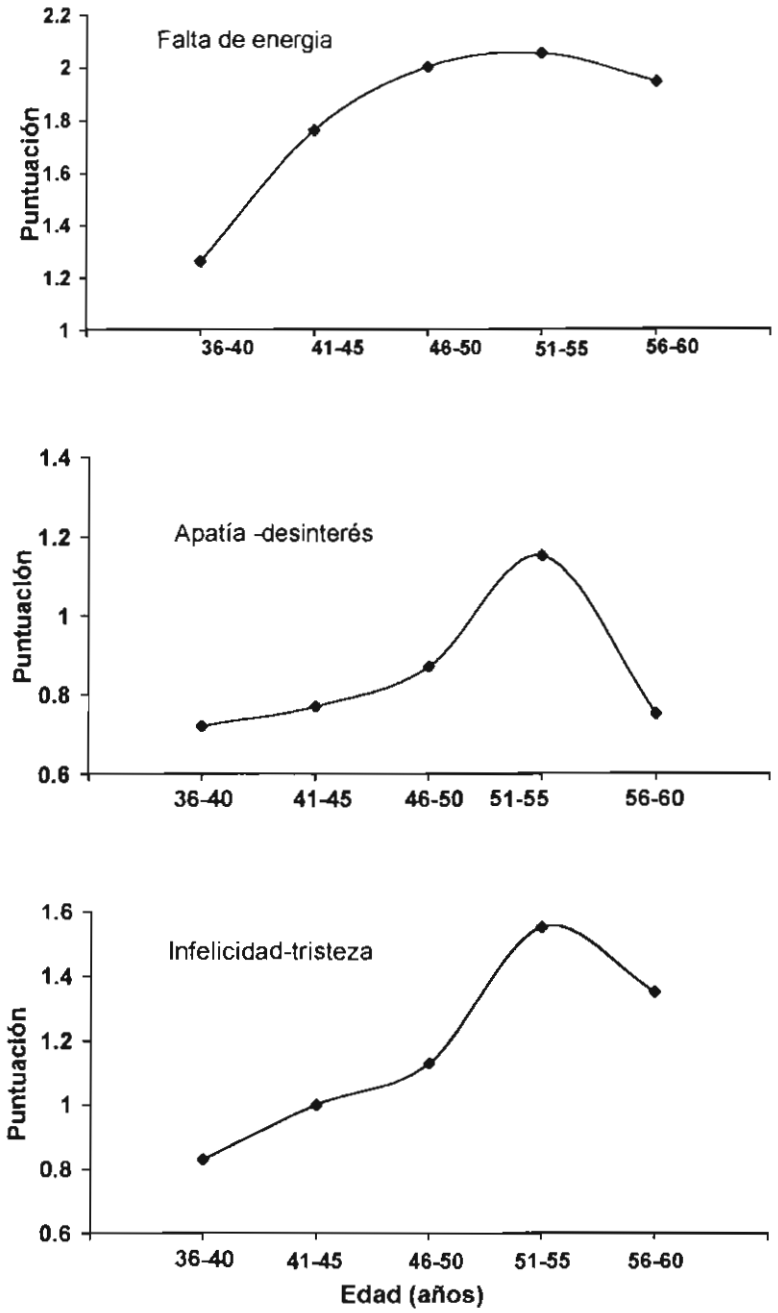


Fig-48. Se representa la puntuación de tres síntomas de depresión. En el caso de la anergía,la puntuación comenzó a elevarse desde la etapa premenopáusica, en cambio en la apatia la puntuación aumentó significativamente solo después de los 46 años, al igual que en la la tristeza

ESCALA DE DEPRESION

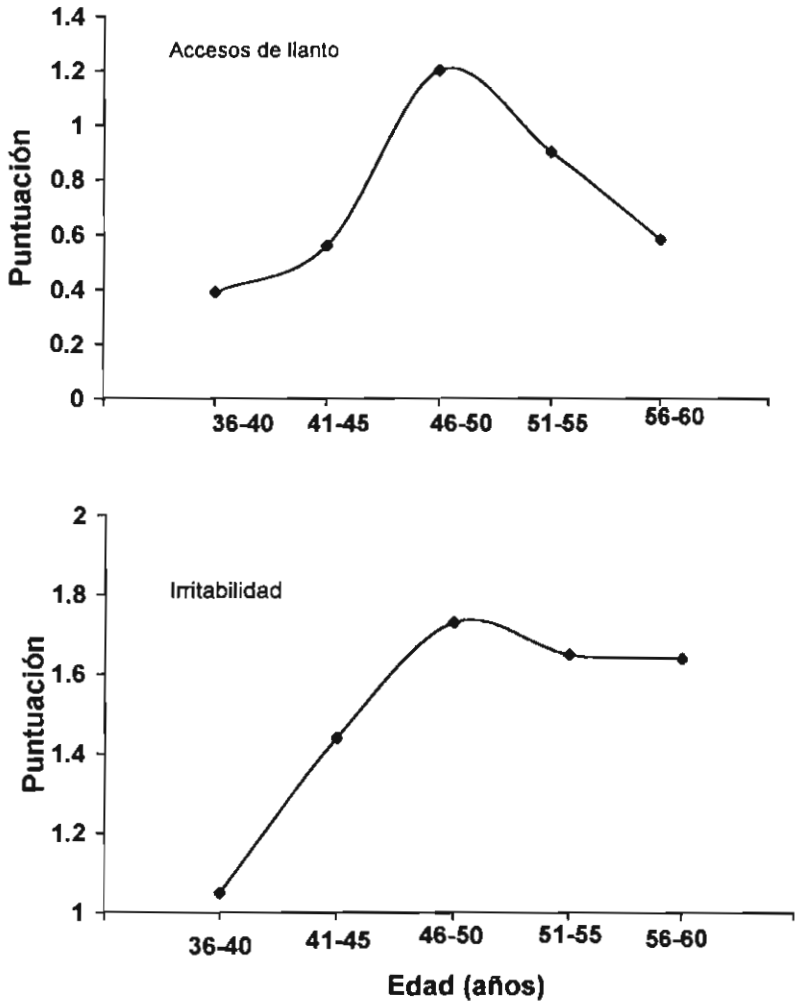


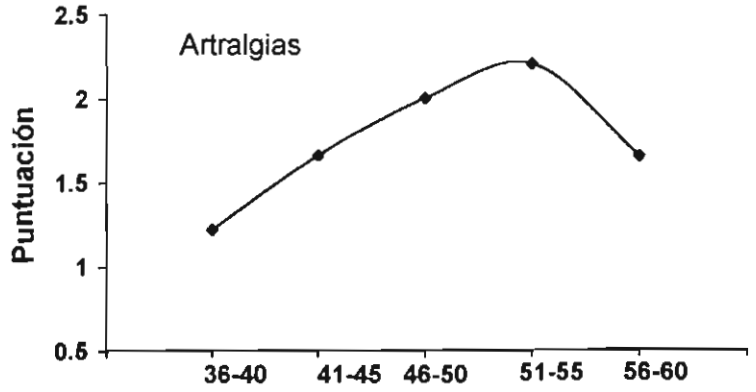
Fig. 49- Puntuación de los accesos de llanto y la irritabilidad en mujeres normales de los 36 a 60 años, mostrando que las dos alteraciones aumentaron hasta los 50 años;disminuyeron después, en forma rápida los accesos de llanto, no así la irritabilidad.

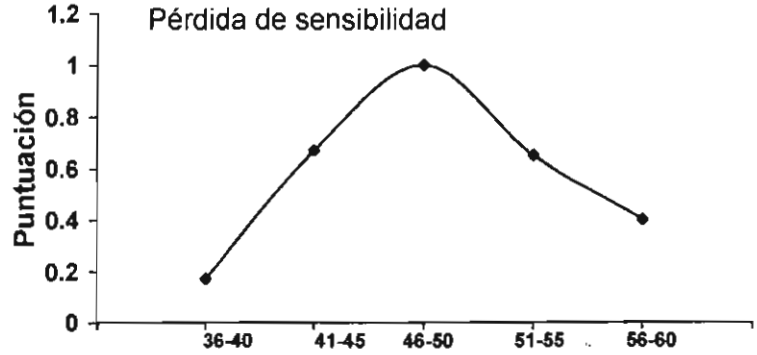
Tabla 7- ESCALA DE DEPRESION

Manifestaciones clínicas en mujeres normales en relación con la edad

Puntuación (M ± DE)

ESCALA SOMATICA





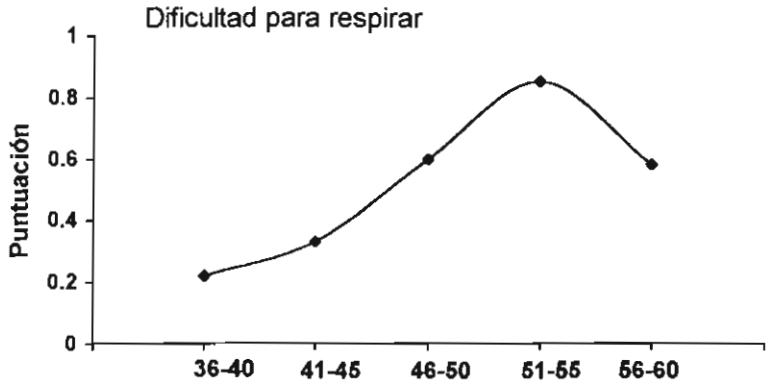


Fig 50- Se representa la puntuación de las artralgias, la pérdida de sensibilidad y la dificultad para respirar en mujeres normales y de las tres destacaron las artralgias por su puntuación más elevada.

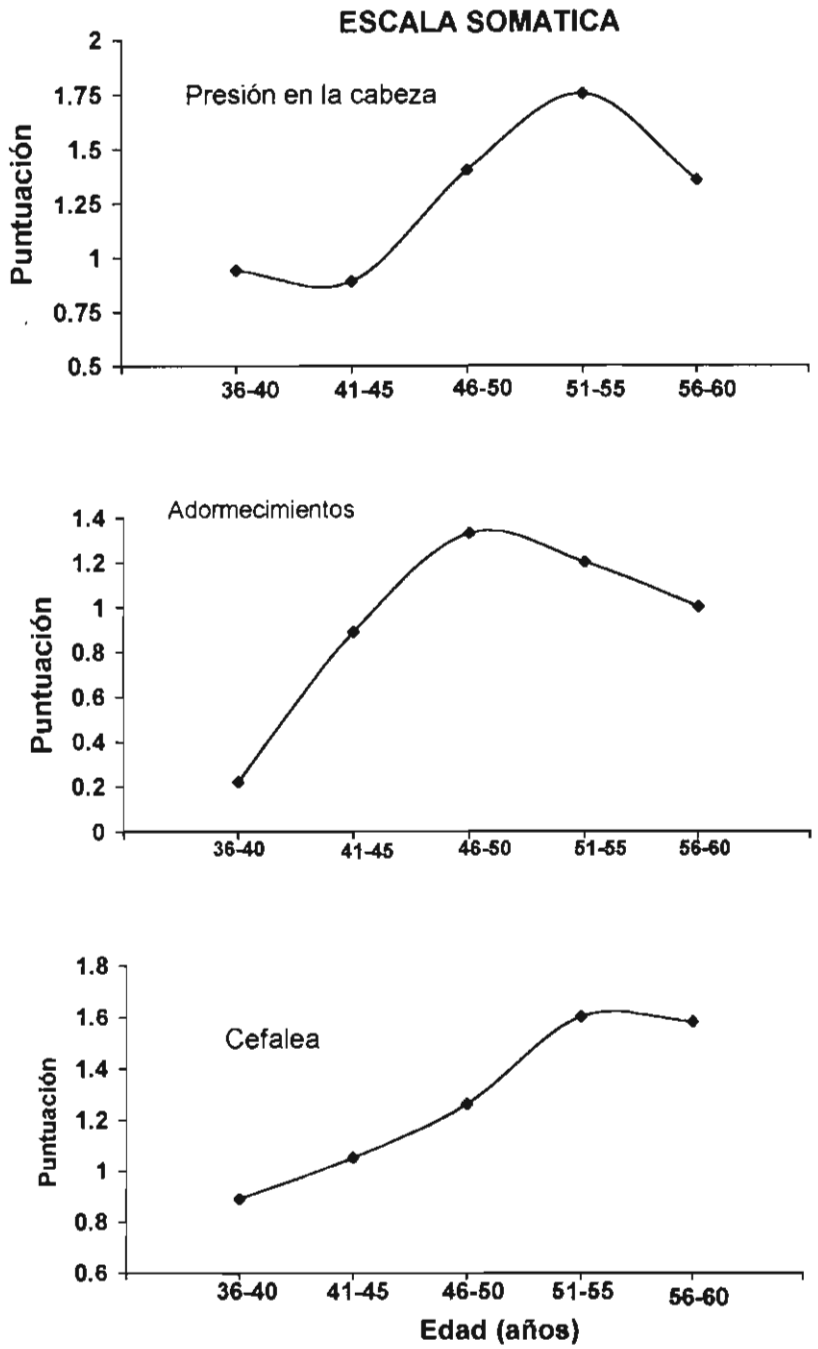


Fig. 51. Elevación de la puntuación de alteraciones de la escala somática en mujeres normales al aumentar la edad; se observa la elevación de la presión en la cabeza y los adormecimientos desde la etapa premenpáusica.

Tabla 8 - ESCALA SOMATICA

Manifestaciones clínicas en mujeres normales en relación con la edad

Puntuación (M ± DE)

	Edad (años)				
Alteración	**36-40**	**41-45**	**46-50**	**51-55**	**56-60**

CUADRO VASOMOTOR Y ESFERA SEXUAL

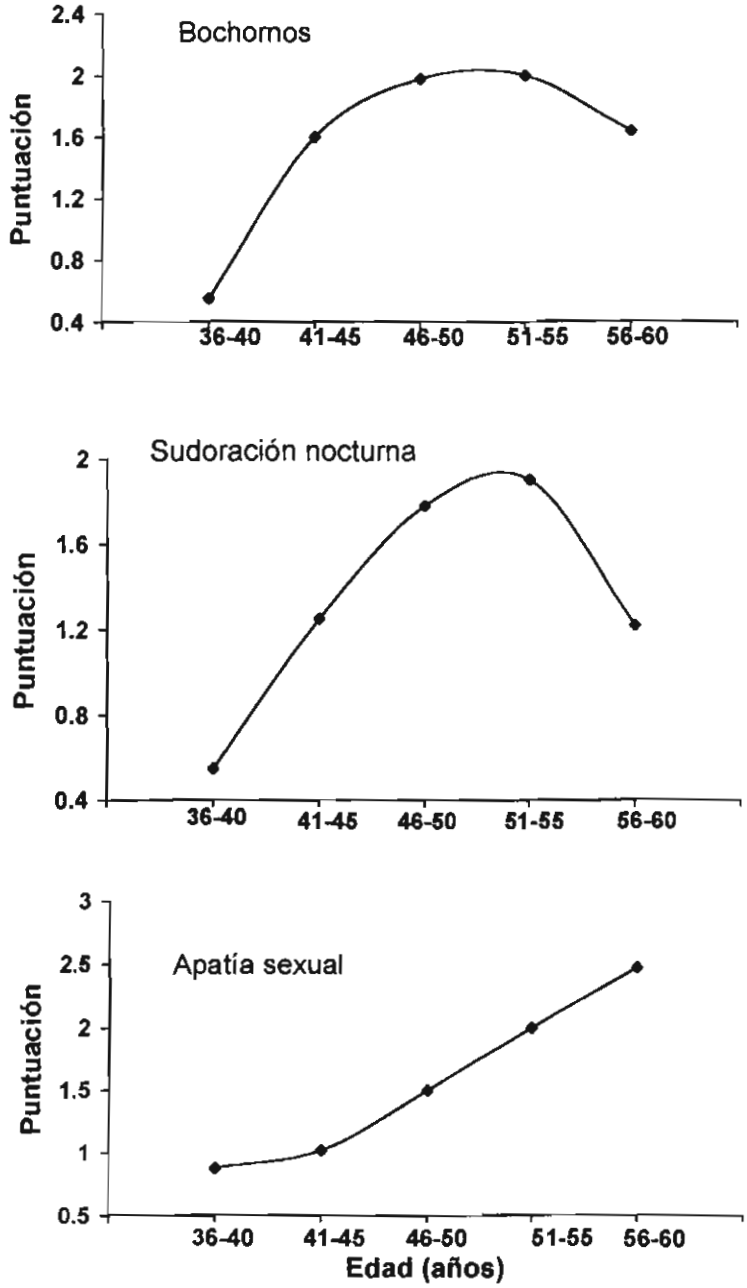


Fig.52. Las alteraciones vasomotoras aumentaron su puntuación desde etapas tempranas (41-45 años) a diferencia de la apatia sexual que modificó su puntuación solo a partir de los 46 años.

Tabla 9.- CUADRO VASOMOTOR Y ESCALA SEXUAL

Manifestaciones clínicas en mujeres normales en relación con la edad

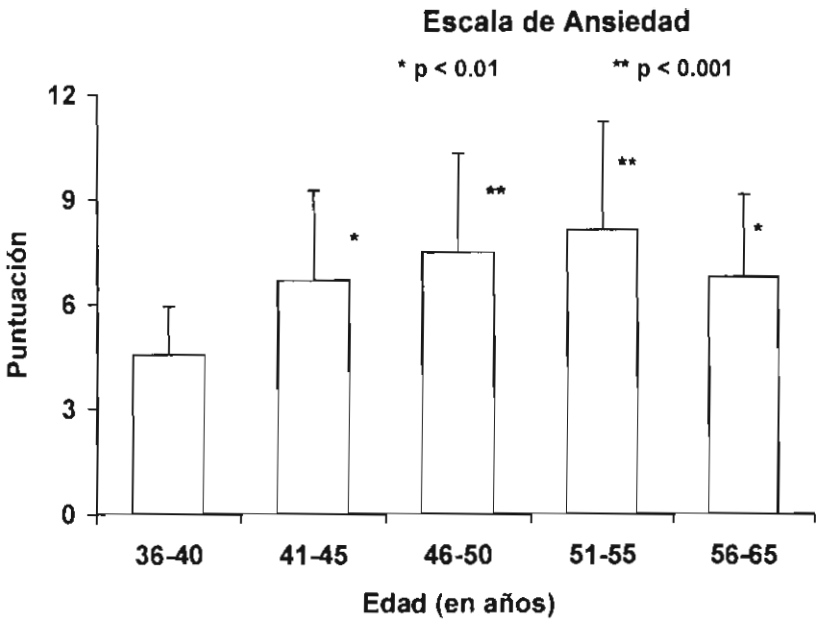
Puntuación (M ± DE)

Abulia sexual.
En la parte inferior de la **Fig.52** se ilustra el comportamiento de la libido con relación a la edad, mostrando que el interés de las mujeres por el sexo, se mantuvo más o menos constante hasta los 45 años, ocurriendo después una progresiva pérdida de la libido que se manifestó por *apatía o abulia sexual*, la cual aumentó progresivamente de los 45 hasta los 60 años en relación directa con la edad, mostrando a partir de los 50 años una diferencia significativa con la puntuación del grupo de mujeres jóvenes **(Tabla 9).**

4.1.2.Puntuación total de las escalas en relación con la edad.
La puntuación total de las escalas del climaterio, que se obtuvo sumando la puntuación de las diferentes alteraciones que las forman, se presentan en las Fig. 53-55.
En la **Fig. 53** se ilustra la puntuación total ($\bar{X} \pm$ DE) de *la escala de Ansiedad y de la escala de Depresión* (gráficas de la parte superior y media respectivamente) para su comparación. Ambas escalas tuvieron un comportamiento similar, con la puntuación máxima en el grupo de 51-55 años, sin embargo, la puntuación de la escala de ansiedad fue más elevada y las diferencias con la puntuación del grupo testigo más significativa ($p < 0.001$). La gráfica inferior de la misma figura representa la puntuación total de la *escala psicológica* formada por la suma de la puntuación de las dos escalas anteriores; su perfil con relación a la edad es similar a los anteriores y como en ellos la mayor puntuación se tuvo de los 51-55 años ($p < 0.001$).
En la **Fig. 54** se ilustra en la gráfica superior la puntuación total ($\bar{X} \pm$ DE) de *la escala somática y* en la inferior *el cuadro vasomotor.* La puntuación de ambas escalas fue significativamente mayor que la del grupo testigo, aumentando desde los 41-45 años y como en las escalas anteriores la mayor puntuación se tuvo en el grupo de los 51-55 años ($p<0.001$ y $p<0.0001$ para la escala somática y el cuadro vasomotor respectivamente).
De igual forma, la **Fig.55** en la parte superior muestra la representación gráfica de *la escala sexual* con un perfil diferente a los anteriores, caracterizado por un continuo ascenso de la puntuación desde los 41 hasta los 60 años, con diferencias altamente significativas de los 51-60 años ($p< 0.001$). Por otra parte, en la gráfica inferior se ilustra la puntuación total de *la escala de Greene* dada por la suma de la puntuación de las 21 alteraciones clínicas que la forman, destacando la elevada puntuación de la escala entre los 51-55años, edad en la que como se mencionó anteriormente, alcanzaron su puntuación máxima la mayoría de las alteraciones.

4.2- Alteraciones clínicas a la menopausia

4.2.1- Frecuencia y severidad de las alteraciones.
La evaluación de la escala del climaterio a la menopausia mostró, que las 21 alteraciones que forman la escala de Greene, no siempre se presentan en las mujeres menopáusicas; la frecuencia fue diferente para cada una de ellas, siendo *el nerviosismo* (escala de ansiedad) *la anergia* (escala de depresión) y *las artralgias* (escala somática) las que se observaron más frecuentemente, afectando a más del **90%** de las mujeres menopáusicas. Por otra parte, la intensidad de las alteraciones o severidad con la que se presentaron también fue diferente **(tabla 10).**



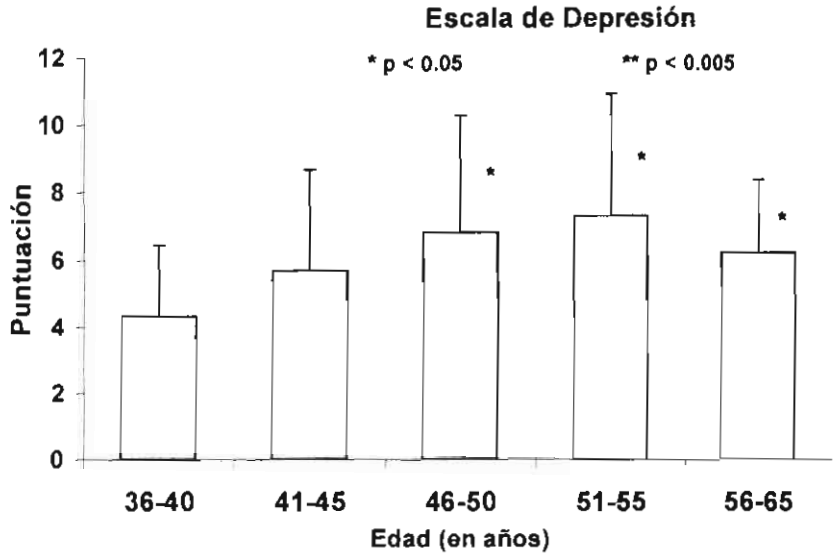
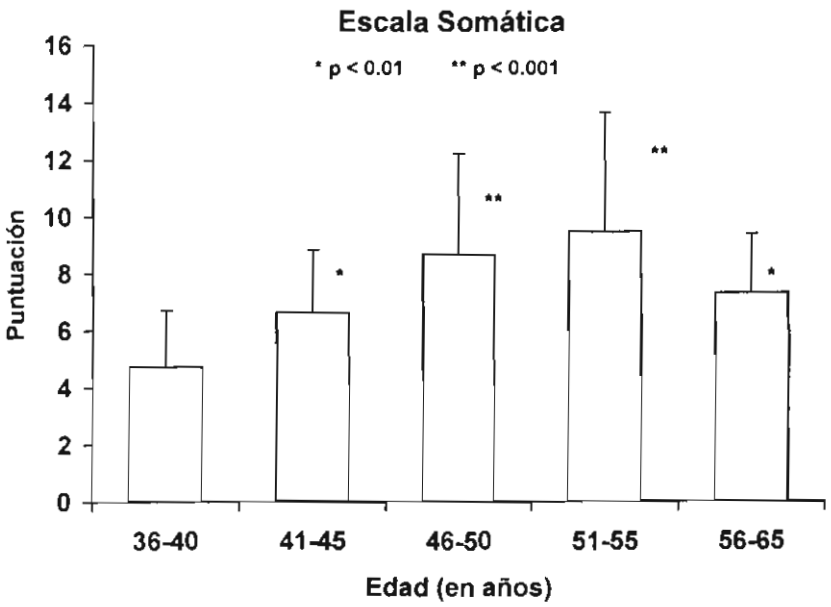


Fig.53- Las escalas de ansiedad y de depresión en mujeres normales, mostraron un aumento importante de su puntuación (M± DE) que se relacionó significativamente con la edad, teniendo la puntuación más elevada en el grupo de mujeres de 51-55 años.



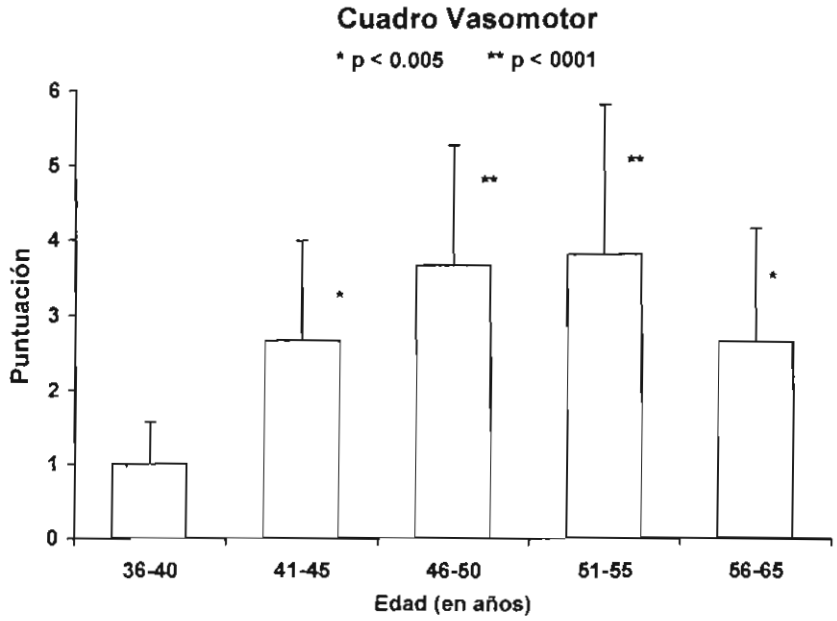
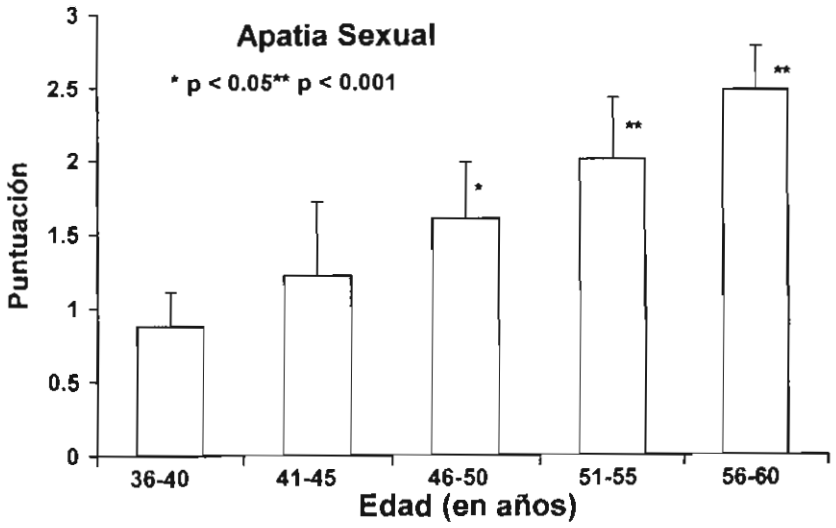


Fig. 54- Puntuación total (M± DE) que alcanzaron la escala somática(gráfica superior) y el cuadro vasomotor (gráfica inferior) en las mujeres del estudio al ser clasificadas en grupos de cinco años de acuerdo a su edad. La puntuación máxima se alcanzó a los 55 años y después disminuyó .



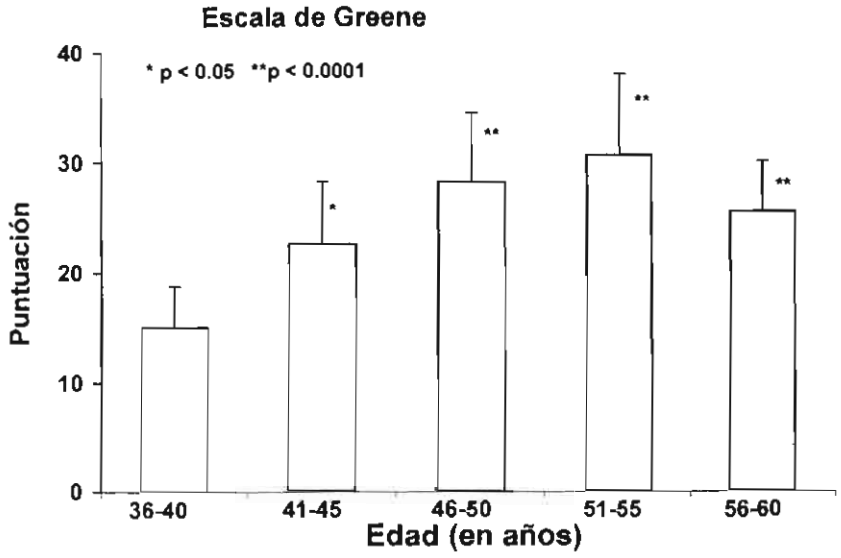


Fig.55- La escala sexual en las mujeres (gráfica superior) aumentó continuamente su puntuacion (M± DE) de los 36 a los 55 años, indicando que al avanzar la edad aumenta la abulia sexual. En la gráfica inferior, la puntación total de la escala de Greene muestra un aumento importante (p< .0001) de los 46-55 años en comparación con la de los 36-40 años.

Tabla. 10.-Escala del climaterio de Greene

Escala	Manifestación	Frecuencia (%)	Severidad (%)
Ansiedad:	Palpitaciones Cardíacas	69.3	15.7
	Tensión o Nerviosismo	98.1	19.2
	Insomnio	88.5	11.5
	Excitabilidad	75	15.3
	Inseguridad Miedo	28.9	1.9
	Falta de concentración	82.7	11.5
Depresión:	Cansancio (anergia)	96.2	21.2
	Apatía - Desinterés	63.5	5.8
	Infelicidad, tristeza	80.8	17.4
	Accesos de llanto	52	17.3
	Irritabilidad	88.5	21.2
Somática	Mareos- Vertigo	67.3	11.5
	Presión en la cabeza	80.8	15.4
	Parestesias	56.4	15.3
	Cefalea	86.5	15.4
	Artralgias	96.15	38.5
	Pérdida de sensibilidad	42.3	3.9
	Dificultad para respirar	42.6	3.9
Vasomotora	Bochornos	82.7	32.7
	Sudoración nocturna	78.8	30.8
Sexual	Abulia Sexual	90.4	40.4

Escala de Ansiedad

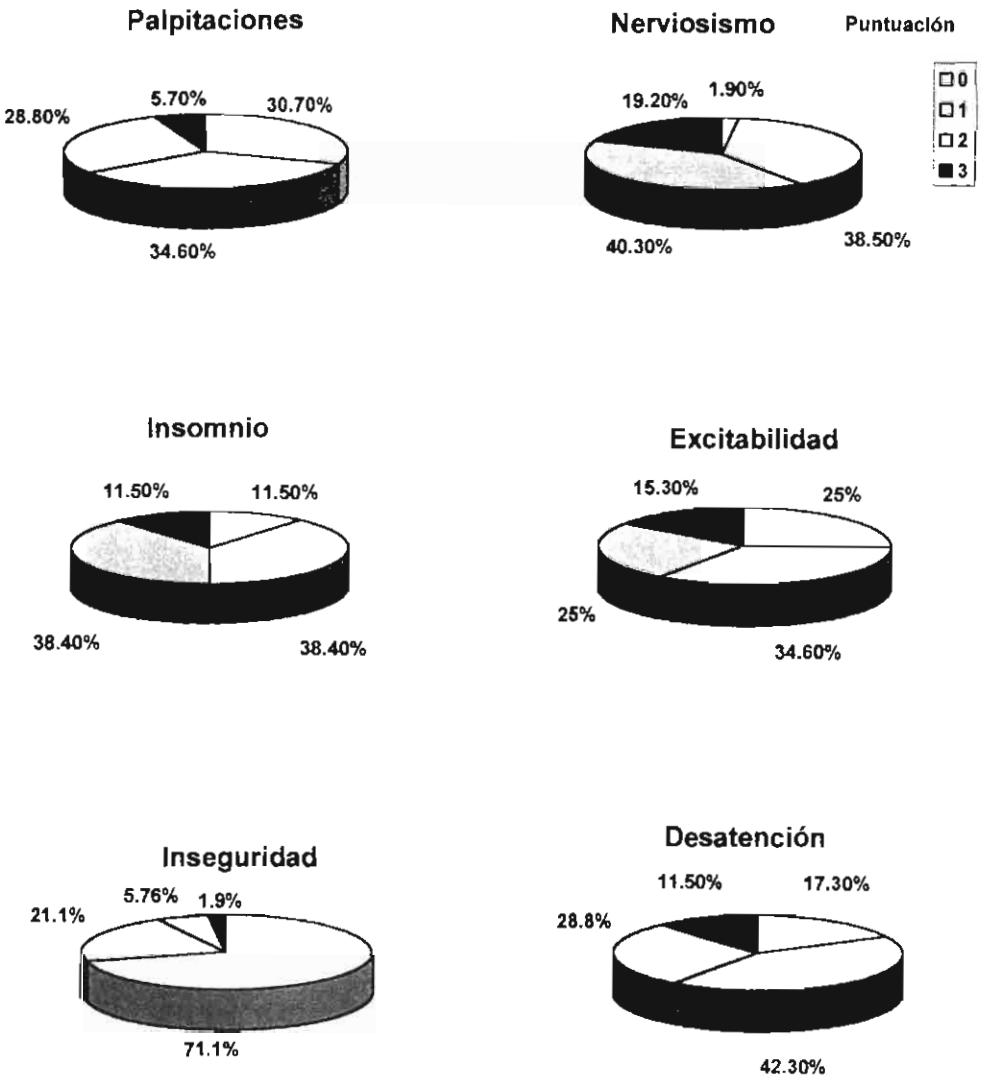


Fig.56. Distribución de la puntuación de cada una de las alteraciones que forman la escala de ansiedad en mujeres menopáusicas. De estas alteraciones el nerviosismo y la excitabilidad fueron las más severas

Escala de Depresión

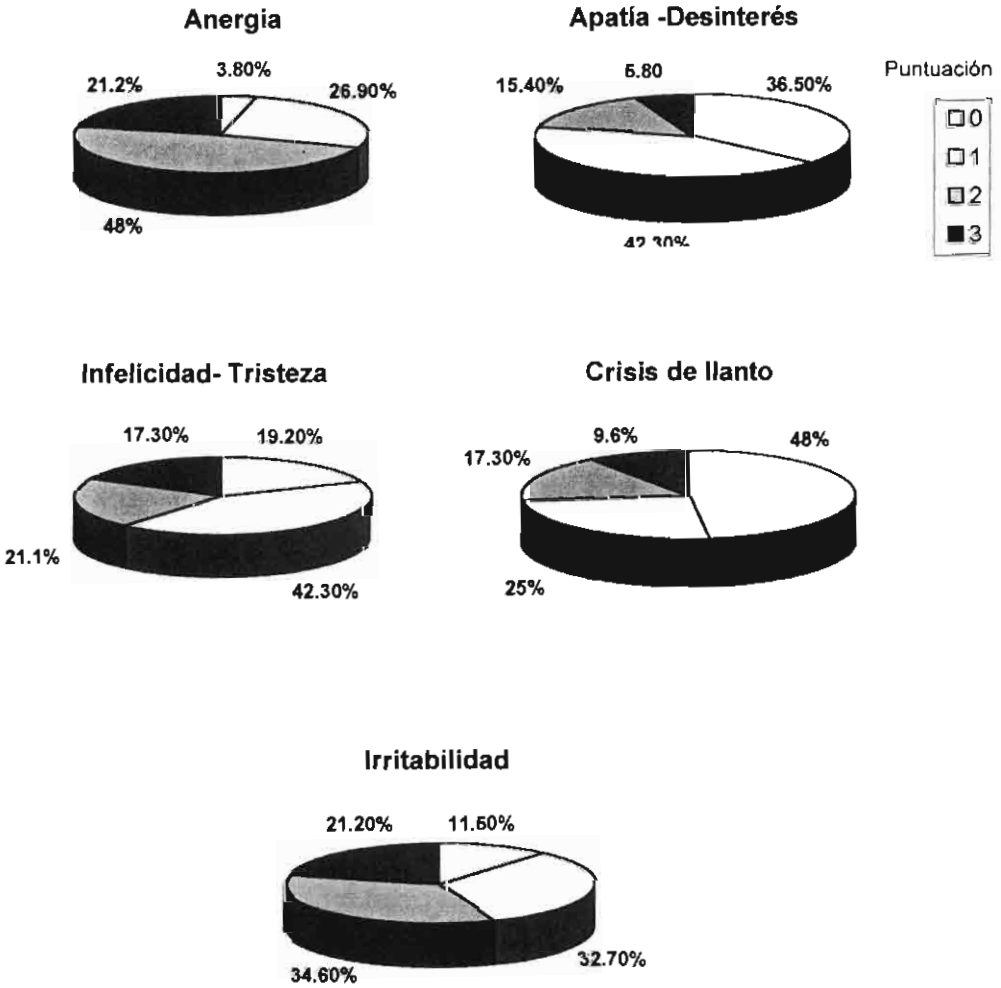


Fig.57- Frecuencia y severidad de las alteraciones que forman la escala de depresión en mujeres menopáusicas.Destacan la anergia y la irritabilidad por ser las de mayor severidad y las más frecuentes.

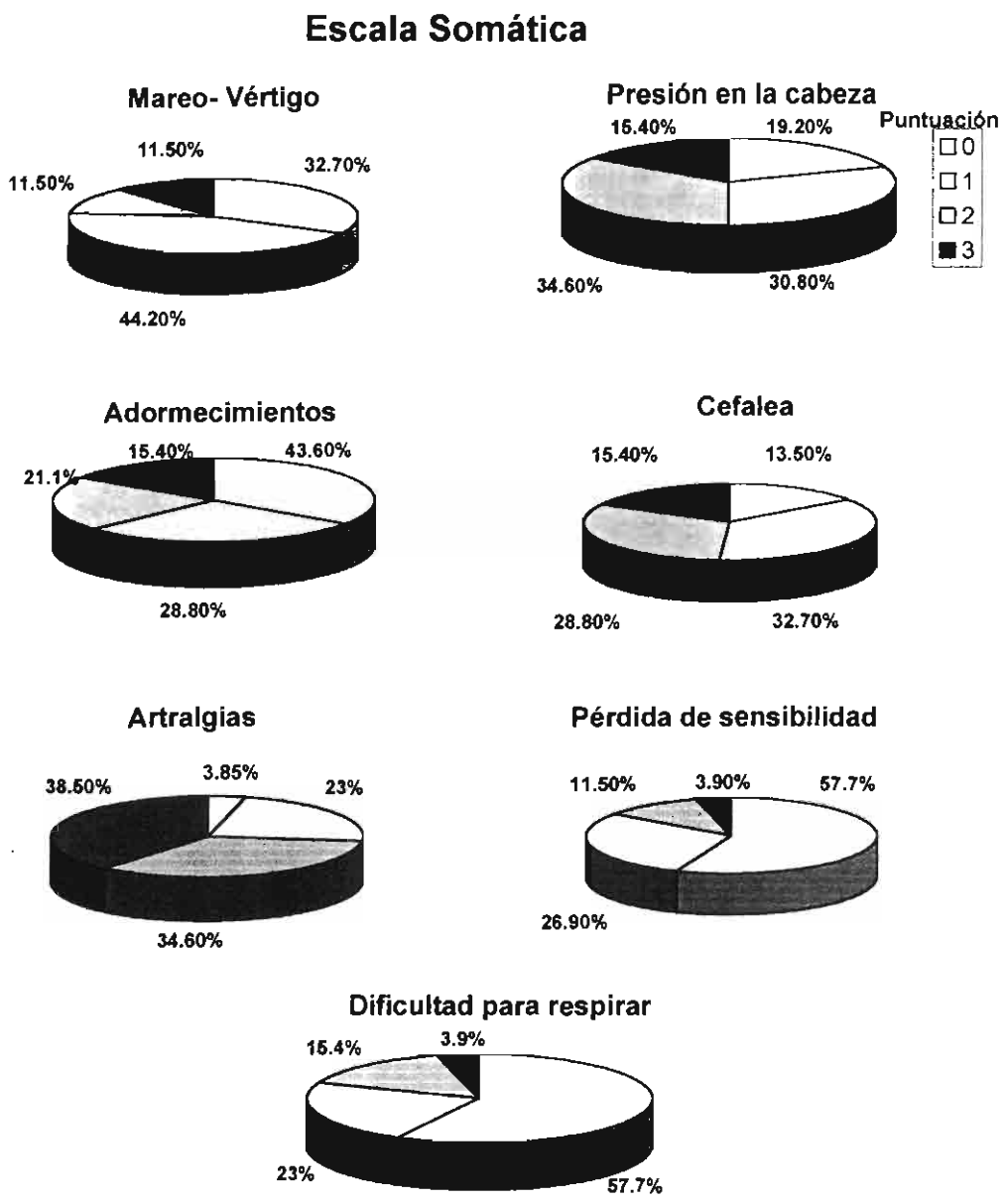
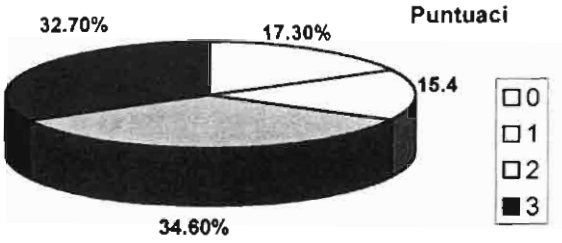


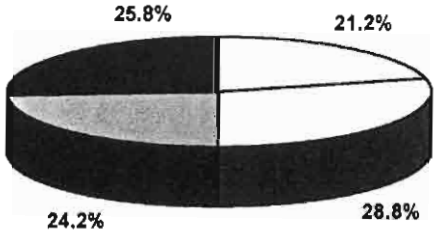
Fig.58- Distribución de la puntuación de las alteraciones que forman la escala somática, en mujeres menopáusicas. Las altralgias fueron la alteración más severa y la más frecuente; en contraste la dificultad para respirar due poco frecuente y no se presentó en forma severa.

Cuadro Vasomotor

Bochornos

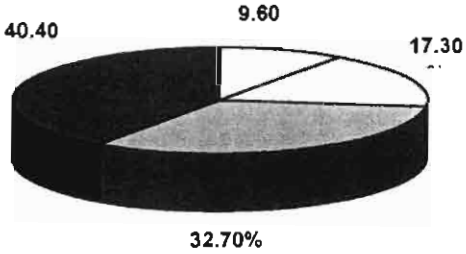


Sudoración Nocturna



Escala Sexual

Abulia Sexual



ACA
ARCHIVO HISTORICO

Fig. 59- Las alteraciones vasomotoras se caracterizaron por presentarse en forma severa, sobre todo los bochornos que afectaron al 85% de las mujeres de las cuales, en una tercera parte de ellas fueron severos. La abulia sexual fue otra alteración frecuente y severa.

Ansiedad.

En la **Fig. 56** se presentan mediante una gráfica de vectores, las 6 alteraciones que forman *la escala de ansie*dad, indicándose el porcentaje de mujeres que no tuvieron la alteración (puntuación 0), aquellas en las que la alteración fue ligera (puntuación 1) moderada (puntuación 2) e intensa o severa (puntuación 3).
Así por ejemplo, en el caso de *las palpitaciones* puede verse que 30.7% de las mujeres no las tuvieron, en el 34 6 % fueron ligeras, moderadas en el 28.8% y un 5.7 % reportó tener palpitaciones severas En contraste con lo anterior, solo un 1.9% de las mujeres menopáusicas mencionó no sentir *nerviosismo*, siendo asi la más frecuente (98.1%). En 38.5% se presentó en forma ligera, en 40.3 % fue moderado y severo en cerca de la quinta parte de las mujeres. En esta misma figura se encuentran, *el insomnio* y *la falta de concentración o desatención* otras dos alteraciones muy frecuentes (en 88.5 y 83% de las pacientes respectivamente) asi como *la excitabilidad y la inseguridad* (miedos y temores) que se presentaron con menor frecuencia.

Depresión.

De manera similar, en la **Fig. 57** se ilustra la distribución de la puntuación de las 5 manifestaciones clínicas que forman *la escala de depresión*; de ellas, *la falta de energía (anergia) y la irritabilidad* fueron las más frecuentes y las de mayor severidad ; ambas se presentaron en forma severa en más de la quinta parte de las mujeres menopáusicas (puntuación 3). La tristeza se presentó en 81% de las mujeres y de ellas en 17 3% fue severa, *la apatía y las crisis de llanto* tuvieron menor frecuencia y severidad.

Alteraciones somáticas.-

De la escala somática (**Fig 58**) *las artralgias* (tercer círculo del lado izquierdo) fue la más frecuente y en la que mayor número de mujeres se quejaron de molestias severas (38 5%), después *la cefalea y la presión en la cabeza* que se presentaron en más del 80% de las mujeres menopáusicas y en forma severa en el 15% de ellas. *Los mareos, las disestesias (pérdidad de sensibilidad)* y *la dificultad para respirar*, fueron alteraciones menos importantes

Alteraciones vasomotoras.

En la **Fig. 59** se muestra la distribución porcentual de la puntuación de las alteraciones vasomotoras y de la abulia sexual. Puede verse que los bochornos y la sudoración nocturna (en la parte superior y media de la figura) fueron alteraciones muy frecuentes que se presentaron en un 80% de las mujeres menopáusicas, con manifestaciones severas en 32.7 y 25.8 % de ellas respectivamente . En el caso de la esfera sexual (gráfica inferior) solo 9.6 % de las mujeres reportaron no tener alteraciones, en 17.3 % fueron ligeras, moderadas en 32 7% y severas en más del 40 %.

4.2.2- Puntuación de las alteraciones clínicas, en relación con el nivel de estradiol.

Cuando se analizaron los resultados de las escalas de las mujeres participantes en el estudio (incluyendo las mujeres del grupo testigo con ciclos menstruales regulares y niveles altos de estrógenos, y los de las mujeres menopáusicas con niveles bajos de E2) en relación con la concentración de estrógenos, se observó que la intensidad o severidad de las alteraciones muestra ser dependiente del nivel de estradiol (E2), ya que a una concentración relativamente elevada de esta hormona, las alteraciones por lo general no se presentan

Así por ejemplo, en la parte superior de la **Fig. 60** se ilustran los resultados para *el nerviosismo*, en la parte media *el insomnio* y en la parte inferior *la falta de concentración (desatención)*, tres manifestaciones de ansiedad. Puede verse que *el nerviosismo y la desatención* no se presentaron (puntuación cero) en aquellas mujeres que tuvieron una concentración de E2 ($\bar{X} \pm$ DE) mayor de 100 pg/mL. Cuando la concentración fue menor de 60 pg/mL aparecieron síntomas ligeros (puntuación 1) de nerviosismo y desatención y las molestias severas se presentaron cuando el E2 se encontró por debajo de 20 y 15 pg/mL respectivamente En el caso del *insomnio*, mujeres con más de 80pg/mL de E2 no lo tuvieron, en aquellas con concentraciones menores de 50pg fue ligero o moderado y el insomnio severo afectó solo a las que tuvieron cifras menores de 20pg /mL

Por otra parte, los cambios en la concentración de E2 en las mujeres con puntuación 1,2 y 3, en comparación con las de puntuación cero, fueron significativos en las tres alteraciones, sobre todo en el *insommio* y *la falta de concentración*. Otras manifestaciones de ansiedad como *las palpitaciones, la excitabilidad y los miedos o temores* **(Fig.61)**, no ocurrieron cuando el nivel de E2 fue mayor de 60 pg/mL; concentraciones menores coincidieron con palpitaciones ligeras o moderadas (puntuación 1 y 2) y las palpitaciones severas solo se observaron en mujeres menopáusicas con niveles de E2 menores de 15 pg/mL. La concentración de E2 en mujeres con manifestaciones ligeras, moderadas o severas, fue estadísticamente diferente de la concentración observada en aquellas que no tuvieron las alteraciones

De igual forma, en la Figs. 62 y 63 se ilustran las cinco alteraciones de la escala de depresión en relación a la concentración de E2. **La Fig.62** representa los resultados para la *anergia y la apatía*; la primera presentó una concentración ($\bar{X} \pm$DE) mayor de 100 pg/mL de E2 en el grupo de mujeres que no tuvieron la alteración, mientras que las mujeres que tuvieron menos de 70pg/mL se quejaron de falta de energía de variable intensidad, moderada en las que tuvieron menos de 40pg de E2 y severa en aquellas con menos de 15pg/mL. *La apatía* en la gráfica inferior de la fig. 65, muestra que esta alteración afectó solo a mujeres con concentraciones de E2 menores de 50 pg/mL y en forma severa cuando la concentración fue menor de 20pg.

Al comparar estas dos alteraciones, se ve que los cambios en la concentración de E2 en relación con la magnitud o severidad de las alteraciones, fueron más importantes para *la anergia* ($p < 0.001$), que requirió concentraciones más elevadas de E2 para no presentarse.

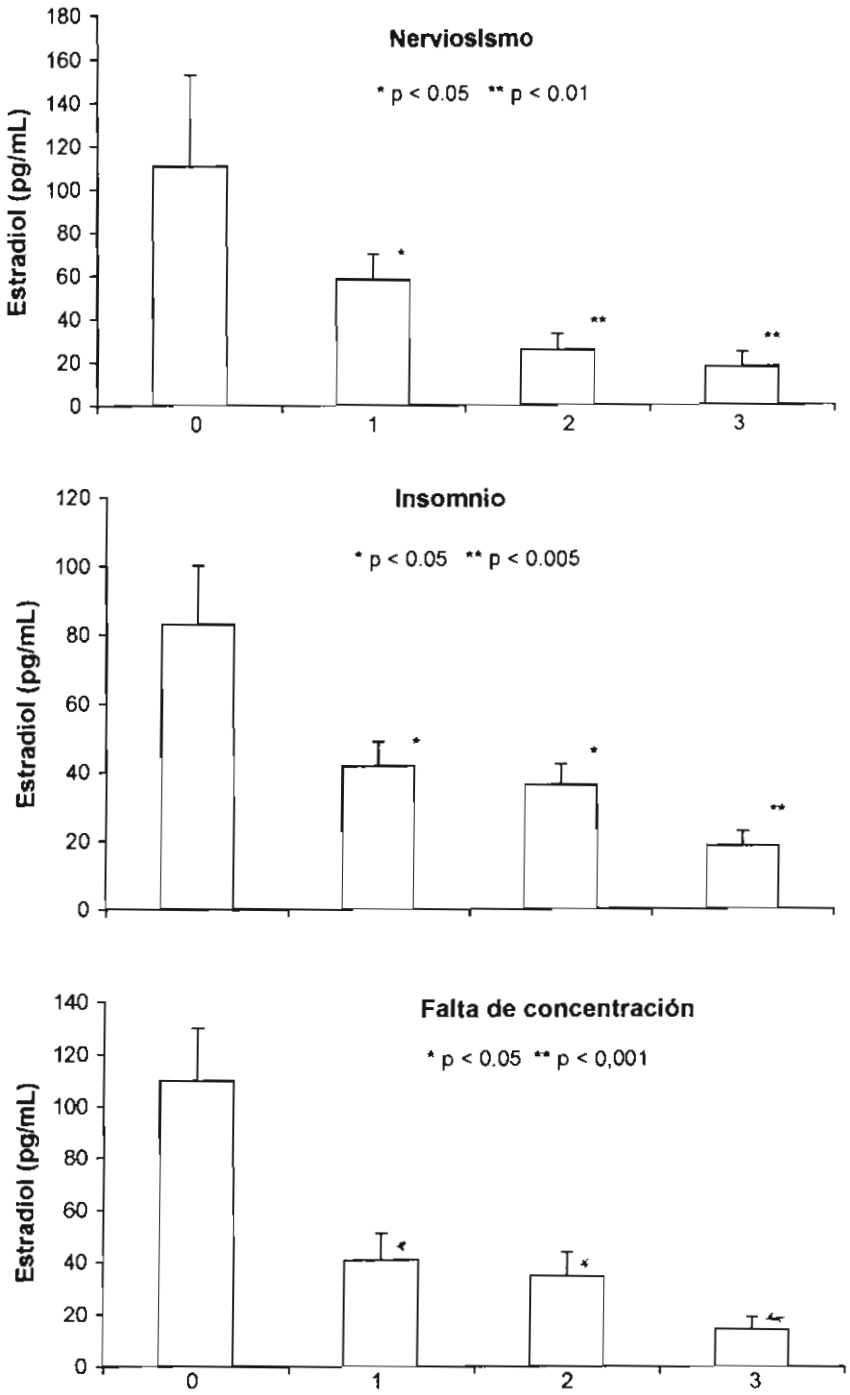


Fig. 60. Se representa la puntuación del nerviosismo, el insomnio en mujeres normales en relación con el nivel de estradiol

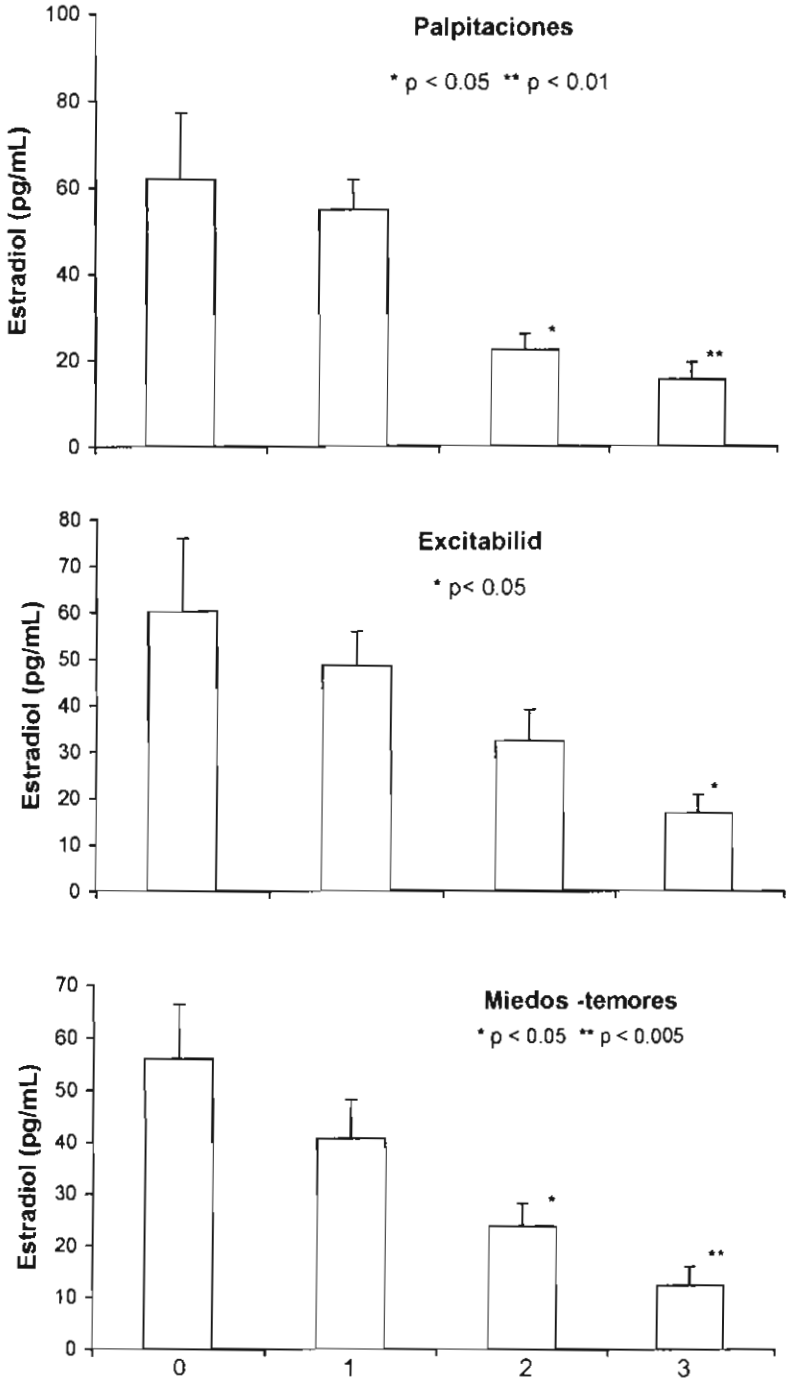
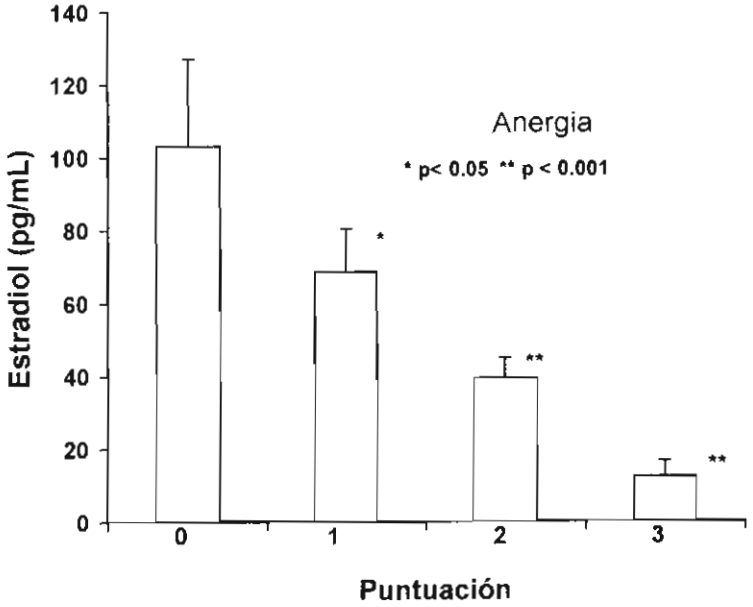


Fig 61.- La puntuación de las palpitaciones , la excitabilidad y los temores aumentaron su puntuación al disminuir la concentración de E_2. Las alteraciones severas se presentaron con niveles de E_2menores de 20 pg/mL



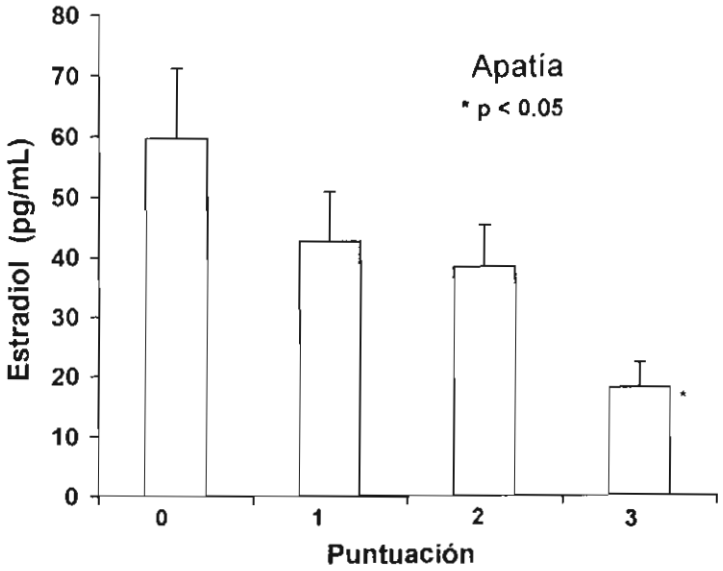


Fig. 62 -Los cambios en la puntuación de la anergia y en menor grado en la apatía, coincidieron con una disminución importante de los niveles de estradiol.

Las gráficas de **la Fig. 63** representan la puntuación de otras manifestaciones de depresión: *tristeza, accesos de llanto e irritabilidad,*, también en relación con el nivel de E2. De estas alteraciones, la irritabilidad tuvo un nivel más elevado de E2 en las mujeres con puntuación cero (> 90 pg/mL); las tres alteraciones se presentaron en mujeres que tuvieron menos de 50pg de E2 y fueron severas en aquellas con menos de 20pg/mL

Las alteraciones de la escala somática se relacionan a la concentración de E2 en las Figs 64, 65y 66 **La fig 64** compara los niveles de E2 con la puntuación de *las artralgias, las disestesias y la dificultad para respirar,* de arriba hacia abajo respectivamente, notándose que en las artralgias la concentración de E2 ($\bar{X} \pm$ DE) en las mujeres que no presentaron la alteración (puntuación cero) fue de 120pg/mL, mientras que en las otras dos alteraciones el nivel de estradiol para esta misma puntuación fue de 50-60pg No obstante, los cambios de la concentración de E2 en las mujeres con puntuación 1, 2 y 3 en comparación con las que no tuvieron la alteración (puntuación cero) son altamente significativos ($p < 0.001$).

Así mismo en la **Figs. 65** se ilustra la puntuación de *los mareos y la presión en la cabeza*, y en **la Fig 66** *las parestesias(adormecimientos) y la cefalea* respectivamente, en relación con la concentración de E2. Los resultados de estas cuatro alteraciones somáticas, son similares en cuanto a la concentración de E2 que se observó con la puntuación cero (60-80 pg/mL), siendo *las parestesias y los mareos*, las que mostraron cambios más importantes en la concentración de E2, en relación con la severidad de las alteraciones.

En la **Fig. 67** se presenta la puntuación de las alteraciones del cuadro vasomotor (bochornos y sudoración nocturna) en relación con la concentración de E2, asi mismo se ilustra la puntuación de la abulia sexual. Puede verse que en las mujeres que no tuvieron estas alteraciones el nivel de E2 se encontró elevado (80-100 pg /mL), en las que si las presentaron, fue menor de 50pg/mL; y en aquellas con alteraciones severas menor de 20pg/mL. Por otra parte, las diferencias en la concentración de E2 en comparación con la puntuación cero, son altamente significativas para las puntuaciones 2 y 3 en estas tres alteraciones ($p < 0.001$).

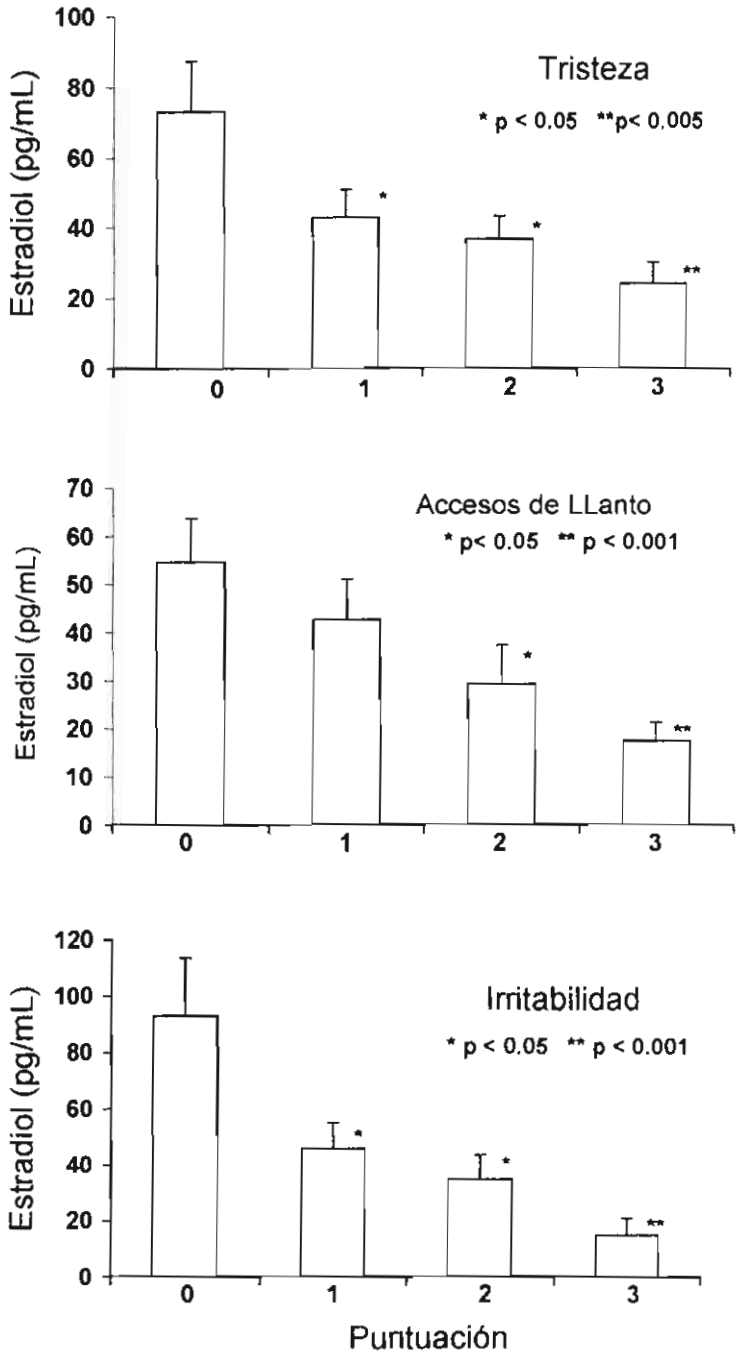


Fig. 63- Se representa la puntuación de la tristeza, los accesos de llanto y la irritabilidad, en relación con la concentración de estradiol. Se observa que la puntuación de las alteraciones se incrementa al disminuir la concentración de estradiol.

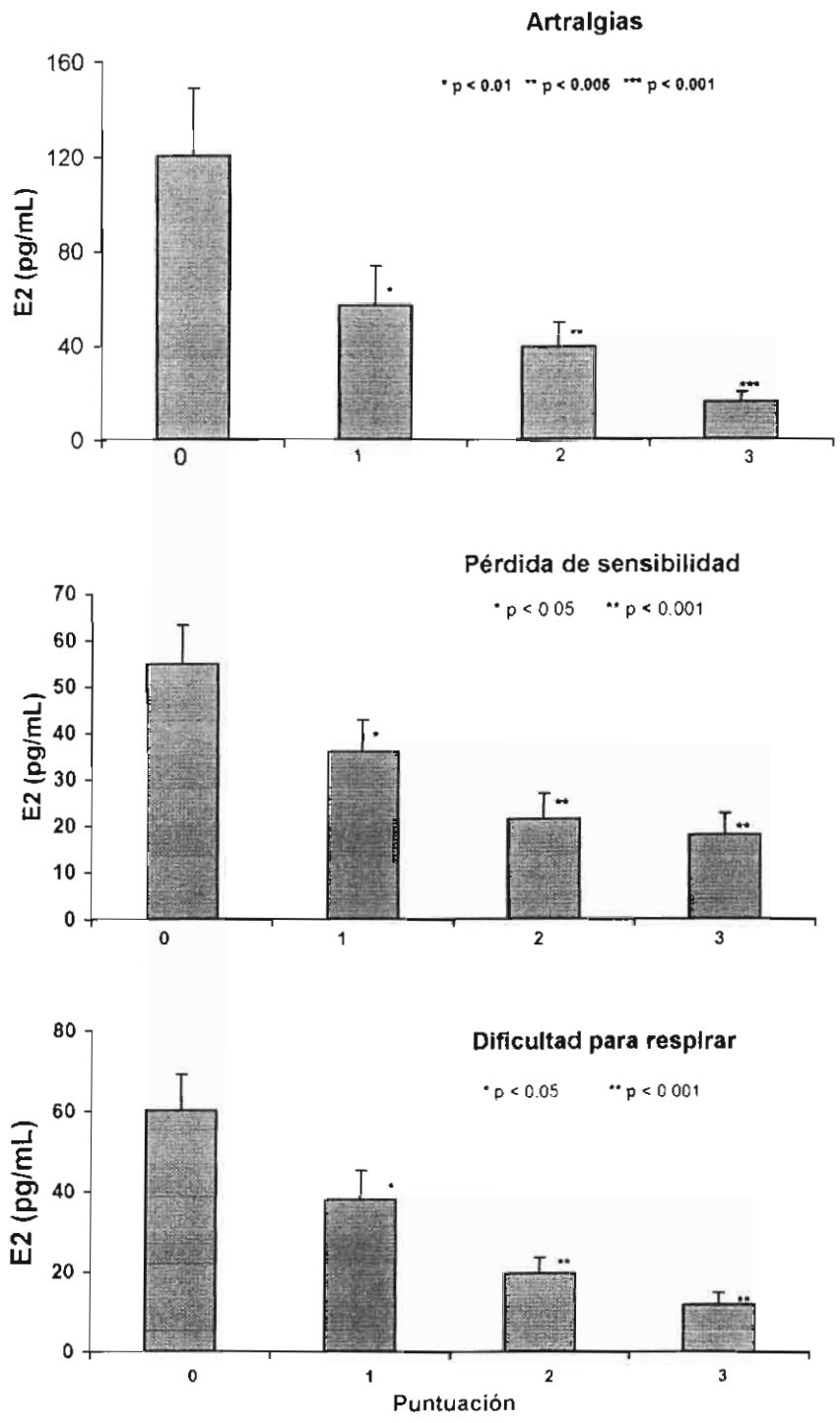
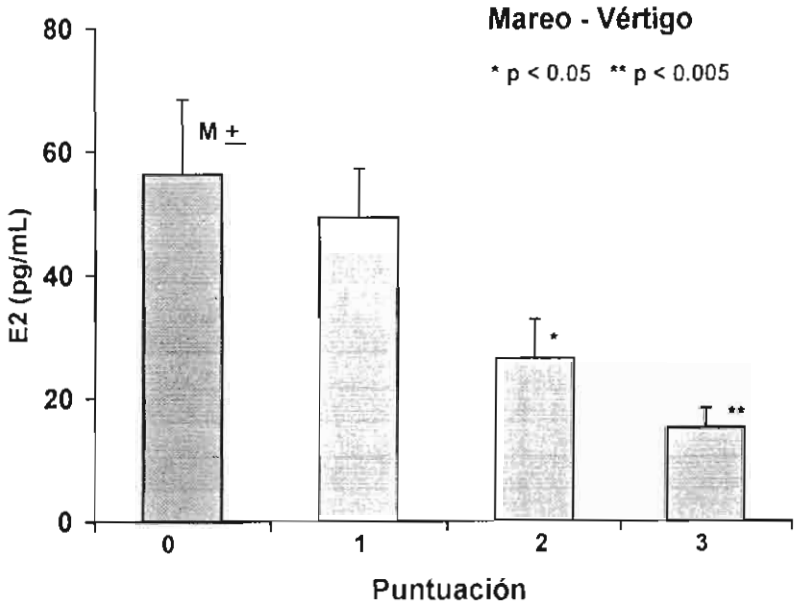


Fig.64- Puntuación de las artralgias, las disestesias y la dificultad para respirar, en relación con el nivel de estradiol. (E2)



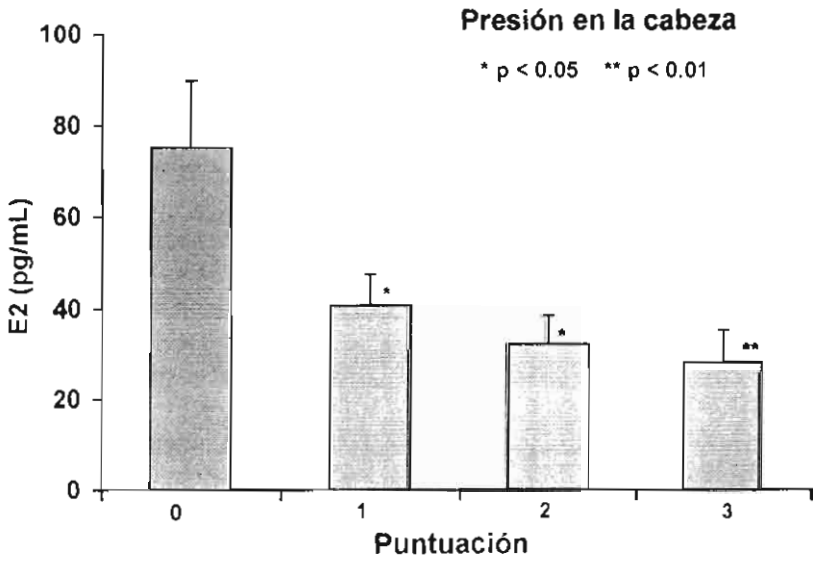


Fig.65 - Puntuación de los mareos y la presión en lacabeza en relación con la concentración de estradiol (E2)

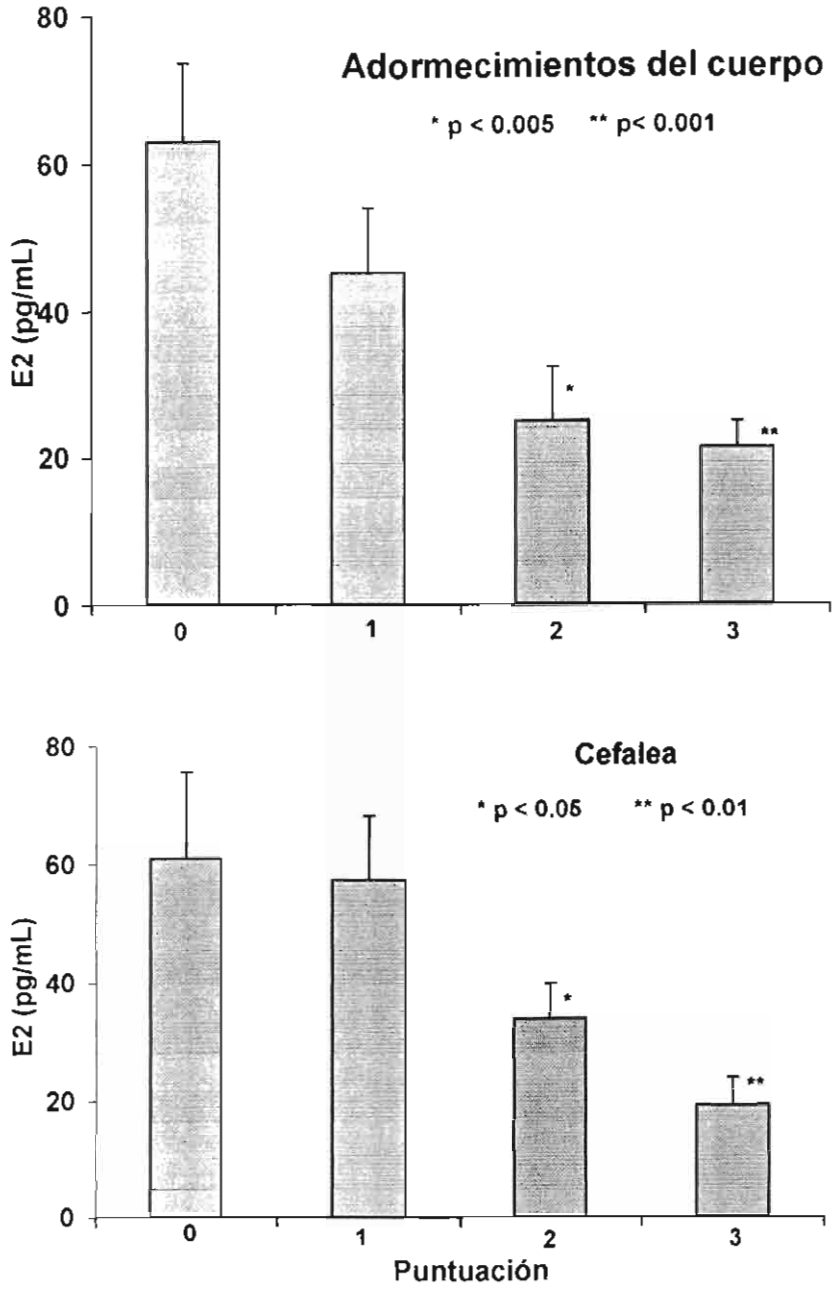


Fig. 66 - Se representa la puntuación de las parestesias y la cefalea en relación con la concentración de E2

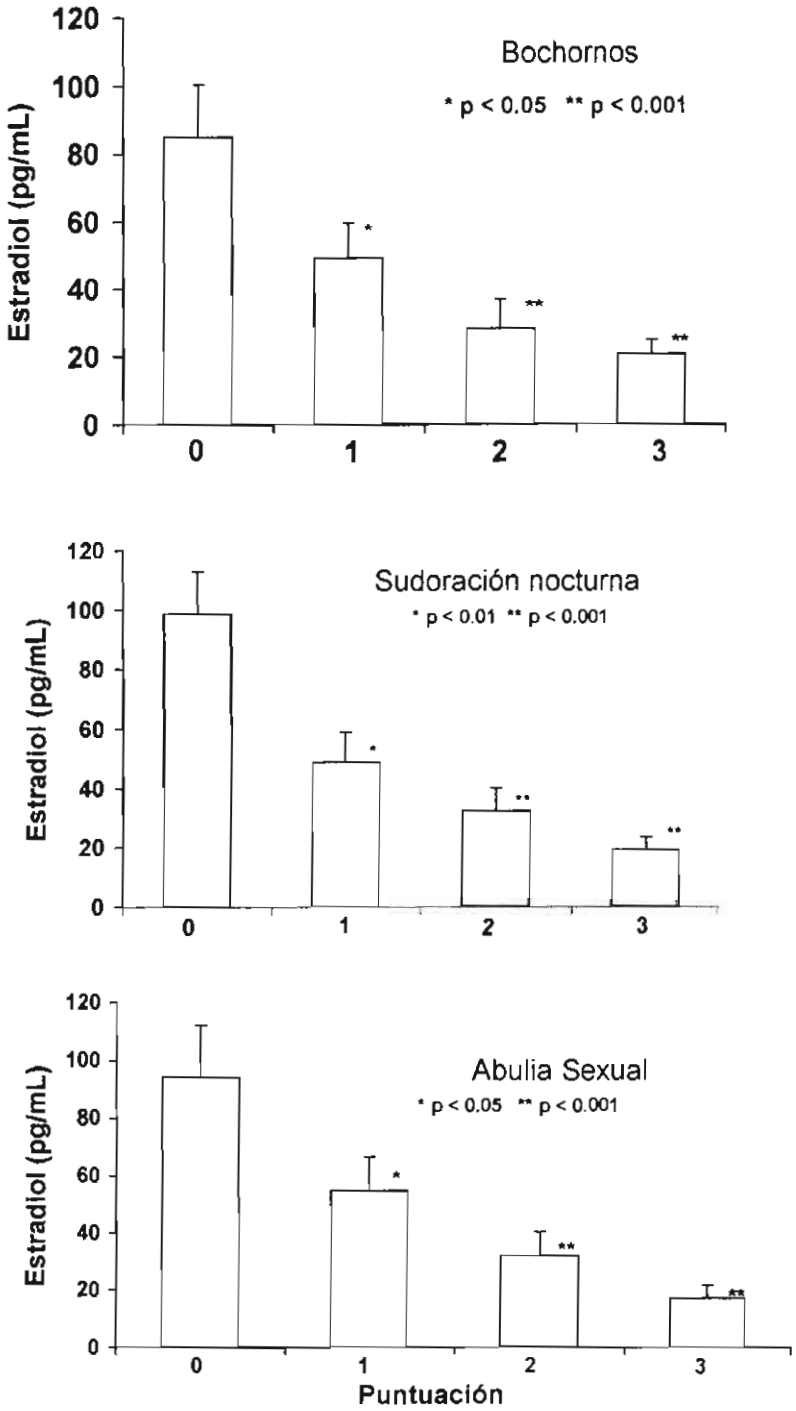


Fig. 67 - Puntuación de los bochornos , la sudoración nocturna y la abulia sexual en relación con el nivel de estrógenos. La severidad de las alteraciones aumentó coincidiendo con una disminución significativa de la concentración de E2

4.3.- Efecto del tratamiento con estrogenos conjugados (EEC) sobre las alteraciones del climaterio.

4.3.1. – Sobre la frecuencia y la intensidad de las alteraciones.

En las siguientes figuras se compara mediante gráficas de vectores, la frecuencia y la severidad de las alteraciones del climaterio, en mujeres menopáusicas, antes y después de recibir HRT con estrógenos conjugados (EEC) a las tres dosis utilizadas en el estudio (0.312, 0.625 y 1.25mg).

Manifestaciones de Ansiedad.

La **Fig. 68** (lado izquierdo) muestra que cerca del 70% de las mujeres posmenopáusicas tuvo *palpitaciones* de diferente intensidad. ligeras, moderadas o severas, representadas por la puntuación 1-3 respectivamente y solo un 30 % no las tuvieron (puntuación 0) Después de recibir estrógenos, las mujeres menopáusicas que refirieron no tener palpitaciones aumentó al 50% y en el 50% restante disminuyó la intensidad. No reportaron palpitaciones severas las mujeres que tomaron 0.312 y 0.625 mg de EEC; con 1.25 mg aunque el número de mujeres que no tuvieron palpitaciones aumentó a 62.5%, un pequeño porcentaje (6.25%) manifestó haber tenido palpitaciones de elevada intensidad.

En el lado derecho de esta misma figura se presentan los resultados del *nerviosismo* alteración presente en casi todas las mujeres menopáusicas antes del tratamiento (98.1 %) después de la HRT disminuyó, tanto en frecuencia como en intensidad, siendo mejor la respuesta con 0.625mg y 1.25 mg.

En la **Fig. 69** se muestran los resultados para *el insomnio y* la *excitabilidad* alteraciones que mejoraron notablemente con 0 312mg de EEC, obteniéndose sin embargo, el mejor efecto para el insomnio con 1.25mg y para la excitabilidad con 0.625mg de EEC.

En la **Fig.70** se ilustra el efecto de la HRT *sobre la inseguridad (miedos y temores) y la desatención (falta de concentración)*. La primera aunque fue una manifestación cuantitativamente poco importante, mejoró con el tratamiento, igual que la falta de concentración que mostró mejoria con 0.312mg reduciendo su frecuencia e intensidad, aunque el efecto fue mayor con 0.625mg de EEC, dosis con la que no se observaron manifestaciones severas.

Manifestaciones de depresión.

La frecuencia y severidad de los síntomas de depresión en mujeres menopáusicas, antes y después de HRT, se ilustran en las **Figs. 71 -73.** La primera **(Fig. 71)** representa en el lado izquierdo, la *falta de energia* (anergia) y en el lado derecho *la irritabilidad*; que fueron las más frecuentes. *La anergia* afectó a cerca del 95% y la *irritabilidad* al 89 % de la mujeres menopáusicas sin tratamiento, en ambas alteraciones la intensidad fue severa en una quinta parte de las pacientes Para la *anergia*, los mejores resultados se obtuvieron con 0.312mg ; la tercera parte de las mujeres que recibieron esta dosis (31.8%) recobró la energía y en el 50% la alteración fue ligera *La irritabilidad* en cambio (en el lado derecho de la figura) aunque respondió a la dosis baja, mostró mejor respuesta con 0 625 y 1 25mg

La *apatia* y *las crisis de llanto* **(Fig. 72)** y la tristeza **(Fig.73)** disminuyeron su frecuencia con las tres dosis, sobre todo con 0.625mg; las mujeres mejoraron con el tratamiento y las manifestaciones severas no se presentaron con 0.625 y 1.25 mg .

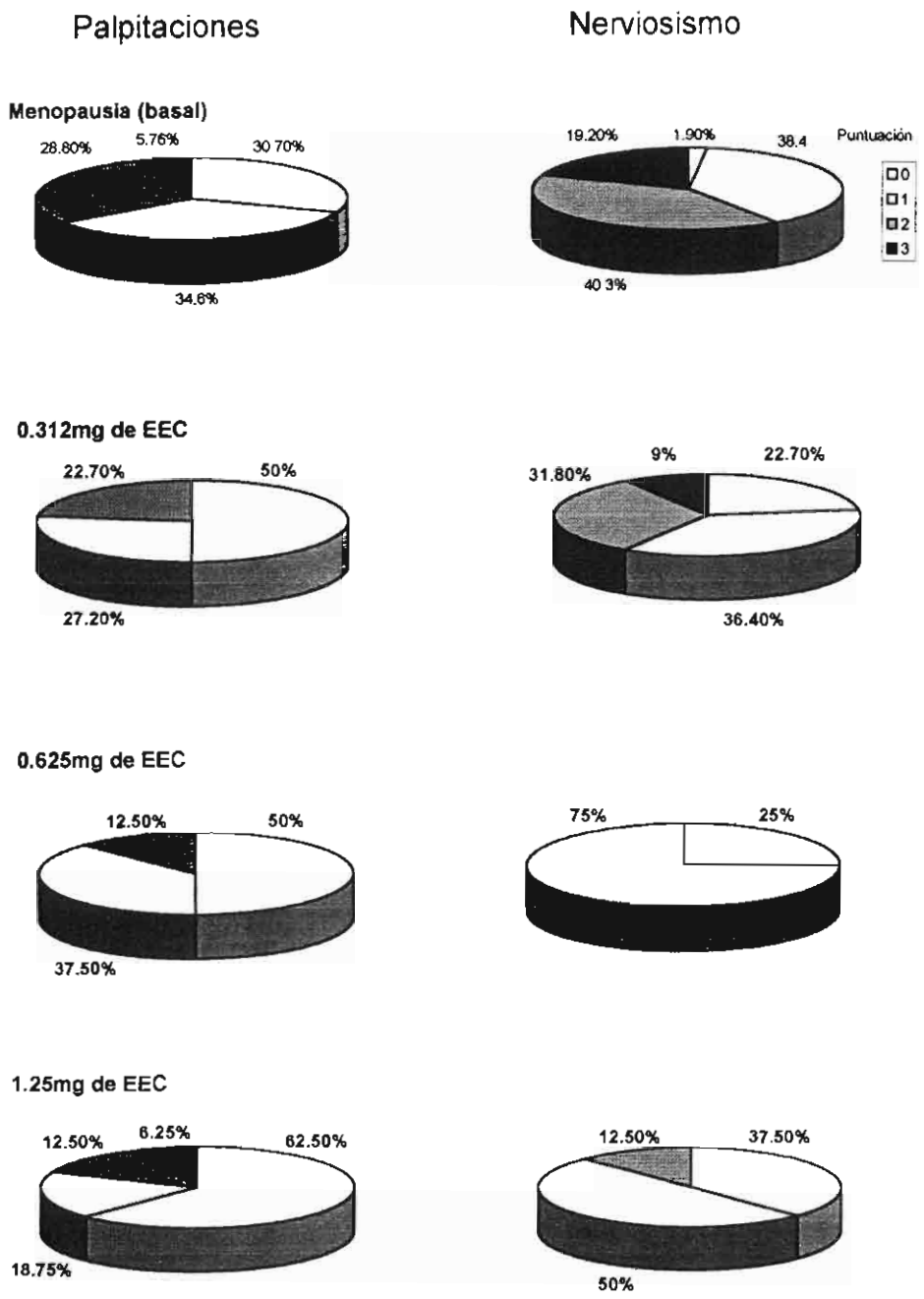
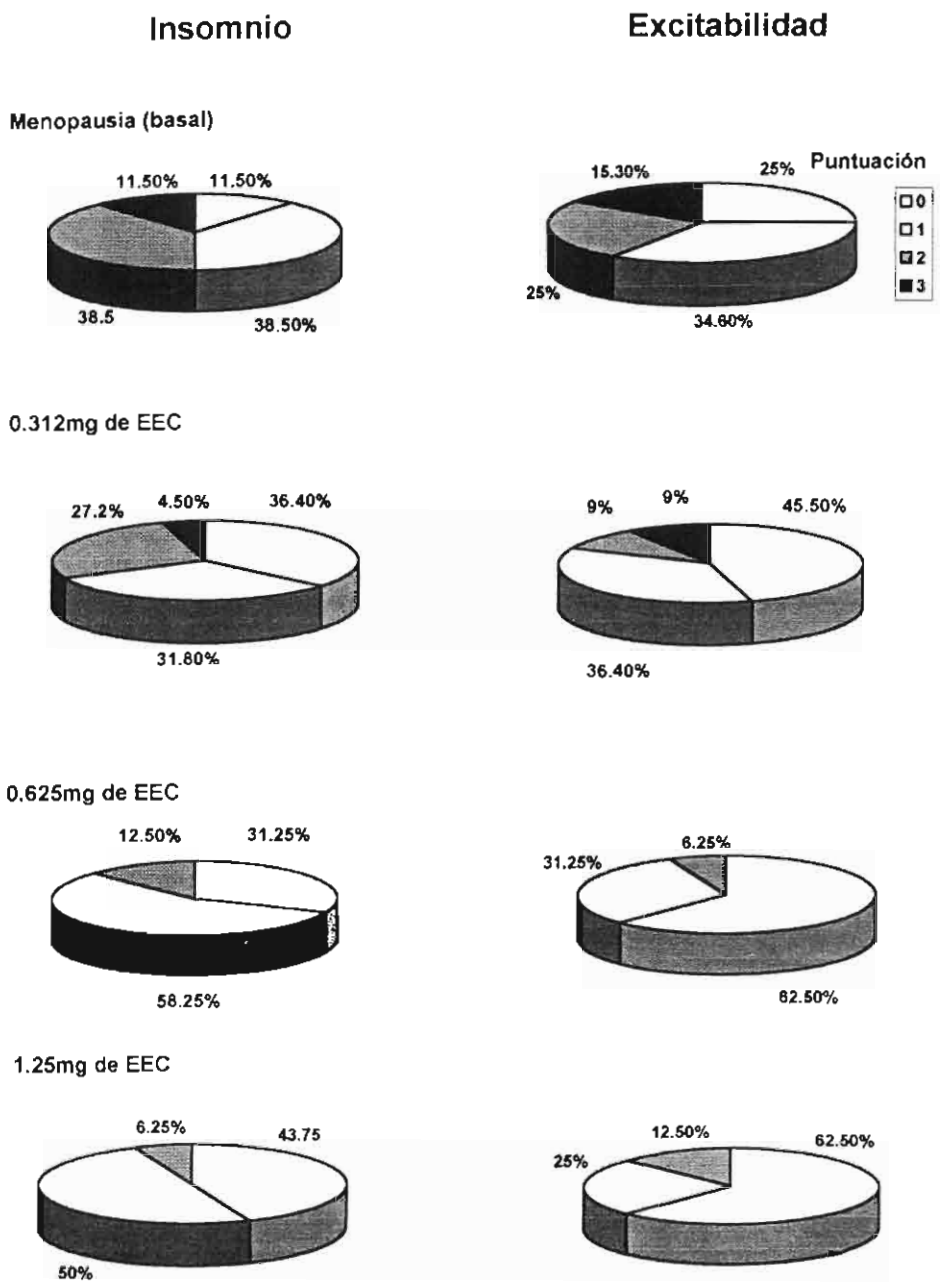


Fig. 68.- Efecto de HRT a tres dosis diferentes sobre la frecuencia y la severidad de las palpitaciones y el nerviosismo en mujeres climátericas



ig.69- El insomnio y la excitabilidad disminuyeron su frecuencia y severidad on HRT, con 0.625 y 1.25mg de estrógenos no se registraron casos severos.

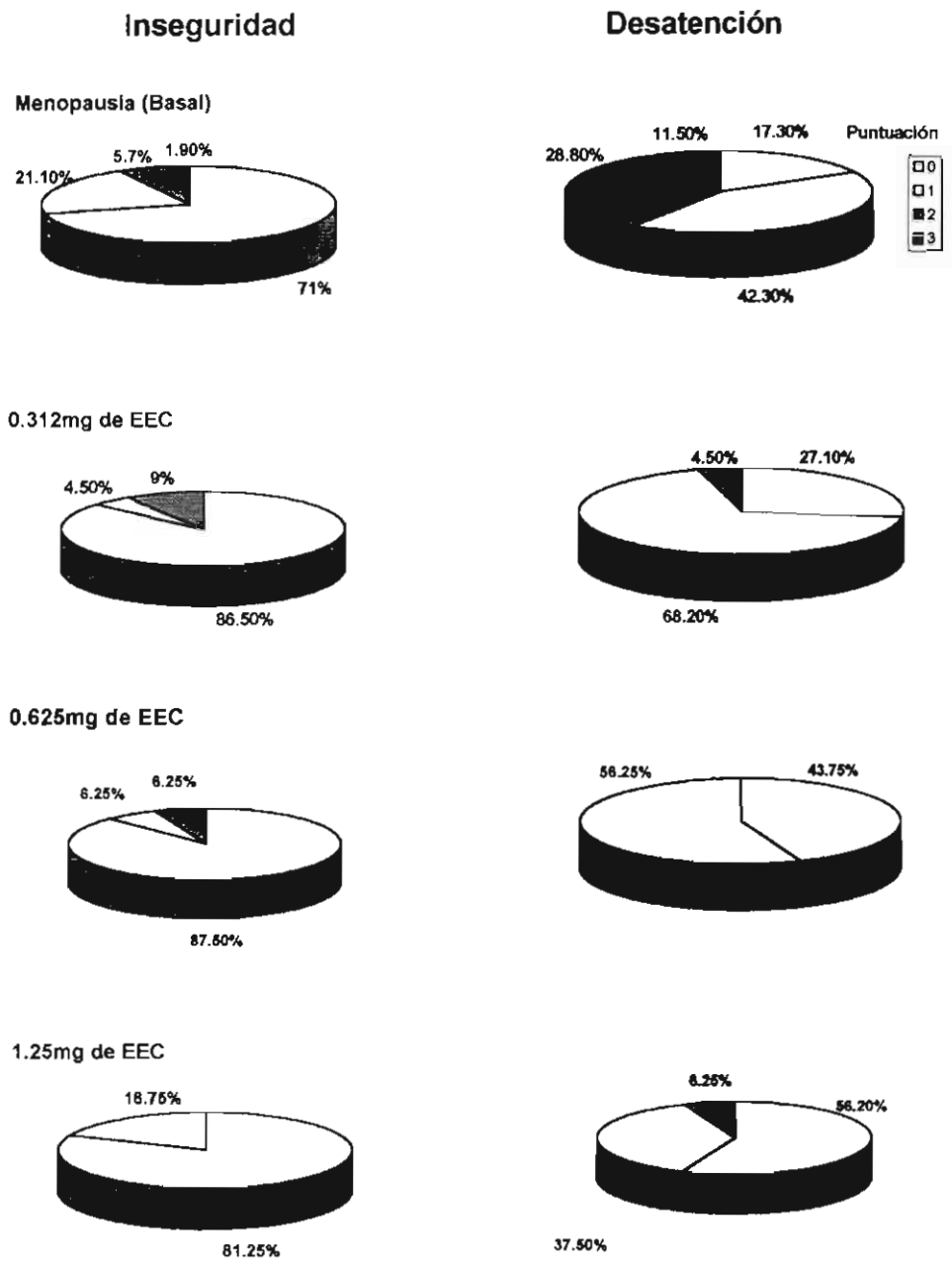


Fig 70--Efecto del tratamiento con estrógenos a tres dosis diferentes sobre sobre la inseguridad y la falta de concentración en mujeres menopáusicas.

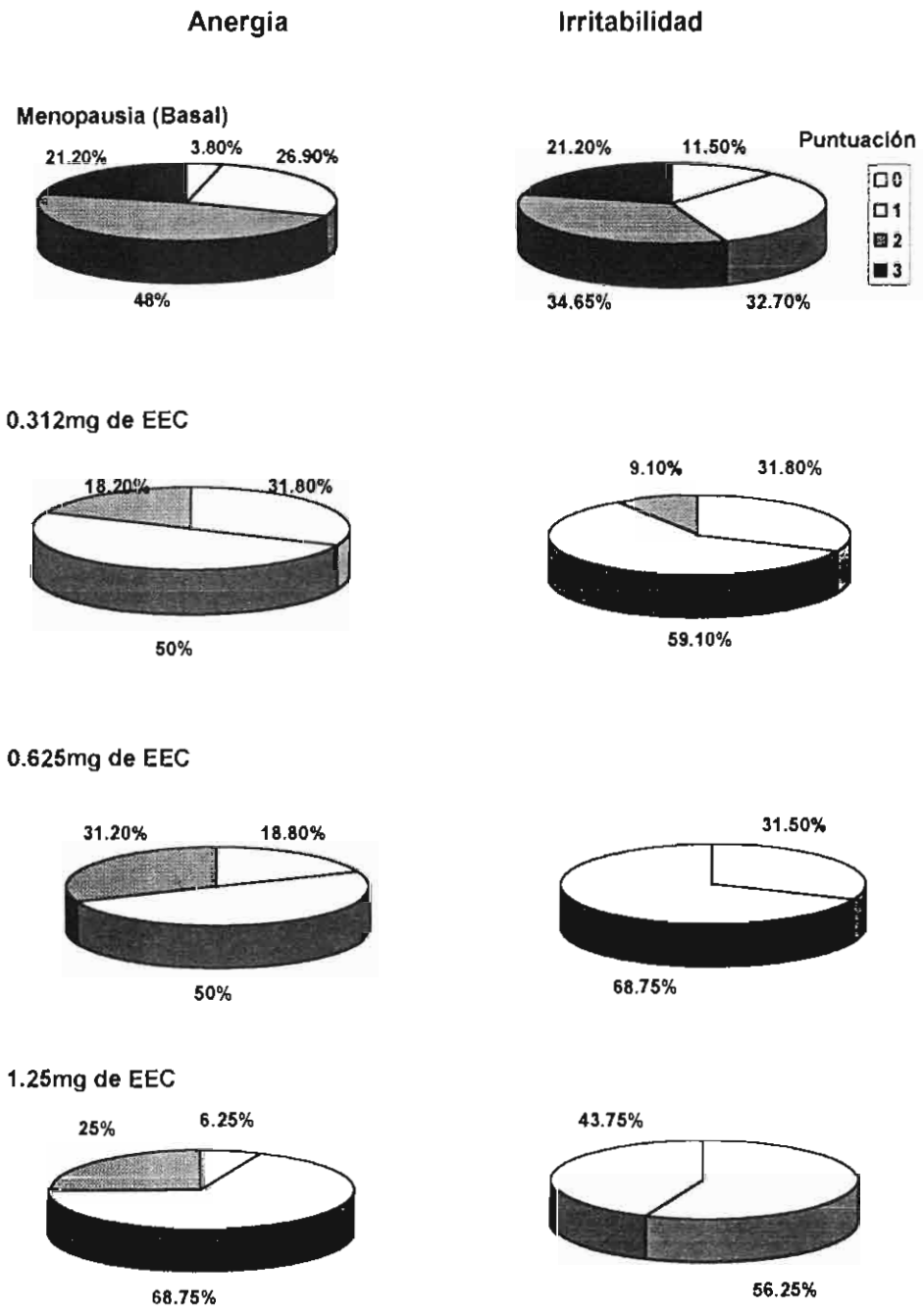
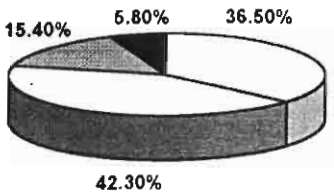
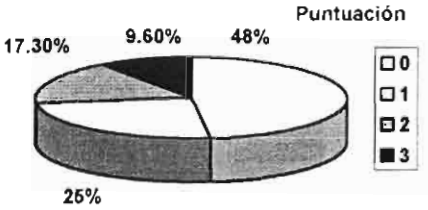


Fig.71- Efecto de HRT a tres dosis diferentes, sobre la frecuencia y severidad de anergia e irritabilidad en mujeres menopáusicas .

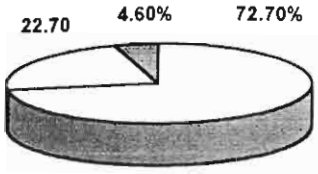
Apatía- Desinterés. Crisis de llanto

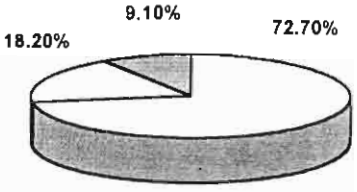
Menopausia (Basal)



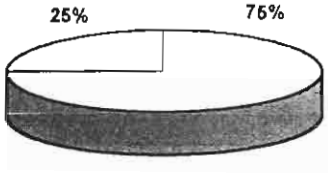


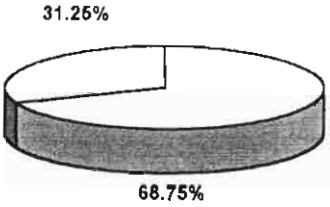
0.312mg de EEC



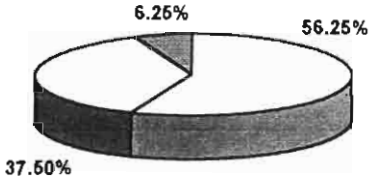


0.625mg de EEC





1.25mg de EEC



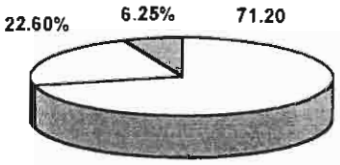


Fig. 72· Efecto de HRT sobre la frecuencia y severidad de la apatía y las crisis de llanto en mujeres menopáusicas.

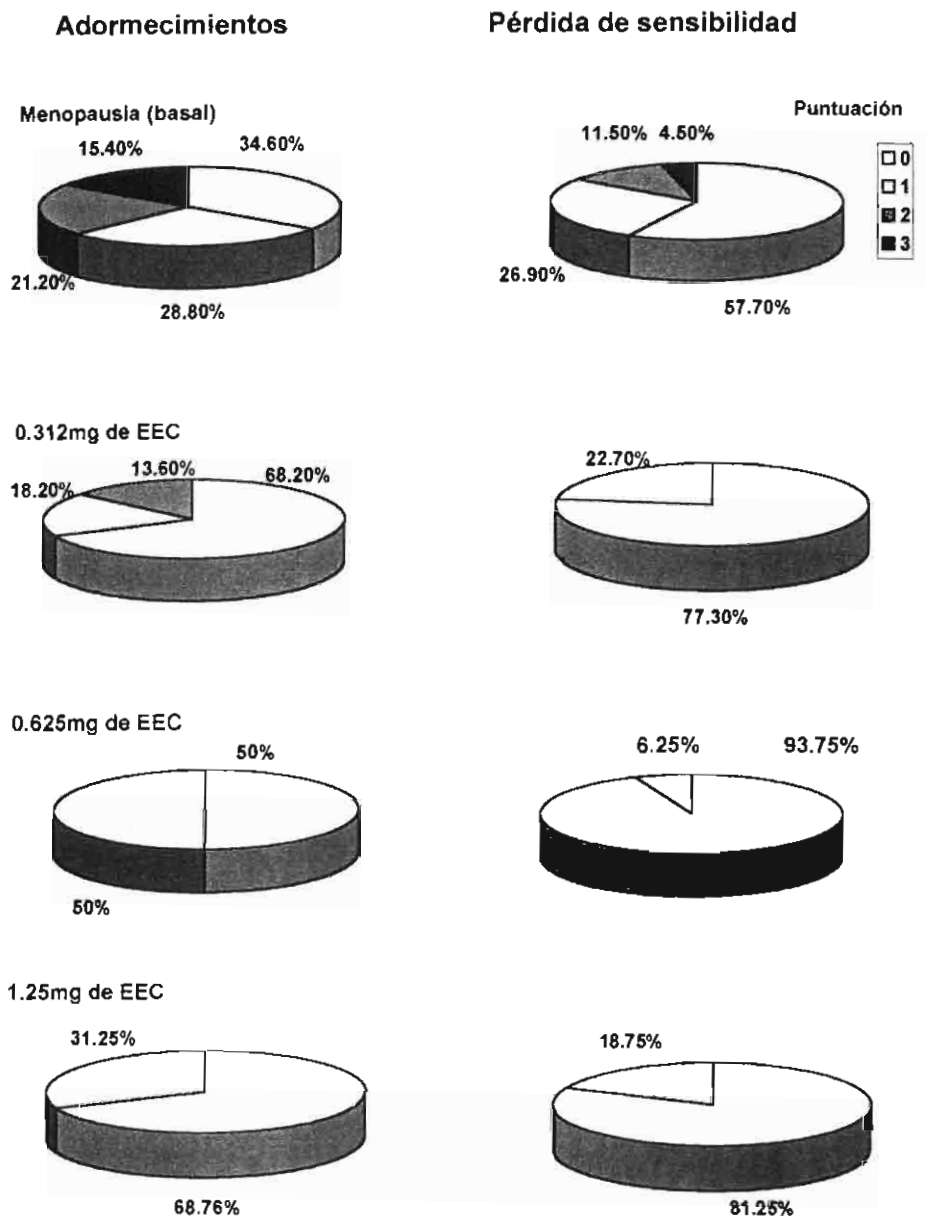


Fig. 73- Efecto de la HRT sobre la frecuencia y severidad de parestesias y disestesias en mujeres menpaúsicas.

Alteraciones Somáticas

De las alteraciones de la escala somática *las artralgias y la cefalea* **(Fig. 74)** fueron las más frecuentes, en especial las artralgias que afectaron a más del 95% de las mujeres menopáusicas, de las cuales 38.5% tuvieron molestias severas. Después de tres ciclos de HRT con 0.312mg, un 45.5% de las pacientes no tuvieron molestias y las alteraciones severas disminuyeron al 9%; con 0.625mg de EEC no se observaron, aunque con 1.25mg volvieron a presentarse en forma severa en 12.5 % de las mujeres tratadas con esa dosis.
La *cefalea* (lado derecho de la Fig74*)* se presentó en el 84% de las mujeres antes del tratamiento; con HRT a la dosis de 0.312 mg más del 40% de las mujeres no la tuvieron y del resto, solo en el 4.5 % fue severa. Con la dosis de 0.625mg un 25% no la presentó y en cerca del 60% fue ligera, sin que se presentaran casos de cefalea severa.
Una situación similar se observó para la *presión en la cabeza y los mareos* **(Fig.75)** alteraciones que disminuyeron notablemente con la dosis de 0.312mg; 59% de las mujeres que la recibieron no las presentaron (puntuación 0) disminuyendo a menos del 5% las mujeres eon alteraciones severas.
Los adormecimientos y la pérdida se sensibilidad en la **Fig. 76** así como *la dificultad para respira (***Fig 77**) sc observaron con menor frecuencia que las anteriores y respondieron favorablemente a la HRT con las tres dosis, en especial con 1.25mg, dosis con la que un 70-90% de las mujeres no tuvieron parestesias ni disestesias y en las restantes las molestias fueron solo ligeras (puntuación 1).

Cuadro vasomotor

Los bochornos y la sudoración nocturna, se presentaron con elevada frecuencia, en aproximadamente 80 % de las mujeres menopáusieas **(Fig 78)** y en un porcentaje elevado fueron severas (32.7 y0 30.8% respectivamente). Ambas respondieron al tratamiento con 0.312 mg disminuyendo notablemente su frecuencia e intensidad, con un bajo porcentaje de mujeres con bochornos o sudoraciones severas. Con 0.625mg se obtuvo mejor respuesta, sobre todo en la sudoración nocturna; cerca de la mitad de las pacientes que tomaron esta dosis no tuvieron sudoraciones y disminuyeron los bochornos, y en la otra mitad fueron ligeras. Con 1.25mg de EEC las alteraciones revirtieron ligeramente, volviendo a manifestarse bochornos severos en 15% de las mujeres menopáusicas.

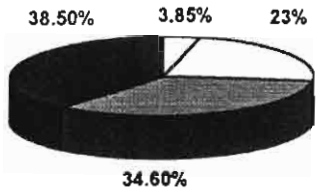
Esfera sexual.

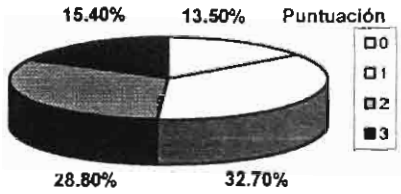
La abulia sexual que se caracterizó por presentarse en la menopausia con elevada frecueneia y severidad **(Fig. 79)** mejoró después de tres meses de tratamiento. La libido aumentó con las tres dosis, siendo mayor el efecto con 0.625 y 1.25mg disminuyendo el número de mujeres afectadas severamente a la vez que aumentaron las que recobraron la libido (puntuación 0). No obstante cerca del 20% de las mujeres tuvieron aún abulia sexual severa.

Artralgias

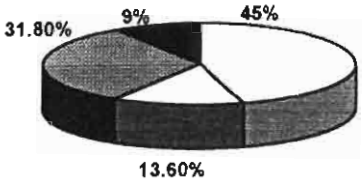
Cefalea

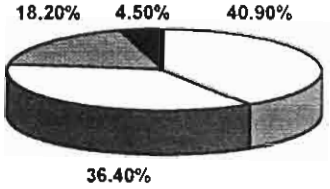
Menopausia (Basal)



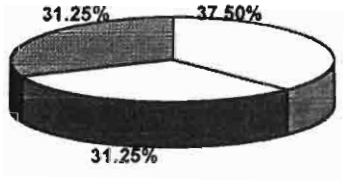


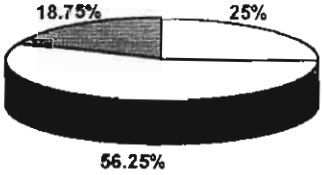
0.312mg de EEC



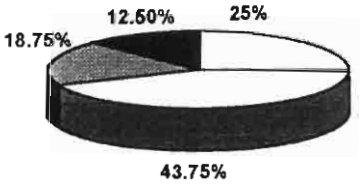


0.625mg de EEC





1.25mg de EEC



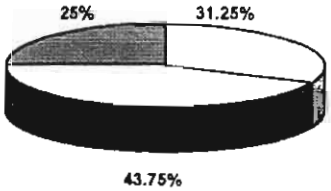


Fig.74- Efecto de la HRT a diferentes dosis, sobre las artralgias y la cefalea en mujeres menopáusicas.

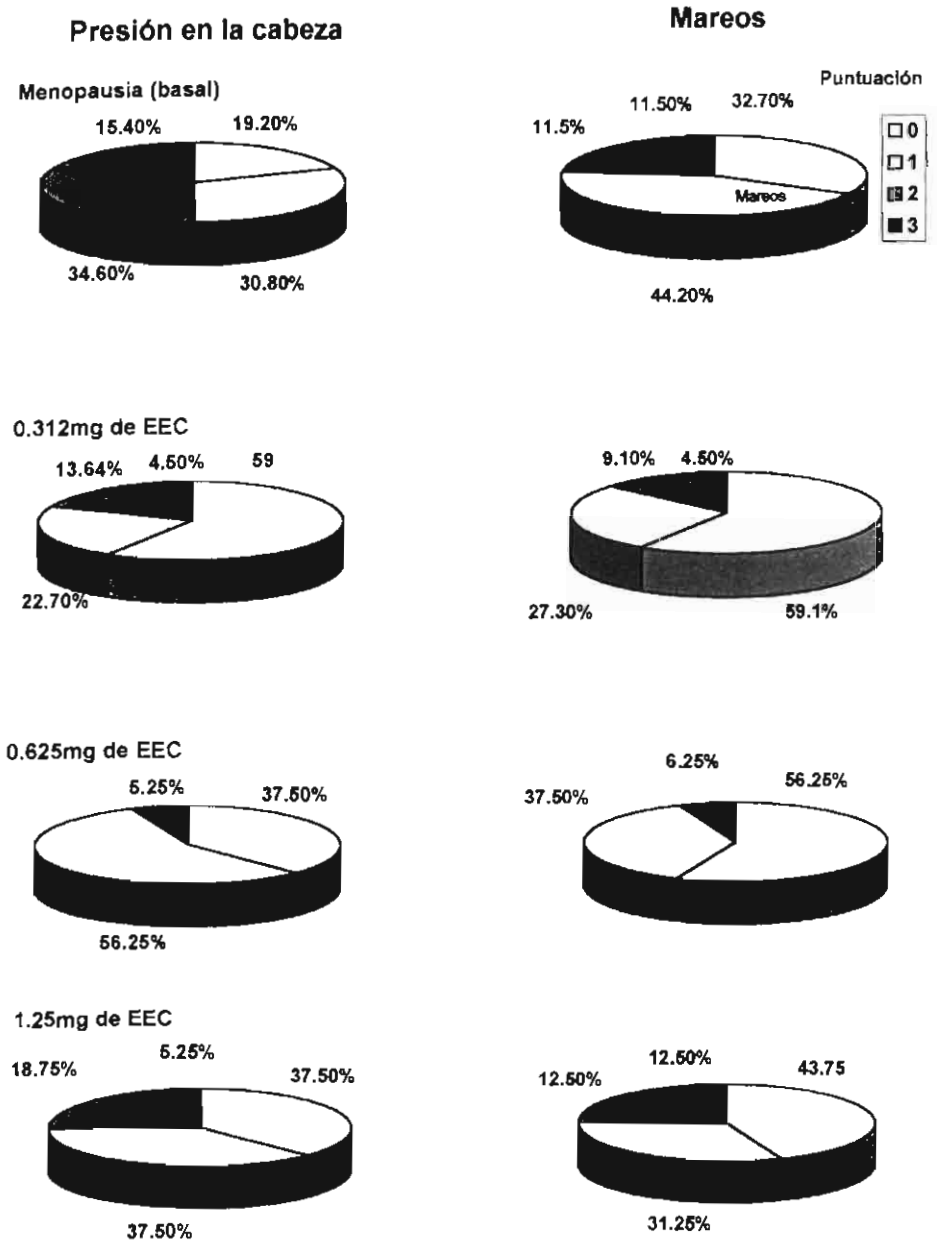


Fig.75-Efecto de HRT a tres dosis diferentes sobre la frecuencia y severidad de los mareos y la presión en la cabeza en mujeres menopáusicas

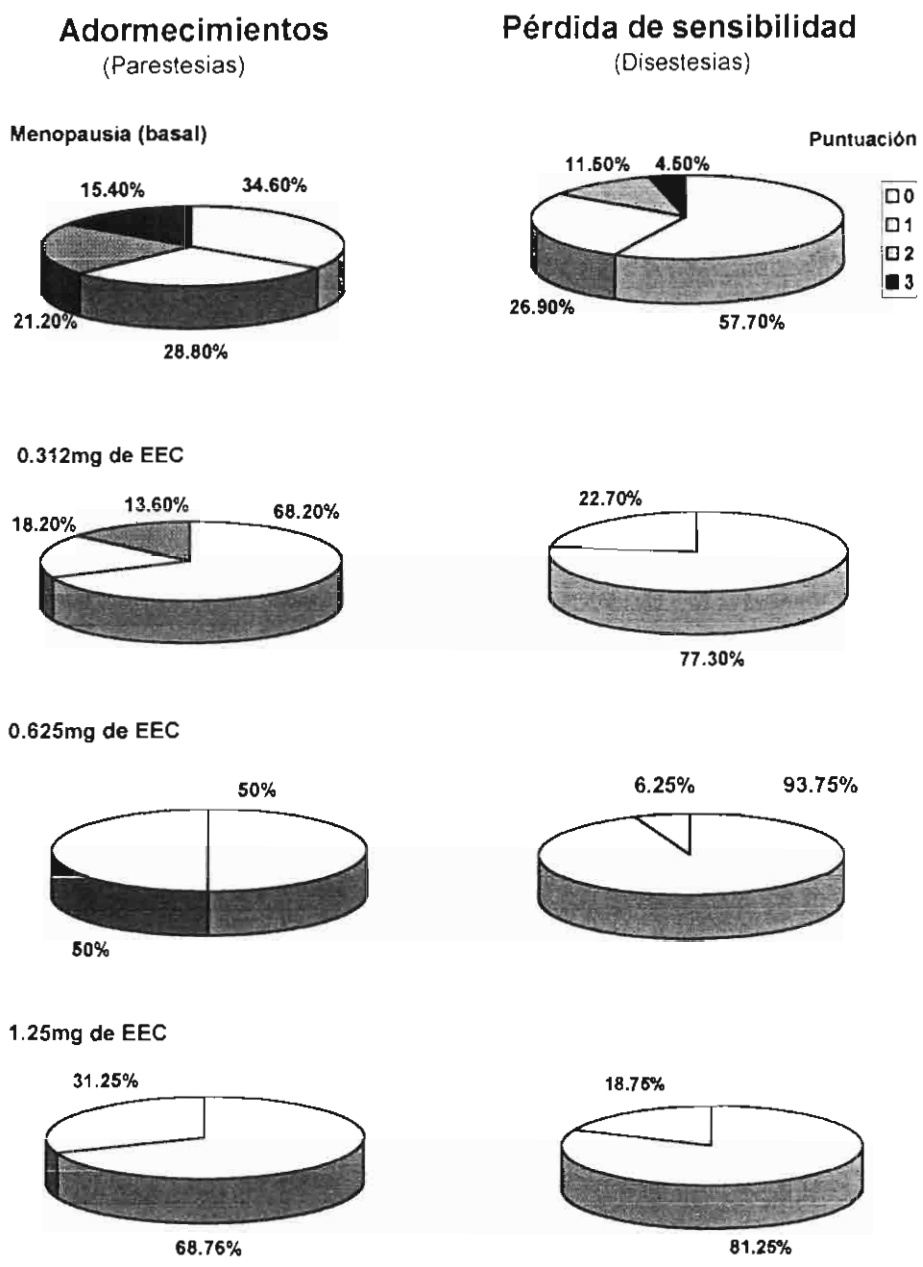


Fig. 76- Efecto de la HRT sobre la frecuencia y severidad de parestesias y disestesias en mujeres menpaúsicas.

Dificultad para respirar

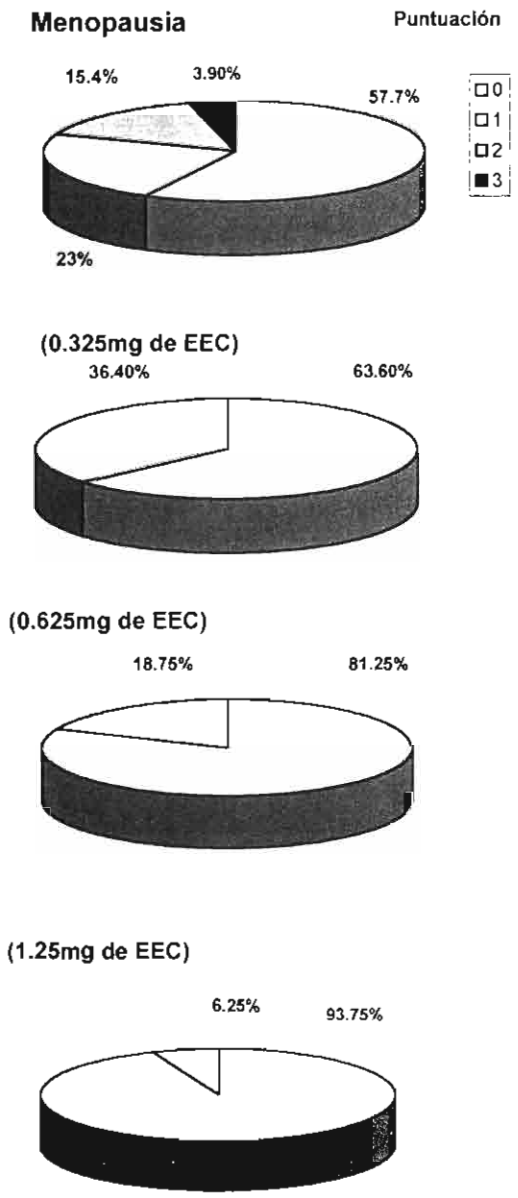


Fig. 77 - Efecto de HRT a tres dosis diferentes,sobre la dificultad para respirar en mujeres posmenopaúsicas

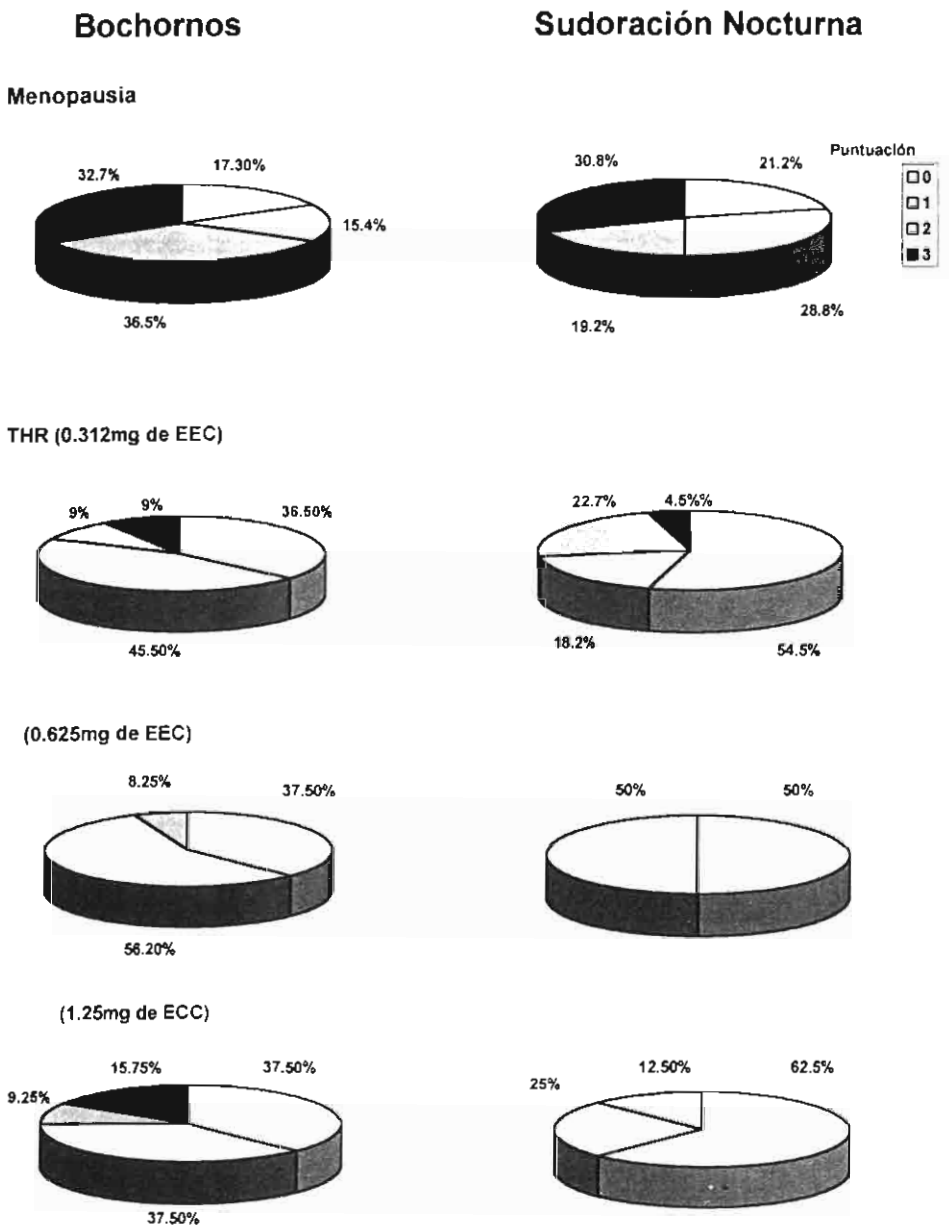


Fig 78- Efecto de HRT sobre las manifestaciones del cuadro vasomotor en mujeres posmenopáusicas.

Abulia Sexual

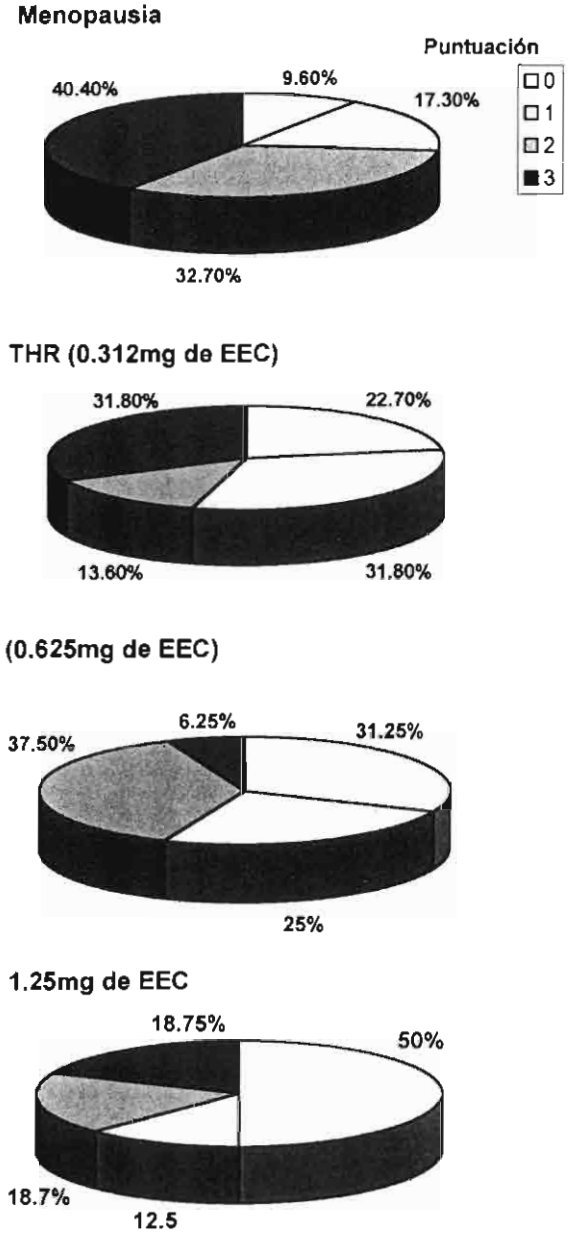


Fig.79 - Efecto de HRT a tres diferentes dosis, sobre la abulia sexual en mujeres posmenopáusicas

4.3.2.- Efecto de HRT sobre la puntuación de las alteraciones.

Escala de ansiedad.

La puntuación ($\bar{X} \pm$ DE) de las diferentes manifestaciones de ansiedad en respuesta al tratamiento con EEC se muestran en las Figs.83-85; en ellas se representa en la primera columna la puntuación del grupo testigo formado por mujeres con función ovárica normal (GT), en la siguiente la puntuación del grupo de mujeres menopáusicas (M) y en las tres últimas el efecto del tratamiento con EEC a las dosis de 0.312, 0.625 y 1.25mg respectivamente. Así en la **Fig. 80** se presenta en la gráfica superior, la puntuación de *las palpitaciones* que aumentaron a la menopausia en comparación con el grupo control; con el tratamiento a la dosis de 0.312mg la puntuación disminuyó y fue similar a la de las mujeres del GT, mostrando una disminución mayor con las dosis de 0.625 y 1.25 mg ($p < 0.05$). En la gráfica inferior se ilustra la respuesta del *nerviosismo* a la HRT, observándose que con las tres dosis la puntuación elevada a la menopausia, disminuyó significativamente; con 0.312mg a una puntuación similar a la del GT y a una puntuación más baja con 0.625 y 1.25mg de EEC ($p>0.001$).

En la **fig. 81** se muestra en la gráfica superior el efecto del tratamiento sobre el *insomnio* y *la excitabilidad* en la inferior. Ambas alteraciones disminuyeron significativamente con las tres dosis en comparación con la puntuación observada en la menopausia (M); con 0.312 la puntuación del insomnio disminuyó a valores un poco más elevados que los del GT, con 0.625mg a una puntuación similar y con 1.25mg a una puntuación más baja.

La **Fig. 82** ilustra en la gráfica superior el efecto de la terapia sobre *miedos y temores (inseguridad*), la puntuación aunque aumentó a la menopausia (M) se mantuvo dentro de niveles bajos en comparación con otras alteraciones, disminuyendo después de tres ciclos de HRT a una puntuación similar a la de las mujeres jóvenes, con las tres dosis. Sin embargo, las diferencias no son significativas. *La falta de concentración* (gráfica inferior) que aumentó su puntuación a la menopausia ($p<0.001$), regresó a la puntuación del grupo testigo con 0.312mg y a una puntuación menor con 0.625 y 1.25mg ($p < 0.0001$).

Escala de depresión.

Las Figs.83-85 muestran los cambios en la puntuación de las manifestaciones depresivas en respuesta a la HRT. **La Fig. 83** (gráfica superior) representa los cambios en la *anergia,* que disminuyó notablemente con 0.325mg de EEC, con una diferencia altamente significativa en comparación con la puntuación a la menopausia ($p < 0.0001$). Con 0.625 y 1.25 mg, la puntuación también fue menor que en las mujeres menopáusicas, pero mayor que con la dosis de 0.31mg. La gráfica inferior representa los cambios en *la apatía* o *desinterés* a la menopausia y después que las mujeres recibieron tratamiento. Puede verse que con 0.312 y 0.625mg de EEC la puntuación disminuyó notablemente ($p < 0.001$), con 1.25mg la puntuación fue mayor, pero menor que la del grupo testigo. ($p < 0.05$)

A su vez la **Fig. 84,** ilustra el efecto de la menopausia y de la HRT sobre *la tristeza* en la gráfica superior, los *accesos de llanto* en la parte media y *la irritabilidad* en la gráfica inferior. Las tres alteraciones muy elevadas en la menopausia, tuvieron una excelente respuesta a la terapia con EEC, revirtiendo las tres alteraciones aún con la dosis baja a una puntuación menor que la del grupo testigo y aún más baja con 0.625 y 1.25mg , con diferencias altamente significativas en relación al grupo testigo con las tres dosis.

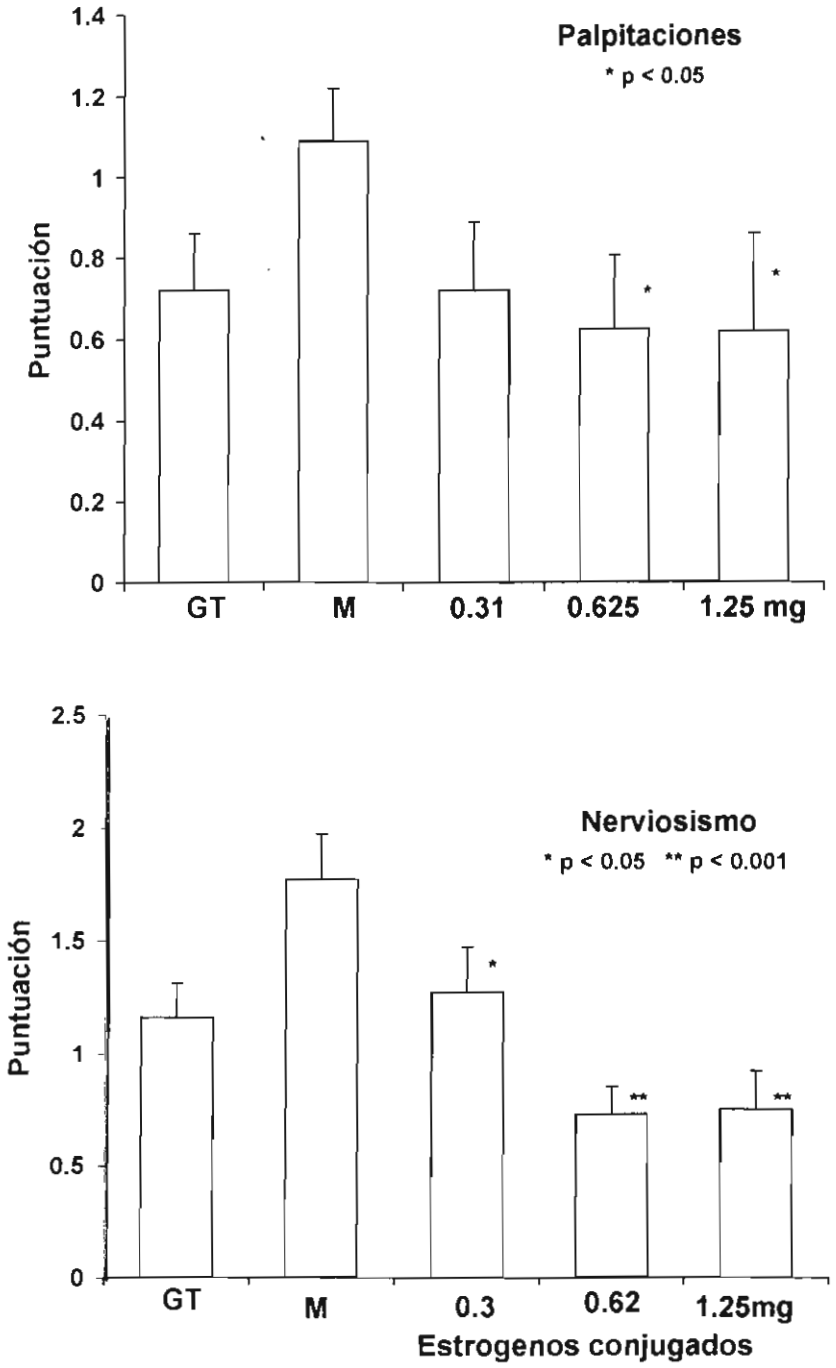


Fig. 80· Cambios en la puntuación de las palpitaciones y el nerviosismo en la menopausia y en respuesta a la HRT a tres diferentes dosis

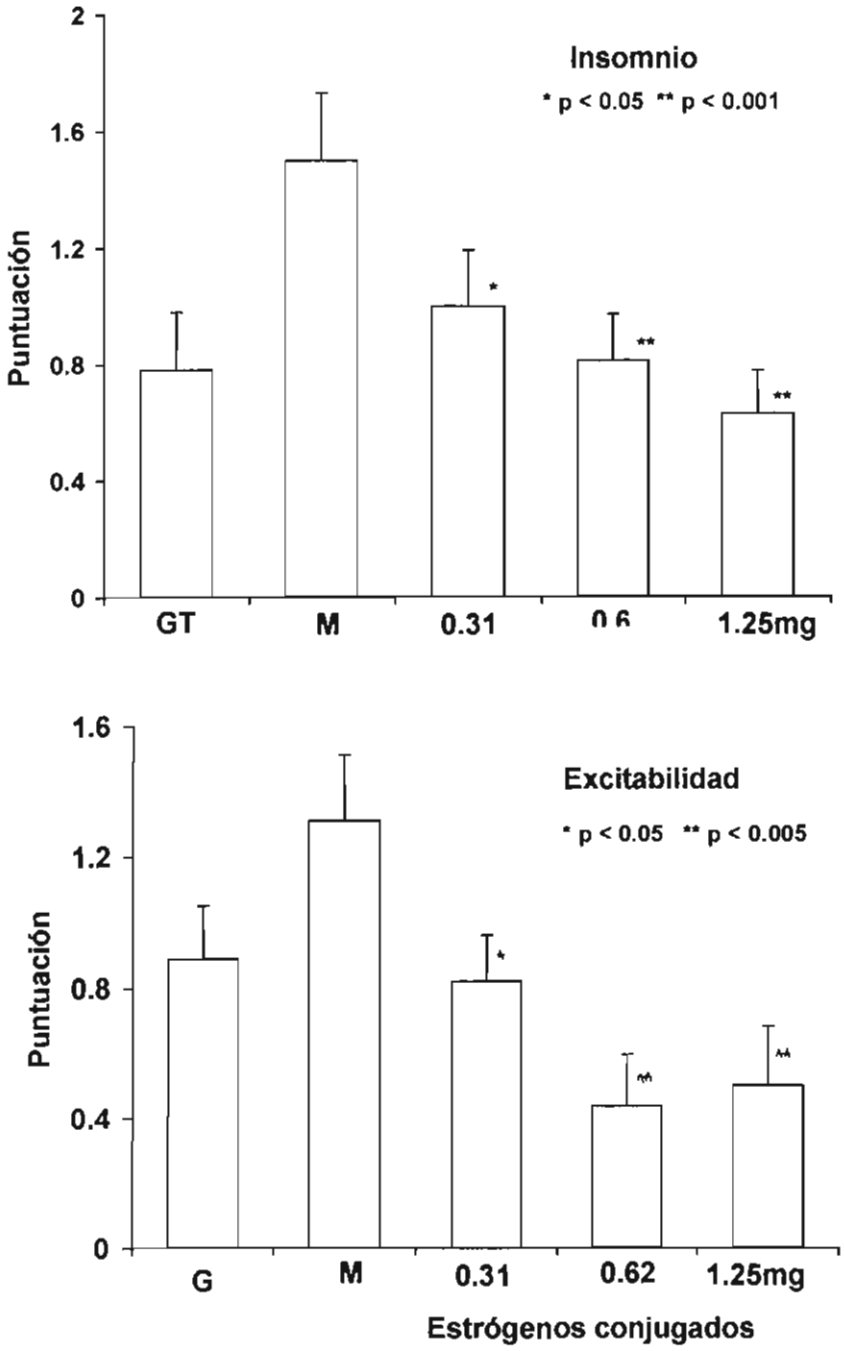
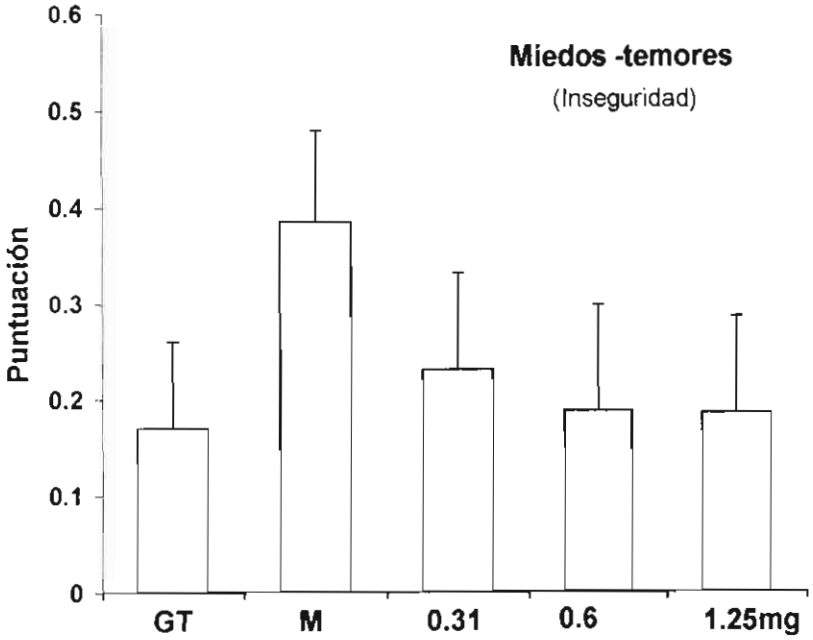


Fig.81- Cambios en la puntuación del insomnio y la excitabilidad a la menopausia y en respuesta a la EEC a tres diferentes dosis.



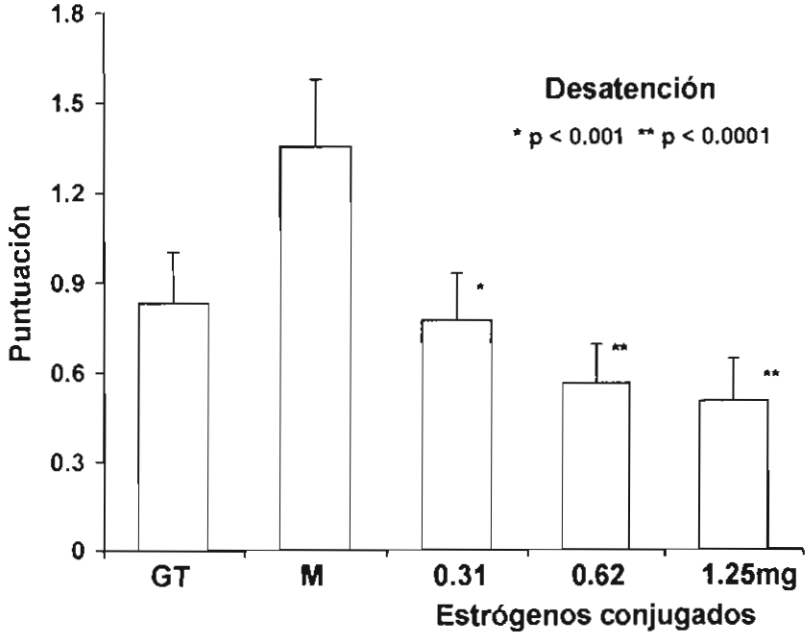


Fig. 82 - Cambios en la puntuación de la inseguridad y la desatención a la menopausia y en respuesta a HRT con tres dosis diferentes de estrógenos.

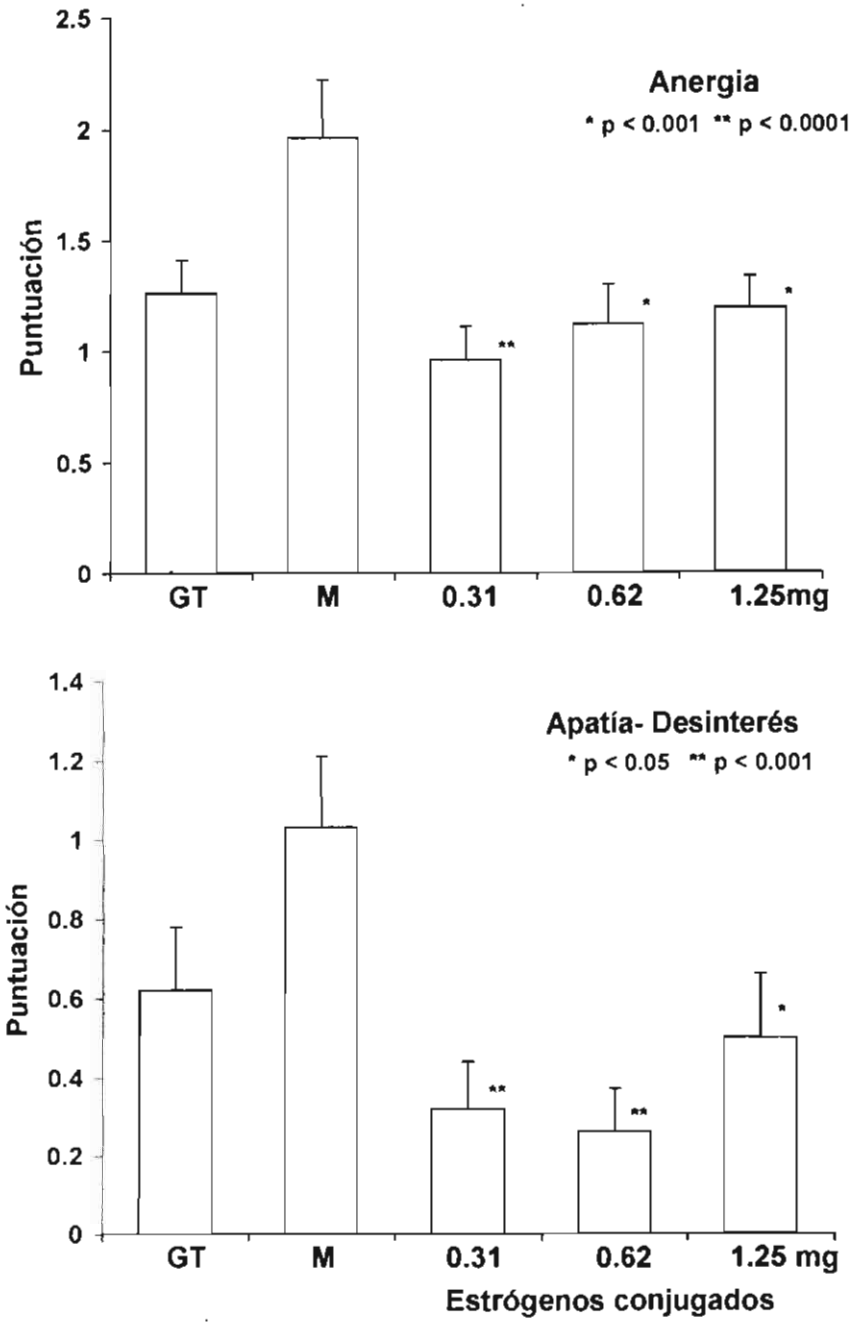


Fig. 83-Cambios en la puntuación de la inseguridad y la desatención a la menopausia (M) y en respuesta a HRT a tres diferentes dosis de EEC.

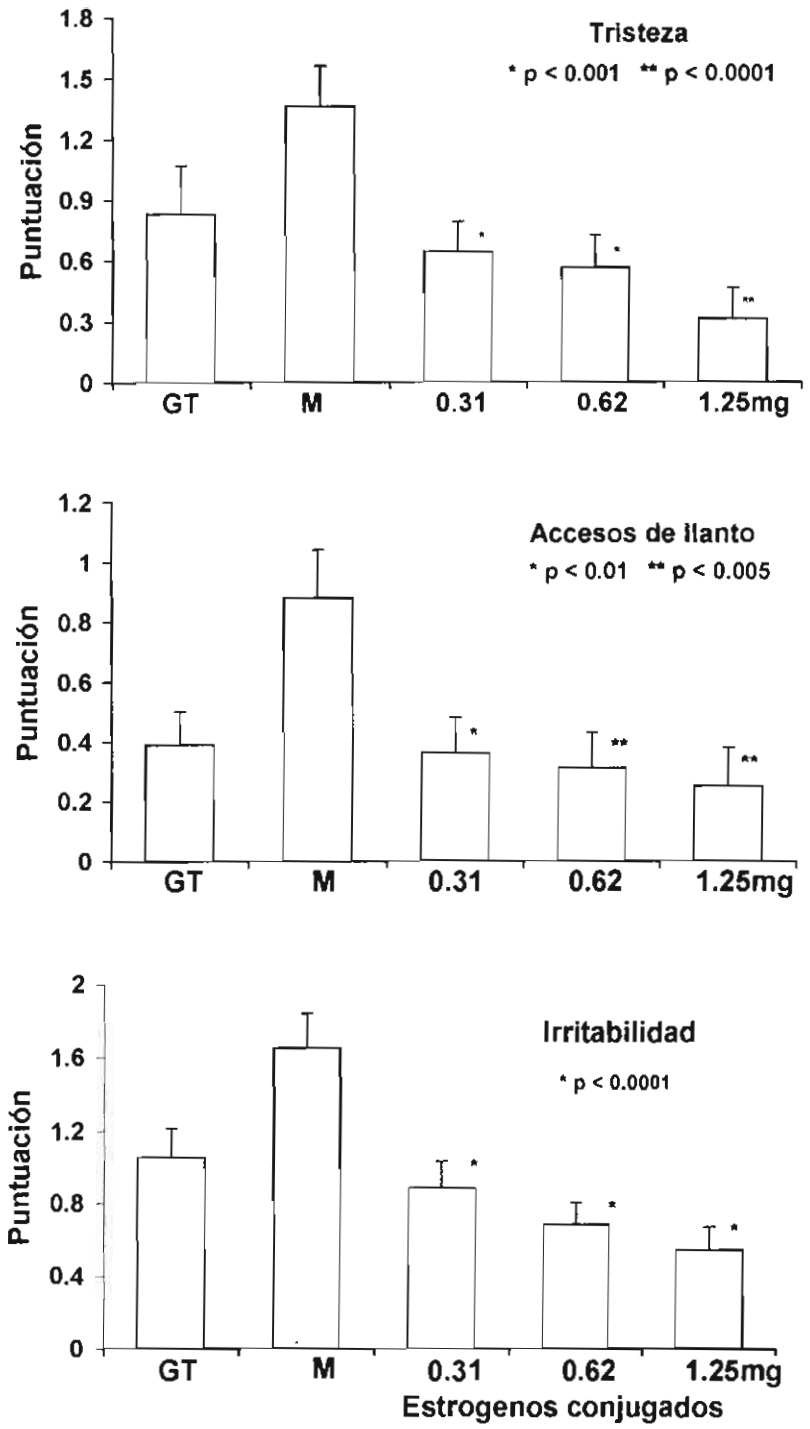


Fig. 84- Cambios en la puntuación de la tristeza, accesos de llanto y la irritabilidad a la menopausia (M) y el efecto de HRT a diferentes dosis

Alteraciones somáticas.

En las **figs. 85-88** se presentan los cambios en la puntuación de las alteraciones somáticas que en la menopausia (M) aumentaron considerablemente en comparación con la puntuación de las mujeres del grupo testigo (GT), así como la respuesta a la HRT.

La presión en la cabeza elevada en la menopausia (gráfica de la parte superior de la **Fig.85)** mostró una elevada respuesta a las dosis de 0.31 y 0.625mg de EEC; con 1.25 mg aunque la puntuación fue igual a la del GT, fue mayor que con las dosis anteriores.

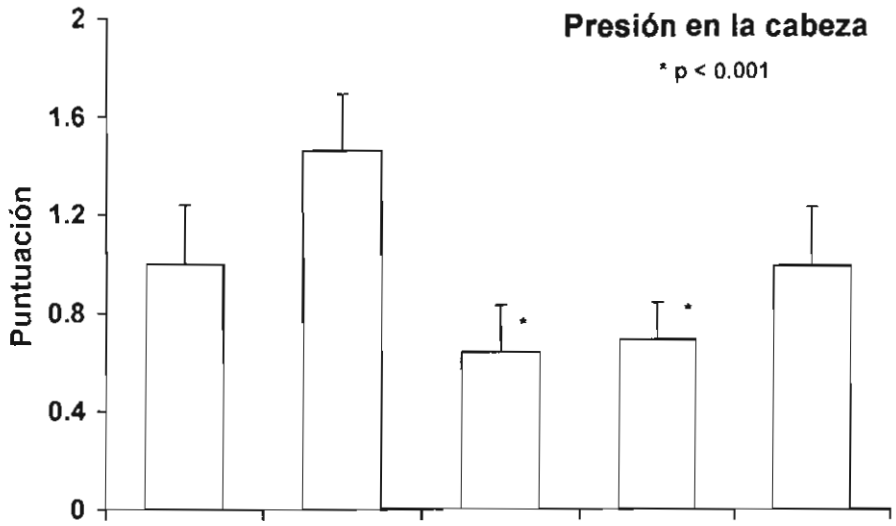
Los adormecimientos (parestesias) que se representan en la gráfica inferior de la misma figura, muestran una elevación muy importante de la puntuación a la menopausia ($p < 0.0001$), sin embargo, respondieron adecuadamente a las tres dosis de EEC, disminuyendo hasta una puntuación ligeramente mayor que la del GT con 0.31 y 0.625mg y a una puntuación similar con 1.25mg, mostrando ser muy sensibles a los cambios en el ambiente estrogénico.

En el caso de *la cefalea y las artralgias* **(Fig.86)** la puntuación también elevada a la menopausia, disminuyó con la terapia con 0.312mg hasta cifras similares a las de las mujeres jóvenes (GT) y a valores ligeramente más elevados con 0.625 y 1.25mg , siendo así mayor el efecto con la dosis de 0.312mg de EEC.

La Fig 87 a su vez representa los cambios en la puntuación de *las disestesias (pérdida de sensibilidad) y la dificultad para respirar*, las dos alteraciones que en el GT tuvieron la puntuación más baja de la escala de Greene, se incrementaron significativamente a la menopausia ($p < 0.01$ y 0.005 respectivamente) disminuyendo después de tratamiento con las tres dosis, aunque los valores regresaron a la normalidad solo con las dosis de 0.625 y 1.25mg .

Alteraciones vasomotoras

La puntuación de los bochornos (gráfica superior de la **Fig. 88),** muy baja en el GT aumentó considerablemente a la menopausia, alcanzando una puntuación 4 a 5 veces mayor ($p < 0.001$); en respuesta al tratamiento con EEC disminuyó, sobre todo con 1.25 mg, sin embargo, se mantuvo elevada y no retornó a la puntuación de las mujeres del GT con ninguna de las dosis. Para la sudoración nocturna (gráfica inferior de la **Fig. 88**) la puntuación muy elevada a la menopausia, disminuyó a una puntuación similar a la del grupo testigo con 0.625mg de EEC, manteniéndose ligeramente elevada con 0.312 y 1.25mg.



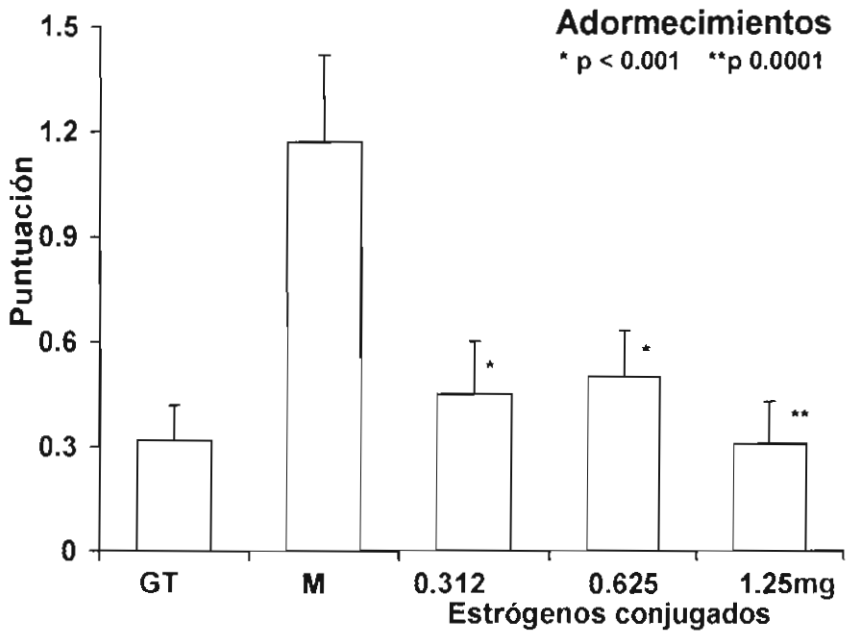


Fig.85- Efecto de la HRT con estrógenos a tres dosis diferentes, en mujeres menopáusicas (M) sobre la puntuación de la presión en la cabeza (gráfica superior) y las parestesias (gráfica inferior) En ambas la puntuación disminuyó con el tratamiento, aunque en la primera el efecto fue mayor con 0.312mg

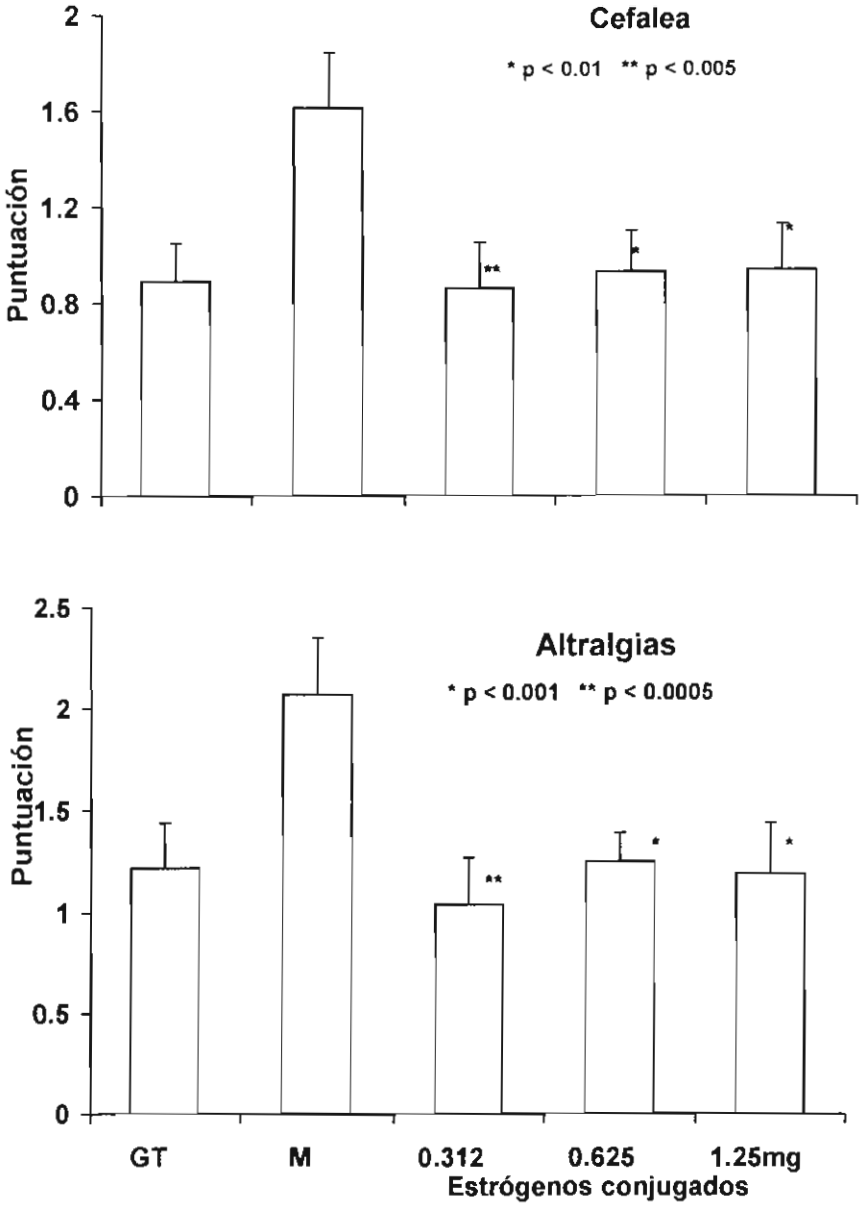


Fig. 86- Cambios en la puntuación de la cefalea y las artralgias en respuesta a la terapia con estrógenos en mujeres menopáusicas (M). Ambas alteraciones regresaron a la puntuación del grupo testigo con 0.312mg de EEC. Con 0.625 y 1.25mg el efecto fue ligeramente menor.

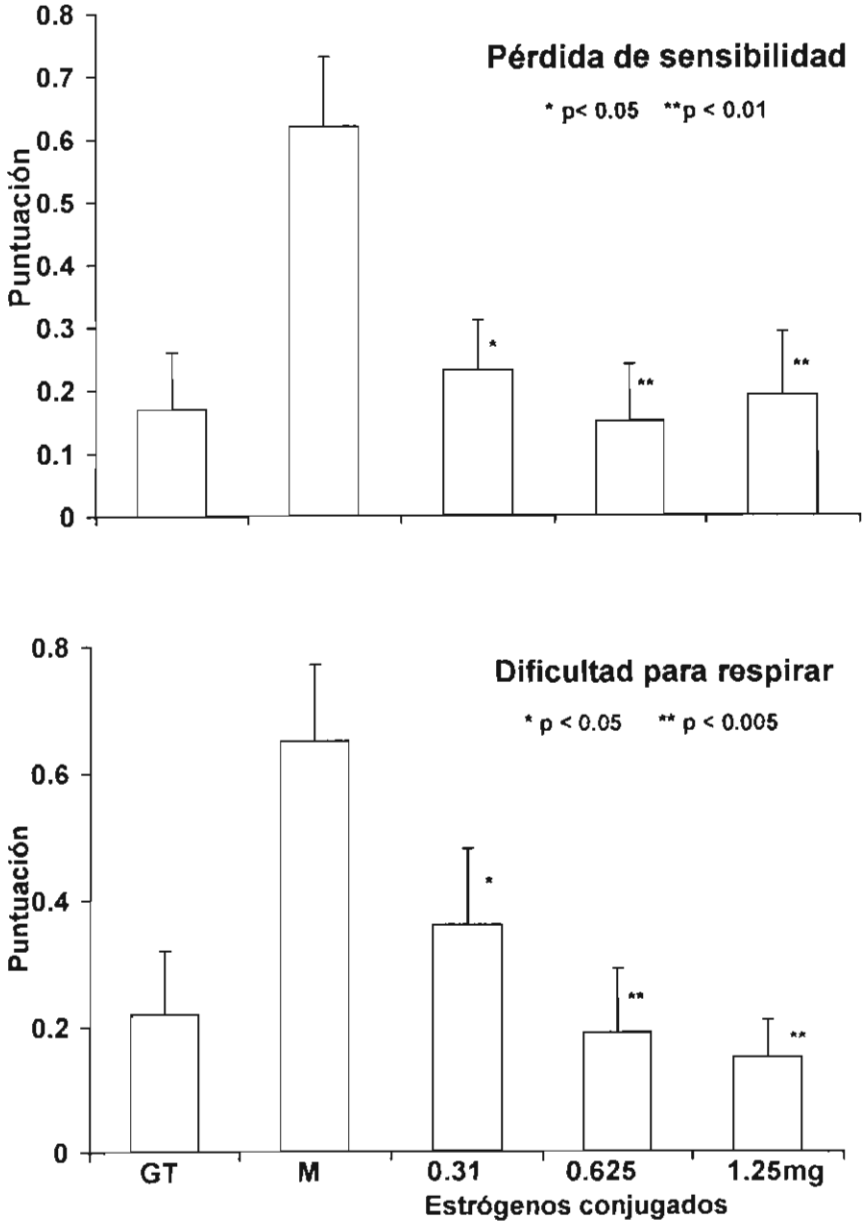


Fig. 87- Cambios en la puntuación de las disestesias y la dificultad para respirar en respuesta a la HRT, en mujeres menopáusicas (M); ambas alteraciones disminuyeron significativamente con el tratamiento, regresando a la puntuación del grupo testigo (GT) con las dosis de 0.625 y 1.25mg.

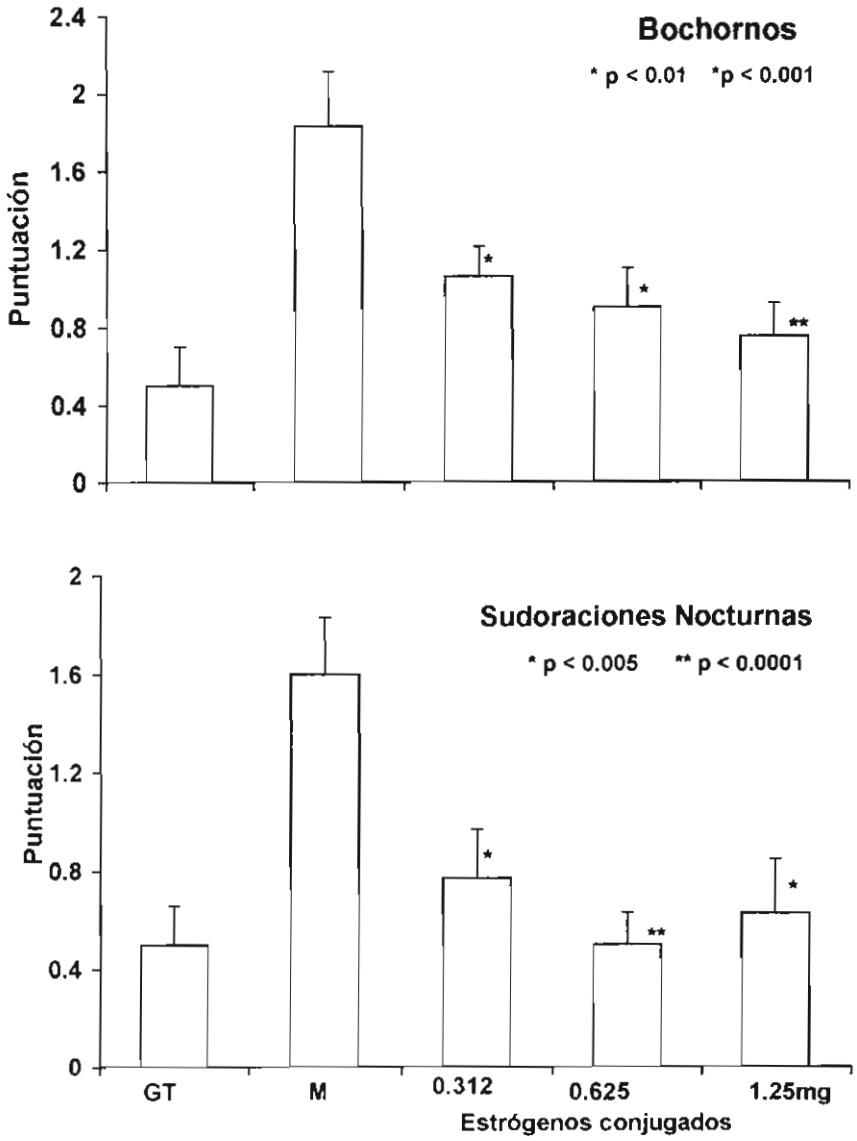


Fig.88- Cambios en la puntuación de las alteraciones vasomotoras en respuesta a la HRT en mujeres menopáusicas. Los bochornos respondieron mejor ala dosis de 1.25mg, mientras que las sudoraciones nocturnas disminuyeron más con 0.625 mg de estrógenos conjugados

4.3.3.- Efecto de la HRT sobre la puntuación total de las escalas.

Escala psicológica.

Los cambios en la puntuación total de las escalas del climaterio por efecto de la HRT, se indican en las Fig. 89-92. En la **Fig. 89**, la gráfica del panel superior corresponde a la representación gráfica de la *Escala de Ansiedad* (X ± DE) y muestra que la puntuación elevada a la menopausia, disminuyó con el tratamiento hasta una puntuación similar a la del GT con 0.312mg ($p < 0.001$), y a una puntuación menor con 0.625 y 1.25mg de EEC ($p < 0.0001$).

En la gráfica inferior de la misma figura, se presenta la puntuación (X ± DE) de *Escala de Depresión* mostrando los cambios a la menopausia y después que las mujeres recibieron HRT con diferentes dosis de EEC. Puede verse, que las tres dosis fueron efectivas para revertir las alteraciones y disminuir la puntuación con resultados muy similares ($p < 0.0001$), es decir, sin diferencias importantes, aunque el efecto fue ligeramente mayor con 1.25mg.

El análisis de estos resultados mediante la prueba no paramétrica de *la Chi- cuadrada* mostró que tanto en la *Escala de ansiedad* como en la *Escala de depresión* las diferencias entre los diferentes grupos son altamente significativas (0.0001) como lo fueron también mediante *la pueba t* que se utilizó para el análisis de los valores representadas en la **Fig. 89**

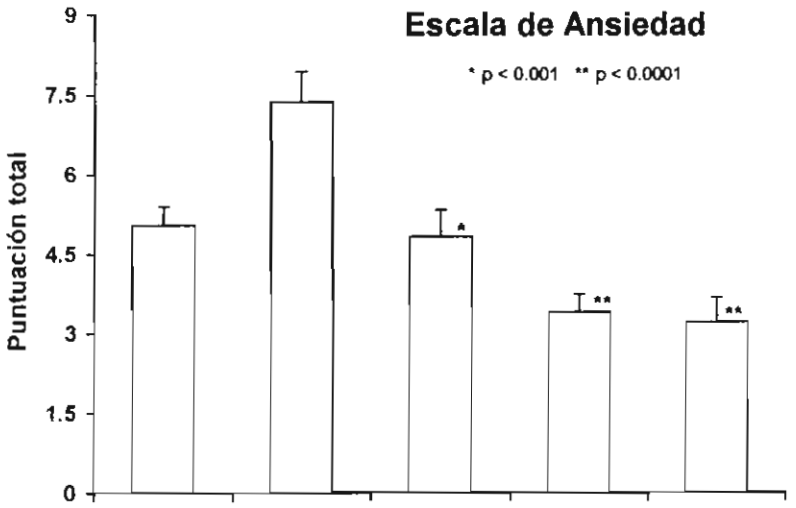
Por otra parte, el análisis de los datos por la prueba de *Mann-Whitney y Wilcoxon* para la comparación de grupos, también indica diferencias altamente significativas (0.0001) entre la puntuación basal a la menopausia (antes de tratamiento) y después de tratamiento con EEC, tanto en la *Escala de Ansiedad* como en la *Escala de Depresión*; mostrando además que la puntuación obtenida con las diferentes dosis no es estadísticamennte diferente, lo que ya se había mencionado anteriormente y puede verse en el resumen estadístico que se presenta en la **tabla 11**

Escala somática

La **Fig. 90** ilustra en la gráfica de la parte superior los cambios en la puntuación de la *Escala Somática* (X ± DE) por efecto de la HRT, la que al igual que las escalas de ansiedad y depresión respondió adecuadamente al tratamiento con las tres dosis de EEC, disminuyendo significativamente la puntuación en comparación con la observada en la menopausia ($p < 0.0001$) hasta un valor similar al del grupo testigo (GT), sin diferencias importantes entre las diferentes dosis.

Cuadro vasomotor.

La puntuación del *cuadro vasomotor* (que se representa en la gráfica inferior de la **Fig. 90**) muy elevada a la menopausia (3.5 veces en relación a la puntuación del grupo testigo), disminuyó significativamente con las tres dosis, sin embargo la disminución fue mayor con 0.625mg, pero se mantuvo elevada en relación con la puntuación del grupo testigo.



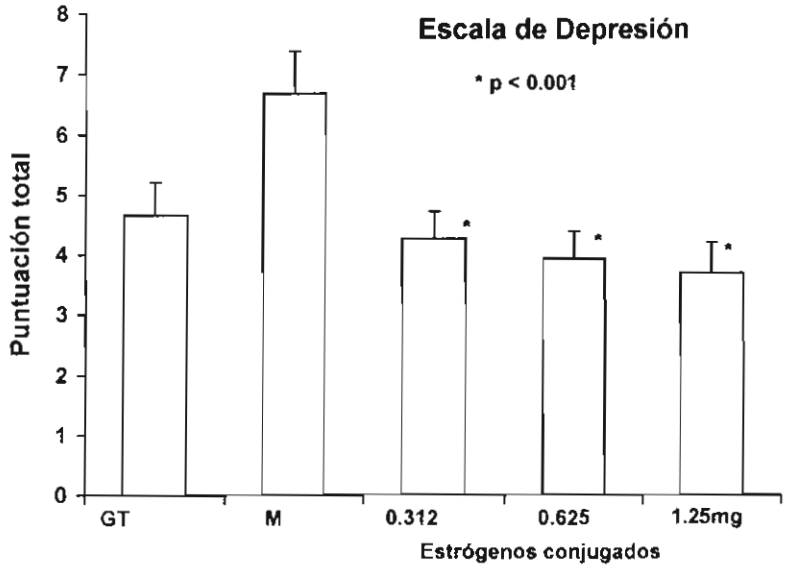


Fig. 89- Cambios en la puntuación de las escalas de Ansiedad y Depresión en respuesta a la terapia con tres dosis de estrógenos. Las dos escalas retornaron a la puntación del grupo testigo (GT) con la dosis de0.312mg con diferencias significativas en relación a la puntuación de la menopausia.

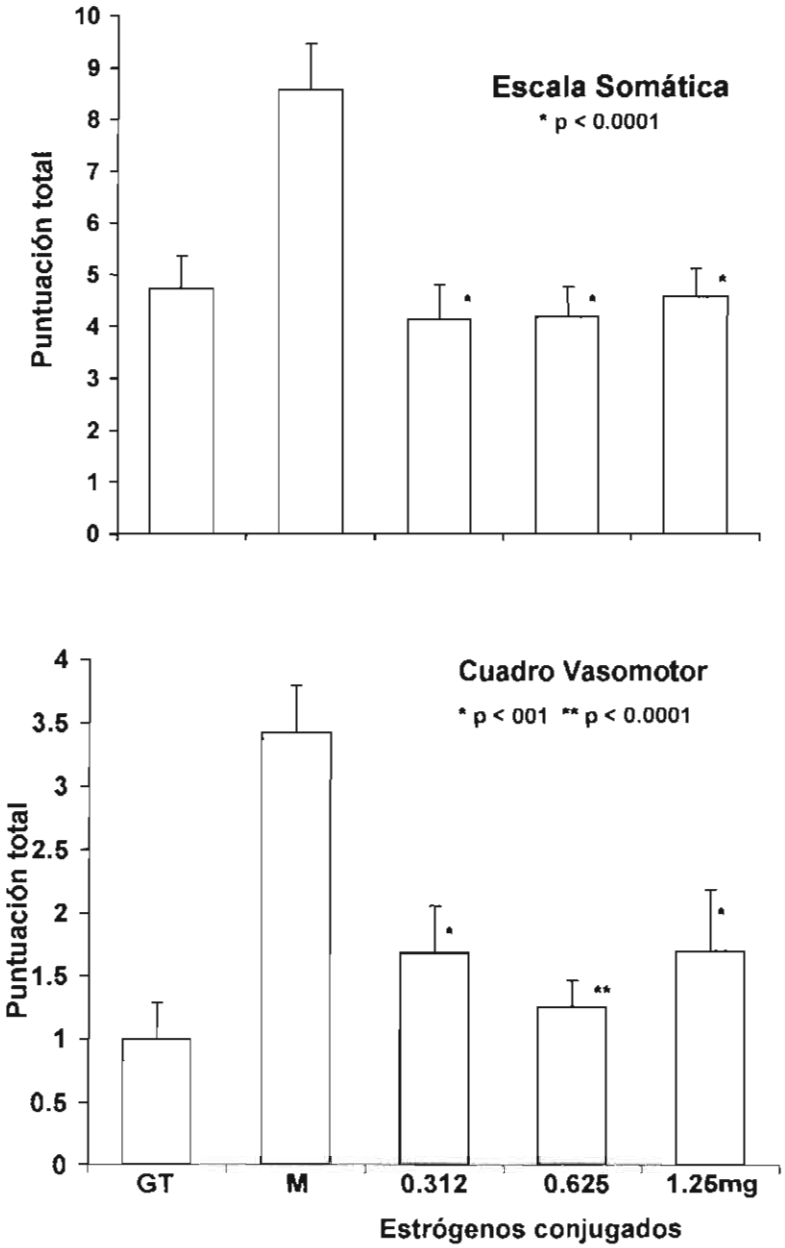


Fig .90- Cambios en la puntuación de la escala somática (gráfica superior) y del cuadro vasomotor (gráfica inferior) en mujeres menopáusicas (M) con tres dosis de EEC. La escala somática volvió a la puntuación normal con las tres dosis; el cuadro vasomotor tuvo mejor respuesta con 0.625mg

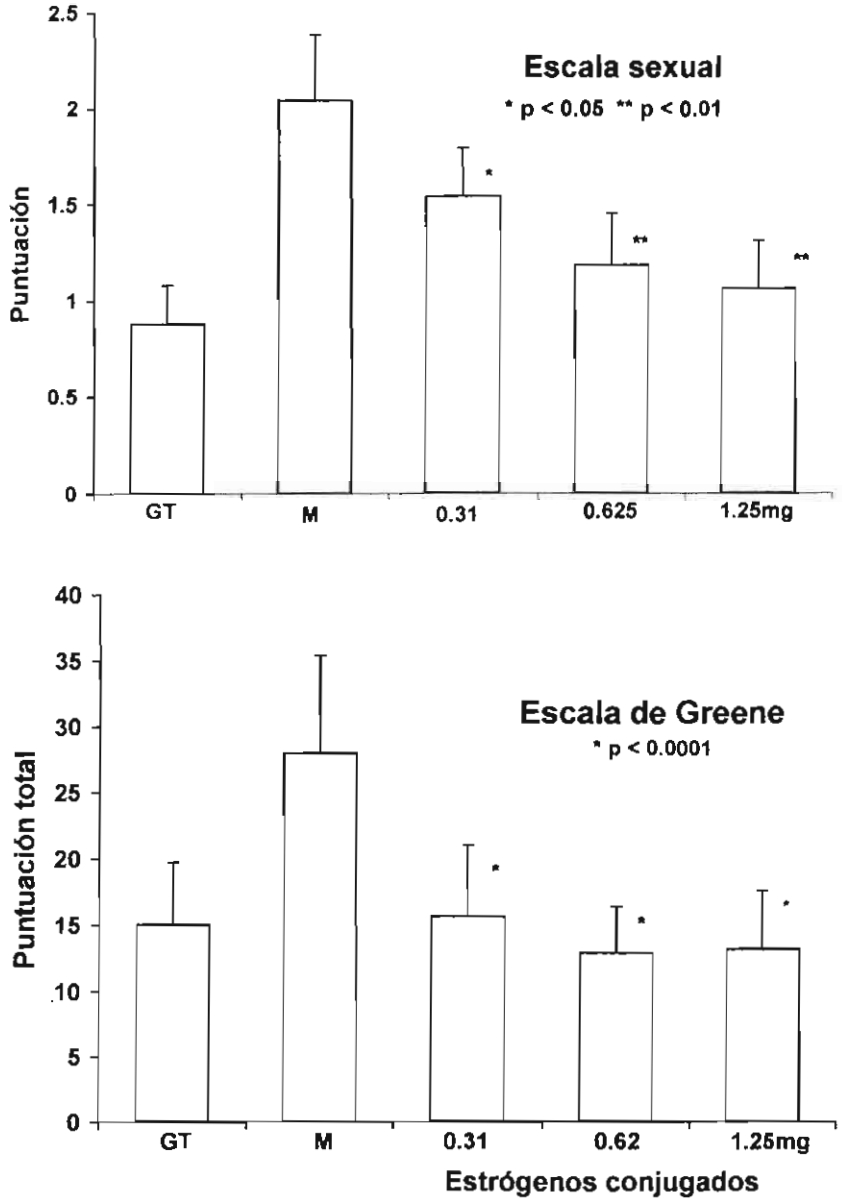


Fig. 91- Se ilustran los cambios en la puntuación de la escala sexual (gráfica superior) y de la escala de Greene (gráfica inferior) como resultado de la HRT en mujeres menopáusicas (M) , observándose una disminución muy significativa de la puntuacióncon las con las tres dosis. En el caso de la apatía sexual, el efecto fué menor con 0.312mg

Escala sexual.
La puntuación de *la abulia sexual* que se muestra en la panel superior de la **fig. 91,** mostró un incremento importante en la menopausia y una disminución significativa de la puntuación al administrar HRT; la respuesta, a diferencia de lo observado en la escala psicológica, fue altamente dependiente de la dosis administrada. Con 0.312 y 0.625mg de EEC la puntuación disminuyó pero el efecto fue mayor en el grupo tratado con 1.25mg y aún con esta dosis, la puntuación se mantuvo elevada en comparación con la del grupo testigo.

Puntuación total de la escala de Greene en respuesta a la HRT
En la gráfica inferior de la **Fig 91** se presentan los cambios en la puntuación total de la ***Escala de Greene*** después de tres meses de terapia con estrógenos conjugados a las diferentes dosis. Destaca la notable elevación de la puntuación de la escala a la menopausia ($p < 0.0001$) así como la efectividad de la HRT para revertir las alteraciones y disminuir la puntuación hasta un nivel similar al del GT. Aunque fueron efectivas las tres dosis, el mayor efecto se obtuvo con 0.625mg de EEC sin diferencias importantes entre 0.625 y 1.25mg.

4.3.4.- Correlación de la puntuación de las escalas del climaterio con la concentración de Estradiol

Al relacionar la puntuación que tuvo cada una de las mujeres participantes, en las escalas del climaterio con la concentración de E2, se encontró una relación lineal negativa entre las dos variables, correspondiendo la puntuación más elevada a las cifras más bajas de E2, lo que se observó tanto en las mujeres menopáusicas sin tratamiento, como después que recibieron HRT.

En la **Fig. 92** se ilustran los resultados para la ***escala de Ansiedad***, localizándose en la gráfica superior la correlación entre el nivel de E2 y la puntuación de la escala en la menopausia, y en la gráfica inferior lo que ocurrió cuando las mujeres fueron tratadas con estrógenos. Antes de tratamiento, la puntuación de la escala se encontró entre 5 y 18 puntos y el coeficiente de correlación con E2 fue bajo ($r = -0.23$). Después de tres ciclos de HRT, la puntuación disminuyó a 0 -11.5 puntos y el coeficiente de correlación fue mayor y altamente significativo ($r = -0.42$, $p < 0.0001$) teniendo la mayoría de las mujeres tratadas menos de 5 puntos.

En la **Fig.93** se muestra la relación entre la puntuación de la ***escala de depresión*** y la respectiva concentración de E2 en las mujeres menopáusicas ($r = -0.32$, $p < 0.05$). Antes de tratamiento la puntuación osciló de 2-15 puntos, observándose una gran dispersión de los valores y una puntuación >4 en la mayoria de las mujeres; después de HRT la puntuación bajó y en la mayor parte de las mujeres fue <4, con un coeficiente de correlación con E2 más elevado. ($r = -0.434$, $p < 0.005$).

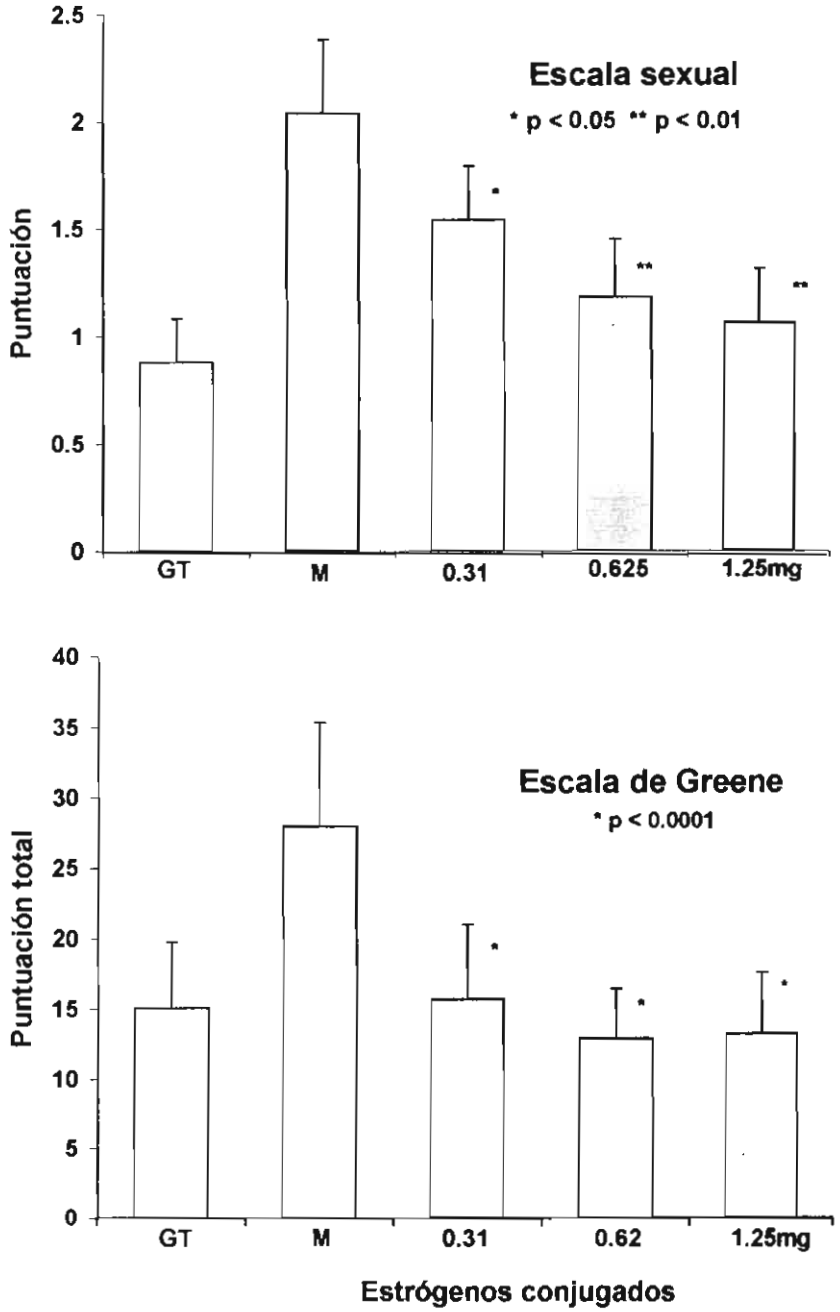
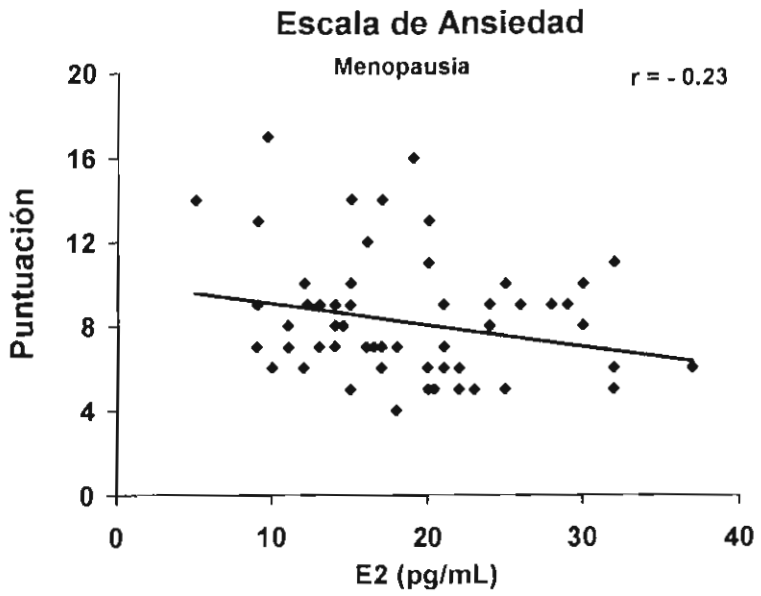


Fig. 94- Se ilustran los cambios en la puntuación de la escala sexual y la escala de Greene como resultado de la HRT en mujeres menopáusicas.



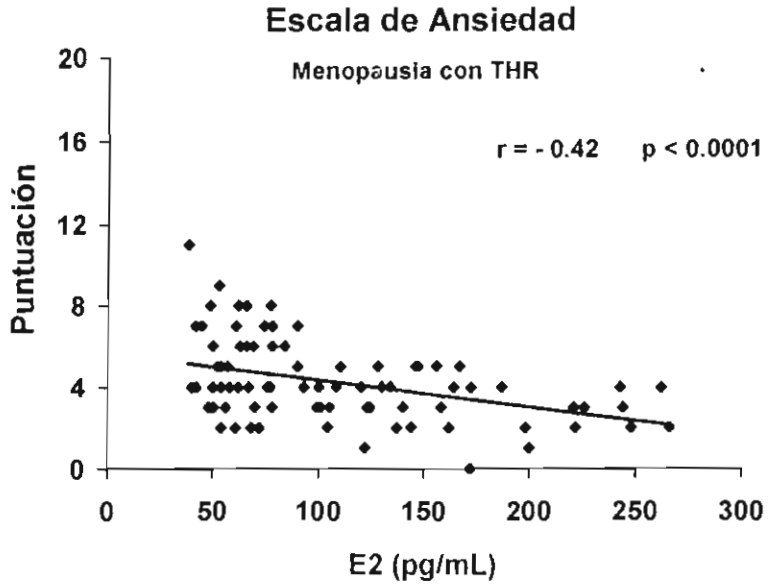


Fig. 92 - Correlación de la puntuación de la Escala de Ansiedad con la concentración de E2 en mujeres menopáusicas.

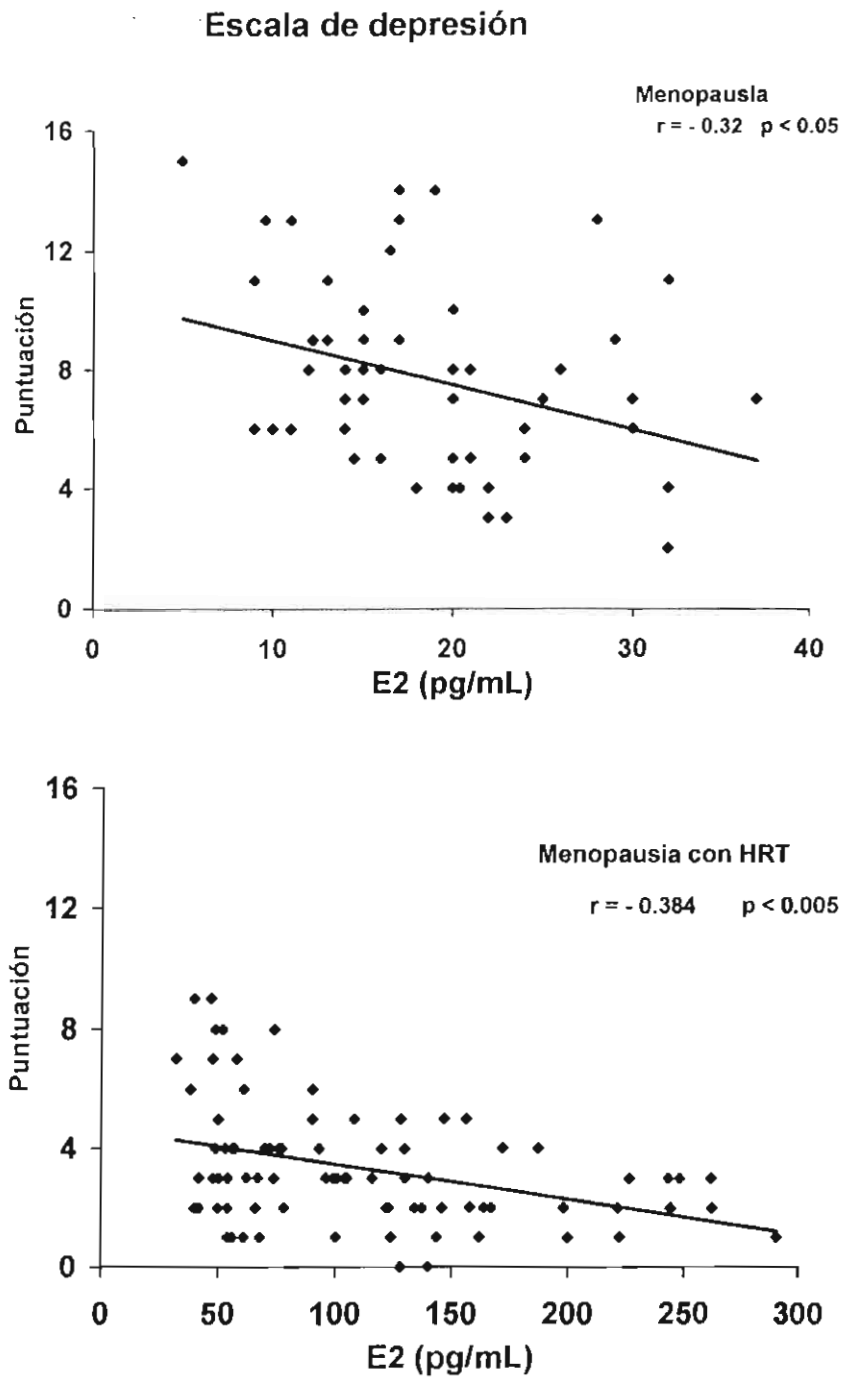


Fig. 93.- Correlación de la puntuación de la Escala de depresión con la concentración de E2 en mujeres menopáusicas

La **Fig. 94** representa la correlación entre la concentración de E2 y la puntuación de *la **escala somática*** que alcanzó una puntuación elevada en la menopausia (4-18 puntos) con gran dispersión de los valores individuales. Con el tratamiento la puntuación de la escala disminuyó y en la mayoría de las mujeres tratadas fue menor de cinco puntos, por otra parte, la correlación con E2 aumentó ($r = -0.415$, $p < 0.005$).

Las **Figs. 95 y 96** ilustran la correlación de E2 con la puntuación del ***cuadro vasomotor*** y de la **escala sexual** respectivamente . En el caso del ***cuadro vasomotor*** **(Fig. 95)** antes de HRT la correlación fue muy baja ($r = -0.146$, debido a la gran dispersión de los valores individuales, predominando las puntuaciones elevadas (4-6puntos). Después de tratamiento, el número de mujeres con puntuación elevada disminuyó considerablemente, predominando las mujeres con puntuaciones bajas (0-2), el índice de correlación fue mayor ($r = -0.42$) y la p altamente significativa ($p < 0.0001$)

Para la **escala sexual (Fig.96)** los resultados fueron similares, después del tratamiento estrogénico disminuyó el número de mujeres con puntuación elevada, a la vez que aumentaron notablemente las de puntuación baja y las que no tuvieron alteraciones y a diferencia de las escalas anteriores, los coeficientes de correlación fueron similares antes y después del tratamiento y en ambos casos significativos ($p < 0.001$).

Correlación con la puntuación de la escala de Greene .

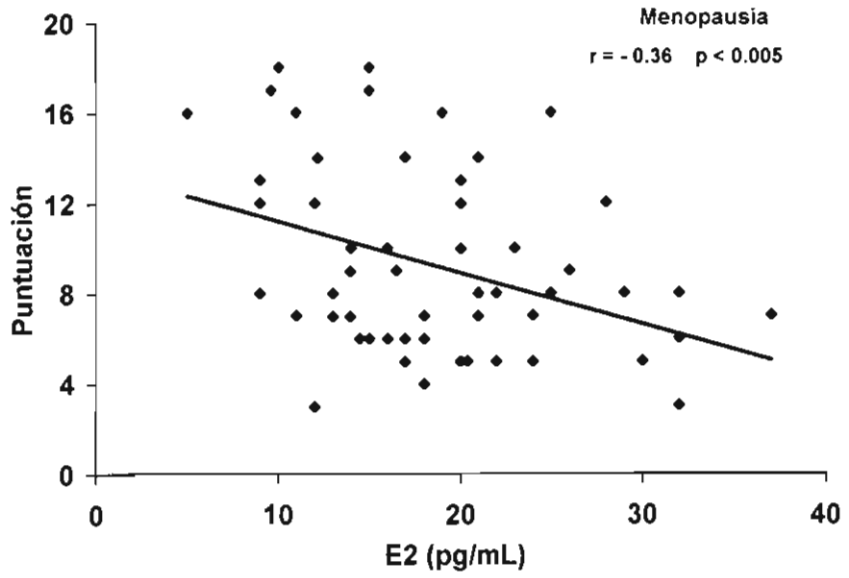
La **fig. 97** ilustra los resultados del estudio de correlación entre la puntuación total de la ***Escala de Greene*** y la concentración de E2 en mujeres menopáusicas. En la gráfica de la parte superior se representan los datos antes de tratamiento y en la inferior después que las mujeres recibieron HRT. Destaca la notable disminución de la puntuación, de 16-58 puntos antes de tratamiento, a una puntuación de 6-28 puntos después de recibir HRT En los dos casos con coeficiente de correlación elevado.

Por otra parte, en la Figs. 98-100 se representa la correlación entre el nivel de E2 y la puntuación total de las escalas al incluir los resultados de todas las mujeres participantes en el estudio, no menopáusicas y menopáusicas.

En la **Fig. 98** se observa de arriba hacia abajo respectivamente, la correlación de *la escala de ansiedad, la escala de depresión y la escala somática* con la concentración de E2, observándose que las tres escalas tienen una relación inversa entre la puntuación y la concentración de E2 con coeficientes de correlación elevados

La **Fig. 99** a su vez representa en la gráfica del panel superior, la correlación entre la puntuación total del *cuadro vasomotor* y la concentración de E2 en las mujeres que participaron ene el estudio. En la gráfica inferior la correlación con la puntuación de *la escala sexual;* en ambas escalas la correlación con E2 fue elevada y altamente significativa ($p < 0.0001$).

Escala Somática



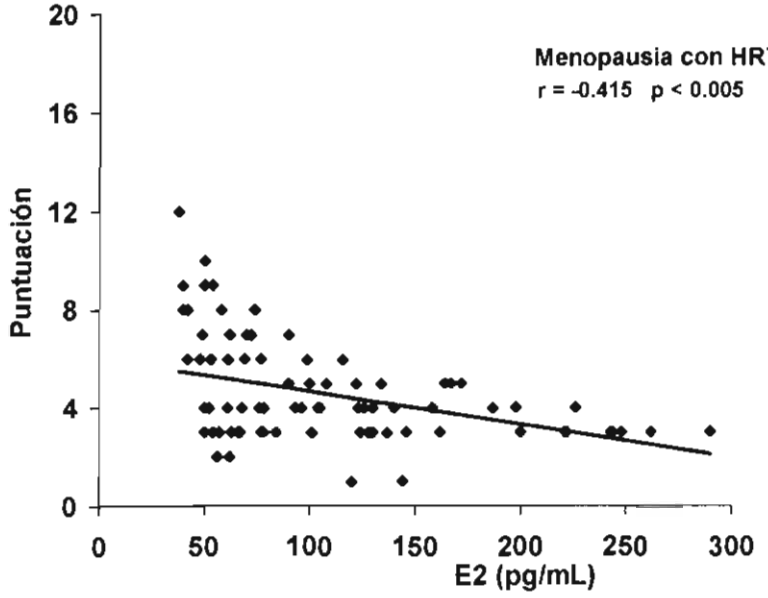


Fig 94.- Correlación de la puntuación de la Escala Somática con la concentración de E2 en mujeres menopáusicas

Cuadro Vasomotor

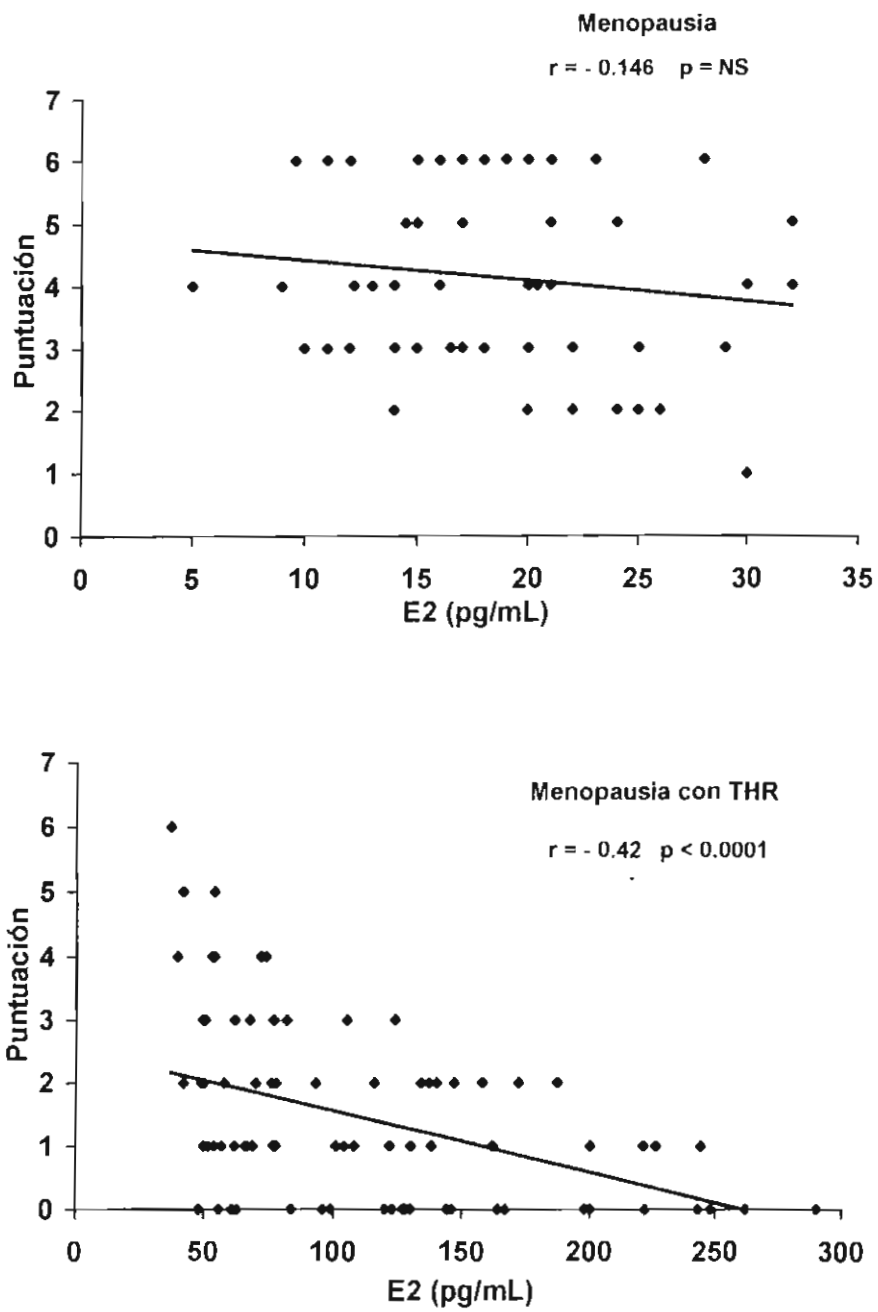
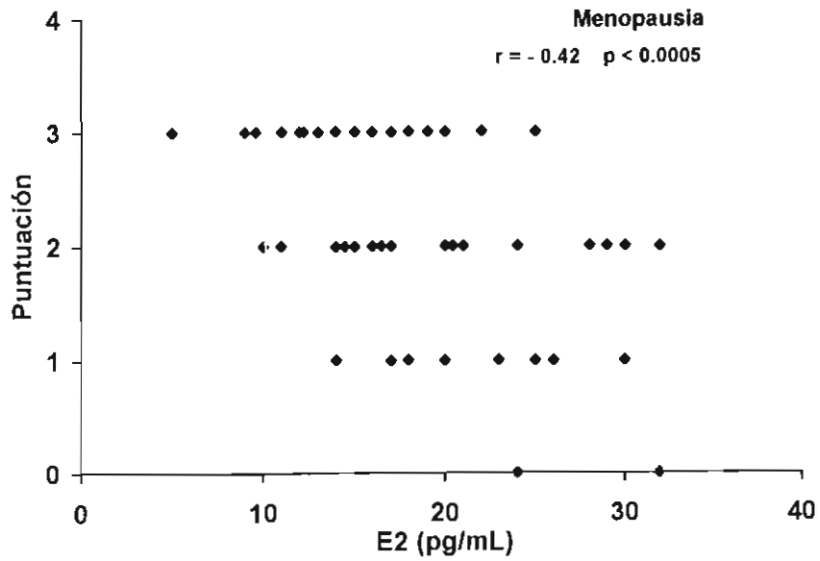


Fig 95 - Correlación de la puntuación de las alteraciones vasomotoras con la concentración de E2 en mujeres menopáusicas

Escala sexual



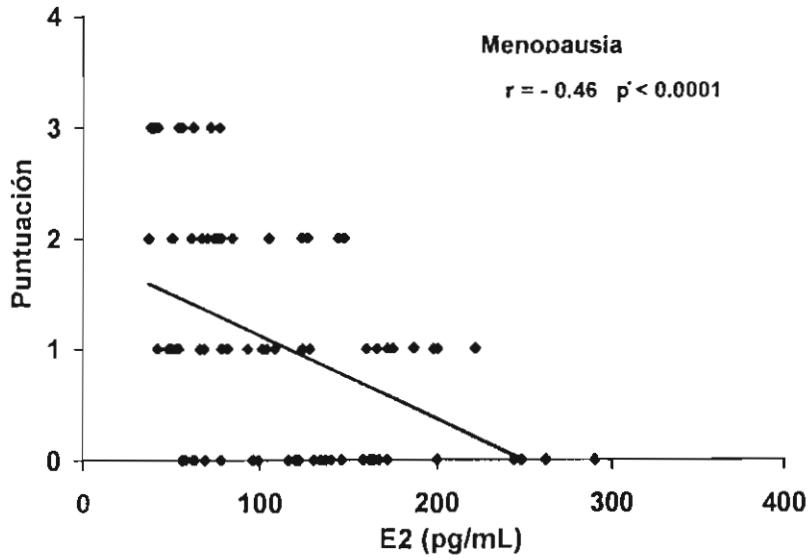


Fig. 96- Correlación de la puntuación de la escala sexual con la concentración de E2 en mujeres menopáusicas.

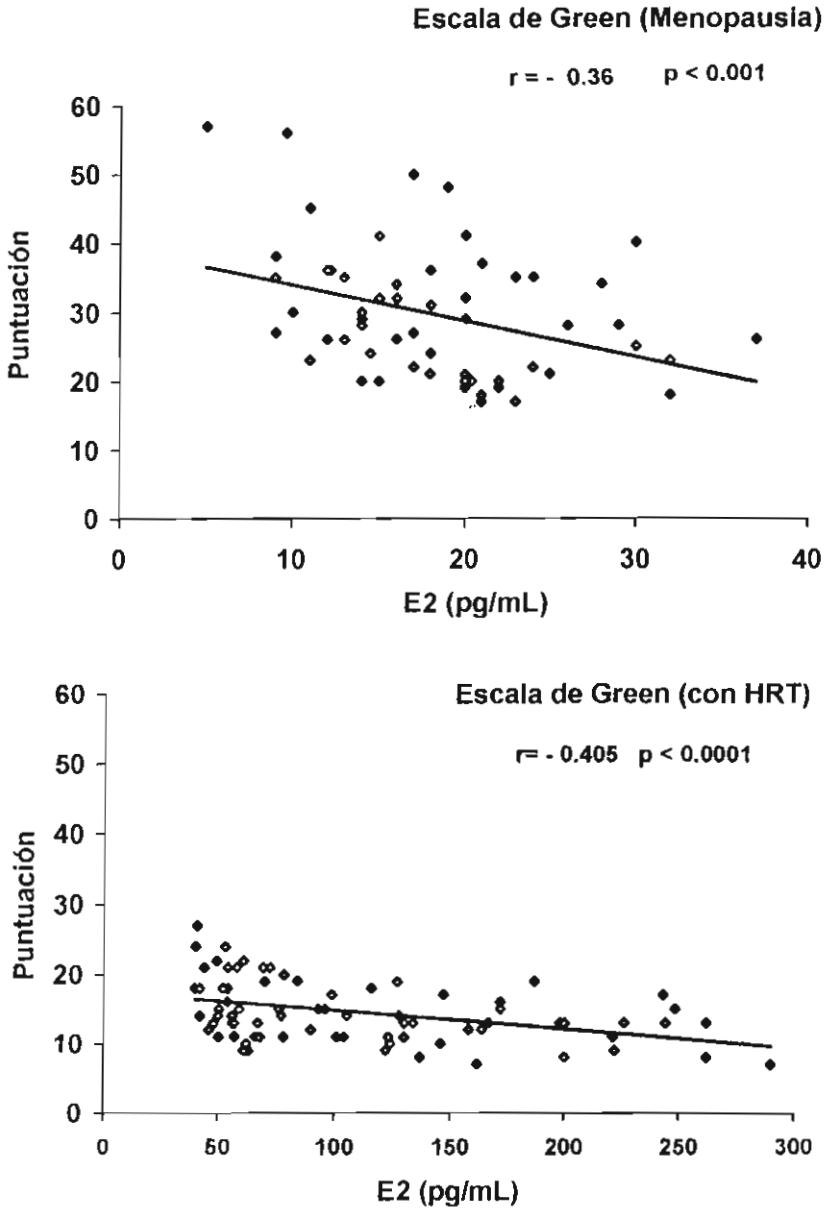


Fig. 97 - Correlación de la puntuación total de la escala de Greene con la concentración de E2 en mujeres menopáusicas antes y después de HRT

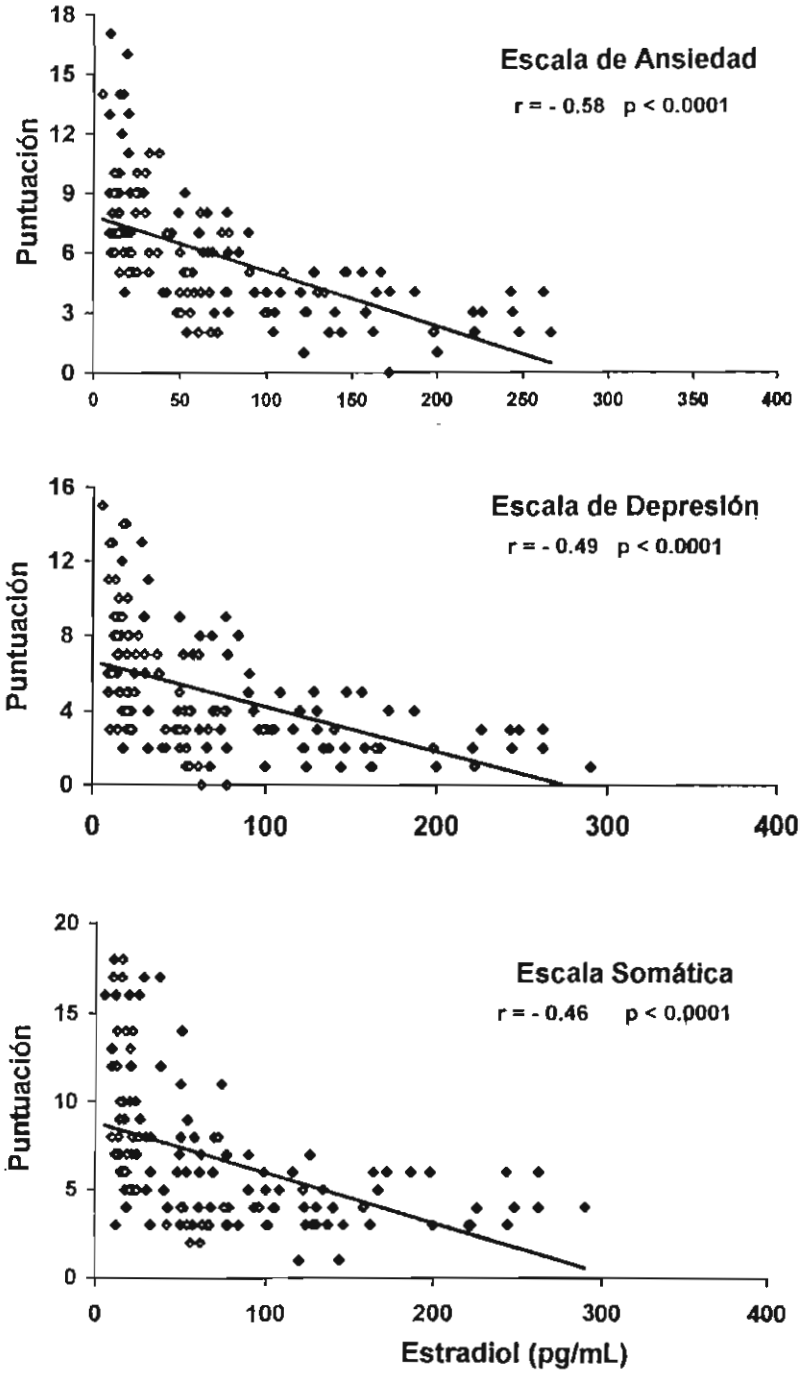
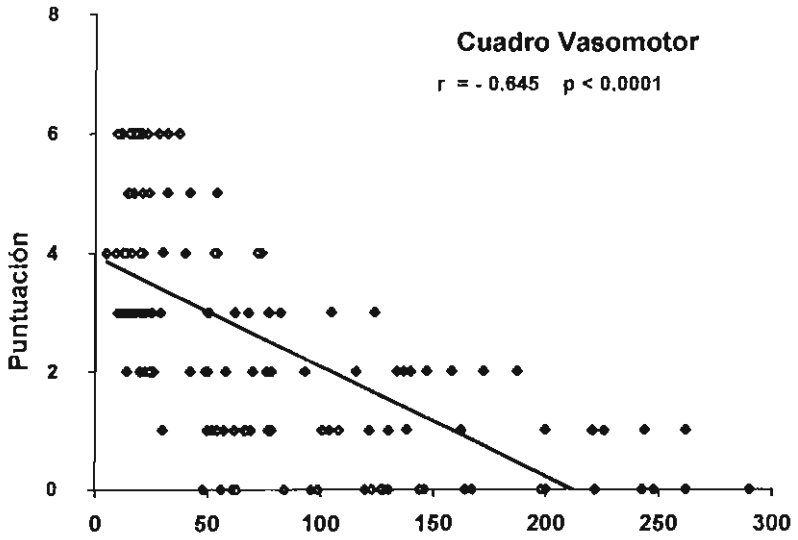


Fig. 98 .- Correlación de la puntuación de las escalas de ansiedad, de depresión y somática con el nivel de E2 , en las mujeres del estudio



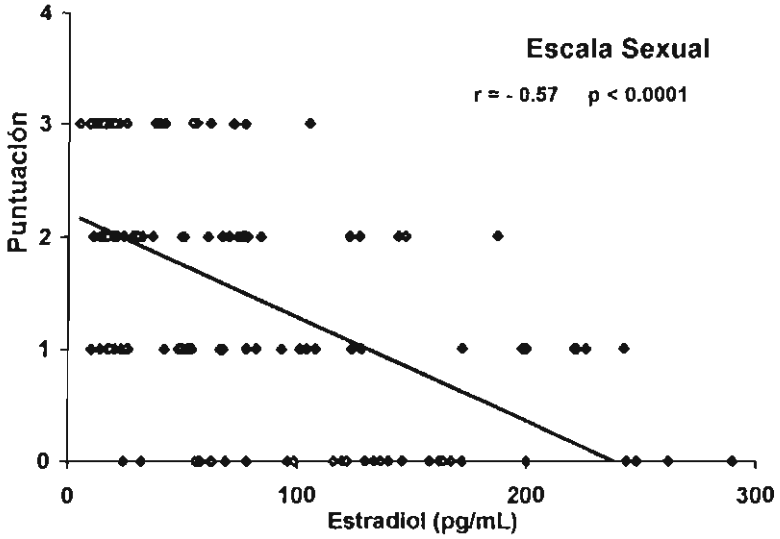


Fig. 99 - Correlación de la puntuación del cuadro vasomotor y la escala sexual con la concentración de E2 en las mujeres del estudio.

4.4.- Relación de las alteraciones climatéricas con la concentración de los neurotransmisores.

4.4.1- Concentración de neurotransmisores y puntuación de las escalas del climaterio

Escala de Ansiedad.

En las figuras 100 a la 105 se compara el efecto de la concentración de Noradrenalina (NA), Dopamina (DA), Serotonina (S) y β-Endorfinas (βE), sobre la puntuación de las diferentes manifestaciones de ansiedad La **Fig. 100** ilustra el efecto de la concentración de estos neurotransmisores sobre *las palpitaciones*, observándose que el incremento de NA y la disminución de DA (gráficas de la parte superior izquierda y derecha respectivamente de la figura) coincidieron con un aumento en la puntuación de las palpitaciones ($p<0.05$); mientras que la serotonina y las β-endorfinas (en la parte inferior izquierda y derecha respectivamente) solo disminuyeron ligeramente

En la **Fig. 101** puede verse que en las mujeres con *nerviosismo*, los niveles de NA fueron significativamente mayores que en las que no lo tuvieron (puntuación cero), sobre todo en las mujeres en las que el nerviosismo fue intenso o severo ($p< 0.0001$), en contrasta, la serotonina disminuyó su concentración ($p < 0.005$) y no se modificaron los niveles de DA y βE.

En las mujeres que tuvieron *insomnio* (**Fig. 102**) se observaron alteraciones en los cuatro NTs; los cambios más importantes fueron la notable disminución de los niveles de S y βE ($p<0.001$ y $p< 0.005$ respectivamente), que se acompañaron de un aumento de NA y disminución de DA de menor magnitud ($p< 0.05$).

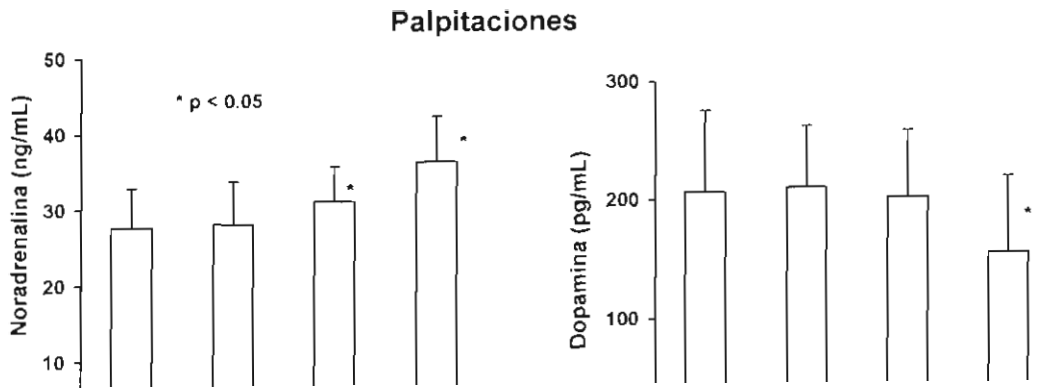
En la *excitabilidad* moderada e intensa **(Fig. 103)** la NA se encontró elevada y la DA y las βEs disminuidas ($p <0.05$ y 0.01 respectivamente) y aunque la S también disminuyó, los cambios no fueron significativos. En la *inseguridad* valorada por la presencia de miedos y temores, la NA aumentó ligeramente, sin cambios significativos en ninguno de los cuatro NTs **(Fig. 104)** En la *falta de concentración* **(Fig 105)** el cambio más importante fue la disminución de la βE ($p < 0.005$) sobre todo en los casos en los que la alteración fue severa, con aumento moderado de NA y disminución de S ($p < 0.05$).

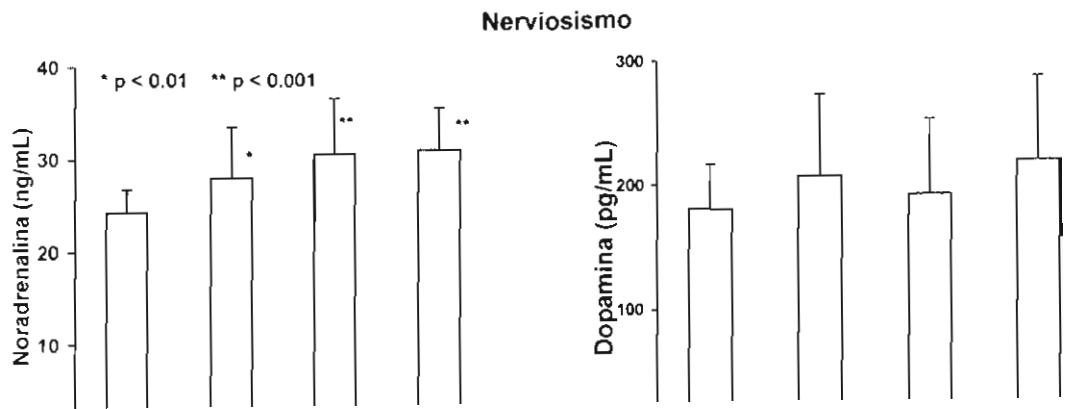
Escala de Depresión.

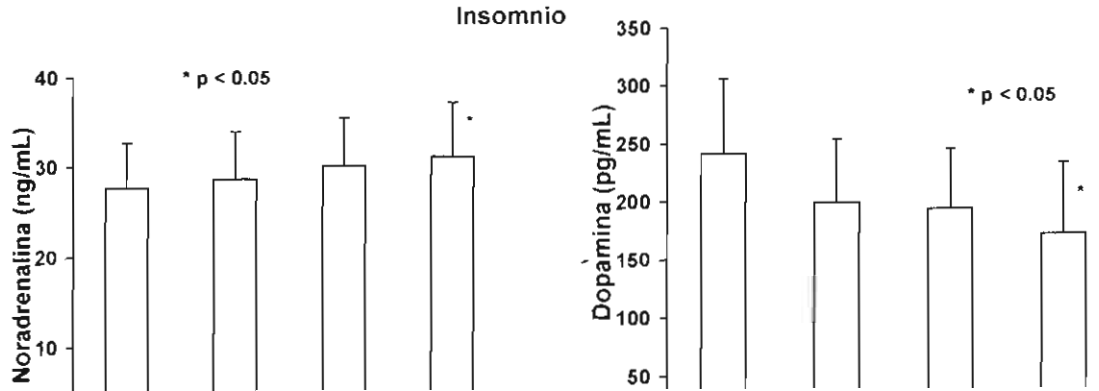
De manera similar a las anteriores, en las gráficas 106- 110 se representa la relación entre la concentración de los NTs y la puntuación de las alteraciones que forman la escala de depresión

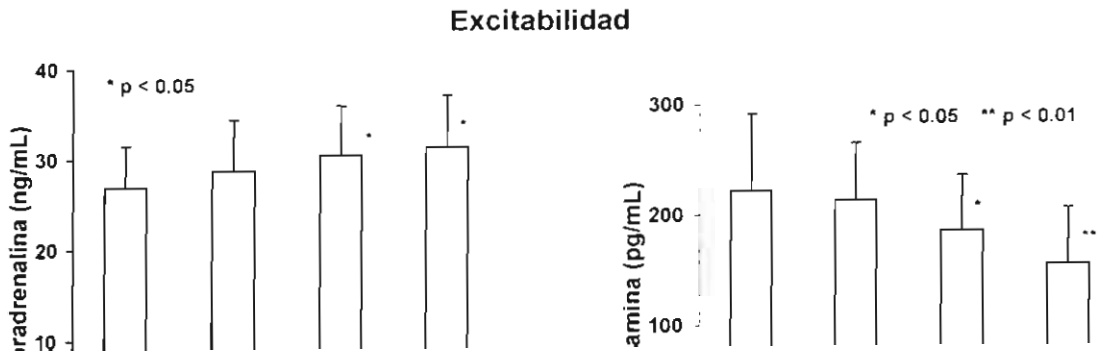
Así en **la Fig. 106** se ilustra la puntuación de *la falta de energía* que cursó con cambios significativos ($p< 0.05$) en la concentración de NA, DA y S en las mujeres que tuvieron anergia moderada o severa, la βE solo disminuyó ligeramente.

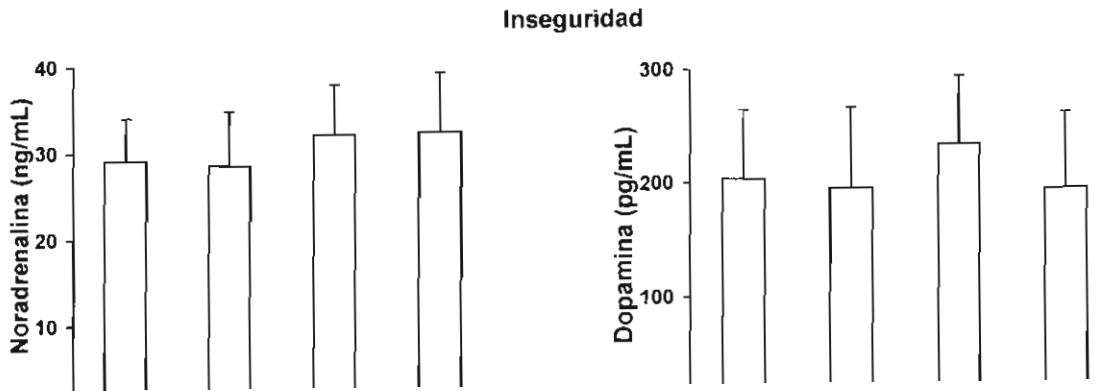
En el caso de *la apatía o desinterés* **(Fig. 107)** la serotonina disminuyó significativamente ($p<0.05$) y también la DA y la βE sobre todo en las mujeres con apatía severa, sin embargo los cambios no fueron importantes. En contraste, en *la tristeza* **(Fig. 108)** las mujeres presentaron cambios en la concentración de los cuatro NTs; la Noradrenalina se encontró muy elevada, coincidiendo con una marcada disminución de los niveles de S y βE ($p< 0.005$) y de dopamina ($p< 0.05$).

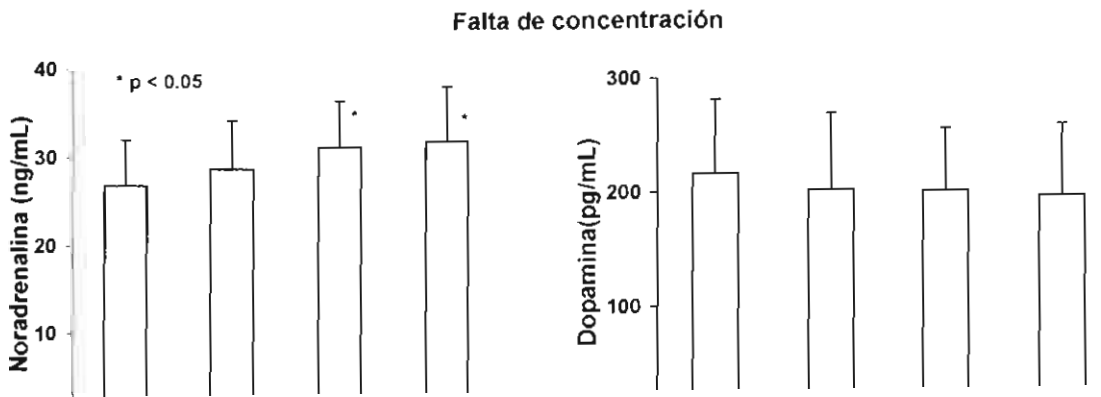

Palpitaciones
* p < 0.05
Noradrenalina (ng/mL)
50
40
30
20
10
Dopamina (pg/mL)
300
200
100

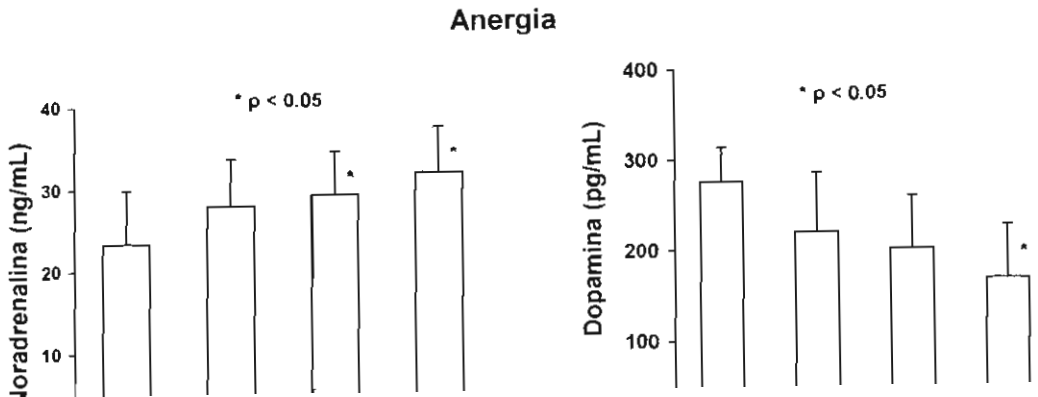

Nerviosismo
* p < 0.01 ** p < 0.001
Noradrenalina (ng/mL)
40
30
20
10
Dopamina (pg/mL)
300
200
100

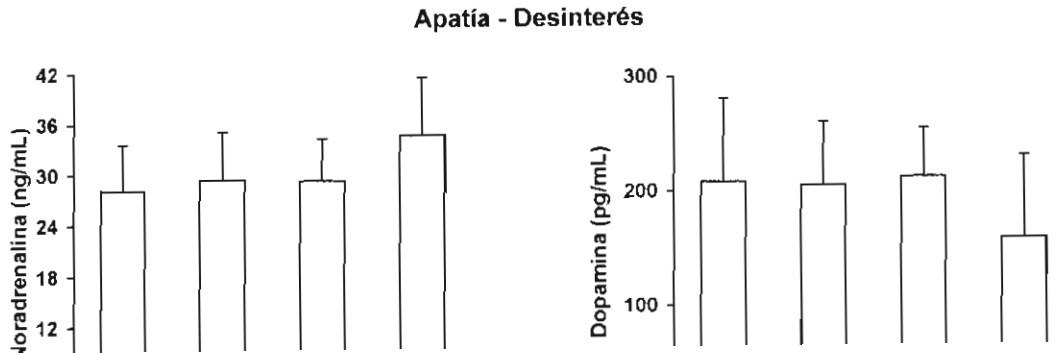

Insomnio
Noradrenalina (ng/mL)
40
30
20
10
* p < 0.05
Dopamina (pg/mL)
350
300
250
200
150
100
50
* p < 0.05


Excitabilidad
40
30
20
10
* p < 0.05
adrenalina (ng/mL)
300
200
100
* p < 0.05
** p < 0.01
amina (pg/mL)

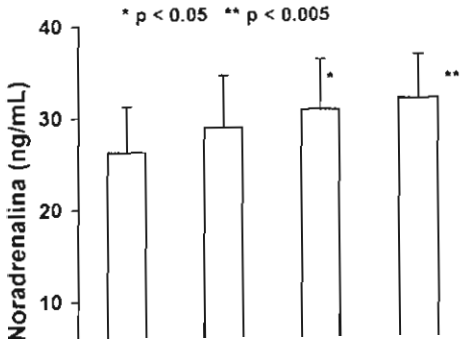

Inseguridad
Noradrenalina (ng/mL)
40
30
20
10
Dopamina (pg/mL)
300
200
100

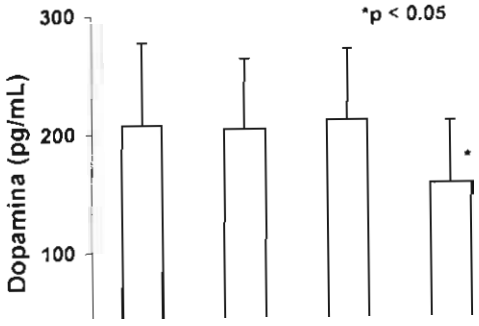

Falta de concentración
* p < 0.05
Noradrenalina (ng/mL)
40
30
20
10
Dopamina(pg/mL)
300
200
100


Anergia
* ρ < 0.05
Noradrenalina (ng/mL)
40
30
20
10
* ρ < 0.05
Dopamina (pg/mL)
400
300
200
100


Apatía - Desinterés
Noradrenalina (ng/mL)
42
36
30
24
18
12
Dopamina (pg/mL)
300
200
100

Infelicidad- Tristeza





En las *crisis de llanto* **(Fig. 109)** solo la NA aumentó su concentración significativamente ($p < 0.05$) aunque la S y las βE disminuyeron En las mujeres menopáusicas con *irritabilidad (***Fig. 110***)* los niveles de DA, S y βE fueron menores que en las que no la tuvieron ($p < 0.05$) y los de NA elevados ($p < 0.01$).

Escala Somática.

El análisis de las alteraciones de la escala somática en relación con la concentración de NTs mostró que en el caso de *mareos y vértigos* que se ilustran en la **Fig. 111**, los cambios en la puntuación no se relacionaron con alteraciones en la concentración de ninguno de los NTs estudiados En la *presión en la cabeza* que se representa en las gráficas de la **Fig. 112** pudo observarse, que el incremento en la puntuación coincidió con la elevación de NA ($p < 0.01$) y la disminución de DA ($p < 0.05$) sin alteraciones importantes en las concentraciones de S y βE.

En cambio *las parestesias o adormecimientos* **(Fig. 113)** cursaron con elevación de NA ($p < 0.05$) y disminución de la concentración de βE ($p < 0.001$) en mujeres con molestias severas. En *la cefalea* moderada o severa **(Fig. 114)** la NA elevó su concentración y la S disminuyó ($p < 0.05$) sin cambios en la concentración de DA y βE .

La *pérdida de sensibilidad* no se asoció con cambios significativos en ninguno de los NTs estudiados, aunque se observó una ligera disminución de DA y S, como puede verse en **la Fig. 115.** En contraste, *en las artralgias* representadas en la **fig. 116**, se encontró una marcada elevación de la NA ($p < 0.01$) y una notable disminución de DA ($p < 0.005$) Aún en las mujeres con molestias ligeras; los cambios en la concentración de estos NTs aunque de menor magnitud fueron significativos ($p < 0.05$); S y βE solo disminuyeron ligeramente.

En la *dificultad para respirar* **(Fig. 117)** los cambios más importantes fueron la elevación de la NA ($p < 0.005$) y la disminución de la S, mientras que DA y βE aunque disminuyeron no se modificaron significativamente.

Cuadro Vasomotor

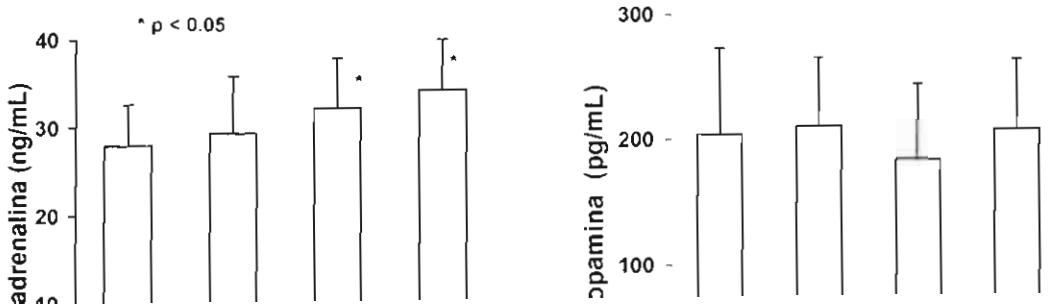
La presencia de *bochornos* en las mujeres menopaúsicas **(Fig.118)** coincidió con alteraciones en la concentración de los cuatro NTs estudiados; la NA elevó su concentración, mientras que DA, S y βE disminuyeron, sobre todo la DA que en las mujeres con bochornos severos disminuyó en forma importante ($p < 0.005$).

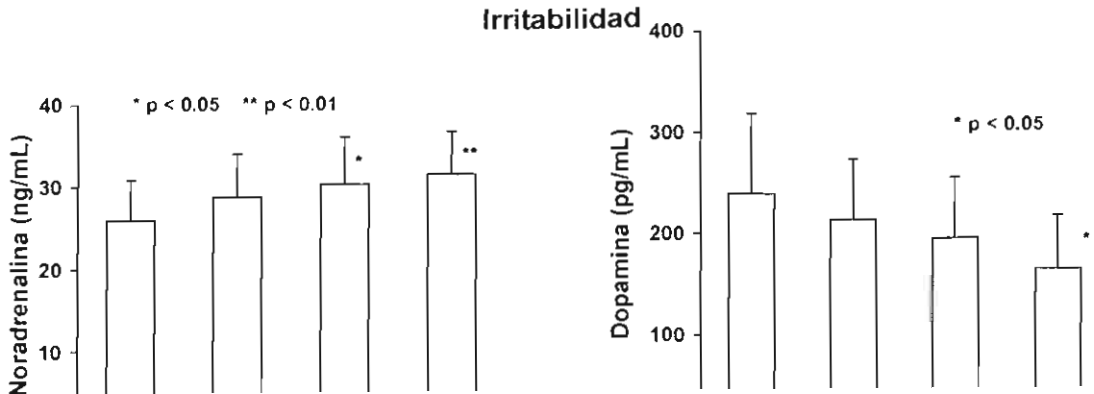
En la *sudoración nocturna* **(Fig. 119)** los cambios en la concentración de los NTs fueron más marcados, sobre todo para DA y βE que disminuyeron notablemente ($p < 0.001$ y $p < 0.0005$ respectivamente) en cambio la NA aumentó ($p < 0.01$).

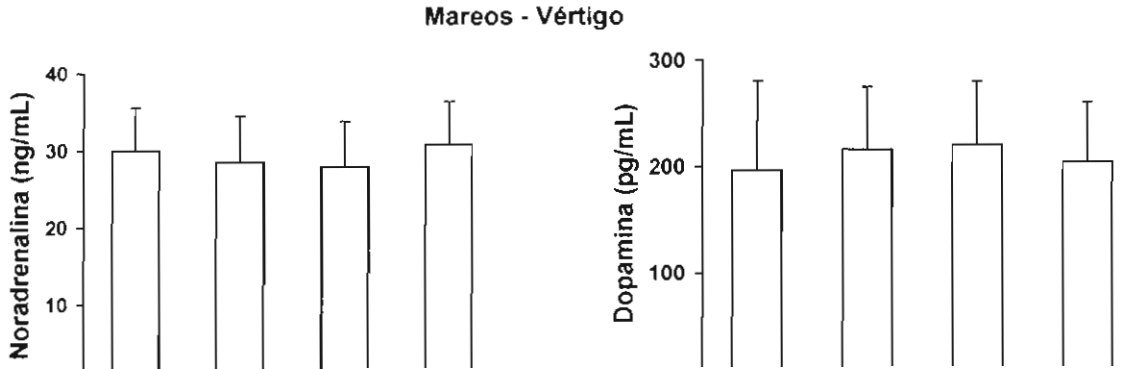
Esfera sexual.

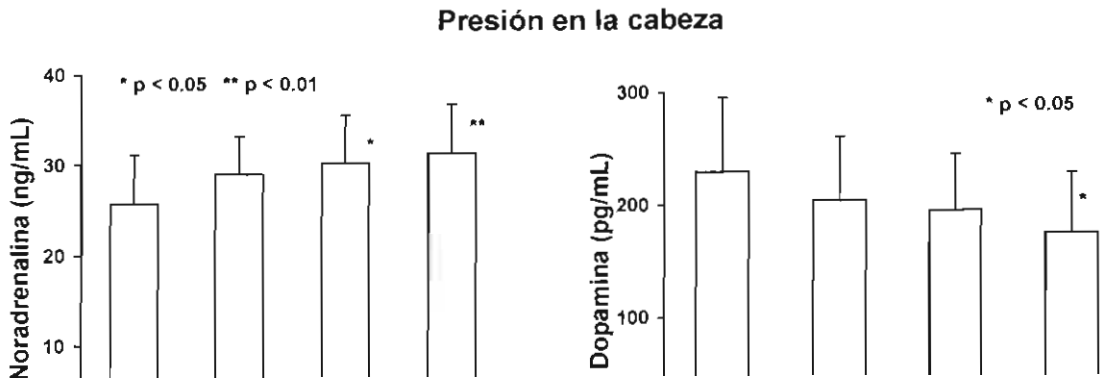
De manera similar al cuadro vasomotor, la abulia sexual representada en la **Fig. 120**, se caracterizó por presentar alteraciones en la concentración de los cuatro NTs; la NA se encontró muy elevada ($p < 0.001$) y la DA, la S y las βE disminuyeron, sobre todo en las mujeres con abulia sexual severa ($p < 0.005$).

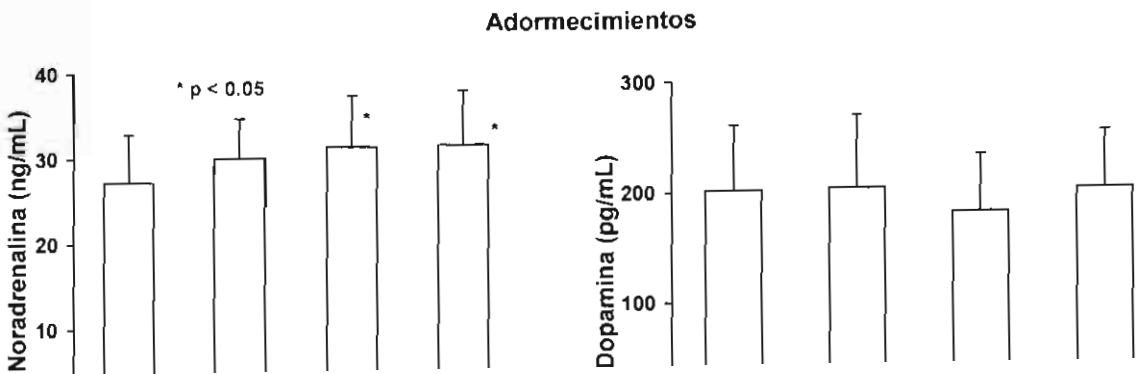
Crisis de llanto

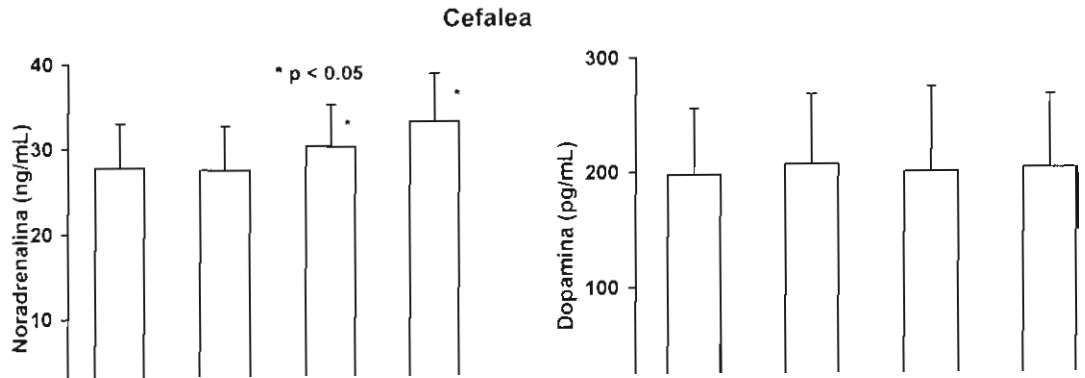


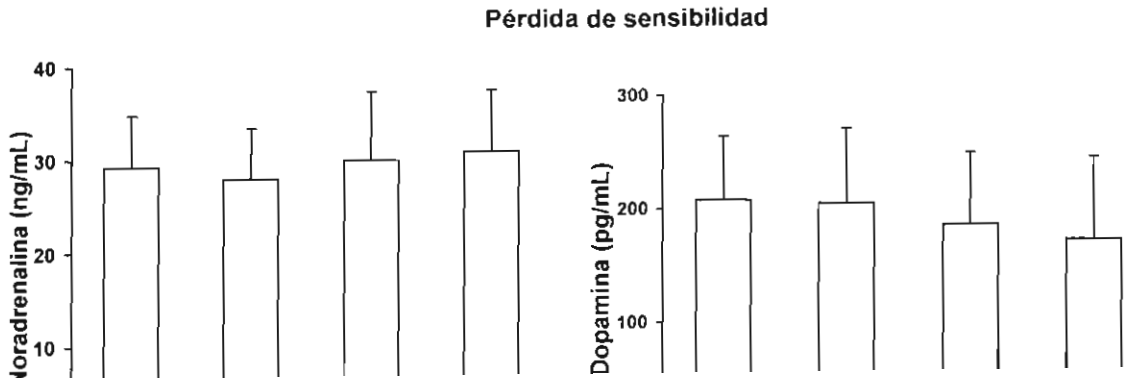

Irritabilidad
Noradrenalina (ng/mL)
40
30
20
10
* p < 0.05
** p < 0.01
*
**
Dopamina (pg/mL)
400
300
200
100
* p < 0.05
*

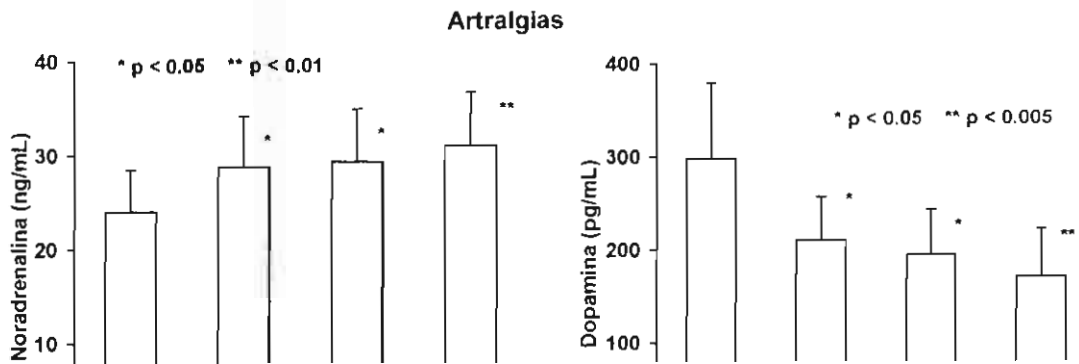

Mareos - Vértigo
Noradrenalina (ng/mL)
40
30
20
10
Dopamina (pg/mL)
300
200
100

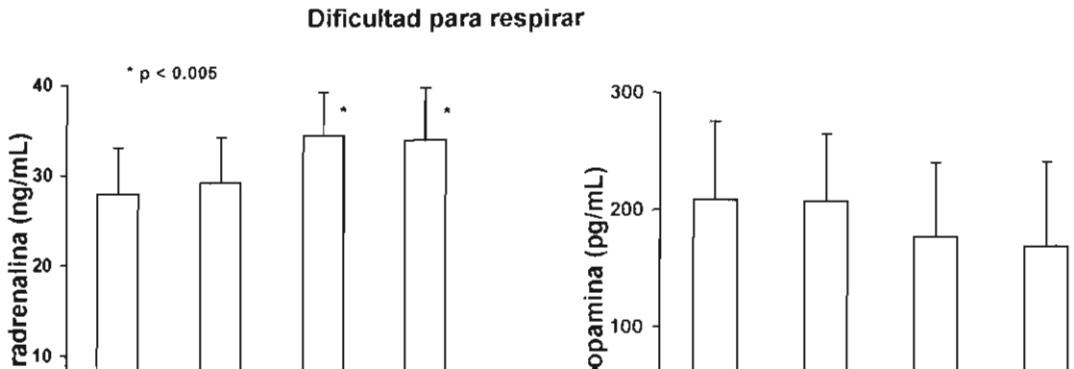

Presión en la cabeza
* p < 0.05 ** p < 0.01
Noradrenalina (ng/mL)
40
30
20
10
*
**
* p < 0.05
Dopamina (pg/mL)
300
200
100
*

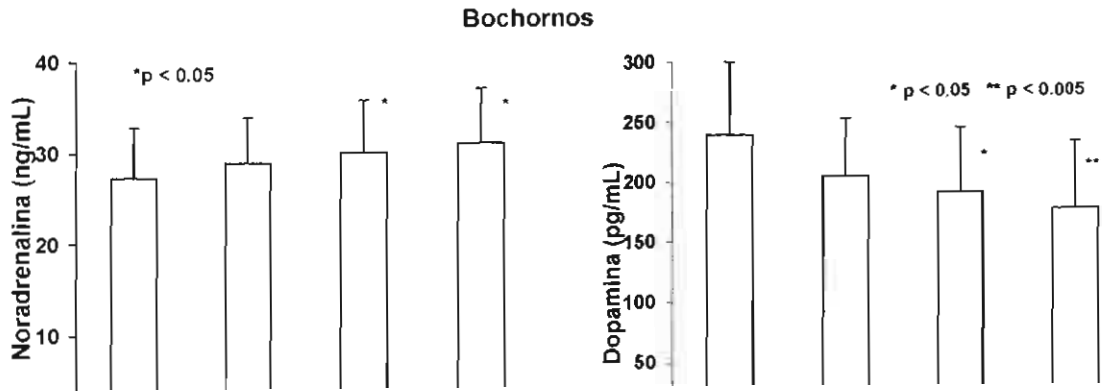

Adormecimientos
Noradrenalina (ng/mL)
40
30
20
10
* p < 0.05
*
*
Dopamina (pg/mL)
300
200
100

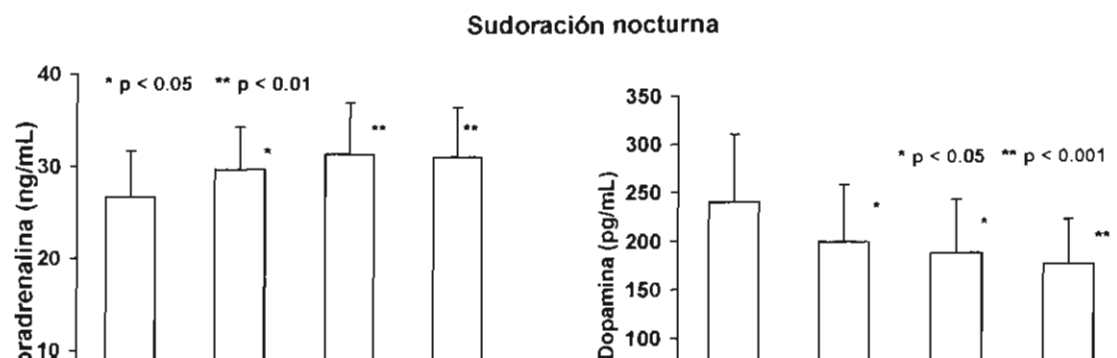

Cefalea
* p < 0.05
Noradrenalina (ng/mL)
40
30
20
10
Dopamina (pg/mL)
300
200
100

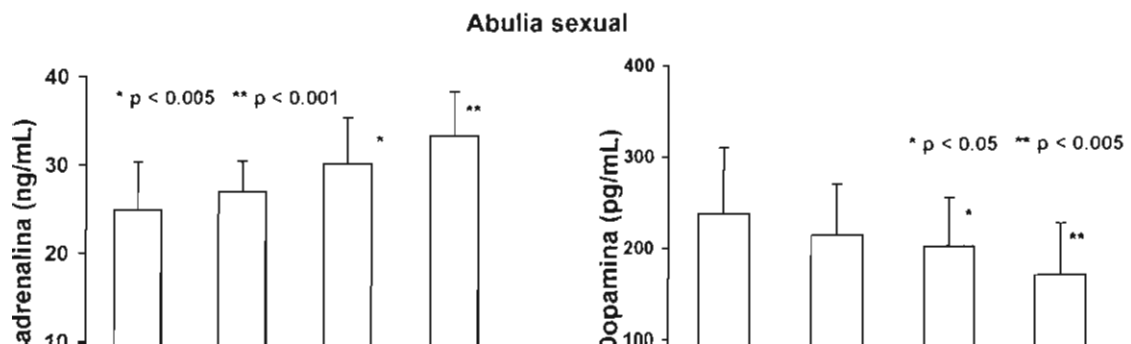

Pérdida de sensibilidad
40
30
20
10
Noradrenalina (ng/mL)
300
200
100
Dopamina (pg/mL)


Artralgias
* p < 0.05 ** p < 0.01
Noradrenalina (ng/mL)
40
30
20
10
* p < 0.05 ** p < 0.005
Dopamina (pg/mL)
400
300
200
100


Dificultad para respirar
* p < 0.005
40
30
20
10
radrenalina (ng/mL)
300
200
100
opamina (pg/mL)


Bochornos
Noradrenalina (ng/mL)
40
30
20
10
*p < 0.05
Dopamina (pg/mL)
300
250
200
150
100
50
* p < 0.05 ** p < 0.005


Sudoración nocturna
* p < 0.05 ** p < 0.01
Noradrenalina (ng/mL)
40
30
20
10
*
**
**
* p < 0.05 ** p < 0.001
Dopamina (pg/mL)
350
300
250
200
150
100
*
*
**


Abulia sexual
* p < 0.005 ** p < 0.001
adrenalina (ng/mL)
40
30
20
10
*
**
* p < 0.05 ** p < 0.005
Dopamina (pg/mL)
400
300
200
100
*
**

4.4.2- Correlacion de la puntuación total de las escalas con la concentración de los neurotransmisores.

Escala de Ansiedad

En las **Fig. 121** se presentan los resultados del estudio de correlación entre la concentración de NTs en las mujeres menopaúsicas y la puntuación que alcanzó cada una de ellas en la Escala de Ansiedad.

En la gráfica superior izquierda se observa que la NA tuvo una elevada correlación lineal positiva con la puntuación de ansiedad ($r = 0.53$, $p < 0.0001$) correspondiendo las puntuaciones más elevadas a las concentraciones más altas de NA. Con DA, S y BEs la correlación fuc inversa y de menor magnitud; de estas últimas, la mayor correlación se obtuvo con la βE ($r = -0.405$, $p < 0.001$).

Escala de Depresión.

La **Fig. 122** ilustra los resultados del estudio de correlación entre la puntuación total de la escala de depresión y la concentración de los 4 NTs. En la gráfica superior izquierda al igual que en la figura anterior, se observa una elevada relación lineal positiva altamente significativa ($r = 0.50$, $p < 0.0001$) con la concentración dc NA, y una relación lineal negativa con los niveles de DA, S y βE que fue más elevada para la serotonina ($r = -0.37$, $p < 0.001$).

Escala Somática.

La correlación entre la concentración de NTs y la puntuación de la escala somática (**Fig. 123**) mostró resultados similares a los anteriores; una relación directa entre la concentración de NA y la puntuación total de la escala ($r = 0.405$, $p < 0.001$) y una relación inversa con la concentración de S y βE , siendo más elevada esta última ($r = -0.34$, $p < 0.01$); en el caso de la DA, la relación no fue significativa .

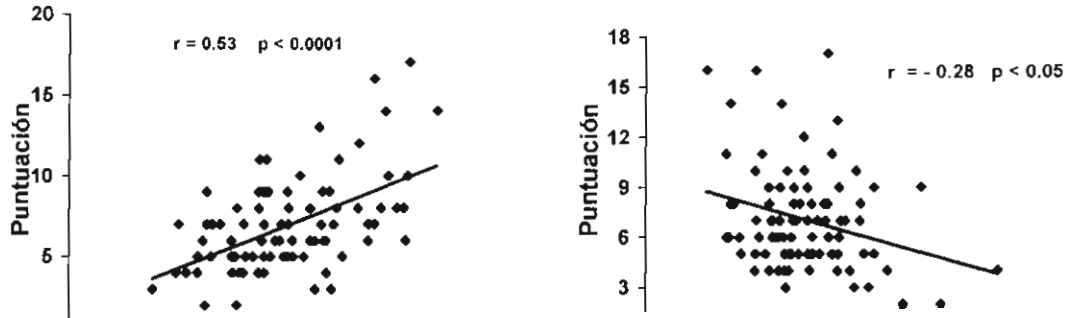
Cuadro Vasomotor .

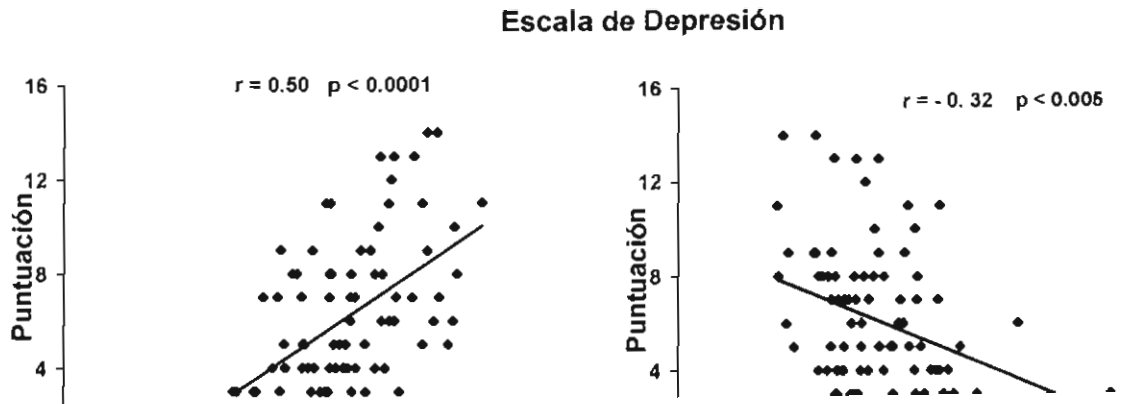
El estudio de correlación entre los neurotransmisores y la puntuación del cuadro vasomotor que se ilustra en la **Fig. 124,** muestra una correlación lineal muy elevada con la NA ($r = 0.35$, $p < 0.001$), que sin embargo no fue la más importante, ya que fue mayor la correlación con DA y con las βE ($r = -0.40$, $p<0.0001$ y $r = -0.41$, $p<0.001$ respectivamente) sin relación aparente con el nivel de serotonina .

Escala Sexual.

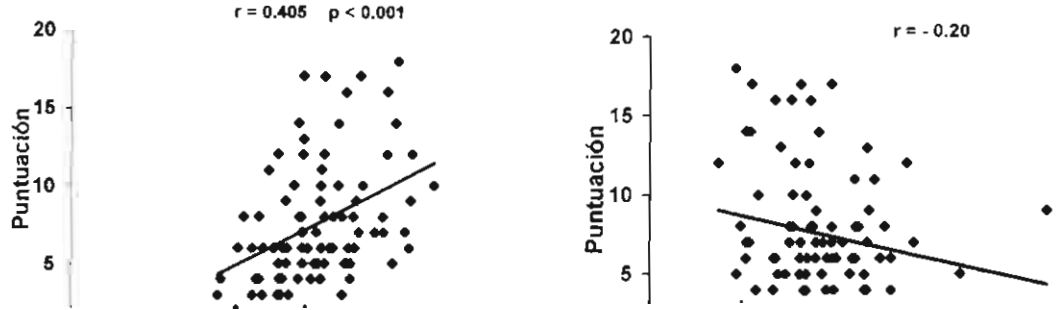
La correlación entre la puntuación de la abulia sexual y la concentración de NTs que se presenta en la **Fig. 125**, muestra una elevada relación lineal entre la concentración de NA y la puntuación de la escala ($r = 0.49$, $p< 0.0001$) y una relación inversa con los niveles de DA y S ($r = -0.38$, $p <0.001$ y $r = -0.32$, $p <0.005$ respectivamente) y con la βE ($r = -0.26$, $p< 0.05$).

Escala de Ansiedad

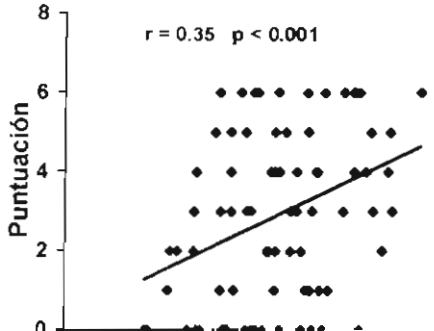


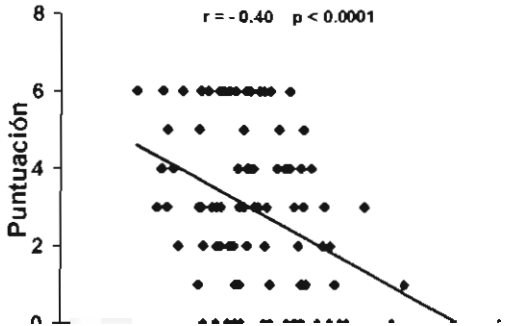

Escala de Depresión
r = 0.50 p < 0.0001
Puntuación
16
12
8
4
r = - 0. 32 p < 0.005
Puntuación
16
12
8
4

Escala somática

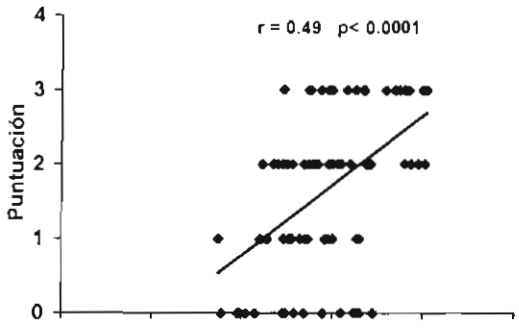


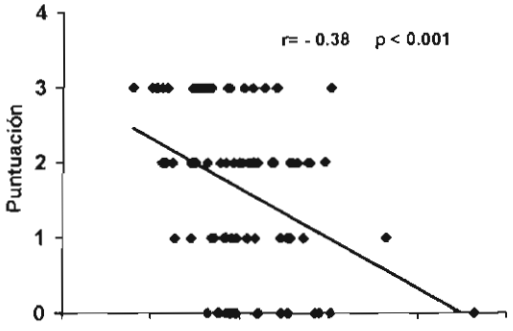
Cuadro Vasomotor





Escala sexual





Escala de Greene.

Los resultados del estudio de correlación entre la puntuación total de la escala de Greene (la suma de las 21 alteraciones que la forman) y la concentración de los NTs se representa en la **Fig. 126**; la NA que se localiza en el panel superior izquierdo, fue el neurotransmisor que tuvo mayor relación con las alteraciones ($r = 0.42$, $p<0.0001$); DA, S y E también se asociaron significativamente con las alteraciones climatéricas aunque con una relación inversa y un índice de correlación menor, coincidiendo su disminución con la elevación de la puntuación de la escala.
De estos tres últimos neurotransmisores, el efecto de S y BE fue altamente significativo ($r = - 0.30$, $p< 0.001$ y $r = -0.395$, $p<0.001$ respectivamente), siendo menor el efecto de la DA ($r = - 0.235$, $p < 0.05$).

Un resumen de los coeficientes de correlación obtenidos entre la concentración de los NTS y las alteraciones clínicas de la Escala de Greene , así como los coeficientes de correlaeión entre las alteraciones y el E2 se presentan en la **Tabla 11** para su comparación. Puede verse que en todas las escalas, de los NTs estudiados el efecto de la NA fue el más importante, con exeepción del cuadro vasomotor en el que se encontró mayor relación con los niveles de DA y βE; sin embargo al compararse con el efecto de E2, este parece ser igual o más importante, ya que tiene mayor correlación con la puntuación total de las escalas.

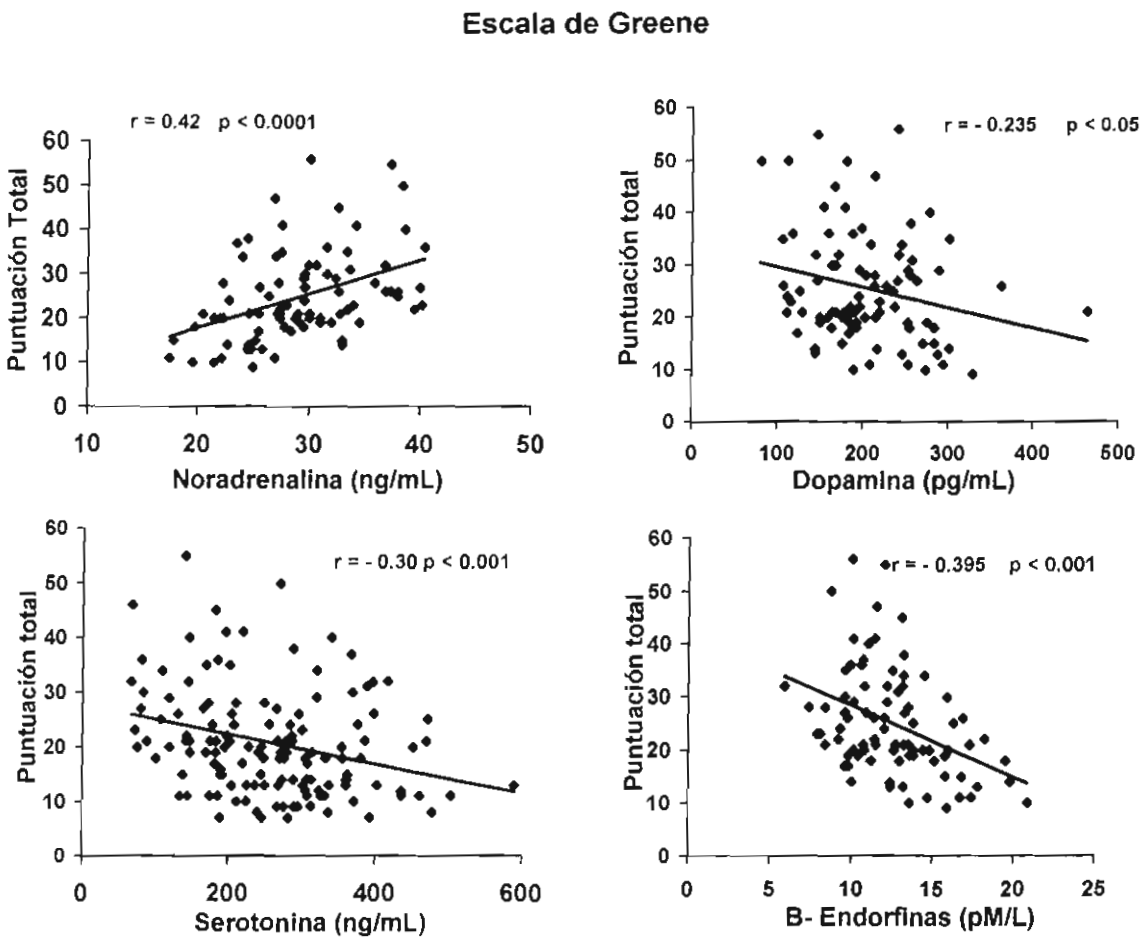


Fig. 126.- La correlación entre la puntuación de la escala de Greene y la concentración de los neurotransmisores indica que todos ellos , en especial la noradrenalina y las B- endorfinas influyen en la puntuación de la escala del climaterio

Tabla 11.- Correlación entre la concentración de los Neurotransmisores y el estradiol (E2) con la puntuación de las escalas del climaterio

Escala		NA	DA	S	BE	E2
Ansiedad	**r**	0.53	-0.28	-0.3	-0.405	-0.58
	p	< 0.0001	< 0.05	< 0.001	< 0.001	< 0.0001

5.- ANALISIS DE LOS RESULTADOS EN RELACION AL ESTADO PSICOLOGICO DE LAS MUJERES.

5.1. Estado psicológico de las mujeres del estudio

La evaluación de las 11 alteraciones clínicas de la escala de Greene que forman la escala psicológica, analizadas por pruebas de multivarianza (programa SPSS). permitieron establecer un punto de corte para determinar la *presencia o ausencia de alteraciones psicológicas* a partir de la puntuación obtenida en todas las mujeres que participaron en el estudio. Se consideró tanto a las mujeres en edad reproductiva (no menopáusicas) como a las menopáusicas que respondieron las escalas (n= 135) las que de acuerdo a su estado psicológico se distribuyeron en la siguiente forma: *53 sin problema psicológico* y 82 *con alteraciones* **(tabla 12).**
En esta tabla se indica la puntuación (M±DE) considerada como base de la clasificación y el error típico de las medias, incluyéndose además la concentración (M±DE) de estradiol (E2), noradrenalina (NA), dopamina (DA), serotonina (S) y β-endorfinas (βE) correspondientes a las dos grupos mencionados. Estos resultados se expresan de manera gráfica en las Fig. 127 y 128. La primera (**Fig. 127**) representa en el panel superior la concentración (M ± DE) de las mujeres que no tuvieron alteraciones psicológicas en comparación con las que si las tuvieron y en el panel inferior, las respectivas concentraciones de E2, observándose que el E2 fue significativamente más elevado en las mujeres sin alteraciones psicológicas.
En la **Fig. 128** se ilustran los cambios en la concentración de los NTs, la NA y la DA se localizan en las gráficas superior izquierda y derecha respectivamente y en la parte inferior, las concentraciones de S y βE en mujeres sin alteraciones en comparación con las que si las presentaron; en estas últimas, la concentración de NE fue más elevada, mientras que S, DA y βE se encontraron muy disminuidas.
Los promedios o medias (M) de los dos grupos comparados mediante la prueba t para muestras independientes demostró **(tabla 13)** que existen diferencias altamente significativas entre ellos, tanto en la puntuación de la escala psicológica como en las concentraciones de E2 y de los neurotransmisores, con excepción de la DA (p= 0.09). Además de la significancia estadística (sig.) puede observarse en esta tabla, el valor de la t de student, los grados de libertad y el intervalo de confianza para la diferencia.

5.2.- Frecuencia de las alteraciones psicológicas.

Cuando se clasificaron las mujeres tomando en cuenta no solo el estado psicológico, sino además el estado fisiológico y se separó a las mujeres en edad reproductiva de las mujeres *menopaúsicas*, se tuvo una distribución que se presenta en la **tabla 14A;** donde se indica el número de mujeres de cada grupo que no tuvieron problema psicológico y las que si lo tuvieron, así como la **frecuencia relativa** expresada como porcentaje (%). En el grupo de mujeres en edad reproductiva, el porcentaje de mujeres con alteraciones psicológicas fue muy elevado (48 %), aunque menor que en el grupo de las mujeres menopáusicas (63.9 %). En la parte inferior de la tabla (**14B**) se muestra la frecuencia de las alteraciones psicológicas en las mujeres menopáusicas antes y después de administrar HRT, para lo cual se consideró el total de mujeres que recibieron tratamiento, independientemente de la dosis. Sin HRT el porcentaje de mujeres con alteraciones psicológicas fue muy elevado (80.2%) disminuyendo a 31.5% después de administrar la terapia estrógénica. Estos resultados se expresan en la **Fig. 129.**

Estadisticos del grupo

	estado psicológico	N	Media	Desviacion tip.	Error tip. de la media
puntuacion de las dos escalas (depresión y ansiedad)	sin problemas psicológicos	53	5.13	1.71	.23
	con problemas psicológicos	82	13.50	4.54	50
valores de estradiol (E2)	sin problemas psicológicos	52	117.51	69.78	9.68
	con problemas psicológicos	80	43.79	8.47	5.42
valores de noradrenalina	sin problemas				

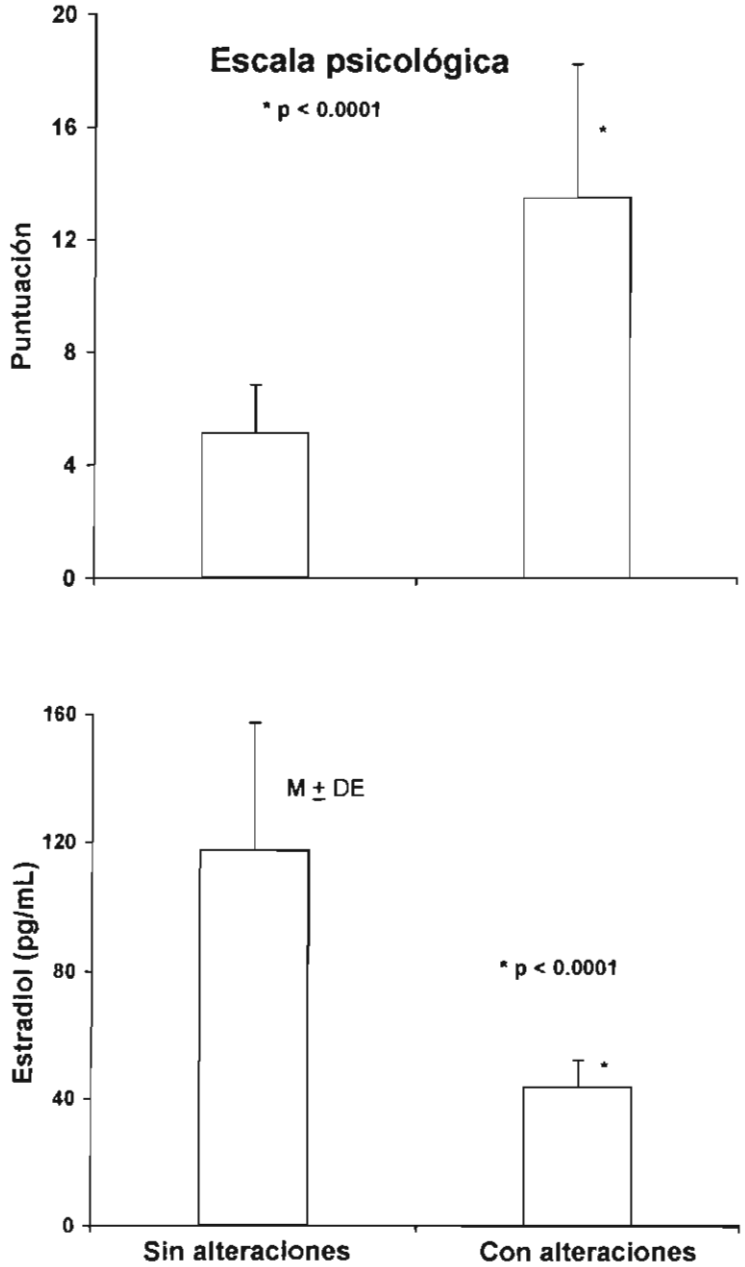


Fig.127 - Puntuación de la escala psicológica en las mujeres del estudio que no tuvieron alteraciones psicológicas (gráfica superior) en comparación con las que si las tuvieron. En la gráfica inferior las respectivas concentraciones de E2 para los dos grupos

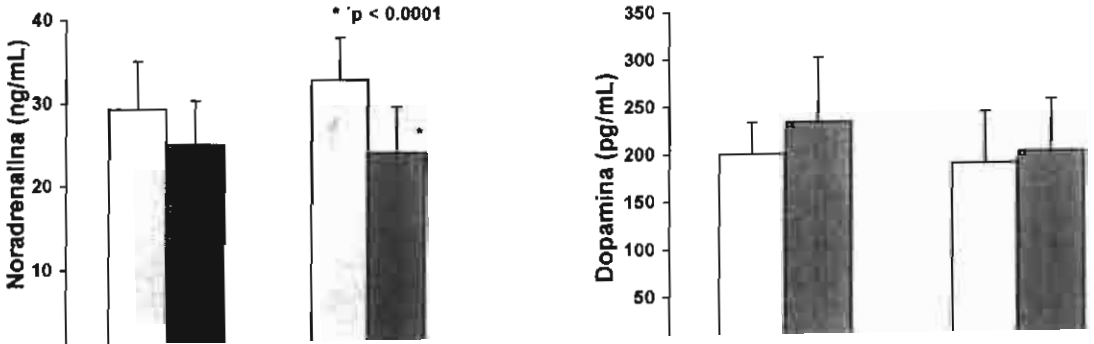

Noradrenalina (ng/mL)
40
30
20
10
* p < 0.0001
*
Dopamina (pg/mL)
350
300
250
200
150
100
50

Tabla 13.- Prueba t de Student.

Prueba de muestras independientes

		Prueba T para la igualdad de medias						
		t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error tip de la diferencia	Intervalo de confian para la diferencia	
							Inferior	Super
puntuación de las dos escalas (depresión y ansiedad)	Se han asumido varianzas iguales	7.057	133	.000	5.85	.83	4.21	
	No se han asumido varianzas iguales	7.797	130.934	.000	5.85	.75	4.37	
valores de estradiol (E2)	Se han asumido							

Tabla 14,- Distribución de las mujeres del estudio (no menopáusicas y menopáusicas) de acuerdo con su estado psicológico (sin o con alteraciones)

14A

EDOMEN			Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
no menopausica	Válidos	sin problemas psicológicos	14	51.9	51.9	51.9
		con problemas psicológicos	13	48.1	48.1	100.0
		Total	27	100.0	100.0	

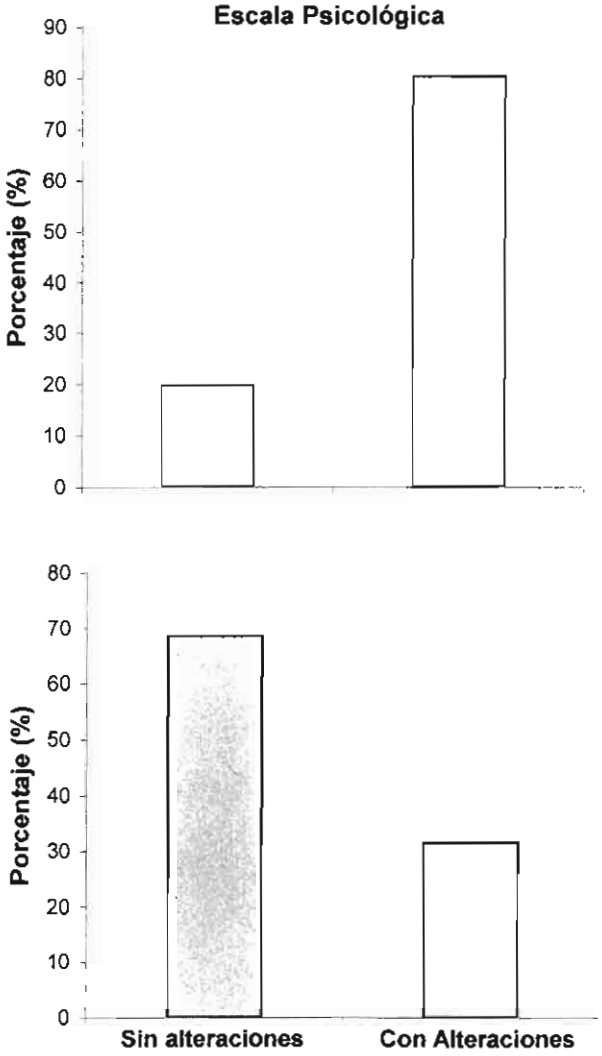


Fig. 129- Se ilustra el porcentaje de mujeres menopáusicas que presentaron alteraciones psicológicas antes (gráfica superior) y después (gráfica inferior) de recibir la terapia con estrógenos (HRT)

5.3- Relación entre el estado menopáusico y el riesgo de presentar alteraciones psicológicas.

Los datos anteriores permitieron establecer una asociación entre el estado menopáusico y el riesgo de presentar las alteraciones psicológicas, mediante una tabla estadística de 2x 2 , en la que se consideró como *variable predictora* el tratamiento (con o sin HRT) y como *variable de desenlace* a las alteraciones clínicas (presentes o ausentes).

Variable predictora	**Variable de desenlace**	
El tratamiento	***Las alteraciones psicológicas***	
Con o sin Tx	Presentes	Ausentes

Prevalencia Relativa = %Mujeres sin HRT/ %mujeres con HRT

Prevalencia Relativa = 80.2 / 31.5 = 2.54

Razón de Odds = $\frac{80.2 \times 68.5}{31.5 \times 19.8}$ = **8.8**

En esta forma se encontró en las mujeres menopáusicas , una *prevalencia relativa* de las alteraciones de **2.54** en relación a las mujeres en edad reproductiva y una ***razon de Odds*** **de 8.8**, lo que indica que aumenta 8.8 veces el riesgo de presentar alteraciones psicológicas en las mujeres sin HRT

5.4-Puntuación de las esealas en relaeión con el estado psicológico de las mujeres menopáusicas.

En la **Fig. 130** se ilustra en la gráfica del panel superior, la puntuación de la escala psicológica en las mujeres menopáusicas (M $\pm$DE), después de separar *las que no tuvieron problemas psicológicos de las que si los tuvieron*, analizando en ambos grupos el efecto del tratamiento. Puede verse que en el grupo de mujeres menopáusicas sin alteraciones psicológicas, la puntuación promedio fue de 5 puntos y >15 en las que si las tuvieron. En estas últimas, la concentración de E2 fue más baja y la puntuación de la escala más elevada; después de recibir HRT la puntuaeión disminuyó significativamente ($p < 0.0001$), aunque se mantuvo elevada en relación a la puntuación del grupo sin alteraciones, el cual no modificó su puntuación en respuesta al tratamiento a pesar del marcado incremento de los niveles de E2.

De manera similar, en la **Fig.131** se presentan los valores de NA, DA, S y B-Endorfinas correspondientes a las mujeres menopáusicas con y sin alteraciones psicológicas. Puede verse que los niveles de S y de las βEs, fueron significativamente bajas en el grupo de mujeres con alteraciones, la DA no mostró cambios importantes y la NA se encontró elevada.

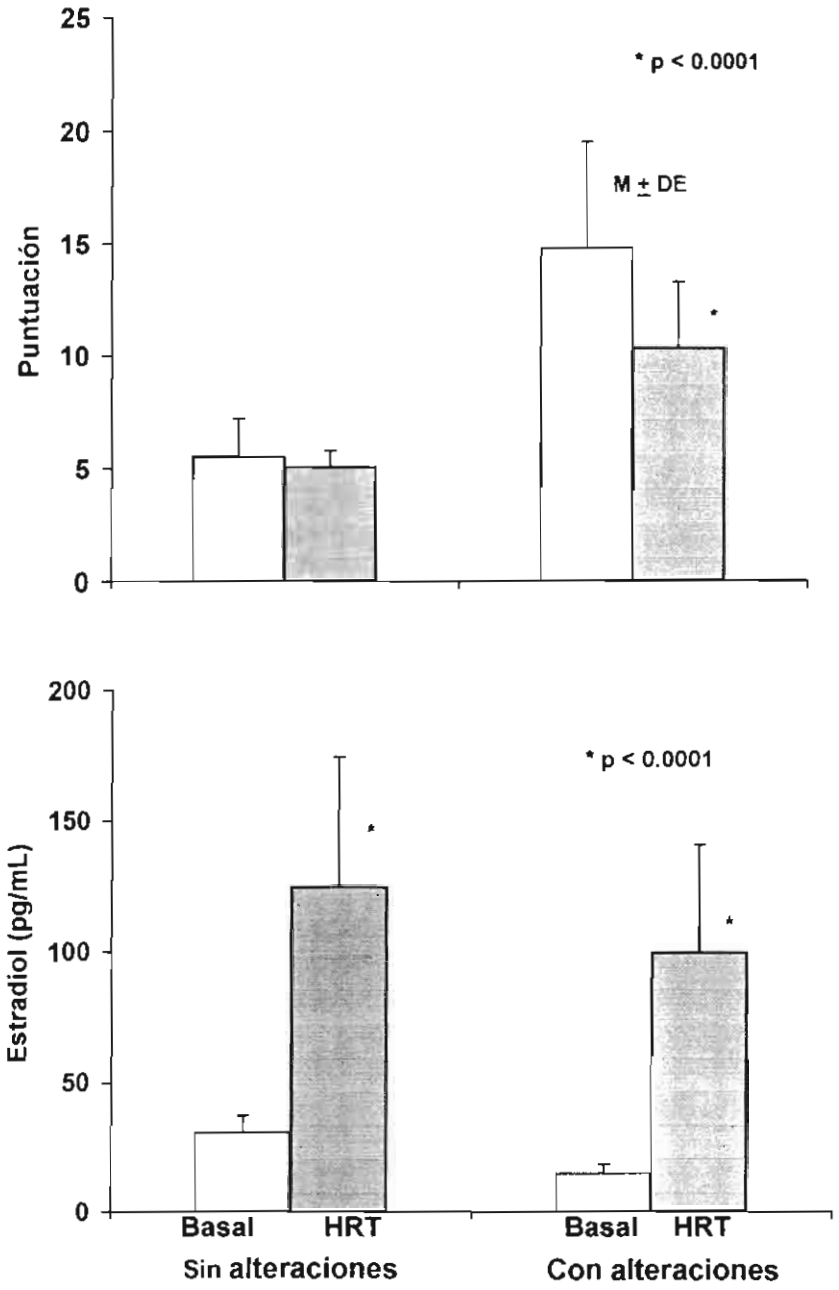
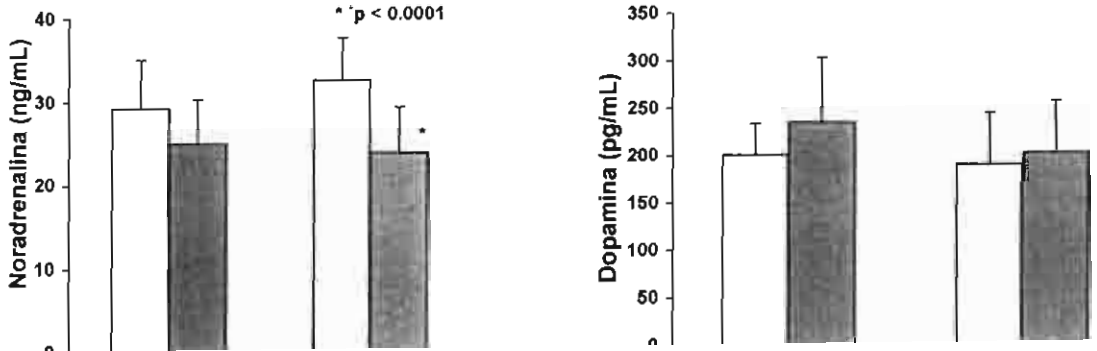


Fig. 130.- Efecto de la terapia hormonal de reemplazo (HRT) sobre la puntuación de la escala psicológica en mujeres menopáusicas en relación con su estado psicológico y el nivel de estradiol.


Noradrenalina (ng/mL)
40
30
20
10
* p < 0.0001
*
Dopamina (pg/mL)
350
300
250
200
150
100
50

V -DISCUSION

Los resultados del estudio hormonal realizado, están de acuerdo con estudios previos que muestran que la disminución de E2 y la elevación de FSH ocurren desde la etapa premenopáusica, generalmente a partir de los 42-45años y que la disminución de E2 no es brusca sino progresiva, alcanzando su menor concentración después de la menopausia, lo que condiciona la notable elevación de las gonadotropinas hipofisarias, principalmente de FSH, como consecuencia de la falla de los mecanismos de retroalimentación. Una observación importante es que ambas gonadotropinas alcanzaron su concentración máxima entre los 50 y los 55 años, con una tendencia a disminuir después de los 55 años.

La HRT disminuyó los niveles de gonadotropinas en relación proporcional a la dosis administrada, sin embargo, aun con la dosis de 1.25mg de EEC la concentración de FSH y LH se mantuvo elevada en comparación con la de mujeres con función ovárica normal. Las gonadotropinas son reguladas positivamente por la NA, neurotransmisor que determina la liberación de Gn-RH en el hipotálamo y la descarga de Gn-RH que ocurre a la ovulación, por lo que se piensa que su elevación a la menopausia, es responsable del incremento de los niveles de LH y FSH. En este mecanismo regulador, participan también la DA y la βE como importantes reguladores que controlan negativamente la producción de Gn-RH (10), ambos NTs disminuyeron a la menopausia y esto puede ser un factor adicional que contribuye a la elevaeión de GH-RH y las gonadotropinas hipofisarias.

La prolactina (PRL) hormona lactogénica relacionada a la función ovárica por su acción sinérgica con LH para la formación del cuerpo lúteo y por el efecto adverso de la hiperprolactinemia sobre las gonadotropinas hipofisarias, disminuyó a la menopausia, retornando a la normalidad cuando las mujeres recibieron HRT, aún con la dosis baja (243). El efecto inductor de los estrógenos sobre la síntesis de PRL se reflejó en la elevada relación lineal entre la concentración de PRL y el nivel de E2, lo que explica la hiperprolaetinemia moderada que se presentó en algunas de las mujeres tratadas con la dosis alta de estrógenos.Un hallazgo que no parece congruente tomando en cosideración la disminución de PRL a la menopausia, es la disminueión de los niveles de DA considerada el factor inhibidor de PRL; su disminución favorecería el incremento de PRL, lo cual no ocurrió. A este respecto, se puede argumentar que la disminución de E2 a la menopausia, determina la disminución de la síntesis de PRL, efecto que puede predominar sin importar si disminuye o no el factor inhibidor. En apoyo a esta especulación se observó que aún con la dosis de 0.312mg de EEC, se restituyeron los niveles normales de PRL en las mujeres menopáusicas. El significado fisiológico de PRL durante la menopausia no se conoce; recientes investigaciones han mostrado, que tanto PRL como GH ejercen un potente efecto estimulador sobre la proliferación y diferenciación de los linfocitos y la respuesta inmune (244), por lo que se considera que su deficiencia puede participar en la etiología de las alteraciones inmunológicas que se presentan en la posmenopausia y el envejecimiento, siendo interesante que la substitución hormonal pueda disminuir estas alteraciones .

Así como PRL, las hormonas del eje somatotrópico (GH e IGF-1) disminuyeron con la edad, sobre todo después de la menopausia. GH tuvo en mujeres posmenopáusicas, concentraciones inferiores a las de las mujeres en edad reproductiva. Después de tres ciclos de HRT, las bajas concentraciones de GH e IGF-1 aumentaron y regresaron a la normalidad y aún con 0.312mg de EEC se obtuvo una recuperación adecuada, lo que indica que es la deficiencia estrogénica más que la edad, la responsable del deterioro del eje somatotrópico(245). Restituir la actividad de este eje es importante, porque GH es una hormona metabólica que participa en la regulación de la glucosa sanguínea y la síntesis de proteinas, determina la fuerza física y la masa muscular y es una de las principales hormonas lipolíticas; su deficiencia origina cansancio crónico, pérdida de la fuerza física y la masa ósea e incremento del tejido adiposo entre otros cambios metabólicosimportantes. Además como se mencionó anteriormente, al igual que PRL tiene un efecto positivo sobre la actividad del sistema inmunológico. IGF-1 a su vez, es un importante factor de crecimiento para los osteoclastos, incrementando la síntesis de proteinas estructurales que forman la matriz ósea, por lo que su disminución participa en los mecanismos que determinan osteoporosis (246). El efecto positivo de los estrógenos sobre la actividad del eje somatotrópico puede deberse como en el caso de PRL, a la acción que ejercen a nivel hipofisario, sobre Pit-1 el factor de transcripción de PRL y GH. Además el E2 tiene un efecto positivo a nivel hipotalámico sobre GH-RH la hormona liberadora de GH y un efecto inhibitorio sobre la síntesis de somatostatina el factor inhibidor de GH, por lo que la deficiencia de E2 disminuye GH-RH e incrementa la somatostatina favoreciendo la disminución de la hormona (247). El efecto positivo de la terapia sobre IGF-1 puede estar mediado por el incremento de GH, que actúa en el hepatocito determinando la síntesis de IGF-1. Estos resultados son trascendentes, porque demuestran que la terapia estrógenica puede mejorar las alteraciones metabólicos que origina la somatopausia (248).

Estudios previos han mostrado igual que el presente estudio, que la DHEA y su sulfato (DHEA-S) disminuyen con la edad y durante el proceso de envejecimiento, a lo cual se ha denominado adrenopausia (249). En los últimos años la DHEA-S ha adquirido importancia, por considerarse el principal indicador de envejecimiento, debido a su marcada disminución con la edad. La presencia de concentraciones normales de DHEA-S en individuos viejos se relacionan con sensación de bienestar, disminución del riesgo cardiovascular, de la formación de tumores y longevidad (250). Por el contrario, existe gran contraversia, respecto al comportamiento del cortisol y la ACTH a la menopausia; en algunos trabajos se menciona que estas hormonas no se modifican, en otros que disminuyen (251) con la edad o que se incrementan (252). En este estudio, los niveles de ACTH, cortisol y DHEA-S se encontraron disminuidos a la menopausia, en relación a su concentración en mujeres en edad reproductiva y las tres hormonas respondieron a la HRT aumentando su concentración, sobre todo DHEA-S (253). La correlación lineal observada, entre los niveles de E2 y la concentración de las tres hormonas es congruente con los resultados anteriores y pone de manifiesto la importancia de los estrógenos para la actividad de las hormonas de la glándula suprarrenal.

El mecanismo responsable de esta activación no se conoce con exactitud, puede ser por diferentes mecanismos: por una parte, el efecto directo de los estrógenos sobre la expresión de CRH en el hipotálamo, lo que aumentaría la concentración de ACTH en hipófisis y en consecuencia la concentración de las hormonas de la suprarrenal (254). Por otra parte, el E2 tiene un efecto inductor sobre la P450C17-20 desmolasa la enzima que determina la síntesis de los andrógenos en la corteza suprarrenal, en especial dc la DHEA (255) y otra posibilidad es la acción de los estrógenos sobre la síntesis de la pro-opiomelanocortina (POMC), el polipéptido precursor de ACTH que se expresa en la hipófisis estimulado por E2 (141). De este polipéptido derivan también las β-endorfinas, que disminuyeron notablemente a la menopausia y se incrementaron después de administrar el tratamiento estrogénico, como ocurrió con la ACTH. Cambios simultáneos en la concentración de estas hormonas se han observado en situaciones de estrés, en las que se incrementa la POMC, y los niveles de ACTH, βE y cortisol (256), en cambio disminuyeron a la menopausia, elevando su concentración en respuesta a la HRT (257).

En contraste con los cambios observados en las hormonas de la suprarrenal y del eje somatotrópico, *la insulina* aumentó con la edad, encontrándose elevada en el suero de las mujeres posmenopáusicas. Cuando las mujeres recibieron EEC los niveles de insulina descendieron, lo que representa un efecto benéfico adicional de la terapia estrogénica por disminuir los riesgos derivados de la hiperinsulinemia Existen evidencias de que en la posmenopausia se presenta cierto grado de resistencia periférica a la acción de la insulina ; también los niveles de glucosa y de insulina tienden a aumentar propiciando hiperinsulinemia, obesidad y riesgo de desarrollar hipertensión arterial o diabetes mellitus (258). Por otra parte, algunos estudios han establecido la participación de NA en los mecanismos que determinan la secreción de insulina, así como el incremento de la actividad adrenérgica en situaciones que cursan con hiperinsulinemia e hipertensión arterial (259); estos datos apoyan los resultados del presente estudio, en el que se encontró hiperinsulinemia coincidiendo con un incremento de la NA sérica y de la concentración del VMA su principal metabolito urinario. Así del estudio hormonal realizado puede concluirse, que la disminución de los estrógenos, afecta no solamente el sistema reproductor, se extiende a otros ejes endocrinos como el somatotrópico y el suprarrenal, cuya alteración contribuye a la pérdida de la homeostasis metabólica y favorece el proceso de envejecimiento.

El estudio mostró que a la menopausia ocurren cambios importantes en la concentración de *los neurotransmisores*, caracterizados por una notable disminución de la concentración de acetilcolina, (Ach), serotonina (S), dopamina (DA) y β-endorfinas (βE), contrastando con la elevación de noradrenalina, cambios que se relacionaron con la edad y con el estado menopáusico. Aunque se manifestaron desde la etapa premenopáusica, solo fueron significativos a partir de la edad en la que se presentó la menopausia, probablemente como resultado de la deficiencia de los estrógenos, con excepción de S que disminuyó paulatinamente a partir de los 40 años y tuvo una marcada relación con la edad. Algunos estudio han evaluado la concentración de *NA* en relación con la edad, sin embargo, la mayoría se han realizado en hombres con problemas de obesidad, hipertensión arterial o diabetes y muy pocos han estudiado mujeres (260).

En ellos se ha demostrado, que el ejercicio y la actividad física intensa, incrementan los niveles de NA en los individuos viejos, no así en los jóvenes, lo que se interpreta como resultado de un aumento del tono noradrenérgico, observándose que aún en individuos normotensos el recambio de NA se incrementa con la edad, por lo que se concluye que el envejecimiento, la obesidad y el nivel de actividad física son factores determinantes de los niveles de NA, hormona que es muy importante para el control de la presión arterial (261).
Las mujeres posmenopáusicas frecuentemente sufren de hipertensión arterial; aún en condiciones de reposo la presión sistólica tiende a ser más elevada y de acuerdo con la concentración sérica de NA, a la vez que se presentan cambios en el estado de ánimo y la conducta afectiva (262). En las mujeres del presente estudio, la concentración de NA se relacionó positivamente con la edad y se encontró elevada a la menopausia y aunque no se consideró la actividad física, ni el grado de obesidad, se encontró hiperinsulinemia coincidiendo con el incremento de NA. Considerando que la medición de NA en plasma, es el mejor indicador del tono simpático (263) puede decirse que en la menopausia y el envejecimiento de la mujer, la actividad del sistema nervioso simpático está aumentada. La HRT produjo después de tres meses de tratamiento, un efecto positivo sobre el sistema noradrenérgico, disminuyendo significativamente la concentración de NA con las tres dosis. De acuerdo con estos resultados existen reportes en la literatura en los que se ha encontrado que mujeres posmenopáusicas hipertensas que recibieron HRT, disminuyeron su nivel de NA y respondieron mejor a su tratamiento mejorando su presión arterial (264).
El papel de la deficiencia de estrógenos en la etiología de las alteraciones del sistema noradrenérgico puede ser explicado, por el efecto inhibidor que ejerce el E2 sobre la biosíntesis de NA mediante la formación de catecol-estrógenos (265) y se pone de manifiesto en la elevada relación lineal negativa que se obtuvo entre los niveles de E2 y la concentración de esta monoamina. En la menopausia la declinación del nivel de estradiol puede originar la disminución de los catecol estrógenos y en consecuencia, la elevación de la NA a nivel central, sobre todo en el hipotálamo, por lo que el sistema noradrenérgico puede tornarse hiperactivo.

La información sobre la *Dopamina* en el envejecimiento es escasa y contradictoria. Se ha reportado que en cerebro de rata, los estrógenos producen una acción dual sobre el sistema dopaminérgico, ejerciendo efectos agonistas o antagonistas que dependen de la dosis y del tiempo de administración de los estrógenos (266). También se ha reportado que los estrógenos pueden actuar sobre las neuronas dopaminérgicas a nivel de receptores de membrana, disminuyendo el flujo de calcio e incrementando la liberación de DA (267).
En las mujeres de este estudio la dopamina disminuyó con la edad, con cambios importantes después de los 50 años; a la menopausia, los niveles de DA fueron menores que en la edad reproductiva y su concentración volvió a la normalidad con HRT, siendo mayor el efecto con la dosis baja de estrógenos (0.312mg) y menor con la dosis elevada (1.25mg) confirmando que la acción de los estrógenos sobre el sistema dopaminérgico, puede ser dosis dependiente. En cerebro de rata, los estrógenos producen un incremento de la actividad dopaminérgica en la región nigroestriatal, donde la DA regula la actividad motora y en el sistema límbico donde DA interviene en la regulación de la conducta (268), de ahí que en el humano las alteraciones del sistema dopaminérgico se relacionen con diskenesias,

estados depresivos (112-113) e incluso con esquizofrenia (111). Los resultados indican que la deficiencia de estrógenos a la menopausia, produce una disminución de DA y una elevación de NA que predispone a la depresión, lo que está de acuerdo con estudios recientes que apoyan el papel de los estrógenos en la etiología de las alteraciones psico-emocionales del climaterio (157). Los estrógenos inducen también la síntesis de los receptores D-2 de la DA (77) por lo que la deficiencia estrogénica ocasiona además de la disminución de DA, la falla de los receptores, determinando el deterioro del sistema dopaminérgico, alteraciones de la actividad motora, la coordinación muscular y cambios psico-emocionales.

Otro circuito neuronal afectado por la deficiencia de estrógenos fue *el sistema serotoninérgico*. Los resultados mostraron que la S disminuyó con la edad siendo el neurotransmisor que además de ACh presentó alteraciones más tempranas, disminuyendo desde la etapa premenopáusica, hasta concentraciones muy bajas a la menopausia, sobre todo después de los 50 años. La disminución de *serotonina* en relación con la edad y la menopausia ha sido motivo de recientes estudios donde se le ha encontrado también disminuida (269). Se sabe que la concentración de serotonina y sus receptores, se modifican en las diferentes fases del ciclo mestrual (270) y que disminuyen en estados de hipoestrogenismo y en el síndrome menopáusico, cambios que generalmente se acompañan de alteraciones psico-emocionales, estados depresivos (125) y alteraciones del sueño (128) lo que se confirmo en este estudio por la puntuación que alcanzaron las escalas de ansiedad y depresión en relación con los cambios en el nivel de serotonina. El tratamiento con EEC a las dosis de 0.312 y 0.625mg , aumentó la concentración de S significativamente y como ocurrió con la DA, el efecto fue menor con la dosis de 1.25 mg. Resultados similares se encontraron para el 5OHIAA su principal metabolito urinario, que disminuyó a la menopausia y aumentó con la HRT; sin embargo, con ninguna de las dosis administradas, se recuperó el nivel de S o el 5OHIAA que tuvieron las mujeres en edad reproductiva.
Estos resultados concuerdan con lo reportado por Lippert y colaboradores quienes encontraron que la HRT que produce niveles de E_2 dentro de límites fisiológicos, similares a los encontrados en la fase folicular, incrementaban el nivel de S y la excresión del 5OHIAA; sin embargo, dosis más elevadas disminuían la captación de triptofano y la síntesis de S, produciendo además una disminución de los receptores por down-regulación coincidiendo con la presencia de síntomas depresivos (271).

De estos resultados y de acuerdo con otros estudios (272), puede decirse que los estrógenos en la menopausia favorecen el incremento de los niveles de S, como también lo indica la relación lineal entre la concentración de S y los niveles de E_2; el tratamiento con dosis elevadas parece producir un efecto adverso, sin corregir el deterioro el sistema serotoninérgico. Aunque el mecanismo de acción no ha sido determinado, se piensa que el efecto positivo puede deberse a varias causas: la inducción de la triptofano hidroxilasa por los estrógenos aumentando la síntesis de serotonina (273) de un aumento en la proteina transportadora de S (274).y por la disminución de la monoamino oxidasa, la enzima que degrada S y que es regulada negativamente por estrógenos (275).

Las β-Endorfinas (βE) también disminuyeron con la edad, coincidiendo su disminución con la presentación de la menopausia y los primeros años posmenopáusicos (46-50 años). Esto unido a la elevada relación lineal entre los niveles de βE y la concentración de E2 (la más elevada de los cuatro NTs) indica que los estrógenos participan de manera importante, en los mecanismos que regulan la concentración de βEs, probablemente por el efecto inductor dc E2 sobre la síntesis de la pro-opiomelanocortina (141). El tratamiento con estrógenos revirtió los cambios sobre la βE, que regresó a concentraciones similares a las observadas en las mujeres jóvenes. Esto es importante porque los péptidos opiodes y la βE se relacionan no solo con el control de Gn-RH y los eventos reproduetivos; también participan en la regulación del humor, la sensación de bienestar y la conducta afectiva que se modifica en situaciones que cursan con hipoestrogenismo, como son el síndrome premenstrual, la depresión posparto y la depresión posmenopáusica (276).

En el presente estudio la disminución de βEs se relacionó con manifestaciones de angustia y depresión, alteraciones somáticas como los adormecimientos y con la puntuación del cuadro vasomotor. En relación a este último, algunos investigadores han reportado una asociación entre los niveles elevados de NA, LH y la actividad del sistema opioide durante los bochornos, así como una mejoría de las alteraciones vasomotoras cuando las pacientes son tratadas con naloxona antagonista opioide, lo que apoya la participación de las βEs en las alteraciones vasomotoras (277). El efecto positivo de la HRT sobre la concentración de βE se ha observado en estudios realizados no solo con EEC, también con tibolona compuesto que produjo una recuperación importante de los niveles de βE después del tratamiento, mejorando el cuadro vasomotor y el estado psicológico de las pacientes (278) tal como ocurrió con EEC. También se ha reportado incremento de la actividad opioide en mujeres menopáusicas tratadas con E2 transdérmico (279).

En el caso de la *acetilcolina* (ACh), los resultados claramente demuestran su disminución en relación con la edad; en las mujeres menopáusicas se tuvo menos del 50 % de la concentración de las mujeres en edad reproductiva y a los 55 años solo un 30% de la concentración observada en mujeres de 36-40 años. A la menopausia, la concentración de ACh fue significativamente menor que en las mujeres con función ovárica normal, reflejando la importancia de los estrógenos para la síntesis de Aeh. Por otra parte, su recuperación después de tres meses de tratamiento con estrógenos a las tres dosis administradas, aunque significativa no fue total, alcanzando solo el 75% de la concentración de las mujeres jóvenes, lo que indica que aunque la HRT con EEC tiene un efeeto positivo sobre ACh, persiste cierto deterioro del sistema colinérgico. Estos resultados están de acuerdo con estudios en los que se han encontrado variaciones importantes de ACh en función del sexo, y en las mujeres en las diferentes fases del ciclo menstrual y al avanzar la edad, con estrecha relación entre el nivel de esteroides sexuales y la capacidad cognoscitiva (280). El deterioro del sistema colinérgico en la posmenopausia, se ha asociado con pérdida de la memoria, problemas de concentración, dificultad para el aprendizaje y la expresión oral, apoyando la idea de que la función cognoscitiva en la mujer es influenciada por el nivel de estrógenos.Los datos de ACh en este estudio, concuerdan con lo anterior; *la falta de concentración* tuvo una puntuación elevada a la menopausia y mejoró con HRT coincidiendo con el incremento de los niveles de ACh.

A este respecto Jacobs y colaboradores realizaron un estudio con 727 mujeres posmenopáusicas, observando que las que tomaban estrógenos alcanzaban mayor puntuación en pruebas de lenguaje, memoria y razonamiento abstracto, así como un mejor desempeño en la expresión verbal y la memoria visual, en comparación con mujeres sin substitución hormonal (281). Por otra parte, pruebas específicas diseñadas para evaluar la memoria y algunos aspectos del conocimiento como la prueba de memoria de Guild (GMT), la prueba selectiva de Buschke-Fuld o la escala de Wechsler (282) aplicadas a mujeres menopáusicas mostraron que aquellas tomando estrógenos conjugados a la dosis de 0.625mg, respondieron mejor que las mujeres sin tratamiento, concluyendo que la HRT protege a la mujer de la disminución de la capacidad intelectual (283). Debido a lo anterior se considera que la disminución de los estrógenos en la etapa posmenopáusica, es un factor de riesgo para la enfermedad de Alzheimer (284). En un estudio longitudinal sobre envejecimiento y salud, realizado en 1124 mujeres, la edad de inicio de la enfermedad fue significativamente más tardía y el riesgo menor, en mujeres que habían tomado estrógenos por más de un año y no se presentó en mujeres que estaban tomando estrógenos (285). Además, la terapia estrogénica en combinación con inhibidores de la acetil colinesterasa resultó ser un tratamiento de utilidad para mejorar la función cognoscitiva en mujeres con enfermedad de Alzheimer (286) lo que puede deberse al efecto inductor de E2 sobre la síntesis de Ach y sus receptores, a la acción promotora de los estrógenos sobre el crecimiento neuronal, el incremento de las sinapsis, la síntesis de NGF, la sobrevida de las neuronas colinérgicas, la protección contra el estress oxidativo y la disminución de la síntesis de la proteina amiloidea, como se mencionó anteriormente.

Por otra parte, la evaluación del estado psicológico, las alteraciones somáticas y otras manifestaciones climatéricas mediante la *Escala del climaterio de Greene* mostró que las mujeres menopáusicas presentan *síntomas de ansiedad* de los cuales el nerviosismo, el insomnio y falta de concentración, alcanzaron mayor severidad y fueron las más frecuentes. El nerviosismo aunque respondió a la HRT, parece ser dependiente del incremento de NA y la disminución de S, más que de la disminución de E2, lo que hace pensar que el efecto de la terapia puede estar determinado por el efecto positivo de E2 sobre la concentración de estos neurotransmisores. En cambio en el caso del insomnio y la falta de concentración, la deficiencia de E2 fue más importante que la disminución de serotonina y β-endorfinas, neurotransmisores que junto con la disminución de E2 determinaron el incremento de la puntuación, volviendo a la normalidad cuando las mujeres fueron tratadas con estrógenos.

De los *síntomas de depresión*, la falta de energía, la tristeza y la irritabilidad se presentaron en un porcentaje elevado de mujeres menopáusicas, propiciadas por el incremento de NA y la disminución de S y βE, neurotransmisores que se relacionaron significativamente con la puntuación total de la escala, que en cambio fue poco afectada por el nivel de DA. Este resultado fue inesperado ya que en diversas publicaciones se ha establecido la participación del sistema dopaminérgico en la etiología de la depresión.(169). En *la irritabilidad* aunque influyeron los cambios de concentración de los cuatro NTs, fueron determinantes para el aumento de la puntuación, la elevación de NA y la disminución de E2.

Sin embargo, de los indicadores de depresión el más importante por su elevada frecuencia fue *la anergia*; las mujeres se quejaron de cansancio y falta de energia, alteración que alcanzó una de las puntuaciones más elevadas. Esto concuerda, con un estudio reciente del Medical Research Council realizado en 141 mujeres posmenopáusicas, en el que los resultados analizados por regresión múltiple, mostraron que el mejor indicador de depresión así como de abulia sexual fue la falta de energia (287). La puntuación total de la escala psicológica, dada por la suma de las escalas de ansiedad y depresión, duplicó su puntuación después de la menopausia, con diferencias significativas en relación con la puntuación de las mujeres jóvenes, siendo el incremento de NA y la disminución de S y βEs los cambios de los NTs que más influyeron.

Los estudios referentes al papel de los estrógenos en las alteraciones psico-emocionales son muy controvertidos; algunos artículos con un enfoque psicológico como el proyecto de Manitoba, mencionan que no existen suficientes evidencias para establecer una relación entre menopausia y depresión (288). Otros encuentran un incremento de la prevalencia de episodios depresivos en mujeres premenopáusicas y posmenopáusicas y una mejoría evidente de las alteraciones con THR apoyando los resultados de este estudio y dando las bases para la participación de los estrógenos en la etiología de la depresión (289).

Kraepelin en 1906 acuño el término "melancolia involucional" como un estado de la mujer que se presenta en la cuarta década de la vida, que incrementa con la edad y produce ansiedad, depresión e hipocondriasis. Aunque este término fue desechado posteriormente, permitió visualizar los cambios psico-emocionales que ocurren en la mujer durante las diferentes fases del ciclo mestrual (290) y la hacen vulnerable para el desarrollo de las enfermedades psico-afectivas e incluso psiquiátricas a la menopausia. Estas generalmente son más frecuentes en mujeres que presentaron cuadros depresivos previos durante el síndrome premestrual, indicando una relación entre los cambios hormonales, el hipoestrógenismo y las alteraciones psico-emocionales (291). Lo contrario también se ha observado en la práctica clínica, la depresión favorece la disfunción ovárica, la presencia de factores emocionales o el estrés alteran el funcionamiento del eje hipotálamo-hipófisis-ovario determinando la aparición de amenorrea hipotalámica (292) en la que también ocurren cambios en la concentración de neurotransmisores cerebrales (293). Se ha sugerido, que la depresión puede ser causa de menopausia prematura por la estrecha relación entre los mecanismos neuroendocrinos que regulan la secreción hormonal y el estado psico-afectivo, mediado probablemente a través de los esteroides gonadales (294).

Otro aspecto que apoya el papel de los estrógenos en la etiopatogenia de las alteraciones psico-emocionales es la respuesta a la HRT. La administración de estrógenos tiene efectos antidepresivos (295) utilizándose frecuentemente estrógenos en asociación con drogas antidepresivas para el tratamiento de mujeres con depresión mayor (296). El mecanismo de acción propuesto incluye la acción de los estrógenos sobre el sistema noradrenérgico, serotoninérgico y dopaminérgico que en este estudio se modificaron en respuesta a la terapia, así como la acción de los estrógenos sobre sus receptores y las enzimas que participan en su metabolismo, además de sus conocidos efectos sobre el metabolismo cerebral en el hipocampo, la amigdala y otras estructuras del sistema límbico (297); lo que explica su eficacia en el tratamiento de las alteraciones psicoemocionales, además de mejorar la capacidad cognoscitiva y otras alteraciones climatéricas.

La inconsistencia de los resultados en diversos estudios clínicos publicados, parece deberse a la falta de estandarizaeión de las escalas utilizadas para evaluar la presencia de ansiedad y depresión (debiendo distinguirse además entre depresión mayor, euadros depresivos intensos o presencia de simples manifestaciones de depresión), diferente tamaño de las muestras, tipo de población estudiada, edad y la existencia de enfermedades psicoafectivas previas a la menopausia, así como los diferentes esquemas de tratamiento, la dosis utilizada y la vía de administración. No puede excluirse la participación de factores psico-sociales, culturales y familiares en la etiología de la depresión.

De las *alteraciones somáticas* destacaron por su elevada frecuencia y severidad las artralgias, la cefalea y los adormecimientos, seguidas por la presión en la cabeza y la dificultad para respirar, siendo las primeras las más importantes. De estas manifestaciones, las artralgias, la presión en la cabeza y la dificultad para respirar se relacionaron con el incremento de NA y con la disminución de S. En cambio la DA solo se relacionó significativamente con la puntuación de las artralgias, y la βEs con los adormecimientos, por lo que puede decirse que con excepción de la NA que tuvo una relación directa con la puntuación de las alteraciones somáticas, otros neurotransmisores no fueron determinantes de la puntuación de esta escala, a diferencia del E2 que tuvo un marcado efecto sobre las alteraciones somáticas.

El *cuadro vasomotor* mostró elevada relación con NA y con DA; su concentración se relacionó significativamente con la puntuación de los bochornos y la sudoración nocturna y en menor grado con βEs, sin relación aparente con la concentración de serotonina., indicando un papel predominante de las catecolaminas en la severidad de las alteraciones, lo que concuerda con reportes previos en los que se ha encontrado una elevación de NA, GnRH, LH y βEs durante los bochornos. (200-202).

En la *escala sexual,* la puntuación coincidió con cambios importantes en la concentración de los 4 NTs en especial de NA y DA, como lo demostró la elevada relación entre la concentración de estos NTs y la abulia sexual, que también se ha relacionado en algunos trabajos con las alteraciones psicológicas que se presentan en las mujeres posmenopáusicas, mejorando ambas alteraciones, al administrar HRT (298).

El impacto global de los NTs sobre las alteraciones climatéricas, se refleja en la elevada relación de su concentración con la puntuación total de la Escala de Greene, observándose que son los cambios en la concentración de NA, βE y S los determinantes de la puntuación de la escala, con menor efecto por parte de DA. Otra observación importante derivada de los resultados del estudio, es que las alteraciones clínicas incluyendo las manifestaciones psicológicas de angustia y depresión, mostraron ser altamente dependientes del nivel de E2. La mayoria de las alteraciones no se presentaron cuando las mujeres tuvieron concentraciones de 60-80 pg/mL de E2, pero se manifestaron cuando su concentración fue menor de 40pg, lo que explica su aparición a la menopausia que cursa con cifras menores a 30pg/mL. Con la HRT alteraciones como palpitaciones, excitabilidad, inseguridad (miedos), apatía, tristeza, crisis de llanto e irritabilidad, mejoraron notablemente con la dosis de 0.312mg de EEC, disminuyendo su frecuencia y severidad, así como la puntuación de las escalas, que regresó a la observada en las mujeres jóvenes.

Alteraciones como el nerviosismo, el insomnio, la falta de concentración y la anergia, no se presentaron solo cuando el E2 fue superior a 80-100pg/mL, requiriendo la dosis de 0.625mg para alcanzar dicha concentración, no obstante, mejoraron con 0.312mg de EEC.
Las alteraciones de la *escala somática* por lo general respondieron satisfactoriamente a la dosis baja, solo las parestesias y la dificultad para respirar requirieron un nivel más elevado de E2 y lo mismo ocurrió con los bochornos, la sudoraeión nocturna y la abulia sexual que respondieron mejor a las dosis de 0.625 y 1.25mg. Con el tratamiento estrogénico, el número de mujeres sin alteraciones aumentó considerablemente y en las que aún se presentaron las alteraciones fueron ligeras, solo en un porcentaje muy bajo fueron severas, por lo que puede decirse que la HRT a las diferentes dosis, mejoró la sintomatología climatérica. Las alteraciones vasomotoras aunque mejoraron notablemente, no desaparecieron totalmente con el tratamiento estrogénico, llamando la atención que la puntuación del cuadro vasomotor y de la escala somática respondieron mejor a 0.625mg de EEC que a 1.25mg, dosis que fue menos efectiva que 0.312 y 0.625mg, con excepción de la escala sexual que aunque mejoró con la dosis baja, mantuvo su puntuación relativamente elevada y requirió dosis mayores para un mejor efecto. En relación con la puntuación total de las escalas, los resultados son concluyentes, tanto la escala de ansiedad como la escala de depresión regresaron a la normalidad con 0.312mg de EEC y la puntuación de la escala de ansiedad disminuyó aún más con 0.625 y 1.25mg, sin embargo, la puntuación de la escala de depresión no se modificó significativamente al incrementar la dosis y lo mismo puede decirse respecto a la escala somática que mostró una respuesta adecuada con 0.312 y 0.625mg de EEC.En apoyo a la eficacia de la dosis baja (0.312mg) para el tratamiento de los síntomas climatéricos, recientemente han aparecido publicaciones que apoyan el uso de las dosis bajas de estrógenos, demostrando su utilidad para disminuir las diferentes alteraciones que se presentan en la posmenopausia, incluyendo las alteraciones de la función cognoscitiva (299), mencionándose además, que la continua exposición a dosis altas de estrógenos, determina down-regulación de sus receptores, baja capacidad de unión, desensibilización y disminución de la respuesta celular y un estado refractario a la acción de los estrógenos, a lo que puede deberse la falta de respuesta observada en algunos esquemas terapéuticos, y las discrepancias entre diferentes trabajos en los que se han utilizado diferentes dosis de estrógenos (300-301). Esto puede explicar también los resultados de este estudio, en el que se encontró que algunas alteraciones respondieron mejor a las dosis bajas,siendo menor el efecto en las mujeres que tomaron 1.25mg de EEC.
Considerando los cambios en la puntuación total de la escala de Greene después de administrar la terapia, puede decirse que las tres dosis fueron efectivas para tratar las manifestaciones climatéricas y aunque los resultados parecen ser mejores con 0.625mg, el análisis de varianza (ANOVA) mostró que no existen diferencias entre las diferentes dosis, al menos en lo que a la escala psicológica se refiere. No obstante, la puntuación de algunas alteraciones disminuyó al aumentar la concentración de E2, con una elevada relación lineal negativa entre la concentración de E2y la puntuación total de las escalas, lo que concuerda con resultados de otros estudios (302) y parece señalar la importancia de los estrógenos en la etiología de las alteraciones.

Una de las principales interrogantes planteada en la hipótesis del estudio, fue averiguar si la escala psicoafectiva se modificaba a la menopausia, y si el tratamiento con estrógenos podía revertir las alteraciones, ya sea en forma directa o por su acción sobre la síntesis y metabolismo de los NTs. Como los resultados muestran, la puntuación de las escalas de ansiedad y depresión aumentó significativamente a la menopausia y volvió a la normalidad con tres ciclos de HRT a las dosis administradas, demostrando la eficacia del tratamiento, no solo para revertir los cambios hormonales y de los neurotransmisores, también las alteraciones psico-emocionales y las alteraciones somáticas y mejorar el cuadro vasomotor. Cuando las mujeres del estudio se clasificaron en función de su estado psicológico en *mujeres con y sin alteraciones psico-emocionales,* independientemente del estado menopaúsico, se vió que la puntuación de la escala psicológica, así como los niveles de E2 y de los NTs, fueron estadísticamente diferentes en estos dos grupos. La puntuación de la escala, fue más elevada en el grupo con alteraciones y la concentración de E2 más baja, como también fue diferente la concentración de los NTs; más elevada la NA y más baja la concentración de S y βE; solo la DA, no mostró cambios significativos entre los dos grupos, coincidiendo con lo observado anteriormente cuando se analizaron los resultados en relación con el estado menopaúsico. Esto permite pensar que la DA es un neurotransmisor muy importante para los mecanismos que regulan la secreción hormonal de la hipófisis, pero que de acuerdo a nuestros resultados no fue trascendental para las alteraciones psico-emocionales. Con la HRT la concentración de NA disminuyó a cifras similares a las de las mujeres sin alteraciones y la S y las βE aumentaron, sobre todo esta última, mientras que la concentración de DA no se modificó significativamente en respuesta al tratamiento.

Algunos investigadores han mencionado que las alteraciones somáticas y vasomotoras son consecuencia directa de la disminución de los estrógenos, pero que el componente psicológico puede ser independiente de la acción de E2, ya que está condicionado por el ambiente sociocultural, el impacto que produce la pérdida de la función reproductora y el proceso de envejecimiento, y que es difícil distinguir las alteraciones psicológicas determinadas por cambios en los neurotransmisores cerebrales, de aquellas ocasionadas por la presencia de factores psicológicos específicos, como son alteraciones en la percepción de la vida, problemas familiares o conyugales y el ambiente sociocultural y familiar de la mujer en esta etapa de la vida. Como se mencionó anteriormente, la puntuación de la escala psicológica aumentó a la menopausia y estas alteraciones se presentaron antes que los cambios somáticos que fueron de aparición más tardía, generalmente después de la menopausia y aunque no se controlaron factores psicosociales o el ambiente sociocultural y familiar, los resultados del análisis de los NTs y la excelente respuesta a la HRT, apoyan la participación de los neurotransmisores y la deficiencia de estrógenos, como factores muy importantes en la patologia psico-afectiva del climaterio, aunque no excluyen los factores psico-sociales mencionados anteriormente. La HRT revirtió los cambios hormonales, disminuyó la elevada concentración de NA e incrementó los niveles de DA, S y βE, teniendo así un efecto positivo sobre la concentración de los NTS mejorando las alteraciones clínicas .

Es importante recalcar que las once manifestaciones clínicas que forman la "Escala psicológica", mejoraron con HRT, retornando la puntuación a la normalidad con las dosis baja de estrógenos, coincidiendo la elevación de los niveles de E2 con los cambios en la concentración de los neurotransmisores y de sus metabolitos urinarios, así como con la disminución de la puntuación de las escalas. Puede decirse que de las manifestaciones clínicas evaluadas en la Escala del climaterio de Greene todas respondieron a E2, sin embargo, las manifestaciones psico-afectivas fueron las más sensibles a la deficiencia estrogéniea y respondieron mejor a la terapia hormonal eon dosis bajas. El efecto estrógenico puede estar mediado por la acción de E2 acción sobre la síntesis y metabolismo de los NTs, pero también puede ser directo por las múltiples acciones adicionales de los estrógenos sobre el metabolismo neuronal, la síntesis de enzimas y receptores, síntesis de proteinas estructurales y factores de crecimiento, plasticidad de las neuronas, efectos anti-oxidantes, supervivencia de las células cerebrales y muchas otras acciones, mencionadas con anterioridad (297).
Aunque la frecuencia de alteraciones psicológicas en el grupo de mujeres con función ovárica fue elevada (48%) fue menor que en las menopaúsicas, (63.9%) incluyendo todas las mujeres con y sin HRT, aumentando a 80.2% cuando se consideraron solo las menopáusicas sin tratamiento. La frecuencia disminuyó notablemente después de administrar HRT (31.5%) independientemente de la dosis administrada, indicando que los estrógenos conjugados son efectivos en el tratamiento de las alteraciones psico-emocionales del climaterio. La THR es muy importante, si se considera que la prevalencia de alteraciones psicoemocionales en la mujer menopaúsiea fue 2.5 en relación a la no menopáusica y que el riesgo de presentar alteraciones psicológicas aumentó 8.8 veces en aquellas mujeres que no recibieron substitución hormonal.

En resumen puede decirse que los resultados del estudio son importantes porque en la literatura, solo se ha establecido la relación entre neurotransmisores y alteraciones psico-emocionales por una parte, y por otra la acción de los estrógenos sobre la concentración de los neurotransmisores, pero en ninguno de ellos se ha determinado la frecuencia y severidad de las alteraciones climatéricas en relación con la coneentración de neurotransmisores y el nivel de E2 en forma conjunta como se hizo en este trabajo. Tampoco se ha determinado simultáneamente la respuesta de los neurotransmisores y de las alteraciones climatéricas a la HRT, siendo esto lo que permitió determinar la importaneia de los diferentes neurotransmisores en la etiología de las alteraciones y su dependencia del nivel de estrógenos.

CONCLUSIONES

De los resultados puede concluirse, que el hipoestrogenismo de la menopausia afecta no solamente al sistema reproductor, repercute en otros ejes endocrinos como el somatotrópico y el suprarrenal que también disminuyen su actividad, favoreciendo un desequilibrio neuroendocrino que origina cambios metabólicos importantes y puede favorecer el proceso de envejecimiento. La deficiencia de los estrógenos se relacionó también con cambios importantes en la concentración de los neurotransmisores cerebrales, aumentando la noradrenalina, mientras que la acetil colina, la dopamina, la serotonina y las β-endorfinas disminuyen en relación directa con el grado de hipoestrogenismo.

Un elevado porcentaje de mujeres menopáusicas presentaron síntomas de *ansiedad y depresión*, así como *alteraciones psicosomáticas, vasomotoras y abulia sexual*, de las cuales las alteraciones psicológicas fueron muy importantes por su frecuencia y severidad.
Estas alteraciones se relacionaron con cambios en la concentración de los neurotransmisores, en especial con la elevación de norepinefrina y la disminución de serotonina y β-endorfinas, con poco efecto por parte de la dopamina y también presentaron elevada relación con los niveles de estradiol, que parecen influir en la frecuencia y severidad de las alteraciones climatéricas. De acuerdo al análisis estadístico realizado, la elevación de norepinefrina y la disminución de estradiol, fueron los principales *factores de riesgo* para presentar alteraciones psicológicas en la menopausia, ya que influyen de manera importante en la puntuación de las escalas de ansiedad y depresión, siendo además los que tuvieron mayor relación con la puntuación total de la escala de Greene; sin embargo no puede descartarse la importancia de la serotonina y la β endorfina.
Un aspecto sobresaliente de los resultados, es que las concentraciones hormonales y de los neurotransmisores se corrigieron y las alteraciones climatéricas mejoraron notablemente con HRT; aunque se debe mencionar que se registraron diferencias importantes entre las diferentes dosis utilizadas. La dosis de 0.625mg de EEC tradicionalmente utilizada, tiene ventajas sobre la dosis de 0.312mg en algunas de las alteraciones de la escala como son las vasomotoras y la abulia sexual, que tuvieron un resultado más satisfactorio con 0.625 y 1.25mg. La dosis de 1.25mg tuvo menor efecto sobre las alteraciones somáticas y de la escala psicológica, que la dosis de 0.312 y 0.625mg; además, su uso tiene mayor riesgo de que se presenten efectos secundarios indeseables de los estrógenos, que no se observan cuando se administran dosis menores, de ahí la tendencia actual de utilizar dosis bajas de estrógenos. La dosis de 0.312mg por lo general fue adecuada para el tratamiento de las alteraciones climatéricas, en especial las de la escala psicológica, con resultados iguales o muy similares a los de 0.625mg y en general puede mejorar la sintomatología de las mujeres posmenopáusicas, mejorando su calidad de vida.

Los resultados del presente estudio son importantes porque ponen de manifiesto la importancia de los estrógenos en el funcionamiento cerebral y las numerosas alteraciones que ocasiona su deficiencia, señalando las consecuencias que puede tener para la vida de la mujer en la etapa posmenopáusica y la conveniencia de administrar terapia hormonal de reemplazo, sobre todo en aquellas mujeres que presentan alteraciones o molestias evidentes.

Por otra parte los resultados son alentadores y estimulan a eontinuar el estudio en esta área. abriendo una línea de investigación para probar el efecto de nuevos compuestos que estan siendo utilizados como terapia de reemplazo, como son la tibolona , el raloxifeno y algunos otros agonistas selectivos de los receptores de estrógenos (SERMS), siendo interesante conoccr su comportamiento sobre los NTs y las alteraciones climátericas. Otro probable campo de investigación, es el estudio de los neurotransmisores y el estradiol en relación con la enfermedad de Alzheimer y la función cognoscitiva (quc no fue evaluada en este trabajo) y que de acuerdo con resultados de recientes investigaciones, los estrógenos pueden mejoran el estado intelectual , la memoria y la expresión oral de las pacientes que reciben terapia hormonal con estrógenos.

Para finalizar, puede decirse que la importancia fundamental de este trabajo, es que establece la relación entre los neurotransmisores cerebrales, las alteraciones climatéricas y el nivel de los estrógenos, lo cual no se ha realizado en forma simultánea como sc hizo en este estudio, ya no existen publieaciones al respecto. En algunos estudios se han evaluado las concentraciones de los neurotransmisores en la menopausia cn forma aislada, sin relaeionarlos a los eambios hormonales y por otra parte se han estudiado las alteraciones climatéricas en relación con el nivel de los estrógenos, o las alteraciones psicológicas en función de cambios en la concentración de las hormonas, pero no existen en la literatura trabajos que relacionen los tres factores en forma conjunta, como en el presente estudio, lo que ofrece una mayor perspectiva para el estudio de la menopausia.

VI.- BIBLIOGRAFIA.

1-Grumbach MM, Styne DM. Puberty, ontogeny, neuroendocrinology, physiology and disorders. En: Williams RH, Foster DW, Kroenenberg H, eds. **Williams texbook of Endocrinology, 9th ed. Philadelphia PA : WB Saunders, 1509-1512, 1998**

2-Winter JSD, Faiman C. Comparative aspects of animal and human puberty. En: Grumbach MM, SizonenkoPC, Aubert ML eds. **Control of the Onset of Puberty. Baltimore MD: Williams and Wilkins, 1509-1512, 1990**

3-Herbison AE. Multimodal influences of estrogens upon gonadotropin-releasing-hormone neurons. **Endocrine Rev 19,302-314, 1998**

4- Conn PM . The molecular mechanism of gonadotropin-releasing hormone actions in the pituitary. En : Knobil E, Neill JD, eds. **The Physiology of Reproduction. 2nd ed. New York : Raven , 1815-1821, 1994**

5-HotchkissJ, Knobil E. The menstrual cycle and its neuroendocrine control. En : Knobil E, Neill JD, eds. **The Physiology of Reproduction. 2nd ed. New York : Raven , 711-726, 1994**

6.- Fink G. Mechanism of negative and positive feedback of steroids in the hiypothalamic-pituitary system. En : Bittar E and Bittar N eds.**Principles of Medical Biology. GreenwichCT:JAI, 29-100, 1997**

7-Pfaff DW, Mc Carthy M, Schuwartz-Giblin S, Kow LM. Femele reproductive behavior. En: Knobil E, Neill JD, eds. **The Physiology of Reproduction. Vol II, 107-220, 1994**

8-Marshall JC, Case GD, Valk TW et al. Selective inhibition of follicle stimulating hormone secretion by estradiol. **J Clin Invest. 72, 248-252, 1988**

9-Rance N, Wise PM, Barraclongh CA. Negative feedback effects of progesterone correlated with changes in hypothalamic norepinephrine and dopamine turnover rates, median eminence luteinizing hormone-realeasing hormone and peripheral plasma gonadotropins. **Endocrinology 108, 2194-2199, 1981.**

10-Barraclongh CA. Neural control of the synthesis and release of luteinizing hormone-releasing hormone. En : Functional anatomy of the neuroendocrine hypothalamus. Wiley, Chichester. **Ciba Foundation Symposium 168, p 233-251. 1992.**

11-Barraclongh CA, Wise PM.. The role of catecholamines in the regulation of pituitary luteinizing hormone and follicle stimulating hormone secretion .**Endocrine Rev 3, 113-119, 1982.**

12-Gitler MA, Barraclough CA. Stimulation of the medullary A serotoninergic system augments luteinizing hormone release induced by medial preoptic nuclei stimulation. **Neuroendocrinology 48, 351-359, 1988**

13-Jarry H, Perschl A, Wattke W. Further evidence that preoptic hypothalamic GABAergic neurons are part of the Gn-RH pulse and surge generator. **Acta Endocrinol 118, 573-579, 1988.**

14-Chen WP, Witkin JW, Silverman AJ. Gonadotropin releasing hormone (GnRH) neurones are directly innervated by catecholamine terminals. **Synapse NY3, 288-290, 1989.**

15-Jennes L, Stampf WE, Tappez ML. Anatomical relationship of dopaminergic and GABAergic system with GnRH system in the septum hypothalamic area.
Exp Brain Res 50, 91-99, 1983

16-Helle KB, Vanorde DE. An immuno histochemical study of the organization of catecholamine cells and terminals fields in the paraventricular and supraoptic nuclei of the hypothalamus **J Comp Neurol 196, 271-275, 1981**

17- Heritage AS, Grant LD, Stumps WE. 3H- Estradiol in catecholamine neurons in rat brain stem: combined localization by radioautography and formaldehyde induced fluorecence. **J Comp Neural 170, 607-630, 1977**

18-Speigh A, Popkin R, Watts AG, Fini G. Estradiol 17-B increases pituitary resposiveness by a mechanism that involves the release and the priming effect of luteinizing hormone releasing factor. **J Endocrinol 88, 301-308, 1981**

19-Clayton RN, Catt KJ. Gonadotropin releasing hormone receptors: characterization, physiological regulation and relationship to reproductive function **Endocr Rev 2:186-209, 1981**

20-Drouva SV, Rerat E, Bihoreau C, et al. Dihydropyridine sensitive calcium channels activity related to prolactin and luteinizing hormone release from anterior pituitary cells in culture: interaction with somatostatin, dopamine and estrogens **Endocrinology 123, 2762-2773, 1988.**

21-Drouva. SV, Rerat E, Leblane P et al. Variations of phospholipid methyl transferase activity in the rat pituitary. estrous cycle and sex differences. **Endocrinology 121, 569-575, 1987.**

22-Drouva SV, Gorenne I, Lepeante E, et al Estradiol modulates protein kinase C activity in the rat pituitary in vivo and in vitro **Endocrinology 126, 536-544, 1990.**

23-Shivers BD, Harlan RE, Morell JI et al. Absence of oestradiol concentration in cell nuclei of LH-RH inmunoreactive neurones. **Nature 304, 345-347, 1983.**

24-Drouva SV, Laplante E, Kordon C Effects of ovarian steroides on the estro release of LH-RH from medio basal hipothalamus. **Neuroendocrinology 37, 336-341, 1983.**

25-Savoy Moore RT, Schwartz NB. Differential control of FSH and LH secretion **In: Reproductive Physiology III. International Review of physiology 22, 203-248, University Park Press. Baltimore 1980.**

26 -Lerath C, Mac Lusky N J, Shanabrough M, Naftolin F. Immunocytochemical evidences for synaptic connections between pro-opiomelanocortin-immunoreactive axons and LH RH neurons in the preoptic area of the rat. **Brain Res 449,167-176,1988.**

27-Flugge G, Oertel WH, Wutke W. Evidence for estrogens receptive GABAergic neurons in the preoptic anterior hypthalamic area of the rat brain. **Neuroendrocrinology 43, 1-5, 1986.**

28- Herbison AE. Multimodal influence of estrogen upon gonadotropin-releasing hormone neurons. **Endocr Rev 19, 302-330, 1998**

29- Moss RL, Gu Q, Wong M Estrogen: Nontranscriptional signaling pathways. **Recent Prog Horm Res 52, 33- 59, 1997**

30- Wong M, Thompson TL, Moss RL. Non genomic actions of estrogen in the brain: physiological significance and cellular mechanisms. **Crit Rev Neurobiol 10, 189-203, 1996**

31-Moss RL, Dudley CA. Molecular aspects of the interaction between estrogen and the membrane excitability of hypothalamic nerve cell. **Prog Brain Res 6, 6-22, 1984**

32- Ramirez VD, Zheng J, Siddique KM. Membrane receptor for estrogen, progesterone and testosterone in the brain: fantasy or reality. **Cell Mol Neurobiol 16, 175-198, 1996**

33- O'Malley BW, Tsai MJ. Molecular patways of esteroid receptor action. **Biol reprod 46, 163-167, 1992**

34- Parker M, Arbuckle N, Daubois S, et al. Structure and function of the estrogen receptor. **Ann NY Acad Sci 684, 119- 126, 1993**

35- Tsai MJ, O'Malley BW. Molecular mechanism of action of steroid/thyroid receptor superfamily members. **Annu Rev Biochem 63, 451-486, 1994**

36 - Landel CC, Kushner PJ, Greene JL. The interaction of human estrogen receptor with DNA is modulated by receptor-associated proteins. **Mol Endocrinol 8, 1407-1419, 1994**

37 - Knoblauch R, Garabedian MJ. Role for Hsp90-associated cochaperone p23 in estrogen receptor signal transduction. **Mol Cell Biol 19, 3748-3759, 1999**

38.- HorwitzKB, Jackson TA, Bain DL, Ritcher JK, et al. Nuclear receptor coactivators and corepressors. **Mol Endocrinol 10, 1167-1177, 1996**

39.- Beato M, Sanchez Pacheco A. Interaction of steroid hormone receptor with the transcription initiation complex. **Endocrine Rev 17, 587-609, 1996**

40.- Landers J, Spelsberg T. New concepts in steroid hormone action: transcription factors, proto oncogenes and the cascade model for steroid regulation of gene expression. In: **Critical review of eukaryotic gene expression. Stein G, Stein J, Lian L (eds). Boca Raton FL:CRPress 1992**

41.- Murdoch FE, Gorski J. The role of ligand in estrogen receptor regulation of gene expression. **Mol Cell Endocrinol 78, 103-108, 1991**

42.- Mosselman S, Polman J, Dijekema R ER beta: identification and characterization of a novel human estrogen receptor. **FEBS Lett 392, 49-53, 1996**

43.- Kuiper GGJM, Carlsson B, Grandien K et al. Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors alpha and beta. **Endocrinology 138, 863-870, 1997**

44.-Giguere V, Tremblay A, Tremblay G. Estrogen receptor beta. re-evaluation of estrogen and antiestrogen signaling. **Steroid 63, 335-339, 1998**

45.- Kuiper GGJM, Gustafsson JA. The novel estrogen receptor β subtipe: potential role in the cell and promoter-specific actions of estrogens and anti-estrogens. **FEBS Lett 410, 876-890, 1997**

46.- Simerly RB, Chang C, Muramatsu M, Swadson LW. Distribution of androgen and estrogen receptors mRNA containing cells in the rat brain : an in situ hybridization study. **J Comp Neurol 294, 76-95, 1990**

47.-Schugrue Pj, Lane MV,Merchenthaler I. Comparative distribution of estrogen receptor- alpha and beta mRNA in the rat central nervous system. **J Comp Neurol 388, 507-525, 1997**

48.- McLusky NJ.- Effects of sex steroids on the brain. In : Treatment of the postmenopausal women. **Basic and clinical aspects. 2ª ed. .Lobo R (ed) Lippincott Williams and Wilkins, pags 231-246, Philadelphia 1999**

49.- Robel P, Baulieu E. Neuroesteroids. Biosynthesis and function. **Crit Rev Neurobiol 9, 383-394, 1995**

50.-Naftolin F Brain aromatization of androgens **J Reprod Med 39, 257- 261, 1994**

51.- Hu SK, Mitcho Y, Rath N Effect of estradiol on interleukin-1 synthesis by macrophages. **Int. J Immunopharmacol 10, 247-252, 1988**

52.- Eriksson PS, Perfilieva E, Bjork-EriksonT et al Neurogenesis in the adult human hippocampus **Nat Med 4, 1313-1317, 1998**

53.- Naftolin F, Leranth C, Horvath t, Garcia Segura L. Potential neuronal mechanisms of estrogen actions in synaptogenesis and synaptic plasticity. **Cell Mol Neurobiol 16, 213-223, 1996**

54.- Garcia Segura LM, Luquin S, Parduez A, Naftolin F.. Gonadal hormone regulation of glial fibrillary acidic protein immunoreactivity glial ultrastructure in the rat neuroendocrine hyphothalamus. **Glia 10, 59-69, 1994**

55.- Woolley CS, McEwen BS. Roles of estradiol and progesterone in regulation of hippocampal dendritic spine density during the estrous cycle in the rat. **J Comp Neurol 336, 293- 306, 1993**

56.- Rabbani O, Panickar KS, Rajakumar G, King MA et al. 17-βEstradiol attenuates fimbrial lesion-induced decline of ChAT immunoreactive neurons in the rat medial septum. **Exp Neurol 146, 179-186, 1997**

57.- Dluzen DE, McDermott JL, Liu B. Estrogen as a neuroprotectant against MPTP induced neurotoxicity in C/57 B1 mice. **Neurotoxicol Teratol 18, 603-606, 1996.**

58.- Simpkins JW, Rajakumar G, Zhang YQ. Estrogens may reduce mortality and ischemic damage caused by middle cerebral artery occlusion in the female rat. **J Neurosurg 87, 724-730, 1997**

59.- Dubal DB, Kashon ML, Pettigrev LC et al. Estradiol protects against ischemic injury. **J Cereb Blood Flow Metab 18, 1253- 1258, 1998**

60- Bhel C, Skutella T, Lezoaulch F et al. Neuroprotection against oxidative stress by estrogens: structure-activity relationship. **Mol Pharmacol 51, 535-541, 1997**

61.- Olozabal UE, Pfaff DW, Moobs CV. Estrogens regulation of heat schock protein 90 Kd in the rat ventromedial hypothalamus and uterus. **Mol Cell Endocrinol 84, 175- 183, 1992**

62.- Arnold AP, Gorski RA. Gonadal steroid induction of structural sex differences in the central nervous system. **Ann Rev Neurosci 7, 413-442, 1984**

63.- McLusky NJ, Naftolin F. Sexual differentiation of the central nervous system. **Science 211, 1294-1303, 1981**

64.-Kubli C. Acción neuromoduladora de las hormonas esteroides. En: **Fundamentos de Neuroendocrinología. Zárate A, Morán C, Feria A. (Ed.) pag 92-108. Fondo de Cultura Económica. México DF. 1994**

65.- Naftolin F, McLusky NJ. The aromatization hypothesis revisited: **Sexual differentiation. Basic and clinical aspects. Serio M, Molta M, Zanis M. (eds) 79- 91, Raven Press, New York 1984**

66.-Toran Allerand CD. On the genesis of sexual differentiation of the general nervous system: morphogenetic consequences of gonadal exposure and possible role of α-feto protein. **Prog Brain Res 61, 63- 98, 1984**

67.- Roselli CE, Abdelgadir SE, Ronnekleiv OK, Klosterman CA. Anatomic distribution and regulation of aromatase gene expression in the rat brain. **Biol of Reprod 58, 79-87, 1998**

68.- Beach FA, Holz-Tucker AM. Effects of different concentrations of androgen upon sexual behavior in castrated male rats. **J Comp Psychol 42, 433-453, 1949**

69.- Mani SK, Allen JM, Clark JH, Blaustein JD, O'Malley BW. Convergent pathways for steroid hormones and neurotransmitter-induced rat sex behavior **Science 265, 1246- 1249,1994**

70.- Kawata M. Roles of steroids hormones and their receptors in structural organization in the nervous system. **Neurosci Res 24, 1-46, 1995**

71.- Ferreira A, Caceres A. Estrogen-enhanced neurite growth: Evidences for a selective induction of tau protein and stable microtubules. **J Neurosci 11, 392-400, 1991**

72.- Shughrue PJ, Dorsa DM. Estrogen modulates the growth-associated protein GAP-43 (neuromodulin) mRNA in the rat preoptic area and basal hypothalamus. **Neuroendocrinology 57, 439-457, 1993**

73.- Toran-Allerand CD, Miranda RC, Bentham WD et al. Estrogen diferentially regulates estrogen and nerve growth factor receptor mRNAs in adult sensory neurons. **J Neurosci 14, 459-471, 1994**

74.- Miranda RC, Sohrabji F, Torán-Allerand CD. Presumptive estrogen target neuron express mRNAs for both neurotrophins and neurotrophins receptors: A basis for potential developmental interactions of estrogens with neurotrophins. **Mol Cell Neurosci 4, 510-525. 1993**

75- Laine VN, Park D, Joht et al. Immunochemical demostration of increased choline acetyltransferase concentration in rat pre-optic area after estradiol administration **Brain Res 191, 273-277, 1980.**

76- Sar M. Estradiol is concentrated in tyrosine hydroxylase containing neurons of the hypothalaums. **Science 223, 938-941, 1984.**

77.- Bosse R, Di Paolo T. The modulation of brain dopamine and GABA receptor by estradiol: a clue for CNS changes ocurring at menopause. **Cell Mol Neurobiol 16, 199-212, 1996**

78.-Summer BEH, Fink G. Estrogens increases the density of 5-hydroxytrytamine 2a receptors in cerebral cortex and nucleus accumbens in the femele rats. **J Steroid Biochem Mol Biol 54, 13-20, 1995**

79.-Biegon A, Reches A, Synder L, McEwen BS. Serotonergic and noradrenergic receptors in the rat brain: modulation by chronic exposure to ovarian hormones. **Life Sci 32, 2015-2021, 1983**

80.-Olsen KL, Edwards E, McNally W et al. Muscarinic receptor in hypothalamus: effect of ciclicity, sex and estrogens treatment. **Soc Neurosci 8, 423-427, 1982**

81-Bcthea CL. Regulation of progestin receptor in raphe neurons of steroid treated monkeys. **Neuroendocrinology 60, 50-61, 1994**

82.-Sar M, Sahu A, Crowley WR, et al. Localitation of neuropepetide Y immunoreactivity in estradiol concentrating cell in the hypothalamus. **Endocrinology 127, 2752-2756, 1990**

83.-Treiser SL, Navdlaw S. Estradiol regulation of pre-opiomelanocortin gene expression and peptide content in the hypothalamus. **Neuroendocrinology 55, 167-169, 1992**

84.-McEwen BS.. Steroid hormones: effect of brain development and function. **Trend Pharmacol Sci 12, 141-147, 1992**

85.-Malven PV. Neurotransmitters as regulators of hypothalamic function. In: **Neuroendocrinology in Physiology and Medicine. Conn M, Freedman ME. (Ed) Humana Press, Totowa New Jersey. pags 59-73, 1999**

86.- Zed Z, Zygmunt LK, Pycock CJ. Acetilcholine liberation. **In " Neurotransmitters and drugs. Crom Helm (ed). Biology and Medicine Series. London England pags 6-8 1983**

87.- Chaki S, Muramatsu M, Otomo S. Involvement of protein kinase C activation on regulation of acetilcholine release from rat hippocampal slices . **Neurochem Int 24, 37-41, 1994**

88-Zed Z, Zygmunt LK, Pycock CJ. Acetilcholine. In: **"Neurotransmitters and drugs". Crom Helm ed. Biology and Medicine Series. London England, 1983**

89.- Kimura H, McGeer PL, Jeng-Husiung P. Choline acetyltransferase containing neurones in the rat brain. **In " Classical transmitters and transmitter receptors in the SNC. Bjorklund A, Hokfel T, Kuhar MJ. (eds) Elsevier Amsterdam 51-57, 1984**

90.- Collerton D. Cholinergic function and intelectual decline in Alzheimcrs disease. **Neurosci 19, 1-18,1986**

91.- Luine VN, Khylchevskaya R, Mc Ewen B. Immunochemical demostration of increased choline acetyltransferase concentration in rat preoptic area after estradiol administration. **Brain Res 191, 273-277, 1980**

92- Olsen KL, Edwards E, Mc Nally W, et al. Muscarinic receptors in hypothalamus: Effects of cyclicity, sex and estrogen treatment. **Suc Neurosci Abstr 8, 4233-427, 1982**

93.- O Malley CA, Hautamaki RD, Kelley M, Meyer EM. Effects of ovariectomy and estradiol benzoate on high affinity choline uptake, ACh syntesis, and release from rat cerebral cortical synaptosomas. **Brain Res 403, 389-392, 1987**

94.- Michalek H, Fortuna S, Pintor A. Age related differences in brain choline acetyltransferase, cholinesterases and muscarinic receptors sites in two strains of rats. **Neurobiol Aging 10, 143-148, 1989**

95.- Hersey RM, Lloyd T, Mac Lusky NJ, Weisz J. The catechol estrogen, 2 hidroxyestradiol-17β is formed from estradiol 17β by hypothalamic tissue in vitro and inhibits tyrosine hidroxilase. **Endocrinology 111, 1734-1736, 1982**

96.- Sanghera MK, Grady S, Smith W, Woodward DJ, Porter JC. Incertohypothalamic A13 dopamine neurons: effect of gonadal steroids on tyrosine hydroxilase. **Neuroendocrinology 53, 268-275, 1991.**

97- Heritage AS, Stampf WE, Sar M, et al. Brainstem catecholamine neurons are target sites for sex steroid hormones. **Science 207, 1377-1381, 1980.**

98.- Cooper JR, Bloom FE, Roth RH. Catecholamines. In: **The biochemical basis of neuropharmacology . 4th ed. Chapter 6. Oxford University Press. New York 1982**

99.-Kobilka BK. Adrenergic receptors as models for G protein-coupled receptors. **Annu Rev Neurosci. 15, 87-114, 1992**

100.- Kuhnemann S, Brown TJ, Hotchberg RB, MackLusky NJ. Sex differences in the development of estrogen receptors in the rat brain. **Horm Behav 28, 483-491, 1994**

101.- Simerly RB, Swanson LW, Gorsky RA. The distribution of monoaminergic cells and fibers in a periventricular preoptic nucleus involved in the control of gonadotropin release: immunohistochemical evidence for a dopaminergic sexual dimorphism. **Brain Res 330, 55-64, 1985**

102.- Blum M, Me EWen BS, Roberts JL. Transcriptional analysis of tyrosine hidroxilase gene expression in the tuberoinfundibular dopaminergic neurons of the rat arcuate nucleus after estrogen treatment. **J Biol Chem 262, 817-821, 1988**

103- Gasper P, Duyckaerts C, Alvarez C, Javo Y, Agid F, Berger B. Alterations of dopaminergic and noradrenergic innervations in motor cortex in Parkinson desease. **Ann Neurol 30, 365-374, 1991**

104.- Crow TJ. Drug treatment of schizophrenia and its relationship to disturbances of dopaminergic transmission. **In "The Biochemestry of Psychiatric Disturbances". Curson G ed. Wiley Chichester. 73-88, 1980**

105- Yen SSC. Studies of the role of dopamine in the control of prolactin and gonadotropin secretion in humans. In Faxe K, Hökfelt T and R. Luft (eds) **Central Regulation of the Endocrine System. Plenum press. New York 1979**

106.-Mosma FJ Jr. Mahan LC, Mc Vittie LD, Gerfen CR, Sibley DR. Molecular cloning and expression of a D1 dopamine receptor linked to adenyl ciclase activation. **Proc Natl Acad Sci 87, 6723-6727, 1990**

107- Albert PR, Neve KA, Bunzow JR, Civelli O. Coupling of a cloned rat dopamine D2 receptor to inhibition of adenylyl cyclase and prolactin secretion. **J Biol Chem 265, 2098-2104, 1990**

108.- Meador-Woodruff JH, Mansour A, Bunzow JR, Van Tol HHM, Watson SJ Jr, Civelli O. Distribution of D2 Dopamine receptor mRNA in rat brain. **Proc Natl Acad Sci USA 86, 7625-7628, 1989**

109.- Ben -Jonathan N. Dopamine: A prolactin inhibiting hormone. **Endocr Rev 6, 564-589, 1985**

110- Judd SJ, Rakoff JS, Yen SSC. Inhibition of gonadotropin and prolactin release by dopamine: Effect of endogenous estradiol levels. **J Clin. Endocrinol Metab 47: 494, 1978**

111.- Spokes EGS. Biochemical abnormalities in schizophrenia: The dopamine hypothesis. **In "The Biochemestry of Psychiatric Disturbances". Curson G (ed). Wiley Chichester, 55-71, 1980**

112.- Davis BA.. Biogenic monoamines and their metabolites in the urine, plasma and cerebrospinal fluid of normal, psychiatric and neurological subjects. **Boca Raton FL. CRC Press, 179-312, 1990**

113.- Cummings JL. Depression and Parkinson's Disease: A review. **Am J Psichiatry 149, 443-454, 1992**

114.- Godofrcy F, Bassent MH, Weil Fugazza J, Lamour Y. Age related changes in dopaminergic and serotoninergic indices in the rat forebrain. **Neurobiol Aging 10, 187-190, 1990**

115.- Kosefsky BE, Molliver ME. The serotoninergic innervation of cerebral cortex: different classes of axon terminals arise from dorsal and median raphe nuclei. **Synapse 1, 153-168, 1987**

116- Graham D, Esnaud H, Langer SZ. Characterization and purification the neuronal sodium ion-coupled 5-hydroxytrytamine transporter. **Biochem Soc Trans 19, 99-102,1991**

117.- Plotsky PM , Thrivikraman KV, Meaney MJ. Central and feed-back regulation of hypothalamic corticotropin-releasing factor secretion. **Ciba Found Symp.172, 59-75, 1993**

118- Vitale LM, Villar MJ, Chiocchio SR, Tramezzani JH. Dorsal raphe lesions alters the estrous cycle and the preovulatory gonadotrophin release. **Neuroendocrinology 46, 252-257, 1885**

119.- Johnson MD, Crowley WR. Role of central serotonine systems on the stimulatory effects of ovarian hormones and naloxone on luteinizing hormone release in femele rats. **Endocrinology 118, 1180-1184, 1986**

120.- Morin LP, Michels KM, Moore RY. Serotonin regulation of circadian rhythmicity. In: Neuropharmacology of serotonin. **Ann New York Acad Science 600, 418-426. Whitaker-Azmitia M. and Perouka JM (eds) New York, 1990**

121.- Jimerson DC, Lesem MD, Hee AP, Brewerton TD. Serotonin in human eating disorders. In" The pharmacology of serotonin". **Ann New York Acad Sci 600, 532-534 Whitaker -Azmitia M and Perouka JM (eds). New York, 1990**

122.- Hellstrand K, Hermodsoon S.. Role of serotonin in the regulation of human natural killer cell cytotoxicity. **J Immunol 139,869-875, 1987**

123.- Martin GR, Humphrey PPA. Receptors for 5-hydroxytriptamine: currents perspectives on classifieation and nomenclature. **Neuropharmacology 33, 261-273, 1994**

124.- Derkach V, Surprenant A, North RA. 5H-T3 receptors are membrane ion ehannels. **Nature 339, 706-709, 1989**

125.- Biegon A. Effects of steroid hormone on the serotoninergic system. In: "Neuropharmacology of serotonin". **Ann New York Aead Sei 600, 427-431. Whitaker PM, Azmidia SJ, Peroutka (Ed) 1990**

126.- Biegon A, Reches A, Synder L, McEwen BS. Serotoninergic and noradrenergic receptors in the rat brain. Modulation by chronic exposure to ovarian hormones. **Life Sci 32, 2015-2021, 1983**

127- Sharma M, Palaeios-Bois J, Schawartz G, Iksandar H, Thakur M, Quirion R, Nair RPV. Circadian rhitms of melatonin and cortisol in aging. **Biol Phychiatry 25, 305-319, 1996**

128.- Lee KA, Shaver JF, Giblin EC, Woods NF. Sleep patterns related to mestrual cycle phase and premestrual affective symtoms. **Sleep 13, 403-409,1983.**

129- Schiff I, Regestein Q, Tulschinsky D, Ryan KL. Effects of estrogen of sleep and psychological state of hypogonadal women. **J Am Med 242, 2403-2407,1979**

130.- Brugge KL, Kripke DF, Ancoli-Israel S, Garfinkel L. The association of menopausal status and age with sleep disorders. **Sleep Res 18, 208-211, 1989**

131.- Sarne Y, Weissman BA, Keren O. Humoral endorphin a new endogenous factor with opiate-like activity. **Life Sci.28, 673-680, 1981**

132.- Krieger DT, Liotta AS, Browntein MJ. ACTH, B-lipotropin and related peptides in brain, pituitary and blood. **Recent Progress Horm Res 36, 277-344, 1980.**

133.- Messing RB. Opioid modulation of learning and memory. Multiple behavioral outcomes **In : Endorphins, opiates and behavioral process. Chinchister, Wiley and Son. pp269-296 , 1988.**

134- Uhl GR, Childers SR, Snyder SH. Opioid peptides and the opiate receptors. **Fronter Neuroendocrinol 5, 289-328, 1978**

135.- Grevert P, Albert LH, Inturrisi CE, Goldstein A. Effects of eight ours naloxone infusions on human subjects. **Biol Psychiatry 18, 1375-1379, 1983**

136.- Chavkin C, James IF, Goldstein A. Dynorphin is a specific endogenous ligand of the K receptor. **Science 215,413-415, 1982**

137.- Terrenius I, Wahlstrom A. Pyhsiological and clinical relevance of endorphins. **In Centrally acting Peptides. Hughes J (ed). Baltimore University. Park Press. pp 161-178, 1978**

138.- Blankstein J, Reyes FI, Winter JS.. Endorphin and the regulation of the human mestrual cycle. **Clin Endocrinol 14, 287-294, 1981**

139.- Quigley ME, Sheehan KL, Casper RF. Evidence for inereased dopaminergic and opioid activity in patients with hypothalamic hypogonadotropic amenorrhea. **J Clin Endocrinol Metab 50, 949-954, 1980**

140.- Watson JR. RE, Hoffmann GE, Wiegend SJ. Sexually dimorphic opioid distribution in the preoptie area: manipulation of gonadal steroids. **Brain Res 298, 157-163, 1986.**

141.-Treiser SL, Wardlaw SL. Estradiol regulation of proopiomelanocortin gene expression and peptide content in the hypothalamus. **Neuroendocrinology 55, 167-173, 1992**

142.-Genazzani AR, Petraglia F, Facchinetti F, Genazzani AD, Bergamaschi M, Grasso A, Volpe A. Effects of Org- OD 14 on pituitary and peripheral B-endorphin in castrated rats and postmenopausal women. **Maturitas Suppl. 1, 35-38,1987**

143.- Santoro N, Brown JR, Adel T, Skurnich JH. Characterization of reproductive hormonal dynamics in the perimenopause. **J Clin Endocrinol Metab 81, 1495-1501, 1996**

144.- Burger HG, Dudley EC, Hooper JL, Shelley JM, Green A et al. The endocrinology of the menopausal transition: a cross-sectional study of a population-based sample. **J Clin Endocrinol Metab 80, 3537-3545, 1995**

145.- Longcope C, Baker S. Androgen and estrogen dynamics: relationship with age, weigth and menopausal status. **J Clin Endocrinol Metab 76, 601-604, 1993**

146.-Sowers MR, La Pietra MT: Menopause: its epidemiology and potential association with chronic diseases. **Epidemiol rev 17, 287-302, 1995**

147.- Kanis JA. Estrogens, the menopause and osteoporosis. **Bone 19, 1855-1905,1996**

148.- Matthews KA, Wing RR, Kuller RH, et al. Influence of the perimenopause on cardiovascular risk factors and symptoms of middle-age healthy women. **Arch Intern Med 154, 2349-2355, 1994**

149.-Versi E. The bladder in menopause: lower urinary tract dysfunction during the climateric. **Curr Prob Obtet Ginecol Fertil 17, 193-232, 1994**

150.- Mor G, Naftolin F. Estrogen, menopause and the immune system. **J Brit Menopause Soc Suppl. S1, 4- 8, 1998**

151.- Moos RH, Salomón GF. Personality correlates of the degree of functional incapacity of patients with physical disease. **Jour of Chronic Diseases 18, 1019-1038, 1965.**

152.- Hunter M, Battersby R, Whitehead M. Relationship between psychological symtoms, somatic complains and menopausal status. **Maturitas 8, 217- 228. 1986**

153.- Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth edition. Washington DC. **American Psychiatric Association. 1994**

154.- Avis N, Branbila D, McKinlay S et al. A longitudinal analysis of the association between menopause and depression: Result of the Massachusett Women's Health Study. **Ann Epidemiol 4, 214-220, 1994**

155- Altshuler LL, Hendrick V, Cohen LS. Course of mood and anxiety disorders durig pregnancy and postpartum period. **Journal of Clinical Psychiatry 2, 29-33, 1998**

156.- Avis N, Crawford S, McKinlay S. Psycosocial, behavioral, and health factors related to menopause symtomatology . **Womens Health 3, 103-120, 1997**

157.- Fink. F, Sumner BE, Rosie R, Grace O, Quinn JP. Estrogen control of central neurotransmission: effect on mood, mental state and memory. **Cellular and Molecular Neurobiology. 16, 325-344, 1996**

158. Cameron OG, Thyer BA, Nesse RM, Curtis GC. Symptoms profiles of patients with DSM-III anxiety disorders. **Am J Pschiatric 143, 1132-1137, 1986**

159- Cameron OG, Nesse RM. Systemic hormonal and physiological abnormalities in anxiety disorders. **Psichoneuroendocrinology 13, 287-307, 1988**

160.- Cameron OG, Hudson CJ. Influence of exercise on anxiety level in patients with anxiety disorders. **Psychosomatic 27, 720-723, 1986**

161.- Kathol RJ, Turner R, Delahunt J. Depression and anxiety associated with hyperthyroidism : Response to antithyroid therapy. **Psychosomatic 27, 501-505, 1986**

162.- Pigott TA. Sex steroid and anxiety. **In: Hormones, gender and the aging brain. The endocrine basis of geriatric psychiatry. Morrison MF (Ed). Cambridge. University Press. Chapter 11, 242-257, 2000**

163.- Breslau N, Schlutz L, Peterson E. Sex differences in depression: a role for pre-existing anxiety. **Psychiatric Research 58, 1-12, 1995**

164.-Kawachi I, Sparrow D, Vokonas PS, Weiss ST. Symptoms of anxiety and risk of coronary heart disease. The normative aging Study. **Circulation 90, 2225-2229, 1994**

165.- Adolphe AB, Dorsey ER, Napoliello MJ. The neuropharmacology of depression. **Diseases of the nervous system 38, 841-846, 1977**

166.- Weissman M, Bland R, Canino G. Cross-national epidemiology of major depression and bipolar disorders. **JAMA 276, 293- 299, 1996**

167.- Weissman MM, Bland R, Newman S, Wells JE, Wittchen HU. Sex differences in rates of depression: cross-national perspectives. **J Affective Dis 29, 77-84, 1993**

168. - Kalser S. The Presynaptic receptor controversy. **Trends Pharmacol Sci. 3, 11-16, 1982**

169.-Orsulak JP. The decade of the brain: Recent development in the neurochemestry of depression, mania and others mood disorders. **Clin Chem 40, 271-272, 1994**

170.- Cooper JR, Boom FE, Roth RH: Catecholamines. **In: The Biochemical basis of Neuropharmacology. 4th.Ed. Chapters 5 and 6. Oxford University Press. New York. 1982**

171- Grossman F, Manji HK, Potter WZ. Platelet adrenoreceptors in depresión: a critical examination. Review. **J Psychopharmacol 7, 4-18, 1993**

172- Potter WS, Manji HK. Catecholamines in depression: An Update. **Clin Chem 40. 279-28, 1994**

173.- Petty F, Davis LL, Kabel D, Kramer GL. Serotonin dysfunction disorders: A behavioral neurochemestry persective. **J Clin Pyschiatric 57, 11-16, 1996**

174.- Rausch JL, Janowsky DS, Risch SC, Huey LN. A kinetic analysis and replication of decreased platelet serotonin uptake in depressed patients.
Psychiatry Res 19, 105-112, 1986

175.- Owens MS, Nemeroff CB. Role of serotonin in the phatophysiology of depresion: Focus on the serotonin transporter. **Clin Chem 40, 288-295,1994**

176.- Cyr M, Boose R, Di PaoloT. Gonadal hormones modulate 5-hydroxytriptamine 2A receptor: emphasis on the rat frontal. **Neuroscience 83, 829-836, 1998**

177.- Grossman A, Gaillard RC, Mc Cartney P, Rees IH, Besser GM. 1982.- Opiate modulation of the pituitary adrenal axis. Effects of stress and circadian rithmus.
Clin Endocrinol 17, 279-282

178.- Trevonni R, Dieulangard P, Blum A. Efficacy and safety of Org-OD14 in the treatment of climateric complaints. **Maturitas 5, 86-96,1983.**

179-Ianowsky D, Halbreich U, Raush I. Association between ovarian hormones, other hormones, emotional disorders and neurotransmitters In: **Psychopharmacology and women. Sex, Gender and Hormones. Jensvold M and Halbreich U and Hamilton J (Eds) pp 85-106. Washington DC. American Psichiatric Press, 1996**

180.- Lindamer LA, Lohr JB, Harris MJ, Jeste DV. Gender, estrogen and schizophenia. **Psicopharmacology Bulletin 33, 221-228, 1997.**

181- Backstrom L, Baird DT, Bancroft J, Bixo M, Hammarback S, Sanders D,Smith S, Zeterlund B. Endocrinological aspects of cyclical mood changes during the menstrual cycle or the premenstrual syndrome. **J Physiol Obstet Gynec 21, 8-11, 1983.**

182.- Halbreich U. Role of estrogen in postmenopausal depression. **Neurology 48, 516-519, 1997**

183.- Klaber EL, Browerman DM, Vogel W, Kobayashi Y. Estrogen therapy for severe persistent depression in women. **Arch Gen Psychiatry 36, 550-554, 1979**

184.- Kolb B, Wishaw IQ. Fundamentals of human neuropsychology. **3rd edition. WH. Freedman(Ed). New York , 1990**

185.- Wiederholt WC, Cahn D, Butters NM, Salmon DP, Kritz- Silverstein D, Barret-Connor E. Effect of age, gender and education on selected neuropsychological tests in and elderly community cohort . **J Amer GeriatSoc 41, 639-647, 1993**

186.- Gibbs RB. Impairment of basal forebrain cholinergic neurons associates with aging and long-term loss of ovarian function. **Exp Neurol 151, 289-302, 1998**

187.- Mortola JF. Estrogen and mood . **J Soc Obstet Gyneacol Can 19, 1-6, 1997**

188.- Hampson E. Variations in sex- related cognitive abilities across the menstrual cycle. **Brain Cognition 14, 26-43, 1990**

189- Halbreich U, Lumley LA, Manning C, Cengos G, Joe S. Possible aceleration of age effects on cognition fallowing menopause. **J Psych Res 29, 153-163, 1995**

190- Hashimoto S, Katou M, Dong Y, Murukami K, Terada S, Inoue M.. Effects of hormone replacement therapy on serum amiloid P component in postmenopausal women. **Maturitas 26, 113-119, 1997**

191.- Birge SJ. The role of estrogen in the treatment of Alzheimer disease. **Neurology 48, (Suppl 7) S36-S41, 1997**

192.- Loomis A, Havey E, Hobart G. Cerebral states during sleep as studied by human brain potentials. **J Exp Psycol 21, 127-144, 1987**

193.- Dement WC, Kleitman N. Cyclic variations in EEG during sleep and their relation to eye movements, body motility and dreaming. **Electroenceph Clin Neurophysiol 9, 673-690, 1957**

194.- Shavers J, Giblin E, Lentz M, Lee K. Sleep patterns and stability in perimenopausal women: preliminary results. **Sleep 11, 556-561, 1988**

195.- Erlik Y, Tataryn IV, Meldrum DR, Lomax P, Bajorek JG, Hud H. Association of waking episodes with menopausal hot flushes. **JAMA 245, 1741-1744, 1981**

196.-Woodward S, Feedman RR. The thermoregulatory effects of menopausal hot flushes on sleep. **Sleep 17, 497-501, 1994**

197- Jouvet M. The role of monoamines and acetylcholine containing neurones in the regulation of sleep-waking cycle. In : **Neurophysiology and Neurochemistry of Sleep and Wakefulness. Jouvet M, Moruzzi G (Ed.) Review of physiology,Heilderberg, New York, pp 166-307, 1972**

198.- Chastrete N, Cespuglio R, Jouvet M.. Proopiomelanocortin (POMC) derived peptides and the sleep on the rat. Hipnogenic properties of ACTH derivates. **Neuropeptides 15, 61-74, 1990**

199.- Schiff I, Regestein Q, Tulchinsky D, Ryan KJ. Effect of estrogen on sleep and psychological state of hypogonadal women. **J Am Med Ass 242, 2403-2407, 1979.**

200.- Freedman RR. Biochemical, metabolic and vascular mechanism in menopausal hot flushes. **Fertil Steril 70, 332- 337, 1998**

201.- Kronnenberg F. Hot Flushes: Epidemiology and physiology. **Ann NY Acad Sci. 592, 52-58, 1990**

202.- Ravnikar V, Elkind-Hirsch K, Schiff I, Ryan JK, Tulchinsky D. Vasomotor flushes and the release of peripheral immunoreactive luteinizing hormone-releasing hormone in postmenopausal women. **Fertil Steril 41, 881-887, 1984**

203.- Murphy MT, Lipton JM. β- Endorphin: Effect on thermoregulation in aged monkeys. **Neurobiol Aging 4, 187-190, 1983**

204.- Barnes RB, Lobo RA. Pharmacology of estrogens. In : **Menopause; Physiology and Pharmacology. Mishell DR (Ed). 301-315. Year Book Medical Publishers. Chicago 1987**

205.- Lobo RA, Cassidenti DL. Pharmacokinetics of 17β estradiol. **J Reprod Med.37, 77-84, 1992**

206.- Deustch S, Ossowski R, Benjamin I. Comparison between degree of systemic absorption of vaginally and orally administered estrogens at different dose levels in postmenopausal women. **Am J Obstet Gynecol 139, 968-969, 1981**

207.- Aedo AR, Landgren BM, Diczfaluzy E. Pharmacokinetic propierties of oral estrone-sulphate piperazine and estradiol valerato in postmenopausal women. **Maturitas 6, 79-82, 1984**

208.- Bhavnani BR, Woolever CA, Henoit H, et al. Pharmacokinetics of equilin and equilin sulfate in normal postmenopausal women and men. **J Clin Endocrinol Metab 56, 1048-1056, 1983**

209.- Bhavnani BR. Pharmacokinetics and pharmcodynamics of conjugated equine estrogens: Chemistry and metabolism. **Proc Soc Exp Biol Med 217, 16- 22, 1998**

210.- Englud DE, Johansson EDB. Plama levels of oestrone, oestradiol and gonadotrophins in postmenopausal women after oral and vaginal administration of conjugated equine oestrogens (Premarin). **Br J Obstet Gynaecol 85, 957-964, 1978**

211.- Bhavnani BR. The saga of the ring B insatured equine estrogens. **Endocrine Rev 9, 396-416, 1988**

212.- Mashshak CA, Lobo RA, Dozono Takano R et al. Comparison of pharmaco-dynamics properties of various estrogen formulations. **Am J Obstet Gynecol 144, 511-518, 1982**

213.- Mandel FP, Geola FI, Lu JKH, et al. Biologic effects of various doses of ethinyl estradiol in postmenopausal women. **Obtet Gynecol 59, 673-679, 1982**

214.- Goebelsmann U, Mashshak CA, Mishell DR. Jr. Comparison of the hepatic impact of oral and vaginal administration of ethinyl estradiol. **Amer J Obtet Gynecol 15, 868-877, 1985**

215.- Scott RT, Ross B, Anderson C,Archer DF. Pharmacokinetics of percutaneous estradiol: a crossover study using a gel and a transdermal system in comparison with oral micronized estradiol. **Obstet Gynecol 77, 758-764, 1991**

216.- Padwick ML, Endacott J, Whitehead MI. Efficacy, acceptability and metabolic effects of transdermal estradiol in the management of postmenopausal women. **Am J Obstet Gynecol 152, 1085-1091, 1985**

217.-Powers MS, Schenkel I, Darley PE, Good WR, Balestra JC, Place VA. Pharmacokinetics and pharmacodynamics on transdermal dosage forms of 17β estradiol comparison with conventional oral estrogens used for hormone replacement. **Am J Obstet Gynecol 152, 1099- 1106, 1885**

218.- Grady D, Gebretsadik T, Kerlikowske K, Ernster V, Petitti D. Hormone replacement therap and endometrial cancer risk: a meta-analysis. **Obtet Gynecol 85, 304-313, 1995**

219.- Ettinger B, Golditch IM, Friedman G. Gynecologic consecuences of long-term unopposed estrogen replacement therapy. **Maturitas 10, 271-278, 1988**

220.- Woodruff J, Pickar J. Incidence of endometrial hyperplasia in postmenopausal women taking conjugated estrogens (Premarin) with medroxyprogesterone acetate or conjugated estrogens alone. **Am J Obstet Gynecol 170, 1213-1223, 1994**

221.- Brzozowski AM, Pikke ACW, Dauter Z et al. Molecular basis of agonism and antagonism in the estrogen receptor. **Nature 289, 753-758, 1997**

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

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

224.- Poules TJ, Hickish T, Kanis JA, Tidy A, Ashley S. Effect of tamoxifen on bone mineral density measured by dual energy x-ray dual absorptiometry in healthy premenopausal and postmenopausal women. **J Clin Oncol 14, 78-84, 1996**

225.- Delmas PD, Bjarnason NH, Mitlak BH et al. Effects of raloxifene on bone mineral density, serum cholesterol concentrations and uterine endometrium in postmenopausal women. **N Engl J Med 337, 1641-1647, 1997**

226.- Wakeling AE, Bowler J. Esteroidal pure antiestrogens. **J Endocrinol 112, R7 - R10, 1987**

227.- Morris SE, Rymer J. Selective estrogen modulators: Woman 's panacea for the next milenium. **Amer J Obstet Gynecol 180, 763-770, 1999**

228.-Yalow RS, Berson SA. Assay of plasma insulin in human subjects by immunological methods. **Nature 184, 1618-1619, 1959**

229.- Schalch D, Parker M. A sensitive double antibody immunoassay for human growth hormone in plasma. **Nature 203, 1141-1145, 1964**

230.- Herbert V, Lou KS, Gottlieb CH, Bleicher J. Coated charcoal immunoassay for insulin. **J Clin Endocrinol Metab 25, 1375-1378, 1965**

231.- Miles Mel, Lipschitz DA, Bieber CP, Cook JD. Measurement of serum ferritin by a 2-site immunoradiometric assay. **Analyt Biochem 61, 209-224, 1974**

232.- Joh R, Woodhead JS. An automated immunoradiometric assay of thyrotropin (TSH) in dried blood filter paper spots. **Clin Chim Acta 125, 329-340, 1982**

233.- De Luca M. Bioluminescence and chemiluminescenee. **Methods Enzymology 133, 1-650, 1986**

234.- Pazzagli M, Sermio M. A Chemiluminescent immunoassay (LIA) for testosterone. **IAEA Viena, 747-752, 1982**

235.- Whitehead TP, Thorpe GHG. Enhanced luminescence procedure for sensitive detection of peroxidase-labelled conjugates in immunoassays. **Nature 305, 158-166, 1983**

236.- Wiedermann ET, Saito JA, Linfoot C, Li CH. Specific radioimmunoassay of human Beta Endorphin in unextracted plasma. **Jour Cin Endocrinol Metab 49, 478, 1979**

237.- Orf JW, Ellis J, Johanson N, Vanderloise F, Lindall AW. Extraction of beta Endorphin from serum binding protein. **Clinical Research 27, 680-683A, 1979**

238.-.Hestrin S, Sabine E. The reaction of acetylcholine and other carboxylic acid derivates with hydroxilamine and its analytical aplication. **J Biol Chem 180, 1259-1264, 1969**

239-Canales Ortiz G. Estandarización y validación de un método colorimétrico específico para cuantificar acetil colina en orina y líquido amniótico. **Tesina. Facultad de Biología. UAM- Iztapalapa. México DF. 1986**

240.-Goldenberg. H. Specific photometric determination of hydroxy indol acetic acid in urine. **Clin Chem 19, 38, 1979**

241.-Greene JG, Cooke DJ . Life stress and symptoms at the climateric. **Brit J Psychiatry 136, 486-492, 1980**

242.-Greene JG, Hart DM. Evaluation of psychological treatment programs for climateric women. **Maturitas 9, 41-48, 1987**

243.-Fonseca ME Cruz ML, Loustaunau E, Ochoa R, Hernández M, Zárate A. Estrogen replacement therapy increases prolactin levels in postmenopausal womwn. **Menopause 4, 201, 204, 1997**

244.- Kooijman R, Hooghe-Peters EL, Hooghe R. Prolactin, Growth hormone and Insulin-like Growth Factor-1 in the immune system. **Advan Immunol 63, 377-388, 1996**

245.-Fonseca ME, Ochoa R, Galvan RE, Hernández M, Mercado M, Zátate A. Increased serum levels of growth hormone and insulin-like growth factor –1 associated with simultaneous decrease of circulating insulin in postmenopausal women receiving hormone replacement therapy. **Menopause 6, 56-60, 1998**

246.- Langlois JA, Rosen CJ, Visser M, Hannan MT, Harris T, Wilson PW, Kiel DP. Associaton between Insulin-like Growth Factor–1 and bone mineral density in older women and men. The Framinghan Heart Study. **J Clin. Endocrinol metab 83, 4257-62, 1998**

247.- Muller EE, Cella SG, De Gennaro Colonna V, Parenti M, Cocchi D, Locatelli V: Aspects of the neuroendocrine control of growth hormone secretion in ageing mamm.als. **J Reprod Fertil 46, 99- 103, 1993**

248.- Kelly JJ, Rajkovic IA, O'Sullivan AJ et al. Effects of different oral estrogen formulations on insulin–like growth factor–1, growth hormone and growth hormone binding protein in posmenopausal women. **Clin Endocrinol 39, 561-567, 1993**

249.-Azziz R, Koulianos G. Adrenal androgens and reproductive aging in females. **Semin Reprod Endocrinol 19, 249-260, 1999**

250.- Baulie EE. Dehydroepiandrosterone (DHEA) the fountain of youth . **J Clin Endocrinol Metab 81, 59-64, 1996**

251.- Fonseca ME, Basurto L, Velazquez S, Zárate A Hormone replacement therapy increases ACTH / dehidroepiandrosterone sulfate in menopause.
Maturitas 39, 57-62, 2001,

252- Slayden SM, Brabbe L, Bae S, Potter HD, Azziz R, Parker CR. The effect of 17β-estradiol on adrenocortical sensitivity, responsiveness and steroidogenesis in postmenopausal women. **J Clin Endocrinol Metab 83, 519-524, 1998**

253.-Fonseca ME, Zárate A, Ochoa R, Cruz ML, Basurto L. Efecto de la estrogenoterapia de reemplazo sobre la senescencia endocrina..
Bioquimia 26, N° 102, 3-9, 2001

254- Vamvakopoulos ND, Chorousus GP. Evidence of direct estrogenic regulation of human corticotropin-releasing hormone gene expression. Potential implications for the sexual dimorphism of the stress response and the immune/inflammatory reaction.
J Clin Invest 92, 1896-1900, 1993

255.- Liu CH, Laughlin GA, Fisher UG, Yen SC. Marked attenuation of ultradian and circadian rhyhms of dehydroepiandrosterone in postmenopausal women; evidence for a reduced 17,20- desmolase enzymatic activity. **J Clin Endocrinol Metab 71, 900-907, 1990**

256.- Malarkey WB, Pearl DK, Demers LM, et al. The influence of stress and season on 24-hour mean concentrations of ACTH, cortisol and β-endorphin.
Psychoneuroendocrinology 20, 499-508, 1995

257- Burleson MH, Malarkey WB, Cacioppo JT, Poehlman KM, et al. Postmenopausal hormone replacement : Effects on autonomic, neuroendocrine and immune reactivity to brief psychological stressors **Psychosomatic Medicine 60, 17-25, 1998**

258- Brusaad HE, Gevers Leuven JA, Frolich M, Kluft C, Krans HM. Short-term estrogen replacement therapy improves insulin resistence, lipids and fibrinolysis in postmenopausal women with NIDDM. **Diabetologia 40, 843-847, 1997**

259.- Schwartz RS, Jaeger LF, Veith RC. The importance of body composition to the increase in plasma norepinephrine appearance rate in elderly men.
J Gerontol 42, 546-551, 1987

260.- Rubin PC, Scott PJW, Mc Lean K, Reid JL. Noradrenaline release and clearance in relation to age and blood pressure in men. **Eur J Clin Inv 12, 121-125, 1982**

261.- Poehlman ET, McAuliffe T, Danforth E Jr. Effects of age and level of physical activity on plasma norepinephrine kinetics. **Am J Physiol 258, E256-E262, 1990**

262.- Owens JF, Stoney CM, Matthews KA Menopausal status influences ambulatory blood pressure levels and blood pressure changes during mental stress.
Circulation 88, 2794-2802, 1993

263.-Goldstein D, McCarty R, Polinsky I. Relationship between plasma norepinephrine and sympathetic neural activity. **Hipertension 5, 353-355, 1883**

264.- Sands RH, Studd JWW, Crook D et al. The effect of estrogen on blood pressure in hypertensive postmenopausal women. **Menopause 4, 115-119, 1997**

265.- Hersey RM, Lloyd T, Mac Lusky NJ, Weiz J. The catecholestrogen 2-hidroxyestradiol-17β is formed from estradiol 17β by hypothalamic tissue in vitro and inhibits tyrosine hidroxilase. **Endocrinoloy 111, 1734-1736, 1982**

266.- Wise PM, Ponce N, Barracough Ca. Effects of estradiol and progesterone on catecholamine turnover rates in discrete hypothalamic regions in ovariectomized rats.
Endocrinology 108, 2186-2193, 1981

267.- Mermelstein P. et al. Estradiol reduces calcium currents in rats neostriatal dopaminergic neurons via a membrane receptor. **J Neurosci 16, 595-604, 1996**

268.- Fernández Ruiz et al. Time course of the effect of the ovarian steroid on the activity of the limbic and striatal dopaminergic neurons in femele rat brain.
Pharmacol Biochem Behav 36, 603-606, 1990

269.- González GF, Carillo C. Blood serotonin levels in postmenopausal women: effect of age and serum estradiol levels. **Maturitas 17, 23-29, 1993**

270.- Maswood S, Stewart G, Uphouse L. Gender and estrous cycle effects of the 5HT 1A agonist 8OH-DPAT on the hypothalamic serotonin. **Pharmacol Biochem Behav 51, 807-813, 1995**

271.- Lippert TH, Filshie M, Muck OA, Seegar H, Zwirner M. Serotonin metabolite excretion after postmenopausal estradiol therapy. **Maturitas 24, 37-41, 1996**

272.- Halbreich U, Rojansky N, Palter S, Tworek H, Hissin P, Wang K. Estrogens augment serotoninergic activity in postmenopausal women.
Biol Psychiatry 37, 434-441, 1995

273.- Pecins-Thompson M, Brown NA, Kohama SG, Bethea CL. Ovarian esteroid regulation of tryptophan hydroxilase mRNA espression in rhesus macaques.
J Neurosci 16, 7021-7029, 1996

274.- McQueen JK, Wilson H, Fink G. Estradiol 17β increases serotonin transporter (SERT) mRNA levels and the density of SERT binding sites in female rat brain.
Mol Brain Res 45, 13-23, 1997

275.- Chakravorty SG, Halbreich U.The infuence of estrogen on monoamine oxidase activity. **Psichopharmacol Bull 33, 229-233, 1997**

276- Arpels JC. The femele brain hypoestrogenic continuum from the premestrual syndrome to menopause: a hypotesis and review of supporting data..
J Reprod Med 41, 633-639, 1996

277.- KronembergF. Hot flash: epidemiology and physiology. **Ann NY Acad Sci 592, 52-86, 1990**

278- Genazzani AR, Petraglia F, Facchinetti F, Grasso A, Alessandrini G, Volpe A. Steroid replacement treatment increases Beta-endorphin and Beta- lipotropin plasma levels in postmenopausal women. **Gynecol Obstet Invest 26, 153-159, 1988**

279.- D' Amico JF, Greendale GA, Lu JKH, Judd HL. Induction of hypothalamic opiod activity with transdermal estradiol administration in postmenopausal women.
Fertil Steril 55, 754-758, 1991

280.- Hapson E. Variations in sex related cognitive abilities across the menstrual cycle.
Brain Cognition 14, 26-43, 1990

281.- Jacobs DM, Tang M, Stern Y, Sano M, Marder K et al. Cognitive function in non dement older women who took estrogens after menopause.
Neurology 50, 368-373, 1998

282.- Wechsler D. Manual for the Wechsler Memory Scale-Revised. **Psychological Corporation , New York, 1987**

283.- Kimura D. Estrogen replacement therapy may protect against intellectual decline in postmenopausal women. **Hormones Behav 29, 312-321, 1995**

284.- Paganini-Hill A, Henderson VW. Estrogen deficiency and risk of Alzheimer disease in women. **Am J Epidemiol140, 256- 261, 1994**

285.- Tang M, Jacobs DM, Stern Y, Marder K et al. Effect of estrogen during menopause on risk and age at onset of Alzheimer disease.. **Lancet 348, 429-433, 1996**

286.- Schneider LS, Farlow MR, Henderson VW, Pogoda JM.. Effects of estrogen replacement therapy on response to tacrine in patients with Alzheimer's disease. **Neurology 46, 1580-1584, 1996**

287.- Cawood E, Bancroft J. Steroid hormones, the menopause, sexuality and well-being of women. **Pschol Med 26, 925-936, 1996**

288.- Kaufert PA, Gilbert P, Tate R. The Manitoba Proyect: A re-examination of the link between menopause and depression. **Maturitas 14, 143-155, 1992**

289.- Horwarth E, Weissman MM. Epidemiology of depression and anxiety disorders. En : Tsuang MT, Thoen M, Zahner GEP eds. **Texbook in psychiatry epidemiology. Willey , New York, pp 317-344, 1995**

290.- Harlow BL, Cramer DW. The harvard study of moods and cycles: depression and factors related to mestruation and ovulation. **Amer J Epidemiol 143, 56-60, 1996**

291.-Graze KK, Nee J, Endicott J. Premenstrual depression predicts future major depressive disorders. **Acta Psychiatr Scand 81, 201-205, 1990**

292.- Rivier C, Rivier J, Vale W. Stress- induced inhibition of reproductive functions : role of endogenous corticotropin–releasing factor. **Science 231, 607-609, 1986**

293.- Quigley ME, Sheehan KL, Casper RF, Yen SSC. Evidence for increased dopaminergic and opiod activity in patients with hypothalamic hypogonadotropic amenorrhea. **J Clin Endocrinol Metab 50, 949-954, 1980**

294.- Harlow BL, Cramer DW, Mc Gurk KM. The association of medically trated depression and age at natural menopause. **Am J Epidemiol 141- 1170- 1176, 1995**

295.- Smith SS. Hormones, mood and neurobiology : a summary. En: Berg G, Hammar M, eds. **The modern managment of the menopause. Parthenon , New York, 295-299, 1994**

296.- Oppenheim G. Estrogen in the treatment of depression: neuropharmacological mechanism. **Biol Psych 18, 721-725, 1983**

297.- McEwen B, Elvcs SE. Estrogens actions in the central nervous system. **Endocrine Rev 20, 279-307, 1999**

298.- Pearce J, Hawton K, Blake F. Psychological and sexual symptoms associated with the menopause and the effect of hormone replacement therapy.
Br J Psychiatry 167, 163-173, 1995

299.- Ohukukura I, Isse K, Akasuawa K, et al. Can estrogen or selective estrogen receptor modulators preserve cognitive function in elderly women?
New Eng J Med 344, 12421244, 2001

300.- Ettinger B. Personal perspective on low-dosage estrogen therapy for postmenopausal women. **Menopause 6, 273-276, 1999**

301.- Caspere RF, MacLusky NJ, Brown TJ. Rationale for estrogen with interrumped progestin as a new low-dose hormonal replacement therapy . **J Soc Gynecol Invest 3, 225-234, 1996**

302.- Klaiber E, Broverman DM, Vogel WW, Peterson LG,SnyderMB. Relationship of serum estradiol levels, menopausal duration, and mood during hormonal replacement therapy. **Psychoneuroendocrinology 22, 549-558, 1997**

ELSEVIER

Maturitas 00 (2001) 000–000

MATURITAS
THE EUROPEAN MENOPAUSE JOURNAL

www.elsevier.com/locate/maturitas

Hormone replacement therapy increases ACTH/dehydroepiandrosterone sulfate in menopause

Eugenia Fonseca, Lourdes Basurto, Silvia Velázquez, Arturo Zárate *

Endocrine Research Unit, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional, Instituto Mexicano del Seguro Social, Mexico City, Mexico

Received 16 May 2000; received in revised form 12 December 2000; accepted 5 March 2001

Abstract

Objective: To demonstrate that hypoestrogenism in menopause is in part responsible for the decrease in circulating dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S) and ACTH levels. To test this hypothesis, 25 postmenopausal women aged 47–60 years, were given orally conjugated equine estrogen (CEE) to study the effect on circulating DHEA-S, cortisol and ACTH. *Design.* A prospective, non-blinded study was performed. Hormonal levels were analyzed before and after three cycles of CEE 0.625 mg/day for 21 days followed each by chlormadinone acetate for 5 days. *Results.* Low baseline levels of DHEA-S increased significantly after HRT (1.71 ± 0.75 to 3.3 ± 1.5 μmol/l, ($P < 0.001$). ACTH levels augmented moderately from 3.26 ± 1.4 to 4.7 ± 1.8 pmol/l ($P < 0.05$) and cortisol from 350.4 ± 118 to 450.8 ± 144 nmol/l ($P < 0.01$). A positive correlation was obtained between 17 β-estradiol and ACTH ($r = 0.48$), estradiol and cortisol ($r = 0.52$) as well as estradiol and DHEA-S ($r = 0.60$). In addition, the correlation was highly significant ($P < 0.001$) between ACTH and DHEA-S at the term of HRT. *Conclusion:* HRT increased DHEA-S, ACTH and cortisol concentrations, which may suggest that this therapy may exert a stimulatory effect on the pituitary gland when baseline hypoestrogenism is present, but further studies are required to clarify the mechanism underlying this process. © 2001 Elsevier Science Ireland Ltd. All rights reserved.

Keywords: ACTH; Adrenal cortex; Aging; Cortisol; Hormone replacement therapy; Dehydroepiandrosterone-sulfate; Menopause

1. Introduction

It has been widely demonstrated that serum levels of dehydroepiandrosterone (DHEA) and its sulfate ester (DHEA-S) decline with aging; however, circulating cortisol and ACTH have been reported as unchangeable [1,2]. Moreover, contradictory results have been reported concerning the effect of estrogen replacement therapy on DHEAS production in postmenopausal women [3–5]. It has also been demonstrated that administration of conjugated equine estrogens (CEE) elicits an increase in serum DHEAS to values to those observed in normal menstruating women [6,7]; conversely, other investigators have found

* Corresponding author. Present address: Hospital de México, Agrarismo 208-601, México City 11800, Mexico. Tel.: +52-5-2726211; fax: +52-5-2726458.
E-mail address: azarat@mediweb.com.mx (A. Zárate)

0378-5122/01/$ - see front matter © 2001 Elsevier Science Ireland Ltd. All rights reserved.
PII: S0378-5122(01)00192-X

ucts Co, Los Angeles, CA); the sensitivity was 27.5 nmol/l for cortisol and 0.670 μmol/l for DHEAS, with an intra- and interassay CV of 2.9 and 4.5%, and 2.9 and 5.8% respectively.

2.3 Statistical analysis

All data are given as mean ± standard deviation (M ± S.D.). The significance of any difference was analyzed using a paired t-test to compare the results obtained before and after HRT. A correlation by linear regression analysis between different biochemical markers was also performed.

3. Results

Baseline serum FSH and LH levels were elevated in all women, consistent with the hypoestrogenism, and they were not statistically different between the two groups. A marked decline in FSH and LH concentrations was observed after 3 months of CEE, confirming the biological effect of estrogen administration (Table 1). Low baseline levels of DHEA-S and cortisol were present; however, at the term of HRT, a marked increment in DHEA-S (1.71 ± 0.75 μmol/l to 3.3 ± 1.5 μmol/l; $P < 0.001$) was obtained (Fig. 1), in parallel with a moderate but significant ($P < 0.05$) increment of ACTH (3.26 ± 1.4 to 4.7 ± 1.8 pmol/l). Basal cortisol levels were below of the normal range in some of the menopausal women, but CEE produced an increase in cortisol concentration (350.4 ± 118 to 450.8 ± 144 nmol/l, $P < 0.01$). A linear correlation was demonstrated between estradiol and ACTH ($r = 0.48$, $P < 0.05$), estradiol and cortisol ($r = 0.52$, $P < 0.05$), as well as between estradiol and DHEA-S ($r = 0.60$, $P < 0.01$), as shown in Fig. 2. In addition, a significant correlation ($P < 0.001$) between ACTH and cortisol as well as ACTH and DHEA-S at the term of HRT was demonstrated (Fig. 3).

4. Discussion

In the present study, it is demonstrated that CEE increases DHEA-S, cortisol and ACTH levels. Our data contrast with those of others regarding the effect of HRT on serum levels of DHEA-S [8], but are in agreement with those of Lobo et al. [7], which showed a dose-related increase in adrenal androgens and cortisol in response to conjugated estrogens. The mechanism underlying this response is unknown; however, the explanation may be a double and simultaneous effect of estrogens on the pituitary and the adrenal cortex. There is some additional evidence for a direct estrogenic regulation of human corticotropin-releasing hormone gene expression [11]; thus, pro-opiomelanocortin messenger RNA can be

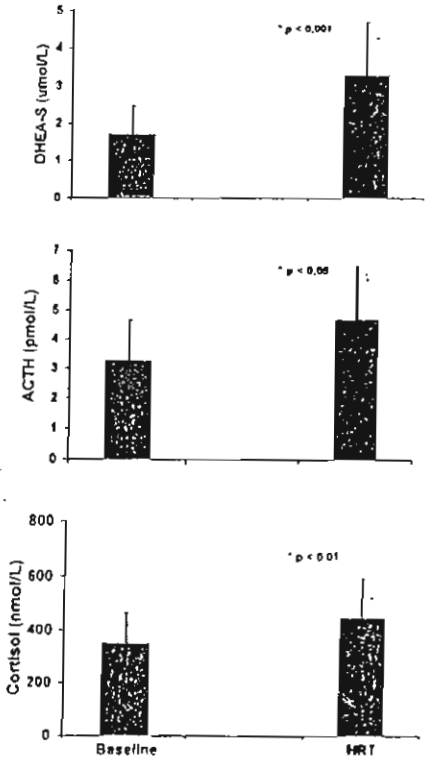


Fig. 1. Significant increment in circulating serum levels of DHEA-S, cortisol and ACTH obtained after three courses of HRT. Values represent mean ± standard deviation before and after estrogen replacement therapy (HRT).

encoded by a single gene, but older women have shown a selective decrease in 17,20-desmolase in parallel with unaltered 17 α-hydroxylase activity, which could suggest a functional shift between the expression of the two enzymatic activities, with a preferential decrease in Δ5-androgen synthesis with aging, and so, the bifunctional P450 C17 within the adrenal gland may be modified by estrogens [14]. The presence of estrogen receptors in the adrenal cortex of primates suggests that estrogens may be a physiologically important regulator of adrenal steroidogenesis [10]. Conflicting results have also been reported on the effect of HRT upon cortisol concentrations; however, it is likely that this disparity may be dose-related of estrogens [15]. Some investigators found that physiologic levels diminish 3 β-hydroxysteroid dehydrogenase (3βHSD) activity, which in turn decreased the Δ4-steroid production, whereas other investigators have reported an increment in 3βHSD messenger RNA expression [16]. Moreover, Lobo et al. found that the CEE caused an increased response in both 3βHSD and 17-20 desmolase activity after ACTH stimulation [7]. In the present study, we have found significant changes in the pituitary–adrenocortical axis in response to CEE in postmenopausal women; thus, HRT produced an increase in ACTH levels with a simultaneous elevation in both DHEA-S and cortisol levels. In addition, we have demonstrated a highly significant correlation between ACTH and cortisol levels as well as ACTH and DHEA-S at the end of HRT. These results could indicate a positive effect of HRT, taking in account the proposed effects of DHEA-S on the cardiovascular system, bone, muscle, body fat distribution and immunological system.

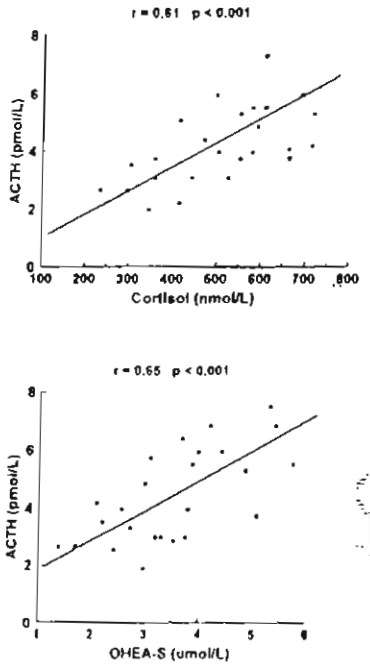


Fig. 3. Positive correlation between ACTH and cortisol levels ($r = 0.61$) and between ACTH and DHEA-S concentrations ($r = 0.65$)

In summary, menopausal women exhibited a decline in DHEA-S, ACTH and cortisol levels, but HRT restored these biochemical abnormalities to normal. The clinical implications of these biochemical changes deserve further investigation.

Acknowledgements

We appreciate the valuable editorial work of Ms. Patricia Hernández. This study was supported in part by a grant awarded by FOFOI-IMSS to promote research and the postgraduate program.

References

[1] Orentreich N, Briand JL, Vogelman JH. Age changes and sex differences in serum dehydroepiandrosterone sulfate concentrations through adulthood. J Clin Endocrinol Metab 1984;59:551–5.

[2] Tazuke S, Khaw KT, Barrett-Connor E. Exogenous estrogen and endogenous sex hormones. Medicine 1992;72:44–50.

[3] Stomati M, Hartmann B, Spinetti A, Mailand D, Rubino SM, Albrecht A, Huber J, Petraglia F, Genazzani AR. Effects of hormonal replacement therapy on plasma sex hormone-binding globulin, androgen and insulin-like growth factor-I levels in postmenopausal women. J Endocrinol Invest 1996;19:535–41.

K□På®¿□V□V□k□^/□MATURITAS
The European Menopause Journal

Editors-in-Chief:
Correspondence:
ï Prof. Dr Jos H.H. Thijssen
Utrecht University, The Netherlands
Tel: +31-30-2504258
ï Prof. Dr Peter Kenemans
Free University Amsterdam, The Netherlands
Tel: +31-20-4444813

Mark Two Communications B.V.
Editorial Office Maturitas/EMJ
P.O. Box 610
3500 AP Utrecht, The Netherlands
Tel: +31-30-2563588
Fax: +31-30-2563590
E-mail: maturitas@marktwo.nl

Dr. A. Z·rate
Hospital de MÈxico
Agrarismo 208-601
MÈxico City 11800
MEXICO

by e-mail: azarat@mediweb.com.mx

Utrecht, 9 March 2001

Re. : MS 00-48
Title : Hormone replacement therapy increases ACTH/Dehydroepiandrosterone sulfate in menopause
Authors : Fonseca E, Basurto L, Vel·squez S, Z·rate A

Dear Dr. Z·rate,

Thank you for your manuscript. The paper has now been accepted for publication in MATURITAS and will be forwarded to the publisherís desk editor.

Thank you for submitting your paper to MATURITAS. I look forward to receiving further articles from you in the future.

Yours sincerely,

Prof. Dr J.H.H. Thijssen

TEMA: ENDOCRINOLOGIA

Cambios en el eje somatotrópico y la insulina en la mujer posmenopáusica. Efecto de la terapia hormonal con estrógenos

Dra. María Eugenia Fonseca, Dra. María Luisa Cruz, M en C Raquel Ochoa, QFB Angélica Sandoval, M en C Rosa Elba Galván y Dr. Arturn Zárate

Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Endocrinas. Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional. IMSS. y Universidad Autónoma Metropolitana (AUM). México D. F.

RESUMEN

Se ha sugerido que las alteraciones metabólicas que afectan a la mujer menopáusica y la predisponen a la obesidad, la hipertensión arterial, y la enfermedad cardiovascular, se relacionan a una falla del eje somatotrópico-insulino-nutricional (GH, IGF-1 e Insulina), como parte del proceso normal de envejecimiento. Dado que los estrógenos son importantes reguladores de la síntesis de GH, es posible que la disminución de los estrógenos a la menopausia, participe en la etiología de las alteraciones.
Determinar el estado funcional del eje somatotrópico y la insulina, en relación al ambiente estrogénico, en mujeres premenopáusicas y posmenopáusicas; así como determinar el efecto de la terapia hormonal de reemplazo (THR).
Se estudiaron 50 mujeres normales, posmenopáusicas, de 46-65 años, con niveles elevados de FSH y LH (> 50 mUI/mL) y E2 bajo (< 30 pg/mL) que no habían recibido THR. Las mujeres fueron divididas al azar en dos grupos (I y II) a los que se administraron 0.625 y 1.25 mg de estrógenos conjugados respectivamente, durante tres ciclos, tomándose muestras de sangre venosa antes y después del tratamiento, para medir E2, Insulina, GH e IGF-1, las tres primeras por técnicas de radioinmunoanálisis (RIA) y la última por un método inmunoradiométrico (IRMA). Como grupo testigo se incluyeron en el estudio 30 mujeres sanas,de 40-48 años, con función ovárica normal .
Pretratamiento, los niveles de GH e IGF-1 en mujeres menopaúsicas, se encontraron disminuidos y los de insulina elevados, cambio que no fué solo dependiente de la edad sino también de la disminución de los estrógenos. La THR incrementó significativamente ($p< 0.001$) los niveles de GH e IGF-1 a la dosis de 0.625 mg y la insulina disminuyó ($p< 0.01$) a niveles similares a los de mujeres premenopáusicas. Además se observó una elevada correlación lineal entre los niveles de GH e IGF-1 con la concentración de E2 ($r = 0.74$ y 0.75 respectivamente); con la insulina la correlación fue inversa ($r = - 0.64$).
En la posmenopausia disminuyen significativamente los niveles de GH e IGF-1 y en consecuencia, su acción anabólica y su efecto lipolítico, lo que unido a la hiperinsulinemia, puede ser causa de los cambios metabólicos observados. Estos pueden ser revertidos por la THR.

Palabras claves: Eje somatotrópico - Insulina - Menopausia - Tratamiento Hormonal de Reemplazo (THR).

Correspondencia: Dra. María Eugenia Fonseca Yerena, Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Endocrinas, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social. Av. Cuauhtémoc No. 330. Col. Doctores, 06720 México, D.F., Fax: 5627 69 13.

ABSTRACT

It has been suggested that the metabolic changes that affect postmenopausal women can produce obesity, increasing the risk of arterial hypertension and cardiovascular disease. That cuold be originated by a derangement of the somatotropic axis as part of the normal process of aging. Estrogens are important regulators of the synthesis of growth hormone (GH) and can modulate the hypothalamic GH-RH and somatostatin, so it is posible the decrease of estrogens at the menopause cuold participate in the etiology of the alterations.
To study the functional state of the somatotropic axis (GH-IGF-1) and insulin in relation with the age and the estrogen levels in premenopausal and postmenopausal women, as well as to determine the effect of the hormone replacement therapy (HRT).
The study included 50 postmenopausal women aged 46-65 years, all of them with high levels of FSH and LH (> 50 mUI/mL) and low E2 (< 30 pg/mL). Patients were divided at random in two groups (n=25). One group received 0.625 mg and the other 1.25 mg of conjugated estrogens during 26 days, adding a progestagen (Chlormadinone 2mg daily) in the last five days for three cycles. In postmenopausal women, blood samples were taken before and after the treatment in order to measure : GH, insulin an E2 by radioimmunoassay (RIA) and IGF-1 with an immunometric assay (IRMA). In addition , 30 healthy women with normal ovarian function, low FSH and LH levels and high E2 , aged 40-48 years were included in the study as a control group.
The levels of GH and IGF-1 were notably below the normal values in the postmenopausal women; in the other hand those of insulin were elevated. Postmenopausal women had lesser GH and IGF-1 levels that premenopausal women of the same age, so the hormonal changes were not dependent only of the age, also were affected by the deficiency of estrogens. HTR increased significantly the low GH and IGF-1 levels after three months of treatment ($p < 0.001$) in the contrary the insulin concentration declined ($p< 0.01$). In addition a high linear correlation was observed between GH and IGF-1 with E2 concentrations ($r= 0.74$ and 0.75 respectively). Between insulin and E2 the relationship was negative ($r = - 0.63$)
Based on the results we concluded that GH and IGF-1 levels are notably disminished in the postmenopausal women and insulin concentration elevated. This hormonal changes migth participate in the etiology of the metabolic derangement observed in postmenopausal women. THR restored the GH, IGF-1 and insulin concentrations to normal values in premenopausal women showing that estrogens therapy have a favourable effect on metabolic alterations related with aging.

Key words: growth hormone - IGF-1 - insulin - hormone replacement therapy

RESULTADOS

La Fig. 1 muestra las concentraciones de GH, IGF-1 y la insulina, cuando se clasificaron a las mujeres en grupos de cinco años de acuerdo a su edad, incluyéndose los valores hormonales de todas las mujeres participantes en el estudio. Los resultados muestran una disminución progresiva de GH e IGF-1 al aumentar la edad; en contraste la concentración de insulina aumentó. En el caso de GH se observa una marcada disminución de la concentración de la hormona a partir de los 46 años, con diferencias altamente significativas en las mujeres mayores de 55 años ($p < 0.005$); resultados similares se obtuvieron para IGF-1 que disminuyó su concentración en las mujeres menopáusicas mayores de 50 años ($p<0.005$). Los niveles de insulina también mostraron diferencias significativas en las mujeres menopáusicas mayores de 50 años.

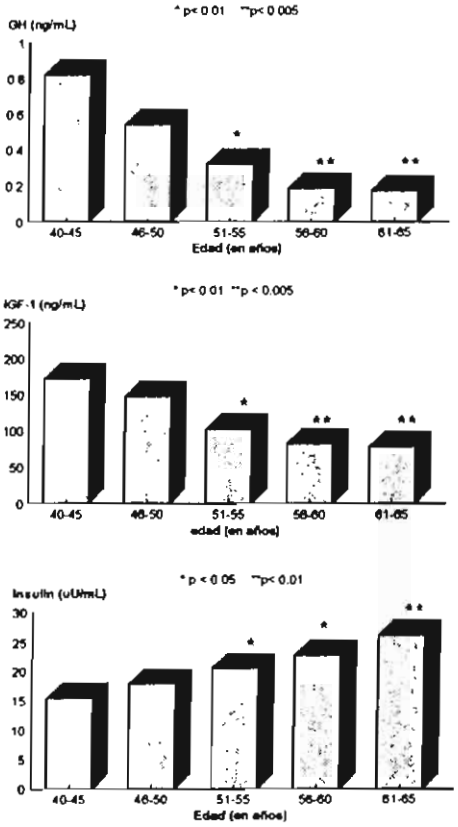


Figura 1. Se representa la tendencia de los valores de GH, IGF-1 e insulina, cuando las mujeres participantes en el estudio fueron divididas en grupos de cinco años de acuerdo a su edad, demostrándose una disminución progresiva de las concentraciones de GH e IGF-1 y elevación de la concentración de insulina.

En la Fig. 2 se comparan los niveles de GH, IGF-1, insulina y estradiol en las mujeres menopáusicas y no menopáusicas de la misma edad, observándose que la concentración de GH e IGF-1 y estradiol fueron significativamente menores en las mujeres menopáusicas y las concentraciones de insulina más elevadas ($p<0.05$).

El efecto de la THR después de tres ciclos de tratamiento con estrógenos conjugados a las dosis de 0.625 y 1.25 mg se muestra en la Fig.3, donde se comparan los valores hormonales de las mujeres del grupo control con los de las mujeres menopáusicas antes y después del tratamiento. Puede verse que las concentraciones de GH e IGF-1 disminuyeron a la menopausia al igual que el E2, mientras que la insulina aumentó ($p<0.05$). Postratamiento con estrógenos (0.625 mg) los valores de GH e IGF-1 aumentaron significativamente($p<0.001$) alcanzando valores similares a los de las mujeres premenopáusicas del grupo control. Con la dosis de 1.25mg de estrógenos la GH e IGF-1 también aumentaron, pero la respuesta fue menor que con 0.625mg. Por otra parte, la hiperinsulinemia observada a la menopausia, disminuyó con la THR regresando a valores normales, similares a los del grupo control, siendo mayor el efecto con la dosis de 1.25mg ($p<0.01$). Finalmente la Fig. 4 presenta los resultados del estudio de correlación efectuado entre la concentración de E2 y la de las hormonas estudiadas, en mujeres tratadas con 0.625 mg, de estrógenos, encontrándose una elevada relación lineal entre la concentración de GH e IGF1 con la concentración de E2 ($r = 0.74$ y 0.75 respectivamente) mientras que con la insulina la relación fue inversa ($r = -0.63$).

DISCUSION

El presente trabajo confirma que los niveles de GH disminuyen con la edad, y demuestra una disminución simultánea y progresiva de la concentración de IGF-1 conforme aumenta la edad de las mujeres. Sin embargo, la disminución de estas hormonas, parece estar influenciada no solo por la edad, sino también por la disminución de los estrógenos, pues como se demostró en este estudio, las mujeres menopáusicas tuvieron cifras de GH e IGF-1 significativamente menores que las mujeres no menopáusicas

TABLA 1
Valores hormonales en mujeres normales ovulatorias y mujeres menopáusicas

	EDAD (Años)	FSH (mUI/mL)	LH (mUI/mL)	PRL (ng/mL)	Estradiol (pg/mL)
G. Control (n=30)	40.1±3.6	16.2±8.2	38.95±8.8	10.6±4.2	73.5±90
Menopausia (n=50)	54.4±6.0 (46-50)	105±30	89.5±25	7.6±4.6	16±6.2

Se representa M±DS

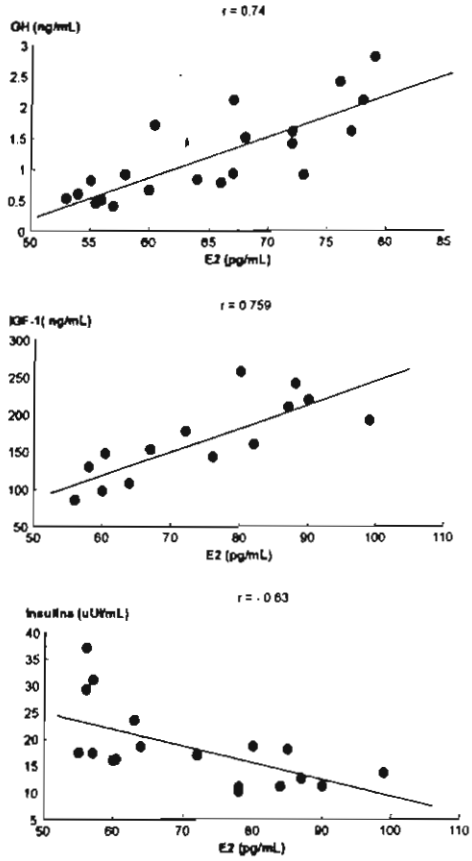


Figura 4. Resultados del estudio de correlación realizado entre las concentraciones de GH, IGF-1 y la insulina con la concentración de estradiol., observándose una elevada relación lineal con GH e IGF-1, mientras que con insulina la relación fue inversa.

de la misma edad. La disminución de IGF-1 puede explicarse como una consecuencia lógica de la disminución de GH, dado que GH es el principal inductor de síntesis de IGF-1 en el hepatocito [13]. A la vez la disminución de GH a la menopausia puede estar condicionada, por la disminución de los estrógenos que como se mencionó anteriormente, determinan la expresión del factor de transcripción de la GH y estimulan la producción de GH-RH independientemente de la edad. Los resultados muestran que la THR revierte las alteraciones del eje somatotrópico e incrementa la producción de GH e IGF-1 en relación directa a la concentración de estrógenos. Este efecto de la THR es benéfico pera la mujer menopaúsica, por restituir los niveles de GH e IGF-1 y con ello su acción sobre el metabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos, determinando un mejor control de la glicemia, la disminución de los lípidos circulantes y del riesgo de osteoporosis [14,15]. En apoyo a estos datos, existen evidencias experimentales que demuestran que los estrógenos pueden inducen la síntesis de IGF-1 en tejidos como los osteoblastos, el ovario, y el útero [16] independientemente de la acción de la GH. Respecto a la insulina podemos decir, que aunque el nivel de esta hormona es en gran parte dependiente de la alimentación, en las mujeres menopáusicas se demostró hiperinsulinemia, que revirtió con la THR.

Estos datos analizados en conjunto, indican que los estrógenos tienen un papel importante, en el control del eje somatotrópico-insulino nutricional; por una parte estimulando la secreción de GH e IGF-1 y por otra controlando la secreción de insulina. A la menopausia este efecto regulador se pierde, pudiendo determinar los cambios hormonales y las alteraciones metabólicas que presenta la mujer menopáusica, como son la disminución de la fuerza física, la masa ósea y la masa muscular, la disminución de la lipolisis y las alteraciones del perfil de lípidos, como resultado de la disminución de GH e IGF-1, lo que unido al incremento de los niveles de insulina favorece el aumento de peso observado a la menopausia.

Podemos concluir que la THR tiene un efecto benéfico sobre el eje somatotrópico-insulino nutricional, adicional a otros ya conocidos; por restituir las acciones anabólicas de GH e IGF-1 y reducir la hiperinsulinemia, que predispone a la obesidad y es factor de riesgo para la diabetes y la enfermedad cardiovascular [17,18].

BIBLIOGRAFIA

1. Corpas E, Harman SN, Blakman MR. Human growth hormone and human againg. Endoc Rev 1993; 14:14-39
2. Wilshire GB, Loughlin JS, Brown JR, Adel T E, Santoro N Diminished function of the somatotrophic axis in older reproductive-aged women. J Clin Endocrinol Metab 1995; 80: 608-13
3. Fryburg DA, Jahn LA, Hill SA, Oliveras DM, Barret EJ. Insulin and insulin-like growth factor-1 enhance human skeletal muscle protein anabolism during hyperaminoacidemia by different mechanisms. J Clin Invest 1995; 96: 1722-29
4. Wuster C. Growth hormone, insulin-like growth factors and bone metabolism. Endocrinology and metabolism 1995; 2: 3-12
5. Amato G, Carrella C, Fazio S, La Montagna G, Cittadini A, Sabatini D. Body composition, bone metabolism and heart structure and function in growth hormone (GH) deficient adults before and after GH replacement therapy at low doses. Clin Endocrinol Metab 1993; 77: 1671-6
6. Nelson C, Albert VR, Elsholtz UP, Lu IJ, Rosenfield M G. Activation of cell specific expression of growth hormone and prolactin genes by a common transcription factor. Science 1988; 239: 1400-5
7. Murphy LJ, Friesen HG. Differential effect of estrogen and growth hormone on uterine and hepatic insulin-like growth factors-1 gene expression in the ovarectomized hypophysectomized rat. Endocrinology 1988; 122: 325-29
8. Sakkari AM, Koivisto VA, Rutanen EM, Yki - Jarvinen H, Haronen SI, Seppala M Insulin regulates the serum levels of low molecular weight insulin-like growth factor binding protein. J Clin Endocrinol Metab 1988; 66: 266-72
9. Lang I, Schernthaner G, Pieschmann P, Kurt R, Schepelmann JM, Templ H. Effects of sex and age on growth hormone response to growth hormone -releasing hormone in healthy individuals. J Clin Endocrinol Metab 1987; 65: 535-40
10. Robinson S.Kiddy D, Gelding SV, Willis D, Johnston DG, Franks S. The relationship of insulin insensitivity to menstrual pattern in women

Menopause: The Journal of The American Menopause Society
Vol. 6, No. 1, pp. 56–60
© 1999 The North American Menopause Society
Text printed on acid-free paper

Increased Serum Levels of Growth Hormone and Insulin-Like Growth Factor-I Associated with Simultaneous Decrease of Circulating Insulin in Postmenopausal Women Receiving Hormone Replacement Therapy

Eugenia Fonseca, MD, Raquel Ochoa, MD, Rosa Galván, MD, Marcelino Hernández, MD, Moisés Mercado, MD, and Arturo Zárate, MD, PhD

ABSTRACT

Objective: Decreases in circulating growth hormone (GH) and its main biological messenger insulin-like growth factor-I (IGF-I) have been interpreted as part of the aging process. Because estrogens participate in modulating GH synthesis and secretion, hypoestrogenism in menopausal women may lead to GH deficiency. The aim of the present study was to determine the effect of hormone replacement therapy (HRT) on both GH and IGF-I levels as well as insulin concentrations in 50 menopausal women.

Design: Patients were assigned randomly into two treatment groups of 25 each; one group received three cycles of conjugated equine estrogen (CEE) 0.625 mg/day for 21 days, and the other, 1.25 mg/day during 21 days. Each also received chlormadinone acetate for 5 days. There was a control group consisting of regularly menstruating women.

Results: In the menopausal women, HRT increased significantly ($p < 0.001$) the low levels of GH and IGF-I; on the contrary the baseline insulin levels declined ($p < 0.001$) with HRT. A significant linear correlation ($r = 0.90$) was found between GH and IGF-I as well as with estradiol levels ($r = 0.74$) in the group of menopausal women receiving CEE 0.625 mg/day. This group of patients had a significant correlation ($r = -0.63$) between insulin and estradiol levels. No correlation was observed in the group receiving CEE 1.25 mg/day.

Conclusions: HRT restored GH, IGF-I, and insulin levels to normal values in all women. Further research needs to be done to establish the beneficial effect of HRT regarding the prevention of the metabolic effects presumably caused by derangement in the somatotropic axis associated with aging. (*Menopause* 1999;6:56–60. © 1999, The North American Menopause Society.)

Key Words: Menopause – Aging – Hormone replacement therapy – Growth hormone – IGF-I – Insulin.

At puberty, during the adolescent growth spurt, growth hormone (GH) levels increase and then they decrease slowly and remain steady until mid-adulthood, at which time they again progressively decline.[1,2] This decrease that coincides with aging has been interpreted as the result of a physiological GH deficiency. Therefore, the pharmacological use of exogenous synthetic GH has been proposed as replacement therapy to ameliorate the metabolic derangement supposedly associated with GH deficiency.[3,4] It is widely known that estrogens participate in two processes, modulating GH synthesis and secretion in the pituitary as well as stimulating production of insulin-like growth factor I (IGF-I) in the liver.[5,6] GH regulates IGF-I synthesis, which in turn controls pituitary GH production[7,8]; the somatotropic axis is therefore closely interlinked with the circulating estrogen.[9] Previously, we have demonstrated that menopausal women exhibit a decline in serum prolactin (PRL) levels that is directly correlated with the severity

Received February 10, 1998; accepted October 21, 1998.

From the Endocrine Research Unit, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional, Instituto Mexicano del Seguro Social, and Universidad Autónoma Metropolitana, México City, México.

Address reprint requests to Dr A. Zárate, Hospital de México, Agrarismo 208-601, México 11800, México

of hypoestrogenism. It was also found that hormone replacement therapy (HRT) increased PRL levels.[10] The aim of the present work was to study the somatotropic axis in postmenopausal women.

MATERIALS AND METHODS

Patients

The study included 50 healthy postmenopausal women aged 46–65 years who had their last menstrual period at least 1 year before the study; none had previously received HRT. All women showed elevated baseline serum levels of FSH and LH (>50 mIU/mL), together with decreased estradiol concentrations (<30 pg/mL). The study was approved by the ethics committee of the Instituto Mexicano del Seguro Social, and all subjects gave informed consent at the time of enrollment. Randomization was established with the use of a balanced list: one group of 25 women received a daily dose of 0.625 mg of conjugated equine estrogen (CEE) for a course of 21 days, and another group received CEE at doses of 1.25 mg/day. Chlormadinone acetate tablets of 2 mg were administered daily for the last 5 days of each course of CEE, with a 1-week separation between each HRT cycle. Blood samples were obtained before initiating the study and immediately after the last day of the third course of HRT. A group of women aged 40–49 years, still with regular menstrual cycles, were included as a control group for biochemical determinations obtained as a single sample in the midfollicular phase of their menstrual cycle (Table 1). All biochemical measurements at the end of the study were not performed in each patient; in some cases, only part of the set of assays was carried out.

Hormone assay

Blood samples were collected in a 10-mL vacuum tube between 7 and 8 hours after an overnight fast and were centrifuged at 2500 rpm for 10 minutes. Serum aliquots were separated, and all samples were maintained frozen at −35°C until assayed in a single assay run for each biochemical marker. GH was measured by a polyclonal double antibody radioimmunoassay using a commercial kit (Diagnostic Products Co, Los Angeles, CA, U.S.A.); the sensitivity for this assay was 0.3 ng/mL, and the intra- and interassay coefficients of variation (CV) were 2.7 and 4.2%, respectively. IGF-I was determined by a two-site immunoradiometric assay (IRMA) using a commercial kit (Diagnostic System Laboratories, Webster, TX, U.S.A.); measurement of IGF-I included an acid-ethanol extraction step to separate IGF-I from its binding protein. The sensitivity for this assay was 0.3 ng/mL, and the intra- and interassay CVs were 2.6 and 4.4%, respectively. Insulin was measured by radioimmunoassay (Cis Bio International, Ivette Cedex, France), with a sensitivity of 3.6 μU/mL and intra- and interassay CVs of 5.7 and 7.3%, respectively. Quality control for the assays in our laboratory has been reported elsewhere.[11,12]

Statistical analysis

All data are given as mean ± standard error, and the significance on any difference was analyzed using nonparametric analysis of variance (Friedman's test). With analysis of variance, all the variables analyzed were shown to influence the changes observed in this study after the use of HRT. A paired *t* test was used to compare the results obtained before and after HRT in menopausal women. A correlation linear regression analysis between different biochemical markers was also performed.

RESULTS

All menopausal women included in this study exhibited a progressive decline in baseline serum levels of GH and IGF-I according to their ages; however, insulin concentrations increased progressively per year of age ($p < 0.001$) (Fig. 1). After three courses of HRT, serum levels of GH and IGF-I increased, while insulin levels decreased (Fig. 2). The effect of HRT on GH and IGF-I was highly significant ($p < 0.001$) in women who received CEE 0.625 mg/day; on the other hand, the major effect of HRT on insulin levels was observed at the 1.25

TABLE 1. *Serum baseline hormone levels (mean ± SE) in menopausal women before and after three courses of CEE (0.625 and 1.25 mg)*

	GH (ng/mL)	IGF-I (ng/mL)	Insulin (μU/mL)	E_2 (pg/mL)
Baseline menopause	0.51 ± 0.1	121 ± 13.4	19.4 ± 1.3	16.5 ± 1.0
CEE 0.625 mg/day	1.69 ± 0.5[b]	181 ± 17.2[b]	16.4 ± 1.8[a]	76.1 ± 17.0[b]
1.25 mg/day	1.35 ± 0.3[a]	152.2 ± 14.6	14.2 ± 1.7[b]	84 ± 20.3[b]
Premenopausal women (40–49 yrs)	1.42 ± 0.3[b]	176.8 ± 15.7[b]	16.5 ± 1.4[a]	113.3 ± 20.1[b]

GH, growth hormone; IGF-I, insulin-like growth factor I, E_2, 17β-estradiol; CEE, conjugated equine estrogen
[a]$p < 0.05$; [b]$p < 0.01$ in relation to baseline values.

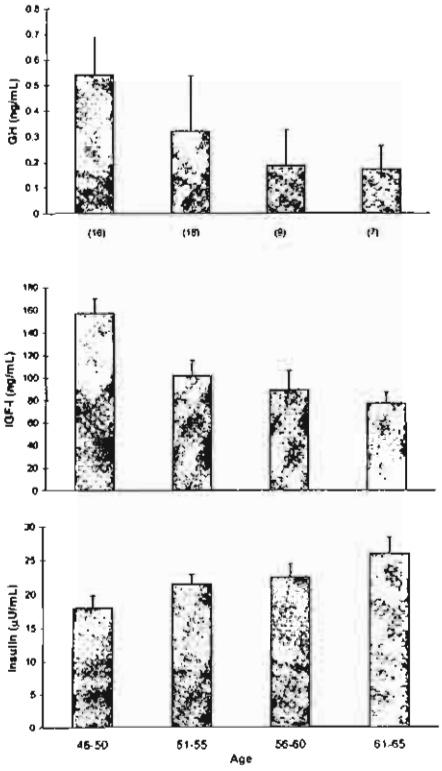


FIG. 1. Biochemical measurements in 50 menopausal women before receiving hormone replacement therapy with conjugated equine estrogens. The number of women in each bar is inside a parenthesis. All data are given as mean ± standard error.

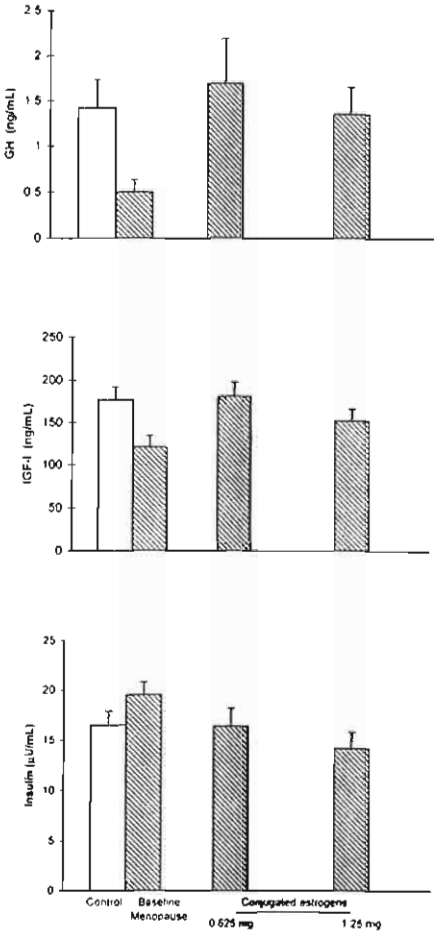


FIG. 2. Three courses of HRT resulted in an increment in both GH and IGF-I levels, but insulin concentrations declined.

mg/day dose. At the end of the study, no difference was observed in serum values between both treated groups and the control group (Fig. 2). Serum levels of GH, IGF-I, and insulin in menopausal women after three cycles of HRT were similar to those observed in the group of premenopausal women with regular menstrual cycles (Table 1). In the group of premenopausal women, a significant correlation ($r = 0.82$) was seen between estradiol and GH levels, between estradiol and IGF-I ($r = 0.70$), as well as between estradiol and insulin ($r = -0.62$). These correlations were not significant in the group of menopausal women before receiving HRT. Treated women receiving CEE 0.625 mg/day showed a positive correlation between estradiol levels and both GH ($r = 0.74$) and IGF-I ($r = 0.75$). In this group, the correlation was negative ($r = -0.63$) between insulin and estradiol levels (Fig. 3). The correlation was not significant between estradiol levels and other biochemical measurements in the group of women receiving CEE 1.25 mg/day. A significant ($r = 0.90$) correlation between serum levels of GH and IGF-I was observed at the end of the study in the same group of women receiving three cycles of CEE 0.625 mg/day (Fig. 4).

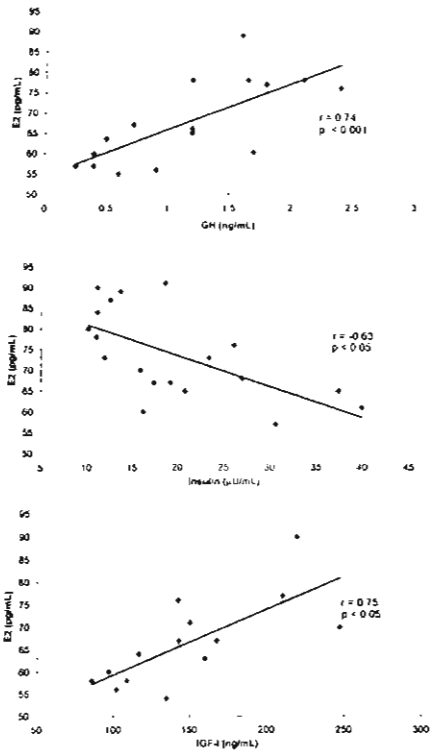


FIG. 3. The correlations between estradiol levels and GH, IGF-I and insulin in menopausal women who received HRT (0.625) is illustrated.

DISCUSSION

Decreased serum levels of GH and IGF-I associated with moderately elevated circulating insulin were observed in all menopausal women before receiving HRT as compared with those values observed in the control group of regular menstruating women. This finding may reflect either the hypoestrogenism or the aging process itself. Similar age-related decrements in other pituitary hormones, such as PRL and ACTH, have also been reported.[13] Therefore, it has been proposed that a multihormone decline could be interpreted as a consequence of the aging process rather than its cause. In the present study, three courses of HRT reversed the alterations observed in the somatotropic axis and insulin levels; therefore, it could be speculated that HRT, through its effect on GH and IGF-I production, may possess some metabolic benefit in elderly women who have some GH deficiency. There

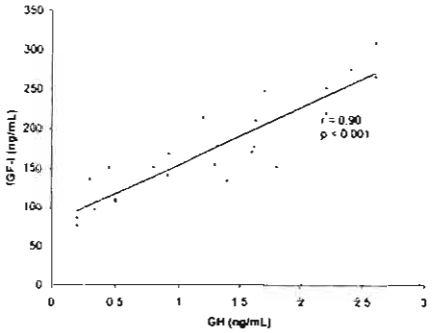


FIG. 4. The correlation between GH and IGF-I values after HRT in menopausal women is shown

are several studies showing that insulin levels are variable in senescent patients as well as some degree of hyperinsulinism associated with peripheral insulin resistance.[14,15] In the present study, increased insulin levels were present in all menopausal women before initiating HRT. It was also demonstrated that HRT had a dual effect on the somatotropic axis and circulating insulin; however, a significant correlation was only observed between estradiol and the other biochemical measurements with the CEE 0.625 mg/day dose.

CONCLUSION

This study showed that menopausal women have certain alterations in the somatotropic axis associated with some degree of hyperinsulinism; it also showed that HRT exerts some reversal of effect on these changes. Further studies are required to prove the clinical and therapeutic significance of these findings.

Acknowledgment: We appreciate the valuable editorial work of Ms. Patricia Hernández. This study was supported in part by a grant awarded by FOFOI-IMSS (Research Fund / Mexican Institute of Social Security) to promote research and the postgraduate program.

REFERENCES

1. Corpas E, Harman SM, Blackman MR. Human growth hormone and human aging. *Endocr Rev* 1993;14:20–39
2. Keiljman M. Age-related alterations of the growth hormone, insulin-like growth factor I axis. *J Am Geriatr Soc* 1991;39:295–307.
3. Wilshire GB, Loughlin JS, Brown JR, Adel TE, Santoro N. Diminished function of somatotropic axis in older reproductive-aged women. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:608–13
4. Amato G, Carella C, Fazio S, La Montagna G, Cittadini A, Sabatini D. Body composition, bone metabolism, and heart structure and function in growth hormone (GH) deficient adults before and after GH replacement therapy at low doses. *Clin Endocrinol Metab* 1993;77:1671–6

5. Nelson C, Albert VR, Elsholtz HP, Lu ID, Rosenfeld MG. Activation of cell specific expression of growth hormone and prolactin genes by a common transcription factor. *Science* 1988;239:1400–5.
6. Murphy LJ, Friesen HG. Differential effects of estrogen and growth hormone on uterine and hepatic insulin-like growth factor I gene expression in the ovariectomized hypophysectomized rat. *Endocrinology* 1988;122:325–9.
7. Bichel DP, Kikuchi K, Rotwein P. Growth hormone rapidly activates insulin-like growth factor-1 gene transcription in vivo. *Mol Endocrinol* 1992;6:1899–900.
8. Bermann M, Jaffe CA, Tsai W, Demott-Friberg R, Barkan AL. Negative feed-back regulation of pulsatile growth hormone secretion by insulin-like growth factor-I: involvement of hypothalamic somatostatin. *J Clin Invest* 1994;94:138–45.
9. Blake JE, A del T, Santoro N. Relationship between insulin-like growth factor-1 and estradiol in reproductive aging. *Fertil Steril* 1997;67:697–701.
10. Fonseca ME, Cruz ML, Ochoa R, Hernández M, Loustaunau E, Zárate A. Estrogen replacement therapy increases prolactin levels in postmenopausal women. *Menopause* 1997;4:201–5.
11. Ochoa R, Fonseca ME, Mercado M, Galván RE, Hernández M, Zárate A. The magnitude of growth hormone elevation is related with the proportion of monomeric form in acromegaly. *Arch Med Res* 1995;26:17–21.
12. Fonseca ME, Mason M, Galván RE, Pascoe D, Ochoa R, Hernández M, Zárate A. Evaluation of immunoenzymometric assay (IEMA) using automated system for determination of luteinizing hormone and follicle stimulating hormone. *Arch Med Res* 1996;28:73–7.
13. Lamberts SWJ, Van Der Beld AW, Van Der Lely AJ. The endocrinology of aging. *Science* 1997;278:419–24.
14. Chen M, Bergman RN, Pacini G, Porte D Jr. Pathogenesis of age-related glucose intolerance in man: Insulin resistance and decreased β cell function. *J Clin Endocrinol Metab* 1985;60:13–7.
15. Wang SY, Halban PA, Rowe JW. Effects of aging on insulin synthesis and secretion. *J Clin Invest* 1988;81:176–84.

Menopause: The Journal of The North American Menopause Society
Vol. 4, No. 4, pp. 201–205
© 1997 The North American Menopause Society

Estrogen Replacement Therapy Increases Prolactin Levels in Postmenopausal Women

M. Eugenia Fonseca, M. Luisa Cruz, Elba Loustaunau, Raquel Ochoa, Marcelino Hernandez, and Arturo Zárate

Endocrine Research Unit and Research Unit of Pharmacology, Centro Medico Nacional, Instituto Mexicano del Seguro Social, Mexico City, Mexico

Abstract:

Objective: Numerous studies have focused on the secretion of follicle stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), and estradiol-17β in menopausal women, as well as the effect of hormone replacement therapy (HRT) on pituitary hormone secretion. However, data on prolactin (PRL) concentrations in postmenopausal women still are scarce. In the present study, the authors analyzed the effect of various doses of estrogen administration on PRL serum levels in 120 postmenopausal women who received three monthly courses of HRT.

Design: The patients were assigned randomly into three treatment groups of 40 subjects each; one group received 0.120 mg, another received 0.624 mg, and the third group received 1.25 mg of conjugated estrogens administered by mouth daily for 21 days. Baseline PRL levels were lower [5.3 ± 1.4 ng/ml (mean ± standard deviation)] than those observed in healthy menstruating women studied during the follicular phase of the cycle (11.2 ± 3.4 ng/ml).

Results: Three courses of HRT enhanced significantly ($p < 0.001$) PRL levels up to 12.6 ± 7.1 ng/ml, and this increment was related to the dose of conjugated estrogens. Serum levels of estradiol-17β (estradiol) also exhibited a linear correlation ($r = 0.40$) with PRL concentrations at the term of the study.

Conclusions: From these results, the authors concluded that HRT exerts a stimulating effect on PRL secretion, but the significance of this response remains to be seen because variations in PRL concentrations during menopause have not been analyzed closely.

Key Words: Aging · Estradiol-17β · Growth hormone · Hormone replacement therapy · Menopause · Prolactin

It generally is known that prolactin (PRL) actions are exerted over different tissues; this hormone probably is the most versatile of the pituitary hormones, with more than 80 functions documented thus far.[1] Prolactin mediates an extensive variety of actions on reproduction and growth, as well as varied effects on fluid balance and immune regulation.[2] Prolactin is secreted in a pulsatile fashion, and PRL levels are higher in women after puberty than before puberty, and higher in adult women than in men;[3,4] this difference presumably is related to the estrogen concentrations. In general, no significant fluctuations of PRL levels during the menstrual cycle have been observed,[5,6] however, others have reported enhanced PRL concentrations just before the preovulatory luteinizing hormone (LH) surge coinciding with high circulating estrogens levels.[7,8] However, the elevated concentrations of PRL during pregnancy and lactation are well

Received April 21, 1997; accepted July 11, 1997.
Address correspondence and reprint requests to Dr. A. Zárate at Hospital de México, Agustinos 708-601, México 11800.

documented.[8] Prolactin secretion by the mammotropic cells of the pituitary gland is controlled by several hormones and hypothalamic factors;[9] however, estrogens regulate PRL in several ways, including PRL gene expression and neuroendocrine regulation.[9,10] Estrogens also affect the responsiveness of the pituitary to the hypothalamic factors that regulate PRL production;[11] thus, estrogens affect many aspects of PRL expression, underscoring its importance in PRL regulation. Information about PRL secretion during menopause is controversial and scarce; immunoreactive PRL in sera has been reported as moderately increased in some menopausal women, but others have found low PRL concentrations during the physiologic hypoestrogenism of menopause.[9,11]

Collaterally, other studies have shown a decrement in growth hormone (GH) concentrations in menopausal women, and this finding has been interpreted as part of the aging process;[12] although information on the effect of hormone replacement therapy (HRT) on GH secretion is negligible, the beneficial effect of GH therapy has been suggested to ameliorate some of the metabolic changes associated with aging.[12] Further research is needed to clarify the effect of HRT on both PRL and GH secretion in menopausal women. This study addresses the effect on short-term users of HRT.

MATERIALS AND METHODS

Patients

The study included 120 healthy postmenopausal women aged 46–65 years with intact uteri and who had their last menstrual period at least 8 months before entering the study. None of these women had previously received HRT.

Women with a history of uterine or breast malignancy or uterine dysfunction were excluded. All patients had baseline elevated serum levels of both follicle-stimulating hormone and LH concurrent with characteristic decreased estradiol-17β (estradiol) concentrations, as shown in Table 1. Serum PRL levels were 5.3 ± 3.3 ng/ml (mean ± standard deviation), which were statistically different ($p < 0.001$) from women of reproductive age (11.2 ± 7.1 ng/ml).

This double-blind, randomized, three-site, parallel-group study lasted 3 months. The study was approved by the ethics committee of the Instituto Mexicano del Seguro Social, and all patients gave informed consent at the time of enrollment. All patients who agreed to enter the study were included, and all completed the planned protocol.

The patients were assigned randomly to treatment into three groups, 40 patients in each. Randomization was performed with the use of balanced lists; one group received conjugated estrogens in one 0.320-mg tablet per day throughout the 21-day cycle; another received 0.625 mg per day; and the remaining group received 1.25 mg per day. Medroxyprogesterone acetate (2-mg tablet) was added the last 5 days of each course of estrogen. Blood samples were obtained again for hormone determinations by the term of HRT.

Hormone assay

Blood samples were collected in a 10-ml vacuum tube between 7 and 8 h after an overnight fast and were centrifuged at 2,500 rpm for 10 minutes. Serum aliquots were separated, and all samples were maintained frozen at −20°C until assayed by radioimmunoassay. Follicle-stimulating hormone and LH levels were determined by double antibody radioimmunoassay using commercial kits from Clinical Assay Incstar Corporation (Stillwater, MN, U.S.A.); PRL was measured using reagents obtained from Diagnostic Products Company (Los Angeles, CA, U.S.A.). Estradiol-17β was estimated using a solid phase radioimmunoassay (CIS Bio International, Ivette Cedex, France). Estradiol value was considered an accurate reflection of estrogenic environment. A full-calibration curve using five points was performed for each assay; the intra- and interassay coefficients of variation were below 10%, as we reported previously.[13]

Statistical analysis

The study was designed as an open-label, randomized study of 3-months' duration. All data are given as

TABLE 1. *Baseline hormone levels (mean ± SD) in menopausal women prior to hormone replacement therapy and in normal premenopausal women used as controls*

		Serum levels				
	n	Age (years)	FSH (mIU/ml)	LH (mIU/ml)	PRL (ng/ml)	E2 (pg/ml)
Menopause	120	46–68	101 ± 10.5*	85.6 ± 8.1*	5.3 ± 3.3*	18.3 ± 3.8*
Reproductive age	30	20–36	12.0 ± 5.0	32.0 ± 13.4	11.2 ± 7.1	115.4 ± 34

FSH, follicle-stimulating hormone; LH, luteinizing hormone; PRL, prolactin; E2, 17β-estradiol (17β). *$p < 0.001$

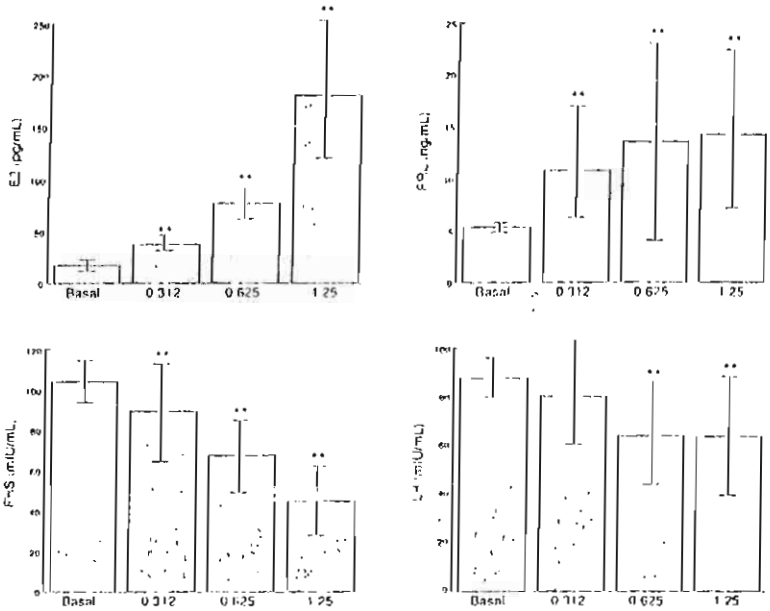


FIG. 1. The effect of short term use of hormone replacement therapy on serum levels of both estradiol-17β (E 2) and prolactin (PRL) is shown in the upper panel, changes in both follicle-stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH) concentrations are illustrated in the lower panels. Different daily doses of conjugated estrogens were used in the 120 patients, who received three courses. A progressive increment in both PRL and estradiol was demonstrated. Statistical differences are represented as $^{*}p < 0.01$ and $^{**}p < 0.001$.

mean ± standard deviation, and the significance of any difference in means was tested using Student's *t* test. A correlation index and linear regression between PRL and estradiol was performed.

RESULTS

As expected, baseline serum levels of follicle-stimulating hormone and LH were elevated, coinciding with decreased estradiol concentrations in postmenopausal women (Table 1), however, PRL levels were significantly lower ($p < 0.01$) than those found in women of reproductive age. After three courses of HRT, an important decrease in both follicle-stimulating hormone and LH concentrations was observed, even in the group of women receiving the 0.325 mg close of conjugated estrogens (Fig. 1). Hormone replacement therapy elicited a significant increase ($p < 0.001$) in PRL levels at the end of the study, and this increment was greater in women receiving either 0.625 mg or 1.25 mg of conjugated estrogens (Fig. 1). A positive correlation between PRL and estradiol values at the end of the study was demonstrated clearly, as illustrated in Fig. 2.

DISCUSSION

Our data confirm earlier reports of diminished serum PRL levels in some postmenopausal women[7]; we also are presenting a significant difference of lower PRL concentrations in a large group of women in comparison with healthy women of reproductive age during the follicular phase of the menstrual cycle. The lower PRL levels in menopause presumably reflect the decrease of estrogen production, however, this also could be a result of the aging process itself, as is the case for GH secretion[8,9]. The present study also showed that HRT enhanced serum PRL levels, which could be interpreted as the already known effect of estrogens on the mammotropic cells of the pituitary gland, this finding indicates presumably the presence of normal functioning mammotropic cells despite aging. It is well known that PRL circulates as various molecular forms, and the rel-

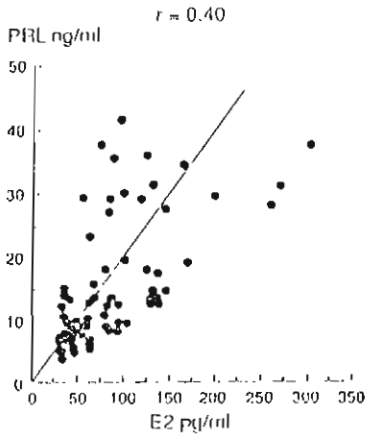


FIG. 2. The correlation between prolactin (PRL) and estradiol was significant ($p < 0.01$) at the time of the study.

ative proportion of these variants exhibit changes according to the physiologic state.[18] Prolactin isoforms of 26 kDa correspond to the predominant circulating molecular form in both healthy women and men, and the polymeric enlarged molecular forms of approximately 50–100 kDa have reduced biological activity because of diminished binding to PRL receptor.[19] It seems that the proportion of PRL molecular forms are determined by the estrogenic environment, and the physiologic role of each isoform is not fully understood. To our knowledge, the size heterogeneity of immunoreactive PRL circulating in postmenopausal women has not been described; therefore, the PRL isoforms and their dynamics during menopause must be studied further. Some of the unresolved issues must await the results of our ongoing studies. We previously demonstrated that HRT affects the proportion and distribution of both follicle-stimulating hormone and LH isoforms in menopause, as the result of estrogens acting at the level of the pituitary.[11] Prolactin isoforms have been described in humans, resulting from alternative post-translational processing, and the production of some of these molecular variants may be regulated independently at the level of gene expression or hormone secretion.[17] Elucidation of the precise mechanism, that cause differential proportion of PRL isoforms should enhance the understanding of physiology and also be of clinical relevance. Currently, the putative effect of GH administration in climateric women is being studied in an attempt to improve the metabolic derangement associated with aging.[11] Prolactin and GH gene expression are regulated in the pituitary by the transcription factor pit-1, which could be stimulated by endogenous estrogens;[20] hence, one may speculate that HRT could exert a stimulating effect on both GH and PRL secretion, which in turn may be beneficial in the metabolic process of climateric women. A PRL receptor has been characterized recently that seems to be related structurally to the GH receptor and other members of the large family of cytokine receptors.[21] Thus, it has been proposed that PRL, in addition to stimulating growth of lymphoid tissue, restores immunologic competence in old age.[22] It may be of clinical advantage to analyze the enhanced PRL and GH secretion by the use of HRT because sex hormones also participate in modulating GH synthesis and secretion.[23,24] Notably, this study addresses an important question by showing that short-term use of HRT enhances PRL secretion. Understanding of the roles played by estrogen on PRL-induced secretion in postmenopausal women may lead to improved therapeutic strategies in the future. However, both the benefits and hazards of HRT use must be determined.

Acknowledgment: We thank Miriam Ruiz and Rosa Elba Galvan for their technical assistance with the hormone assays and Patricia Hernandez for her valuable editorial work.

REFERENCES

1. Neill JD, Nagy GM. Prolactin secretion and its control. In: Knobil E, Neill JD, eds. *The physiology of reproduction*. New York: Raven Press, 1994;1833–60.
2. Berczi I. The role of the growth and lactogenic hormone family in immune function. *Neuroimmunomodulation* 1994;1:201–16.
3. Lee PA, Xenakis T, Winer J, Matsenbaugh S. Puberty in girls: correlation of serum levels of gonadotropins, prolactin, androgens, estrogens and progestins with physical changes. *J Clin Endocrinol Metab* 1976;43:775–9.
4. Cantet EV, Hermite MF, Copinschi G, Refetoff S, Desir D, Robyn C. Quantitative analysis of spontaneous variations of plasma prolactin in normal men. *J Clin Invest* 1981;64:1669–74.
5. Robyn C, Hermite MF. Prolactin levels during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1977;44:989–91.
6. Ehara Y, Vanden Berg G, Shiota YH, Yen SSC. Circulating prolactin levels during the menstrual cycle: episodic release and diurnal variation. *Am J Obstet Gynecol* 1973;117:962–6.
7. Djahanbakhch O, McNeilly AS, Warner PRL, Swanston IA, Baird DT. Changes in plasma levels of PRL in relation to those of FSH, estradiol, androstenedione and progesterone around the ovulatory surge of LH in women. *Clin Endocrinol* 1984;20:163–73.
8. Boyd AE, Sanchez Franco F. Changes in the pituitary response to thyrotropin releasing hormone (TRH) during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1977;44:983–90.
9. Martin C, Hetherington PA. The endocrinology of pregnancy. In: Gitelman HJ, Lee Jean PH, ed. *Basic and clinic endocrinology*. Los Altos, CA: Lange Press, 1980:176–500.
10. Lambert SWL, Schwed PSM. Regulation of prolactin secretion at the level of the lactotroph. *Physiol Rev* 1990;70:592–618.
11. Mauvais RA, Kim KE, Day RN, Notides AC. Regulation of prolactin gene expression by estradiol. In: Sato G, Stevens JL, ed. *Molecular endocrinology and steroid hormone action*. New York: Alan R. Liss 1990:159–69.