



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

ESTUDIO DE LAS CONCENTRACIONES SERICAS DE LA
GLOBULINA TRANSPORTADORA DE HORMONAS
SEXUALES (SHBG) EN LA MENOPAUSIA Y CON LA
TERAPIA HORMONAL DE REEMPLAZO (THR).

T E S I S

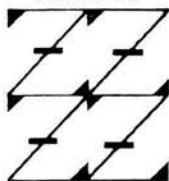
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A :

ANGELICA SANDOVAL SANDOVAL

U N A M
F E S
Z A R A G O Z A



LO HUMANO EJE
DE NUESTRA REFLEXIÓN

ASESOR DE TESIS: M. EN C. MARTHA SANCHEZ RODRIGUEZ

MEXICO, D. F.

2004



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

Al Dr Arturo Zárate Treviño
Jefe de la unidad por la oportunidad otorgada
para el desarrollo de ésta investigación

A la Dra. María Eugenia Fonseca Yerena
Amiga y compañera de trabajo
Por su cariño, enseñanza y apoyo
indispensables para este trabajo.

A la M. en C. Martha Sánchez
Por su orientación y valiosas aportaciones
para mejorar el presente trabajo.

A mis sinodales por su valiosa asesoría
QFB Georgina Ríos Olivera
QFB Rocío Breceda
QFB Victor Hugo Becerra

Dedico este trabajo a

A Layla, Janis y Adriancito mis grandes amores, regalo de Dios y motivo de mis esfuerzos. Gracias por su cariño que ha sido el estímulo permanente para seguir adelante.

A Adrian Cristino compañero en mi vida que Dios me ha concedido. Gracias por estar conmigo.

A mis padres Eva y Elías por sus enseñanzas y principalmente por el amor con que guiaron y formaron mi vida. Gracias a Dios por sus vidas.

A mi hermana Leticia por su incondicional apoyo y constante estímulo sin los cuales no hubiera llegado hasta aquí. Por ceer en mí, gracias

A mis hermanos David, Susana y Josué, a mi tía Lupe y a cada uno de mis sobrinos. Gracias por los momentos agradables con los que han llenado mi vida.

INDICE

	Página
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEORICO	
- Función ovárica.....	2
- Esteroides.....	3
- Globulina transportadora de esteroides sexuales (SHBG).....	7
- Menopausia.....	10
- Terapia hormonal de reemplazo (THR).....	12
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	13
IV. HIPÓTESIS.....	14
V. OBJETIVOS.....	14
VI. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	
- Grupo de estudio.....	15
- Muestra biológica.....	16
- Determinaciones hormonales.....	16
- Técnica de RIA.....	17
- Técnica IRMA.....	21
- Análisis estadístico.....	23
VII. RESULTADOS.....	24
VIII. ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	28
IX. CONCLUSIONES.....	33
X. REFERENCIAS.....	35

INTRODUCCIÓN

A partir de 1900 la esperanza de vida en las mujeres ha aumentado, sobrepasando la edad en que la mayoría enfrenta la menopausia, siendo cada vez mayor el número de años que viven después de ella.

Se sabe que con el paso de los años disminuye la respuesta ovárica, se agotan los folículos ováricos y consecuentemente disminuye la capacidad de fertilización y embarazo, lo cual ocurre a menudo en la etapa premenopáusicas a pesar de ciclos menstruales regulares. (1)

En los extremos de la vida reproductiva de la mujer se encuentra por un lado la pubertad y por el otro el climaterio y así como se presenta una irregularidad en los ciclos menstruales durante los primeros cinco años después de la menarca (1ª menstruación), la menopausia también se caracteriza por la presencia de ciclos irregulares previos a ella. Durante la infancia, las gonadotropinas, la hormona luteinizante y la estimulante del folículo (LH y FSH) y los esteroides gonadales (E_2 y P_4) circulan en cantidades mínimas incrementando su producción progresivamente durante la pubertad hasta alcanzar los valores de la edad adulta. En el otro extremo, llamado climaterio, las concentraciones circulantes de estradiol disminuyen considerablemente debido al agotamiento de la reserva folicular y en consecuencia, las concentraciones de FSH y posteriormente las de LH se incrementan progresivamente hasta alcanzar en la menopausia sus valores máximos. (2)

La menopausia sigue siendo motivo de múltiples estudios para comprender mejor su naturaleza y de ésta manera poder mejorar la calidad de vida de las mujeres posmenopáusicas mediante el uso de diferentes tratamientos entre ellos, la terapia hormonal de reemplazo (THR)

MARCO TEORICO

FUNCIÓN OVÁRICA

La etapa reproductiva de la mujer se caracteriza por presentar una secreción de gonadotropinas hipofisarias y de esteroides gonadales en forma cíclica, relacionados estrechamente con la maduración del folículo ovárico. Durante la fase folicular temprana del ciclo menstrual, las concentraciones circulantes de la hormona luteinizante (LH), del estradiol (E_2) y de la progesterona (P_4) se encuentran relativamente bajas; en cambio la secreción de la hormona estimulante del folículo (FSH) se incrementa durante esta fase con la finalidad de inducir la maduración folicular y estimular la producción de estrógenos. Conforme aumenta la concentración de estradiol, la de FSH disminuye por un efecto de retroalimentación negativa que ejerce éste esteroide a nivel hipotalámico e hipofisario. (3)

Esta disminución en la producción de FSH frena la progresión del desarrollo y maduración folicular, con excepción de la del folículo dominante destinado a convertirse en folículo preovulatorio. Las concentraciones de estradiol se incrementan al máximo (250-400 pg/mL) durante la fase folicular preovulatoria, induciendo los picos de LH y FSH característicos en esta fase, en especial la de LH, ya que ésta hormona desempeña un papel preponderante en esta etapa siendo directamente responsable de la ruptura folicular y de la ovulación. (Cuadro 1) Durante la fase lútea, las concentraciones de LH y FSH disminuyen, en tanto que las de E_2 y de P_4 se incrementan, alcanzando la progesterona su nivel máximo 7 días después de ocurrida la ovulación,(4) si no ocurre fecundación, ambos esteroides disminuyen progresivamente como consecuencia de la lisis del cuerpo amarillo presentándose posteriormente la menstruación.

CUADRO 1 HORMONAS IMPLICADAS EN EL CICLO OVARICO

HORMONA	FUNCIONES	VALORES DE REFERENCIA
Hormona Luteinizante (LH)	<ul style="list-style-type: none"> - Maduración y regulación del folículo y del cuerpo luteo. - Inducción de la ovulación. - producción de andrógenos gonadales 	Fase folicular: 3 – 12 mUI/mL Fase ovulatoria: 15 – 40 mUI/mL menopausia: 30 – 110 mUI/mL
Hormona estimulante del folículo (FSH)	<ul style="list-style-type: none"> - Regulación de la función folicular. 	Fase folicular: 2.8 - 11 mUI/mL Fase ovulatoria: 9 - 25 mUI/mL Menopausia: 40 - 150 mUI/mL
Prolactina (PRL)	<ul style="list-style-type: none"> - Regulación de la función gonadal. - Producción de leche materna. 	3 – 25 ng/ml
Estradiol (E ₂)	<ul style="list-style-type: none"> - Regulación de la aparición y mantenimiento de las características sexuales secundarias. - Regulación de la maduración y función folicular y del proceso de la ovulación. - Proliferación endometrial. - Regulación de la secreción de gonadotropinas hipofisarias. 	Fase folicular: 30 – 150 pg/mL Fase ovulatoria: 150 – 375 pg/mL Fase lutea: 60 – 200 pg/ mL Menopausia: ND – 30 pg/mL ND – no detectable
Testosterona	<ul style="list-style-type: none"> - Precursor de la DHT y del estradiol - Regulación del anabolismo en diferentes tejidos 	fase folicular: 0.4 – 1.1 ng/mL menopausia: 0.2 – 0.8 ng/mL

ESTEROIDES

Los compuestos derivados del ciclopentanoperhidrofenantreno (CPPF) se denominan esteroides y aunque este compuesto de 17 átomos de carbono (Figura 1) no tiene ninguna actividad biológica propia, sirve como esqueleto a partir del cual se forman los esteroides siendo éstos de gran importancia biológica por la diversidad de funciones que llevan a cabo. Entre los compuestos esteroides se encuentra el grupo de las hormonas esteroideas que incluye andrógenos, estrógenos, progestágenos y hormonas de la corteza suprarrenal. La mayor cantidad de estas hormonas se biosintetizan en las glándulas de secreción interna (ovario, testículo y suprarrenales) siendo poco solubles en agua y solubles en solventes orgánicos. (5)

ESTRÓGENOS.

Los estrógenos fueron las primeras hormonas esteroides aisladas de líquidos biológicos (1929) en una época en la que aún no se conocía la estructura del núcleo esteroide (CPPF), son de naturaleza lipídica, siendo por lo tanto poco solubles en agua. Su estructura química está constituida por 18 átomos de carbono con sustituciones específicas, siendo un rasgo distintivo la forma fenólica de su anillo A (figura 2).

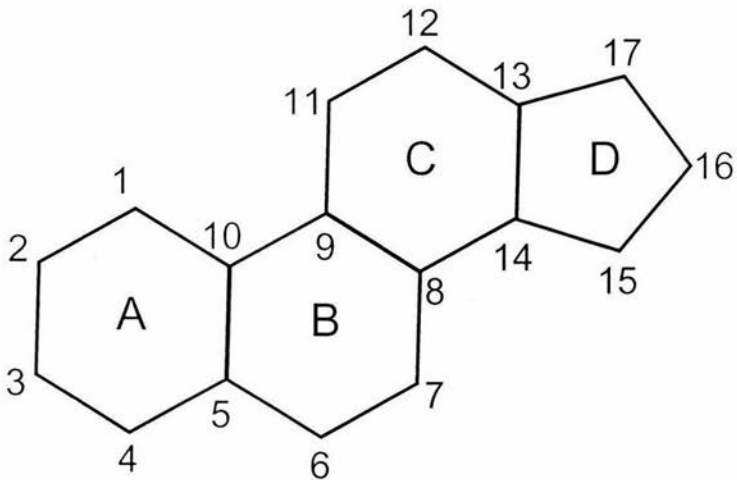


Figura 1 Ciclopentanoperhidrofenantreno, núcleo químico básico de los esteroides

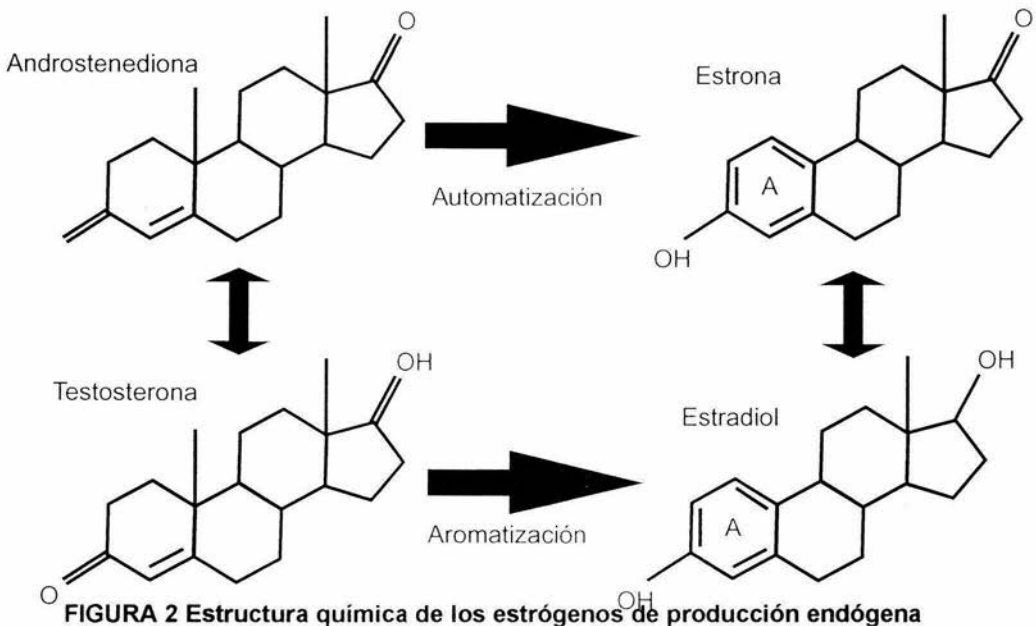
Los principales estrógenos naturales son: la estrona, el estradiol y el estriol, los cuales se biosintetizan en el ovario, la placenta y en menor proporción, en el testículo; aunque debe señalarse que la formación de estrógenos a partir de andrógenos también ocurre a nivel extragonadal (glándula mamaria, tejido adiposo y encéfalo).

Los estrógenos contribuyen al desarrollo de los genitales internos y externos, de las características sexuales secundarias, así como favorecen el crecimiento y desarrollo de los folículos ováricos. (6)

El organismo cuenta con un receptor específico para estrógenos que se localiza en el interior de la célula blanco (ovario, útero, vagina, hueso, testículo, cerebro, hígado y glándula mamaria) por lo que requieren entrar para interactuar con el, por difusión simple. Se conocen al menos dos diferentes tipos de receptores para estrógenos: el receptor α y el receptor β . Una vez en el interior de la célula, la hormona se une al receptor específico modificando su estructura conformacional y éste complejo, estrógeno-receptor interactúa en el núcleo celular con el ADN y a través de efectos en

la transcripción de los genes, regula la síntesis de proteínas, modulando la función de múltiples procesos en los tejidos blancos.

No obstante que se sabe que el mecanismo de acción de una hormona esteroide se inicia en el momento que penetra al interior de la célula, el transporte por el torrente circulatorio, a través del cual la hormona alcanza desde su sitio de biosíntesis a sus células efectoras, desempeña un papel biológico relevante, por lo que es necesario un mecanismo de transporte muy eficiente para los diferentes esteroides, siendo favorecida su solubilización en el torrente sanguíneo mediante la unión a proteínas como la albúmina que une a los esteroides en forma inespecífica y a proteínas transportadoras específicas formando complejos proteína-esteroide, (Figura 3) circulando así en el plasma en un estado de equilibrio dinámico entre el esteroide libre y el unido a las proteínas. (7)



El papel de la albúmina, la cual representa cerca del 60% del total de las proteínas plasmáticas que transportan esteroides, es incierto, ya que tiene una gran capacidad para unirse a las hormonas y a otras moléculas, pero con baja afinidad por lo que se piensa que esta unión no específica, no afecta la disponibilidad de la hormona para los tejidos blancos, lo que sí ocurre cuando los esteroides se unen a su proteína transportadora específica. (8)

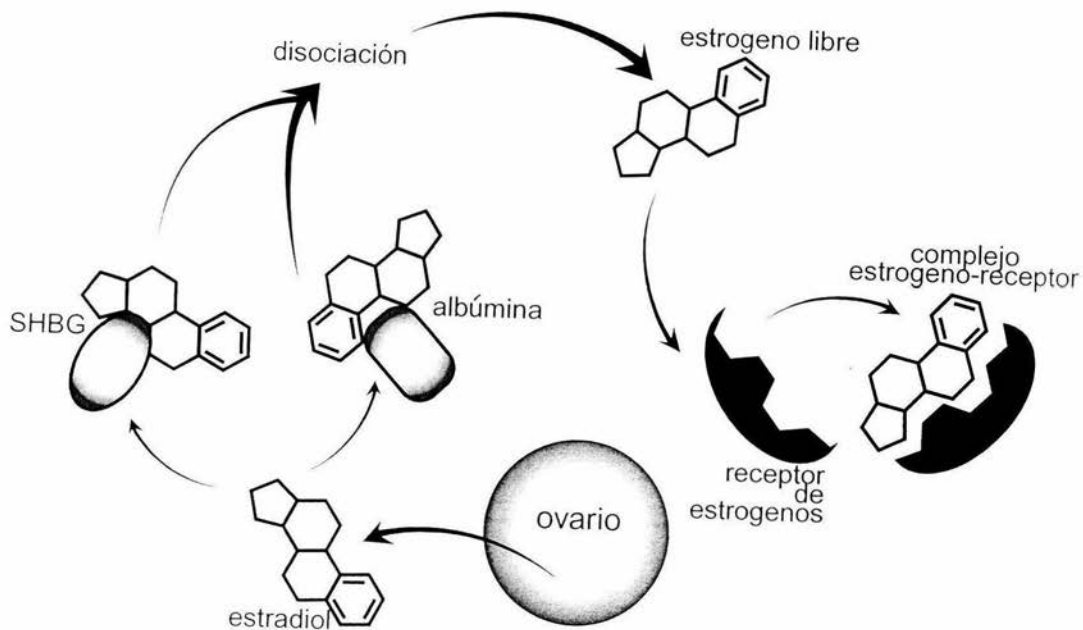


FIGURA 3 Transporte de estrógenos unidos a proteínas plasmáticas

GLOBULINA TRANSPORTADORA DE HORMONAS SEXUALES

(SHBG)

La proteína plasmática humana que transporta a las hormonas sexuales (testosterona y estradiol) en forma específica es la **globulina transportadora de hormonas sexuales (SHBG)**, también llamada globulina transportadora de testosterona-estradiol o proteína transportadora de esteroides sexuales. (9)

La **SHBG** es una beta globulina plasmática sintetizada por el hígado que fue descubierta a mediados de los años 60's y su masa molecular ha sido estimada en 115 kDa. Se encuentra en el plasma como un dímero formado por dos subunidades de tamaños diferentes de 53 y 46 kDa. Al igual que otras β -globulinas, la **SHBG** es una glicoproteína con un contenido variable de carbohidratos (entre 18-35 %) donde la tercera parte de ellos es ácido siálico, siendo esto importante porque dicho carbohidrato aumenta la vida media funcional de la glicoproteína.(10)

La **SHBG** se une con alta especificidad y elevada afinidad a α -dihidrotestosterona (DHT) y a la testosterona (T) y con menor afinidad a 17β - estradiol (E_2). La unión de la globulina transportadora de esteroides sexuales a las hormonas, regula la concentración de la hormona libre en el plasma teniendo una función importante en cuanto a la biodisponibilidad de las hormonas por sus tejidos blancos; de esta manera la **SHBG** actúa como un estabilizador en presencia de fluctuaciones hormonales fisiológicas como es en el caso de la testosterona, de los estrógenos durante el ciclo menstrual y en la menopausia influyendo así en su acción biológica.(11)

Su concentración en el plasma es regulada por factores hormonales que estimulan o inhiben su síntesis, como es el equilibrio andrógeno-estrógeno, las hormonas tiroideas, prolactina (PRL), insulina y factores nutricionales por lo que la

concentración de SHBG se modifica en un variado número de alteraciones endocrinas.

Se encuentran concentraciones elevadas de **SHBG** en el embarazo, en hipertiroidismo, en hombres con hipogonadismo y cuando existe resistencia a los andrógenos mientras que concentraciones disminuidas se observan en la obesidad, en el síndrome de ovario poliquístico, la hiperprolactinemia, el hiperandrogenismo y en la menopausia; también la concentración de la proteína se ve afectada por fármacos semejantes a las hormonas esteroides y tiroideas y por anticonvulsivantes, siendo probablemente los estrógenos el principal factor estimulador en las mujeres.(12)

Bajo condiciones normales, las concentraciones circulantes de **SHBG** en el hombre y en la mujer no muestran cambios circadianos, presentando pocas modificaciones en su concentración a través de la vida adulta. Con relación a la edad y el sexo se ha observado que al momento del nacimiento su concentración es baja y similar en ambos sexos; antes de la pubertad, cuando aún no ocurre el incremento de testosterona ni estradiol, los valores disminuyen ligeramente en ambos sexos; después de la pubertad se observa la disminución de su concentración en los varones hasta llegar a tener los valores de la edad adulta, mientras que en las mujeres aumenta después de la pubertad.(13) En las mujeres posmenopáusicas la concentración de **SHBG** parece ser menor que durante la etapa reproductiva y el estado fisiológico en donde los niveles séricos se encuentran mas altos es al término del embarazo, lo que apoya el papel que tienen los estrógenos en la síntesis de la proteína.(14,15)

Respecto a su acción biológica, se han propuesto algunas funciones importantes para la **SHBG** tales como: una acción reguladora, estabilizando los niveles de la hormona libre en presencia de patrones de producción fluctuantes; también protege a las hormonas gonadales de la acción de factores sanguíneos como el de las enzimas catabólicas que los inactivan evitando así su eliminación excesiva ya que la unión de los esteroides sexuales a la globulina retardan su degradación y por lo tanto su eliminación.

La medición de la concentración de **SHBG** es de utilidad para la evaluación de desórdenes del metabolismo de andrógenos y permite la identificación de aquellas mujeres con hirsutismo que tienen mayor probabilidad de responder a la terapia estrogénica. La concentración de **SHBG** en la sangre cambia de la premenopausia a la menopausia y parece ser que los niveles de estradiol son determinantes para esa modificación por lo que su disminución es un índice que puede correlacionar con la disminución de los estrógenos.(16,17,18)

MENOPAUSIA

La menopausia se define como el cese definitivo de la función ovárica y de la menstruación al agotarse los folículos ováricos, la cual se confirma después de 12 meses de amenorrea en los que se mantiene una producción muy baja de estrógenos y concentraciones circulantes menores de 30 pg/mL. (19)

Este periodo implica una transición continua desde la premenopausia, en la cual el intervalo intermenstrual se acorta a partir de los 40 años, presentándose aún ciclos menstruales regulares y fertilidad, después, al presentarse la primera ausencia de un ciclo se inicia la peri menopausia, etapa de aproximadamente 4 años donde la reserva ovárica se ve disminuida y existe una marcada reducción en los niveles séricos de estradiol con consecuente irregularidad menstrual, hasta que finalmente se presenta amenorrea y pérdida de la fecundidad a la menopausia.

La edad promedio en que se presenta la menopausia es de 47.5 años y a partir de los 45 años un 90% de las mujeres que han presentado un año de amenorrea no menstruarán de nuevo, siendo inexistente su probabilidad de concebir. (20)

La producción diaria de estrógenos en la menopausia es muy baja y está esencialmente dada por la conversión periférica de androstenediona, de origen suprarrenal, a estrona.

La disminución de la producción estrogénica ocasiona que se eleven las gonadotropinas hipofisarias: la hormona luteinizante (LH) y la hormona estimulante del folículo (FSH), aceptándose la elevación de las concentraciones séricas de la FSH como un parámetro muy exacto para determinar la disminución de la reserva ovárica durante la premenopausia y así mismo el inicio de la menopausia.(21)

Para eliminar o atenuar los síntomas que se presentan en la menopausia y también con propósitos preventivos, se prescribe la terapia hormonal de reemplazo (THR) y aunque el concepto de suplir la deficiencia estrogénica después de que el ovario ha cesado su producción no es nuevo, los beneficios que proporciona a la salud han avivado el interés en la terapia de sustitución, existiendo en la actualidad muchas áreas de investigación en este campo. La base endocrina para este reemplazo y para los efectos en los tejidos dependientes de estrógenos, se ha elucidado casi por completo en los últimos tiempos; el conocimiento de los receptores de estrógenos, su mecanismo de acción, transporte y su modulación por diversos compuestos se ha extendido notablemente y es la base de nuevos tipos de sustitución hormonal de gran eficiencia y selectividad con un mínimo de riesgo. (22)

TERAPIA HORMONAL DE REEMPLAZO (THR)

Los estrógenos utilizados para la terapia de reemplazo pueden ser clasificados de acuerdo a su estructura química (naturales y sintéticos) o por la vía de administración (oral y parenteral). Los estrógenos naturales incluyen al estradiol, estrona, estriol y a sus conjugados así como a los estrógenos de origen equino. Independientemente del tipo de estrógeno o de la vía usada, las concentraciones séricas posteriores a su administración son diferentes de una persona a otra y aún en una que ingiera la misma dosis siempre pueden variar de un día a otro y se ha determinado que la dosis de 0.625 es efectiva para prevenir los riesgos del hipoestrogenismo.

Una de las preparaciones de estrógenos más comúnmente indicadas para THR es la de estrógenos equinos conjugados, estos se obtienen de la yegua preñada y contiene los estrógenos más comunes: estrona, estradiol y sulfato de estrona (45%) que es el estrógeno más predominante y algunos estrógenos que son propios de esa especie principalmente la equilina y equilenina similares a la estrona y la 17 β dihidroequilina y 17 β dihidroequilenina que son similares a 17 β estradiol. La ingesta oral diaria de 0.625 mg de EEC (0.27 mg de sulfato de estrona) da como resultado una concentración sérica de 30-50 pg/mL de estradiol y 150 pg/mL de estrona, a su vez 1.25 mg de EEC (0.54 mg de sulfato de estrona) resulta en una concentración sérica de 120-180 pg/mL de estrona y 40-60 pg/mL de estradiol en 6-10 horas posteriores a su administración; después de 48 horas estos valores decrecen hasta sus valores basales. En la actualidad la dosis más utilizada de EEC es de 0.625 mg, sin embargo también se utilizan dosis de 0.3 y 1.25 mg diarios por vía oral.(1)

Después de la administración oral de los estrógenos una vez que están en circulación llegan al hígado donde inducen la síntesis de proteínas entre otras la de SHBG.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente no se sabe con exactitud cuales son los factores que controlan la síntesis de la **SHBG** ni su correlación con las hormonas que participan en la regulación de la función ovárica como tampoco se ha precisado el efecto de la terapia hormonal de reemplazo durante la menopausia por lo tanto, considerando los antecedentes es importante conocer los cambios que se presentan en la concentración de SHBG en la menopausia y durante la terapia hormonal de reemplazo, así como realizar una medición simultánea de la concentración sérica de LH, FSH, PRL, Testosterona y Estradiol para efectuar estudios de correlación con la concentración de la proteína ya que los cambios en la concentración de estas hormonas podría modificar los niveles de **SHBG**.

HIPÓTESIS

En la menopausia la concentración sérica de SHBG disminuye como consecuencia del descenso en la producción ovárica de estrógenos y se espera que con la terapia hormonal de reemplazo (THR) se restituya la concentración de **SHBG** a valores similares a los observados en la etapa reproductiva viéndose así favorecido el transporte de estradiol en el torrente sanguíneo.

OBJETIVOS

- Medir la concentración sérica de SHBG, E2, LH, FSH, PRL y Testosterona en mujeres sanas en edad reproductiva.
- Medir la concentración sérica de SHBG, E2, LH, FSH, PRL y Testosterona en mujeres menopáusicas sin tratamiento y con terapia hormonal de reemplazo (THR) comparándolos con los niveles de las mujeres en edad reproductiva.
- Relacionar la concentración de E2, LH, FSH, PRL y Testosterona con los niveles de SHBG.

DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

TIPO DE ESTUDIO: Prospectivo experimental

GRUPO DE ESTUDIO:

Se incluyeron 96 mujeres sanas sin antecedentes clínicos de importancia para el estudio las cuales se dividieron en 3 grupos:

GRUPO I: 40 mujeres en etapa reproductiva de 20-40 años de edad con ciclos menstruales regulares como grupo testigo de comparación.

Grupo II: 20 mujeres de 46-55 años de edad con menopausia establecida por lo menos un año antes de iniciar el estudio, presentando concentración sérica de gonadotropinas (LH y FSH) mayor de 50mUI/mL y estradiol menor de 30 pg/mL

Grupo III: 36 mujeres menopáusicas de 46-55 años de edad las cuales fueron divididas en 3 grupos de 12 mujeres cada uno, recibiendo cada grupo estrógenos equinos conjugados (EEC) en diferentes dosis: 0.312, 0.625 y 1.25 mg diarios respectivamente por vía oral durante 21 días, adicionando clormadinona (4 mg diarios) los últimos cinco días a los tres grupos. El tratamiento se administró durante 3 ciclos (3 meses).

MUESTRA BIOLÓGICA

Las muestras se obtuvieron extrayendo 10 mL de sangre por punción venosa entre 7-9 am con ayuno de 10-12 horas la cual se centrifugó a 2500 rpm durante 10 minutos; el suero obtenido se guardó en alícuotas de 500 μ L, debidamente etiquetadas y se almacenaron a -20 C hasta el momento de su procesamiento.

A las mujeres del grupo I (grupo testigo) la muestra se tomó entre los días 12 y 14 del ciclo menstrual; a las del grupo II (menopausia sin tratamiento) en cualquier día del mes y a las del grupo III (con Tx), un día antes de iniciar la toma del progestágeno.

DETERMINACIONES HORMONALES

Las determinaciones hormonales se realizaron por la técnica del radioinmunoanálisis (RIA). Para las hormonas LH, FSH y PRL se utilizó la técnica del segundo anticuerpo, usando para las dos primeras, estuches comerciales de Clinical Assay (USA) y para PRL estuches de Diagnostic Products Corporation (Los Ángeles, USA), Estradiol y Testosterona se cuantificaron por RIA de fase sólida con estuches de Bio Cis-Sorin International (Cedes, Francia).

La cuantificación de SHBG se realizó por el método inmunoradiométrico (IRMA) con estuches de Diagnostic Products Corporation (Los Ángeles, USA).

Cada estuche para RIA contiene los siguientes reactivos: 5-6 estándares de concentración conocida, 2-3 controles, anti-hormona (el ab en la técnica de fase sólida viene ya adherido a la pared de los tubos), hormona marcada con I_{125} , y un segundo anticuerpo (AB) en el caso de la técnica de "doble anticuerpo"

Los estuches para IRMA contienen los siguientes reactivos: estándares, controles anticuerpo marcado (ab- I_{125}), reactivo con 2do anticuerpo (AB).

Para la cuantificación de la radiación y obtención de la curva de calibración se utilizó un contador de partículas gamma modelo Cobra II de Packard Co.

RADIOINMUNOANALISIS (RIA)

El RIA es un método basado en una reacción inmunológica de competencia la cual se establece entre el antígeno, en este caso la hormona que se va a cuantificar (Ag) y el mismo antígeno marcado con I-125 (Ag*) donde ambos compiten por los sitios de unión del anticuerpo correspondiente (Ab) el cual se encuentra en cantidad limitada.

La reacción puede simplificarse de la siguiente manera:



En este método se utiliza una cantidad fija de Ag* y de Ab los cuales se incuban con un determinado volumen de la muestra de suero (Ag) durante un tiempo también determinado, en el cual se lleva a cabo la reacción competitiva alcanzando el equilibrio químico de ésta. Posteriormente mediante un procedimiento adecuado se separa y elimina el excedente del Ag* libre que quedó sin reaccionar de los complejos antígeno-anticuerpo formados (Ag*-Ab y Ag-Ab) procediendo a cuantificar la radiactividad del complejo Ag*-Ab, en un contador de partículas, la radiación detectada (cpm) será inversamente proporcional a la concentración de Ag (hormona) presente en la muestra de suero. Simultáneamente con las muestras de suero se trabaja un blanco de reactivos y una curva de calibración con 5-6 diferentes concentraciones del estándar hormonal, iniciando con una concentración de cero en la que el % de unión (%U) del Ag* con el Ab es la máxima por no encontrarse hormona para competir.

Conforme se incrementa la concentración del estándar, va disminuyendo el %U presentándose así una curva de calibración descendente, la cual es linearizada mediante el sistema logit-log y al relacionar las cpm de las muestras problemas en la curva de calibración se conoce la concentración de la hormona. (23)

La técnica más utilizada para separar el Ag^* libre en el RIA para hormonas proteicas es mediante la adición de un segundo anticuerpo (AB) elaborado contra la γ globulina del primer anticuerpo (Ab) el cual, al unirse a los complejos de Ag-Ab formados produce un segundo complejo: Ag^*Ab-AB y éste por su peso molecular elevado pierde solubilidad y precipita separándose fácilmente por centrifugación, eliminando después por decantación el sobrenadante que contiene el excedente de Ag^* libre que no reaccionó.

En la variante del RIA conocida como fase sólida el Ab se encuentra adherido a las paredes internas de un tubo donde se lleva a cabo la reacción y la formación del complejo Ag-Ab, por lo que basta decantar o aspirar el sobrenadante para separar la fracción libre del Ag^* que no reaccionó.(24)

Procedimiento para RIA. Técnica de “fase sólida”. (Cuadro 2)

1. Numerar los tubos del ensayo (1-100)
2. Adicionar 100 μL de los estándares, controles y muestras de estudio a los tubos correspondientes.
3. Adicionar 500 μL de la hormona marcada a todos los tubos. Agitar
4. Incubar por 3 horas a temperatura ambiente
5. Eliminar por aspiración todo el líquido(excepto los tubos de cuentas totales)
6. Adicionar 1 ml de agua destilada a todos los tubos (excepto los tubos T) y repetir el paso 5.
7. Contar por 1 minuto en un contador de partículas gamma (cpm)

Cuadro 2 Técnica de RIA en “Fase sólida”

Tubos	Estándares controles y muestras μL	Hormona I-125 μL		Agua destilada mL	
T	-	500		-	
Estándares controles y muestras	100	500	Mezclar --- Incubar 3h --- Aspirar tubos	1.0 (lavado)	Aspirar tubos --- Contar

Procedimiento para RIA. Técnica de “doble anticuerpo”. (Cuadro 3)

1. Numerar los tubos para el ensayo (1-100)
2. Adicionar los estándares, controles y muestras a los tubos apropiados
3. Adicionar el reactivo con la hormona marcada a todos los tubos
4. Adicionar el reactivo con la anti-hormona a todos los tubos, excepto a los tubos de cuentas totales y al blanco de reactivos. Agitar
5. Incubar a temperatura ambiente por 60 min.
6. Adicionar 1 ml del reactivo precipitante que contiene el segundo anticuerpo
7. Agitar e incube por 15 min. a temperatura ambiente
8. Centrifugar los tubos, excepto los tubos T de cuentas totales, por 15 minutos a 1500 rpm, de preferencia en centrífuga con refrigeración.
9. Eliminar el sobrenadante de los tubos centrifugados y drenar completamente en papel absorbente por 15-30 segundos
10. Contar por 1 minuto en un contador de partículas gamma (cpm)

Cuadro 3 Técnica de RIA de “doble anticuerpo”

Tubos	Estandares controles muestras μL	Hormona I-125 μL	1er ab μL		2do AB mL	
T cuentas totales		100				
muestras controles Estandares	100	100	300	mezclar incubar 18-25°C	1	mezclar incubar Contar 1 min.

ANÁLISIS INMUNORADIOMÉTRICO (IRMA)

Los métodos inmunoradiométricos, conocidos como técnicas IRMA son sistemas de medición que al igual que el radioinmunoanálisis, se basan en una reacción inmunológica en la que mediante un isótopo es posible cuantificar la reacción.

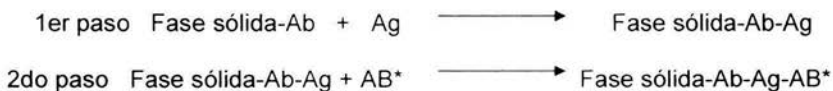
En comparación con el RIA se tienen dos diferencias fundamentales que son:

1. El sistema no es competitivo sino inmunométrico o de medición directa
2. La marca radiactiva no se encuentra en el antígeno sino en el anticuerpo.

Este método utiliza dos anticuerpos monoclonales contra la hormona o antígeno por medir, el primero unido a una fase sólida en la que se coloca un volumen determinado de la muestra de suero o líquido biológico por cuantificar y el segundo que está marcado con un isótopo radiactivo. (25)

Al primer Ab se le une el Ag presente en la muestra biológica con elevada especificidad, teniendo así al complejo Ag-Ab adherido a la superficie de la fase sólida.

Después de decantar el líquido sobrenadante y lavar el tubo se procede a adicionar el segundo anticuerpo marcado con I^{125} dirigido también contra el antígeno, de modo que al reaccionar forma un complejo terciario Ab-Ag-AB* lo cual podemos ejemplificar de la siguiente manera:



La radiactividad presente en el complejo Ab-Ag-AB* es directamente proporcional a la concentración de la hormona que existe en el suero y el valor se obtiene extrapolando la radiactividad presente en los tubos problema en una curva de calibración que se elabora con estándares de concentración conocida.

Procedimiento para IRMA Técnica de “fase sólida”. (Cuadro 4)

1. Numerar los tubos del ensayo (1-100)
2. Adicionar 10 μL de los estándares, controles y muestras de estudio a los tubos correspondientes.
3. Agitar e incubar por 30 min. a temperatura ambiente
4. Eliminar por decantación o aspiración todo el líquido (excepto los tubos de cuentas totales “T”)
5. Adicionar 2 ml de solución de lavado a todos los tubos (excepto T). Repetir el paso 4
6. Agregar 200 μL del AB* a todos los tubos
7. Agitar e incubar por 30 min. a temperatura ambiente
8. Eliminar por decantación o aspiración todo el líquido (excepto los tubos T)
9. Adicionar 2 ml de solución de lavado a todos los tubos (excepto T) y repetir el paso 4
10. Contar por 1 minuto en un contador de partículas gamma (cpm)

Cuadro 4 Técnica de IRMA en “Fase sólida para” SHBG

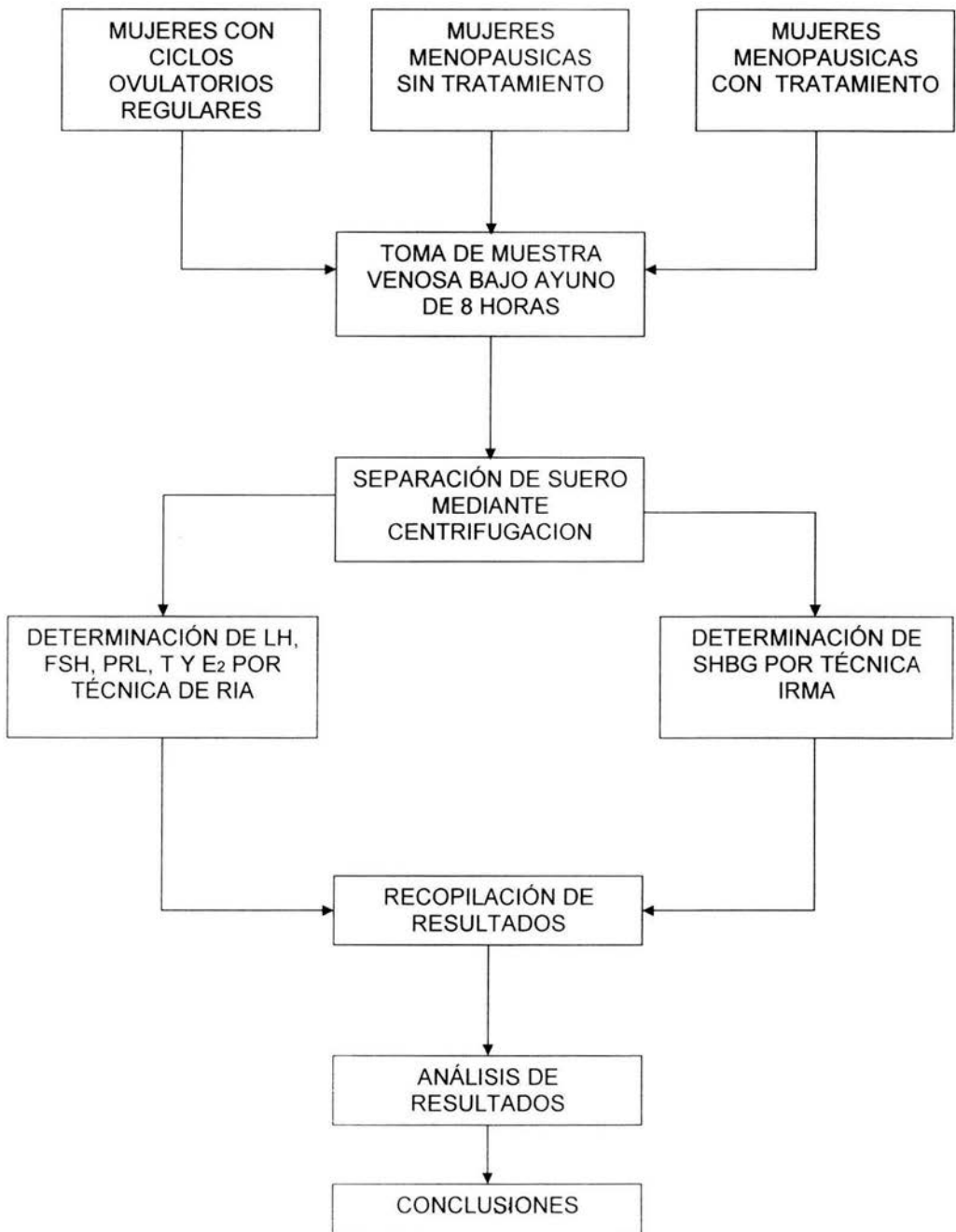
Tubos	Control Estándar Muestra μL		anti- SHBG* μL		
T			200		
Estándar		Incubar 30 min.		Incubar 30 min.	Contar 1 min.
Control	10	Decantar	200	Decantar	
Muestra		Lavar Decantar		Lavar Decantar	

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los resultados se expresan como la media \pm la desviación estándar ($M \pm DE$) de los valores obtenidos. Las diferencias entre las concentraciones hormonales sin y con THR se establecieron por la prueba t de student para grupos independientes a un nivel de significancia de 0.05 y por análisis de varianza (ANOVA).

Se realizaron también estudios de correlación entre la concentración de las diferentes hormonas y la de SHBG por regresión lineal (análisis de Pearson "r")

DIAGRAMA DE BLOQUES



RESULTADOS

En la parte superior de la **gráfica 1** se representan las concentraciones séricas de la hormona estimulante del folículo (FSH) en las mujeres del estudio con relación a la edad. Se puede observar que los valores cambian presentando un incremento altamente significativo a partir de los 46 años ($p < 0.001$) no obstante desde los 36 años se observa un aumento significativo, aunque menor con relación al valor encontrado en las mujeres jóvenes de 20 a 35 años.

En la gráfica inferior se representa la concentración de FSH ($M \pm DE$) en las mujeres menopáusicas sin terapia hormonal de reemplazo (S/THR) en comparación con las mujeres jóvenes (grupo testigo) así como el efecto de la THR en 3 grupos de mujeres menopáusicas a las que se le administraron diferentes dosis de estrógenos (0.312, 0.625 y 1.25 mg/día). En comparación con el grupo de mujeres sin terapia, se observó una disminución significativa en las mujeres que recibieron las dosis de 0.625 y 1.2 mg de estrógenos equinos conjugados (EEC), sin embargo éstos valores se mantienen aún por arriba de los observados en el grupo testigo.

De manera similar en la **gráfica 2** se presentan los valores de LH ($M \pm DE$) en las mujeres del estudio de acuerdo a su edad (a) observando que en el grupo de mujeres de 36-45 años la concentración de la hormona fue menor ($p < 0.05$) que en las mujeres de 20-35 años, en cambio se presenta un aumento significativo ($p < 0.001$) en el grupo de 46-55 con respecto a este mismo grupo.

En la gráfica inferior (b) se comparan los niveles de LH en las mujeres del grupo testigo con los de las mujeres menopáusicas sin tratamiento (S/THR) en las que la LH se encontró elevada presentando una disminución significativa ($p < 0.05$) en las mujeres que recibieron 0.625 y 1.25 mg de estrógenos equinos conjugados y a semejanza de

los valores observados en la FSH, los valores aún continúan por arriba de los encontrados en el grupo testigo (20-45 años).

En la parte superior de la **gráfica 3 (a)** se relacionan los valores de PRL con la edad notándose una marcada disminución de la concentración de esta hormona al aumentar la edad con diferencias significativas ($p < 0.05$) desde los 36 años y sobretodo después de los 46 años ($p < 0.001$).

La gráfica inferior (b) muestra que en las mujeres menopáusicas sin tratamiento (S/THR) la concentración de PRL se encontró disminuída en comparación con la de las mujeres del grupo testigo, sin embargo en las que recibieron la terapia hormonal de reemplazo (THR) se presentó un aumento significativo en los valores de esta hormona, igualando los valores de mujeres jóvenes y aún por arriba de éstos en las mujeres que recibieron 1.2mg de EEC

Los valores de Estradiol que se representan en la **gráfica 4 (a)** disminuyeron notablemente al aumentar la edad con un decremento importante desde los 36 años y cifras menores de 30 pg/mL en las mujeres de 46-55 años siendo las diferencias altamente significativas ($p < 0.001$) con relación a la concentración de las mujeres de 20-35 años.

En la grafica inferior (b) se representan los valores de estradiol en mujeres menopáusicas sin tratamiento (S/THR) observándose disminuidos en comparación con el grupo testigo presentando un aumento significativo después del tratamiento hormonal aún con la dosis mínima (0.312 mg) ascendiendo los valores en relación directa con la dosis administrada, obteniendo con 1.2 mg de EEC una concentración mayor que la de las mujeres del grupo testigo.

La **gráfica 5** a su vez, representa en (a) los niveles séricos de SHBG de las mujeres del estudio en relación con la edad, y se observa que en el grupo de mujeres mayores de 46 años los valores de la globulina son menores que en los grupos de mujeres jóvenes.

En la gráfica inferior (b) se muestra la disminución de los niveles de SHBG en las mujeres menopáusicas sin tratamiento (S/THR) en comparación con la concentración del grupo testigo observándose una notable recuperación de la concentración de la globulina después que las mujeres recibieron la THR a tres dosis diferentes encontrando como en el caso del estradiol, valores por arriba de los del grupo testigo (20-45 años) siendo mayor el efecto con la dosis de 0.312 mg de EEC.

En la parte superior (a) de la **gráfica 6** se ilustra el comportamiento de los niveles de testosterona en las mujeres con respecto a la edad, observándose una ligera disminución que solo fue significativa ($p < 0.05$) en el grupo de mujeres de 46-55 años.

En la gráfica (b) se representan los valores de la hormona en las mujeres menopáusicas sin terapia hormonal (S/THR) en comparación con las mujeres del grupo testigo y aunque los niveles son menores en la menopausia, la diferencia no es significativa, como tampoco lo fue el incremento observado al administrar la terapia de reemplazo a las dosis diferentes; no obstante, se observa que el mayor incremento fué con la dosis de 0.625 mg de estrógenos.

Por otra parte, los estudios de correlación efectuados entre las concentraciones séricas de SHBG con los niveles de las diferentes hormonas mostraron una relación lineal negativa con LH, FSH y Testosterona (**gráficas 7, 8 y 9** respectivamente) tanto en mujeres del grupo control como en las mujeres menopáusicas siendo mayor la correlación sobre todo para LH después de que las mujeres fueron tratadas con estrógenos equinos conjugados.

En el caso de estradiol y prolactina la relación fue positiva como se observa en las **gráficas 10 y 11**, aunque en el caso de la prolactina los coeficientes de correlación fueron menores que para el estradiol, aumentando en ambas hormonas después de la terapia estrogénica.

En el **cuadro 5** se muestran los valores de las hormonas y de SHBG ($M \pm DE$) con relación a la edad mientras que el **cuadro 6** contiene los cambios en las concentraciones hormonales y de SHBG en el grupo testigo y en las mujeres menopáusicas sin y con tratamiento a las 3 dosis diarias administradas de estrógenos equinos conjugados.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

La globulina transportadora de esteroides sexuales (SHBG) desempeña un papel muy importante para la acción de las hormonas gonadales, regulando la cantidad de testosterona (T), dihidrotestosterona (DHT) y 17β estradiol (E_2) que circulan en forma libre, ya que solo esta fracción es la que interactúa con los receptores para desencadenar el efecto biológico.

Conocer los mecanismos que regulan la síntesis, metabolismo y degradación de la SHBG, ha sido motivo de numerosos estudios en los que se ha encontrado que la globulina está bajo regulación hormonal por parte de los mismos esteroides sexuales, (26,27) además de otras hormonas como las tiroideas y la insulina (28,29), postulándose que no es el nivel de 17β estradiol o testosterona sino la relación de ambos es el factor más importante que modula la concentración de la SHBG en condiciones fisiológicas

Los resultados del presente trabajo confirman estudios realizados previamente (2,3) que muestran que los niveles de las hormonas relacionadas a la función ovárica, sufren importantes modificaciones de la etapa reproductiva a la menopausia que consisten fundamentalmente en una marcada elevación de las gonadotropinas hipofisarias (FSH y LH) y una disminución de prolactina (PRL), testosterona y sobre todo de estradiol que disminuyó significativamente después de los 46 años; lo que explica la elevación de las gonadotropinas como resultado de la falla del mecanismo de retroalimentación negativa por parte de los estrógenos. (30,31)

Estos cambios coincidieron con una disminución importante de la concentración de la globulina transportadora de esteroides sexuales (SHBG) en el grupo de mujeres de mayor edad (46-55 años) que eran mujeres menopáusicas. En este grupo, los valores

de SHBG fueron muy bajos con relación a la concentración observada en las mujeres jóvenes (20-35 años) y la diferencia altamente significativa ($p < 0.001$) lo que parece indicar que la marcada disminución de los estrógenos a la menopausia determina la disminución de la SHBG y pone de manifiesto la importancia de los estrógenos para la síntesis de la globulina.

Un hecho importante fue observar, que después de que las mujeres recibieron terapia hormonal de reemplazo con estrógenos conjugados (EEC) la concentración de las hormonas tendió a regresar a valores similares a los del grupo de mujeres jóvenes, sobre todo con la dosis de 0.625mg de EEC; sin embargo, para LH y FSH la disminución por efecto del tratamiento solo fue parcial, manteniéndose los valores por arriba de las cifras normales para la edad reproductiva.

Como era de esperarse, después del tratamiento, los niveles de estradiol aumentaron en relación directa con la dosis de estrógenos administrada, alcanzando con 1.25 mg de EEC, cifras superiores a las del grupo de mujeres jóvenes, por lo que se considera, que la dosis de 0.625 mg es más adecuada con fines de sustitución hormonal. Con esta dosis, los niveles de PRL, testosterona y SHBG fueron estadísticamente semejantes a los valores observados en las mujeres del grupo testigo.

Respecto a la disminución de la prolactina (PRL), se sabe que esta hormona al igual que la hormona de crecimiento (GH), es dependiente de la concentración de E_2 para su síntesis en la adenohipófisis, ya que el E_2 induce la expresión del factor de transcripción de PRL y GH (32) por lo que en la menopausia, al bajar la concentración de E_2 , la prolactina disminuye y después cuando las mujeres son tratadas con estrógenos su actividad se restituye a cifras normales.

Cabe mencionar que con las tres dosis de estrógenos administradas los valores de PRL aumentaron significativamente ($p < 0.001$), alcanzando después de tres meses de

tratamiento las cifras de las mujeres en edad reproductiva aún con la dosis más baja de estrógenos (0.312mg de EEC). En contraste con estos resultados, aunque la concentración de testosterona disminuyó con la edad, los cambios solo fueron significativos en el grupo de mujeres mayores de 46 años ($p < 0.05$). No obstante, la diferencia de los niveles de testosterona entre el grupo testigo (20-45 años) y el de mujeres menopáusicas sin tratamiento no fue significativa, como tampoco lo fue el incremento observado al administrar la THR a las diferentes dosis.

Esto parece indicar, que la administración de estrógenos no modifica el nivel de los andrógenos, viéndose favorecida la recuperación del nivel de la SHBG después del tratamiento, pues como ha sido reportado, (22) la testosterona regula negativamente la síntesis de la globulina, mientras que el incremento de E_2 aumenta su expresión en el hígado. Llama la atención que la elevación de la SHBG fue mayor en las mujeres que tomaron la dosis baja de estrógenos (0.312mg de EEC), lo que pudiera deberse a la elevada afinidad de E_2 con su receptor en el hepatocito y su capacidad para inducir la síntesis de la SHBG a bajas concentraciones de la hormona, hallazgo que habla a favor de una regulación positiva de la síntesis de la SHBG por los estrógenos.

Por otra parte, el estudio de correlación efectuado entre la concentración de las hormonas y los niveles de SHBG apoya los conceptos anteriores. Los resultados muestran una relación negativa entre el nivel de testosterona y la concentración de SHBG, tanto en el grupo testigo como en las mujeres menopáusicas después de la THR ($r = -0.4$ y $p < 0.001$), en cambio, la correlación entre SHBG y E_2 fue positiva en ambos grupos y tuvo un coeficiente de correlación mayor, reflejando probablemente el efecto inductor de los estrógenos sobre la síntesis de la globulina, efecto que se manifestó también en la respuesta de la SHBG al tratamiento, aumentando significativamente, aún con la dosis baja de estrógenos.

Los resultados indican además, que en la regulación de la SHBG por testosterona y estradiol, existe un marcado dimorfismo sexual que favorece la elevación de la globulina en la mujer por efecto de estrógenos y la unión de mayor cantidad de testosterona, lo que disminuye la fracción libre (TL) y evita un posible hiperandrogenismo e hirsutismo que puede manifestarse cuando aumenta la TL o disminuye el nivel de E_2 y en consecuencia los niveles de SHBG, como ocurre en mujeres con Síndrome de ovario poliquístico (29,32) o en la menopausia. En cambio en el varón, dada la relación inversa entre T y SHBG, la globulina disminuye como resultado de la elevada concentración de testosterona y esto determina el incremento de TL y una mayor biodisponibilidad de la hormona para manifestar su efecto androgénico. De lo anterior puede inferirse, que los cambios en la concentración de la globulina transportadora de esteroides sexuales modulada por los mismos esteroides, tiene una marcada influencia en la función gonadal, tanto en condiciones fisiológicas como patológicas.

FSH y LH mostraron en este estudio, tener una relación negativa con los niveles de SHBG, efecto que fue mayor para LH, hormona que como se sabe es la responsable de inducir la síntesis de los andrógenos tanto en el hombre como en la mujer. Esta relación negativa entre LH y SHBG fue más marcada en las mujeres menopáusicas y probablemente es consecuencia del ambiente hormonal de la menopausia, ya que conforme disminuye la concentración de E_2 y aumenta la concentración de gonadotropinas, la concentración de SHBG también disminuye, de ahí que los valores más elevados de LH y FSH coincidan con los valores más bajos de la globulina.

En este sentido, estudios recientes han reportado que las dislipidemias y la enfermedad cardiovascular (ECV) se favorecen en las mujeres menopáusicas con niveles bajos de SHBG (33) relacionando los cambios en la concentración de testosterona con

alteraciones en los niveles de colesterol, triglicéridos y lipoproteínas, factores que contribuyen al desarrollo de la ECV. En otro estudio realizado en mujeres posmenopáusicas (35,36) y de acuerdo con nuestros resultados, los autores encontraron que las mujeres sin THR tenían niveles más bajos de SHBG que aquellas tratadas con estrógenos, demostrando que al relacionar su concentración con factores de riesgo cardiovascular la disminución de SHBG se asociaba con la presencia de ECV, independientemente de otros factores de riesgo como la edad, el hábito de fumar y los niveles de lipoproteínas.

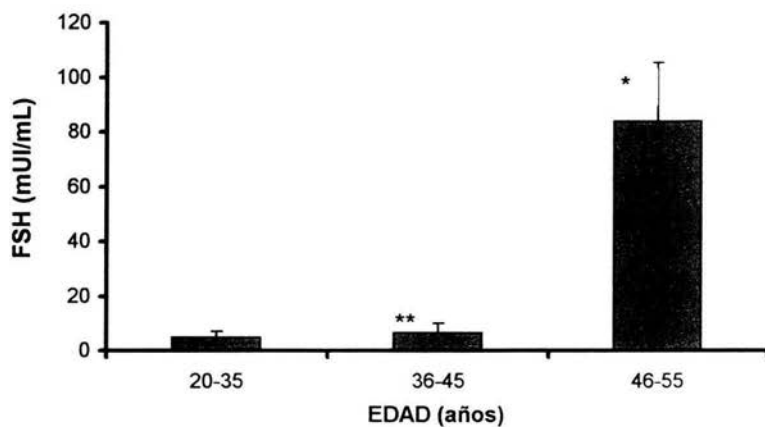
En la menopausia como se demostró, disminuye el nivel de E2 y en consecuencia la concentración de SHBG, lo que probablemente dificulta el transporte de los esteroides a su órgano blanco y su entrada a la célula, limitando aún más su baja acción biológica. La terapia hormonal de reemplazo, además de restituir el nivel de E2, determina el incremento de la SHBG y esto puede representar un efecto positivo que facilita la acción de los estrógenos.

CONCLUSIONES

- Este estudio demuestra que durante la menopausia ocurren importantes cambios en el perfil hormonal, que se caracterizan por una notable disminución de la concentración de 17β estradiol (E_2) y de los niveles de la globulina transportadora de esteroides sexuales (SHBG), cambios que coincidieron con una marcada elevación de las gonadotropinas hipofisarias (FSH y LH) y una disminución significativa de la concentración de prolactina (PRL), con una ligera disminución de los niveles de testosterona.-
- La terapia hormonal de reemplazo (THR) con estrógenos equinos conjugados (EEC), administrada a tres dosis diferentes (0.312, 0.625 y 1.25mg), aumentó significativamente ($p < 0.001$) los niveles de E_2 , en relación directa con la dosis administrada; sin embargo, el incremento de la SHBG fue mayor con la dosis más baja de estrógenos, aunque regresó a los valores del grupo testigo, con las tres dosis.
- FSH y LH disminuyeron su concentración con la THR, no obstante, no se suprimieron adecuadamente, ni con la dosis alta de estrógenos; en cambio los niveles de PRL aumentaron y alcanzaron las cifras observadas en las mujeres en edad reproductiva, aún con 0.312mg de EEC, mientras que la testosterona no mostró cambios importantes.-
- El estudio de correlación mostró una relación significativa ($p < 0.001$) entre los niveles de E_2 y los de la SHBG lo que puede explicar la elevación de la globulina en respuesta a la THR, además de la disminución moderada de la testosterona, hormona que tuvo una relación negativa con la concentración de la globulina transportadora.

- Puede concluirse que si se considera el papel tan importante de la SHBG en la mujer como transportador específico de E_2 hacia los tejidos a donde van a actuar los estrógenos, el incremento de SHBG con la terapia de sustitución hormonal, representa un efecto positivo que facilita la llegada de E_2 a sus células blanco y en consecuencia la introducción de la hormona a la célula, la interacción con sus receptores, entrada al núcleo y su efecto biológico, lo que sin duda determina una mejor calidad de vida para la mujer posmenopáusica.

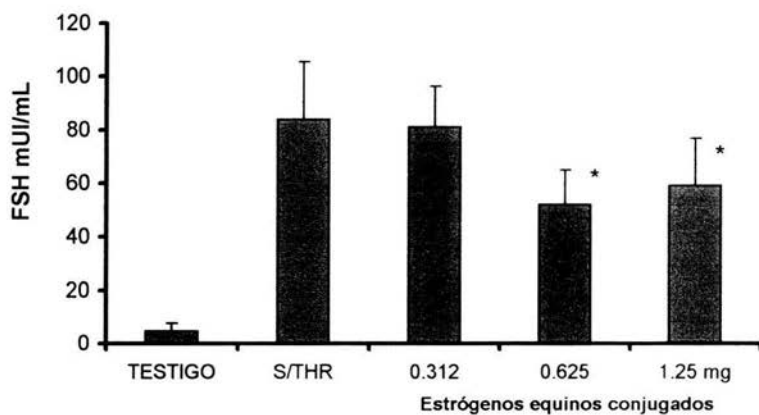
a)



* $p < 0.001$

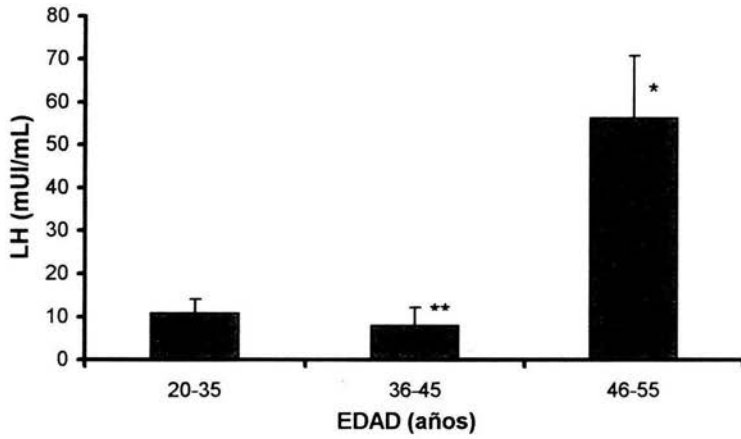
** $p < 0.05$

b)

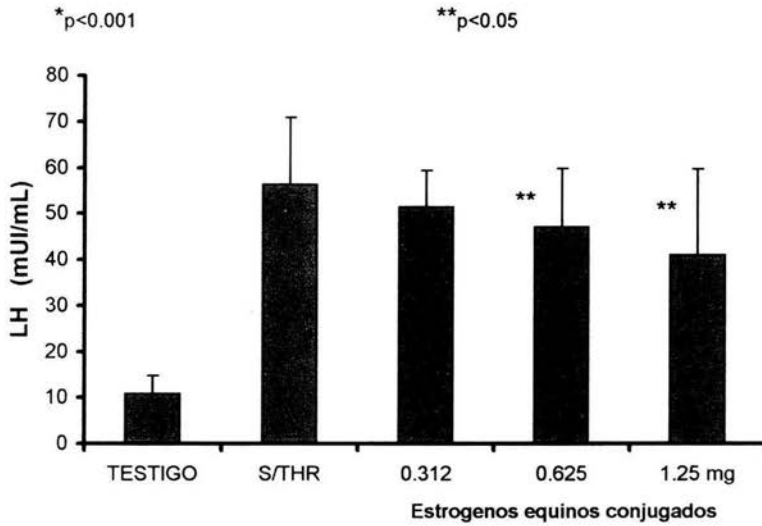


GRAFICA 1 a) Niveles séricos de la hormona estimulante del foliculo (FSH) en las mujeres participantes en el estudio, clasificadas con relación a su edad.
b) Niveles séricos de la hormona estimulante del foliculo (FSH) en el grupo testigo y en las mujeres menopáusicas sin y con tratamiento con estrógenos equinos conjugados a 3 dosis diferentes.

a)



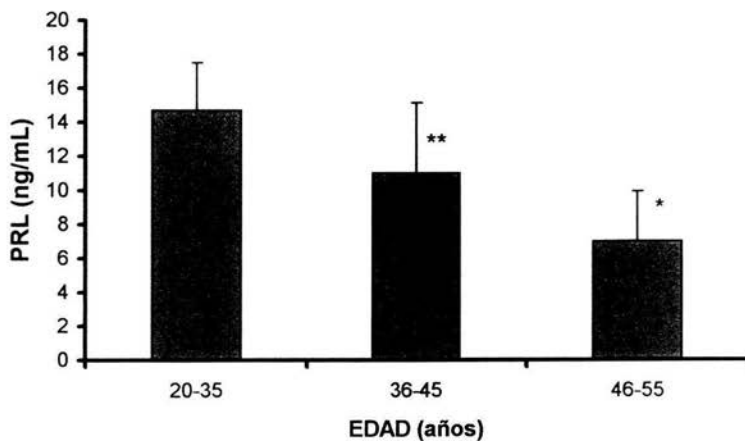
b)



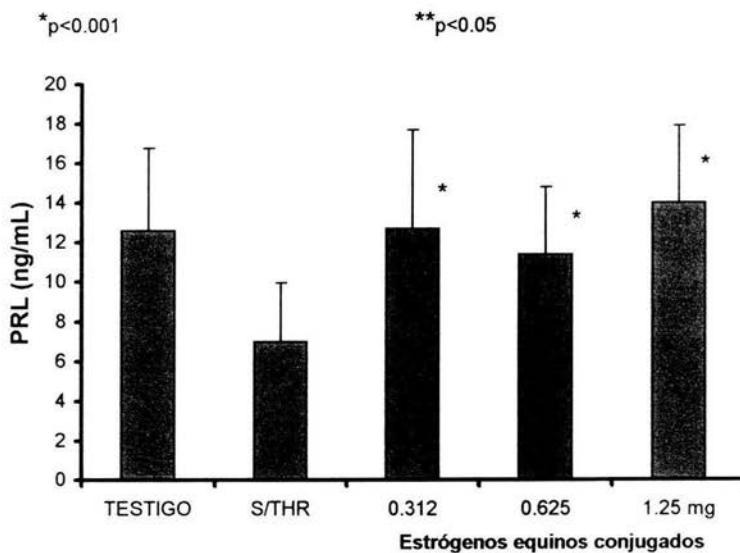
GRAFICA 2

- a) Niveles séricos de la hormona luteinizante (LH) en las mujeres participantes en el estudio, clasificadas con relación a su edad.
- b) Niveles séricos de la hormona luteinizante (LH) en el grupo testigo y en los mujeres menopáusicas sin y con tratamiento con estrógenos equinos conjugados a 3 dosis diferentes.

a)



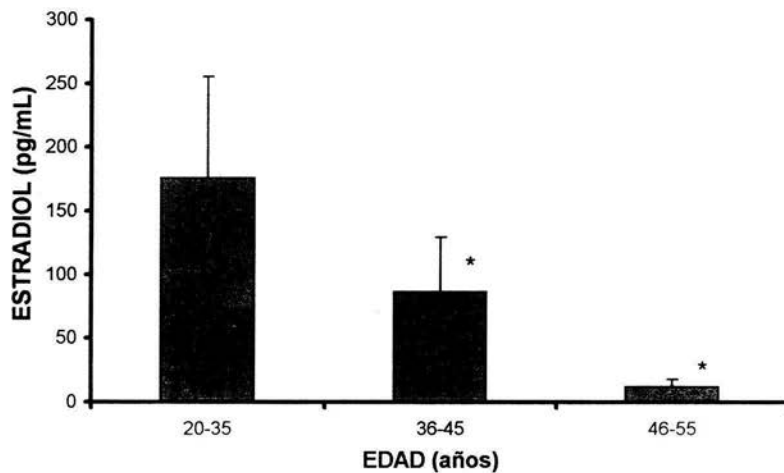
b)



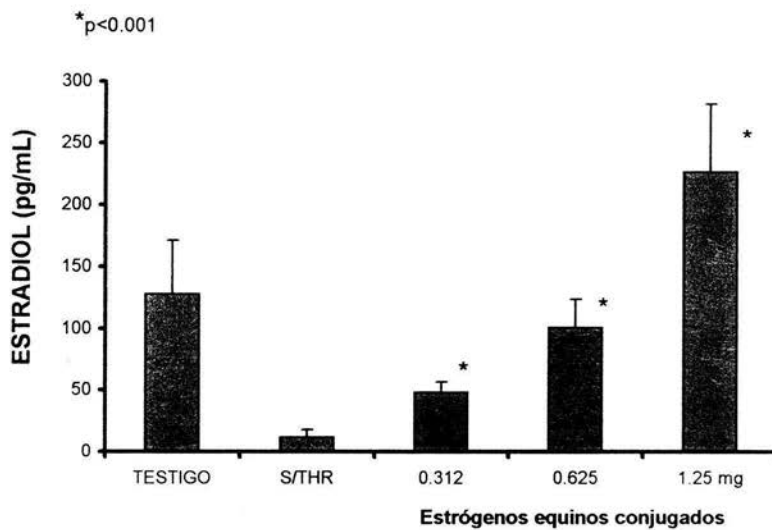
GRAFICA 3

a) Niveles séricos de Prolactina (PRL) en las mujeres participantes en el estudio, clasificadas con relación a su edad.
b) Niveles séricos de Prolactina (PRL) en el grupo testigo y en las mujeres menopáusicas sin y con tratamiento con estrógenos equinos conjugados a 3 dosis diferentes.

a)

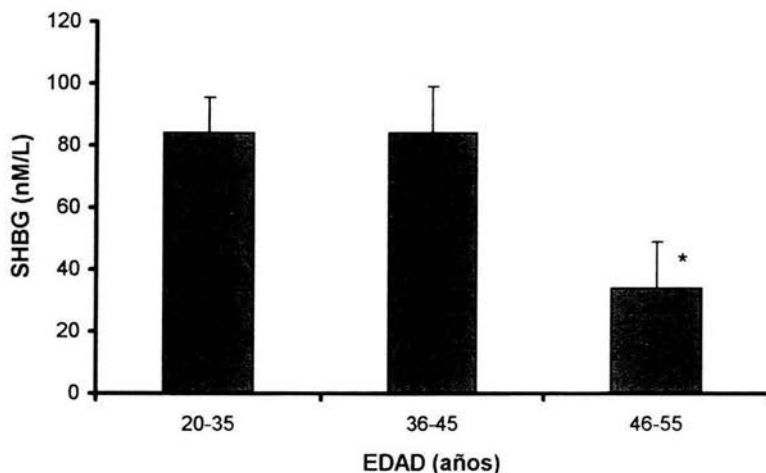


b)

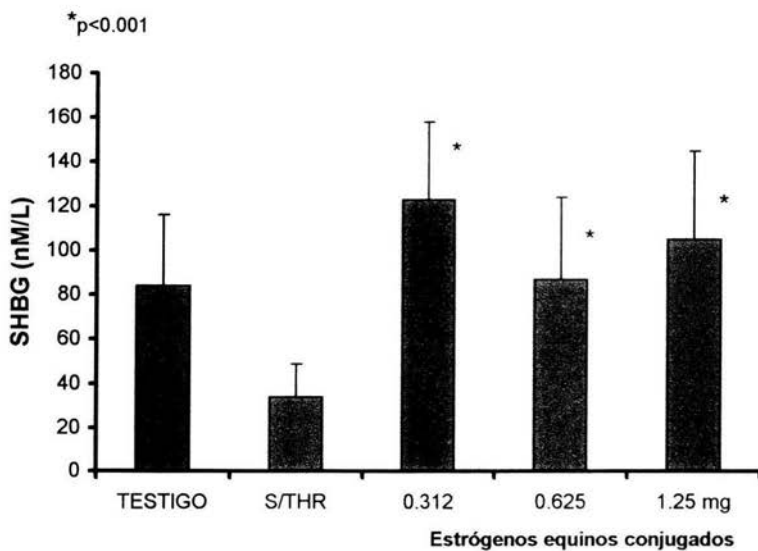


GRAFICA 4 a) Niveles séricos de Estradiol en las mujeres participantes en el estudio, clasificadas en relación con su edad.
b) Niveles séricos de Estradiol en el grupo testigo y en las mujeres menopáusicas sin y con tratamiento con estrógenos equinos conjugados a 3 dosis diferentes.

a)



b)

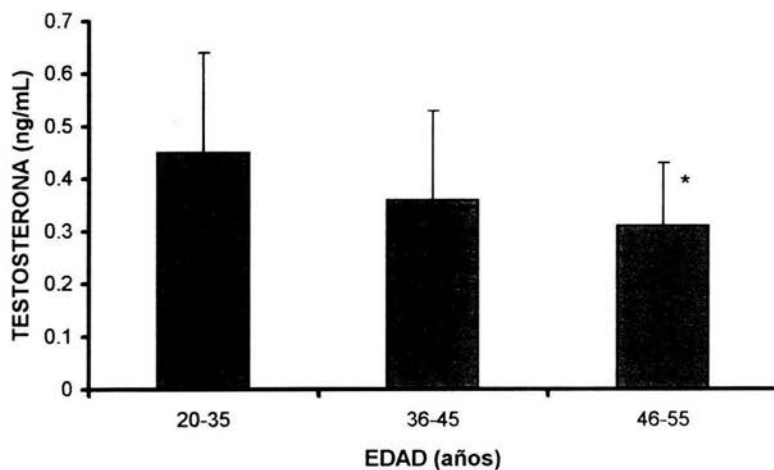


GRAFICA 5

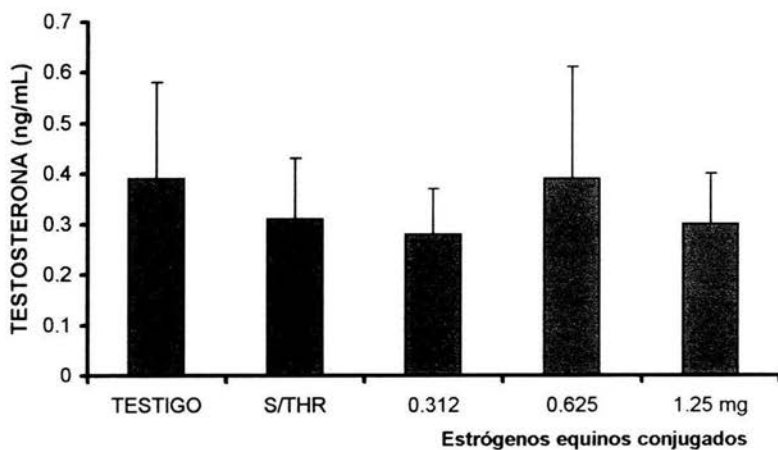
a) Niveles séricos de la Globulina transportadora de esteroides sexuales (SHBG) en las mujeres participantes en el estudio en relación con su edad.

b) Niveles séricos de la Globulina transportadora de esteroides sexuales (SHBG) en el grupo testigo y en las mujeres menopáusicas sin y con tratamiento con estrógenos equinos conjugados a 3 dosis diferentes.

a)

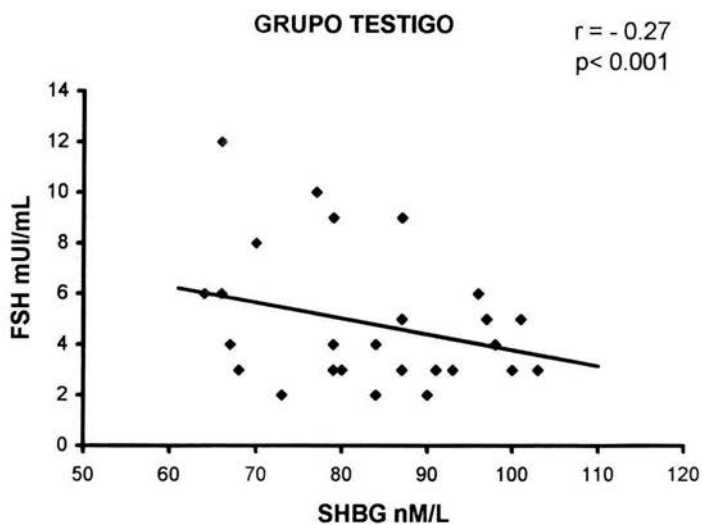


b)

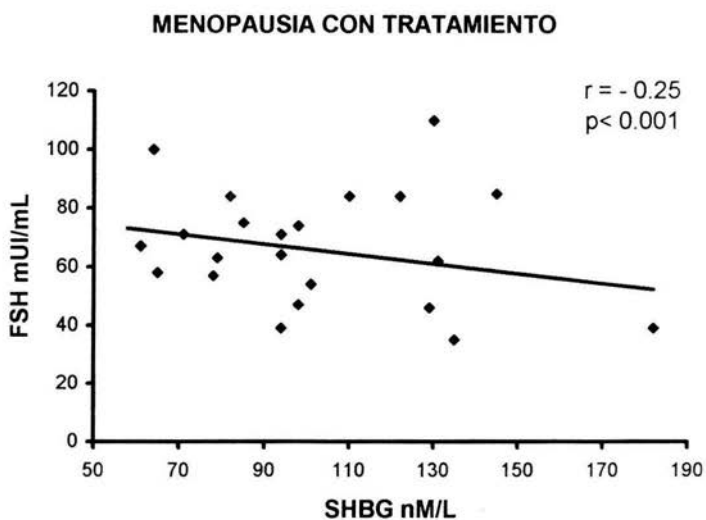


GRAFICA 6 a) Niveles séricos de Testosterona en las mujeres participantes en el estudio, clasificadas en relación con su edad.
b) Niveles séricos de Testosterona en el grupo testigo y en las mujeres menopáusicas sin y con tratamiento con estrógenos equinos conjugados a 3 dosis diferentes.

a)

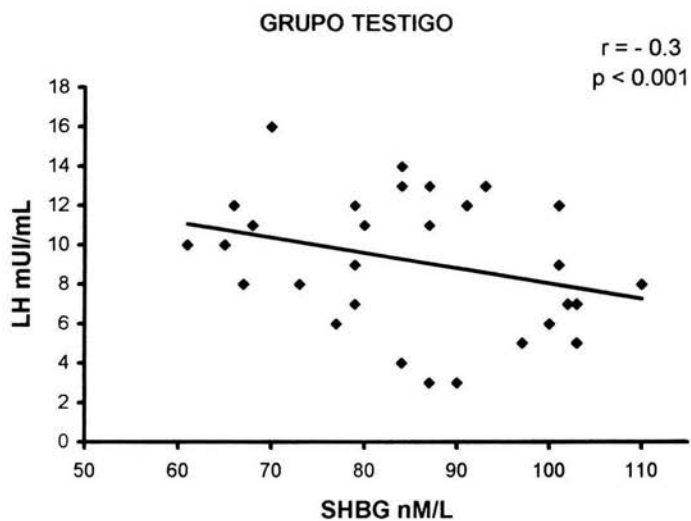


b)

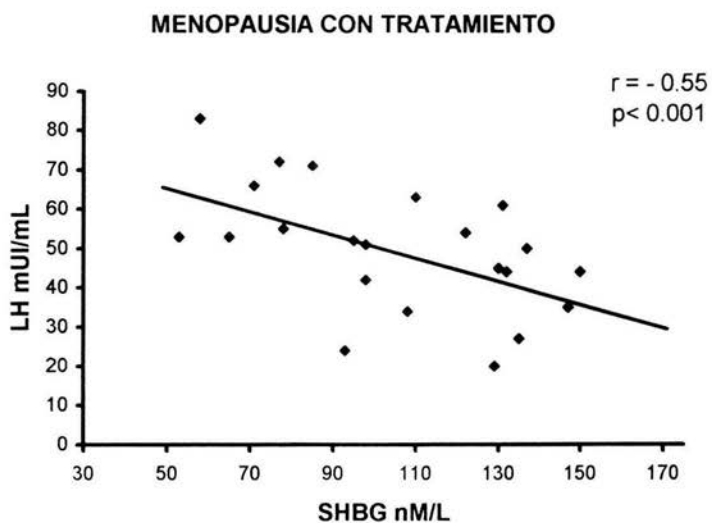


GRAFICA 7 Correlación de la concentración de la proteína transportadora de hormonas sexuales (SHBG) con los niveles de la hormona Folículo estimulante (FSH) en el grupo testigo (a) y en mujeres tratadas con estrógenos conjugados (b)

a)

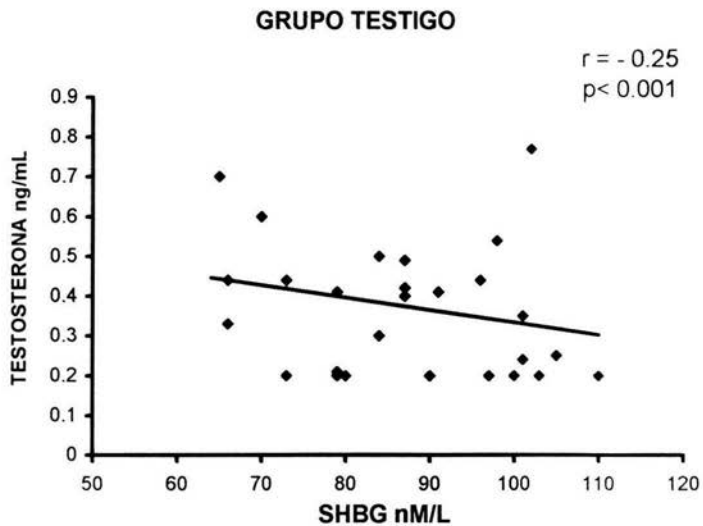


b)

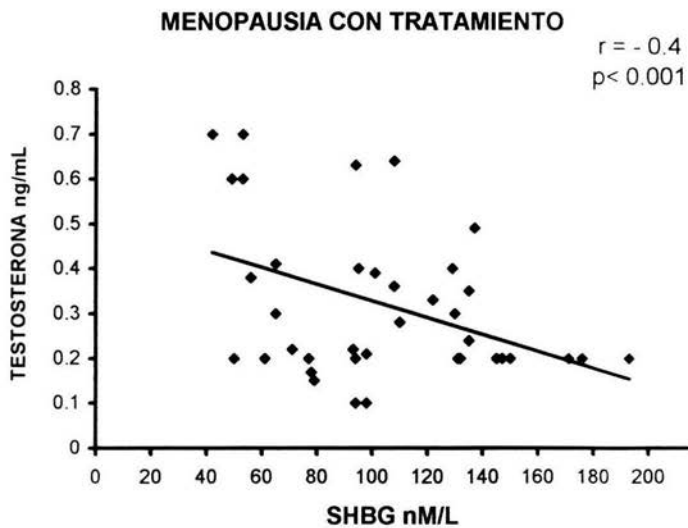


GRAFICA 8 Correlación de la concentración de la proteína transportadora de hormonas sexuales (SHBG) con los niveles de la hormona luteinizante (LH) en el grupo testigo (a) y en mujeres tratadas con estrógenos conjugados (b)

a)

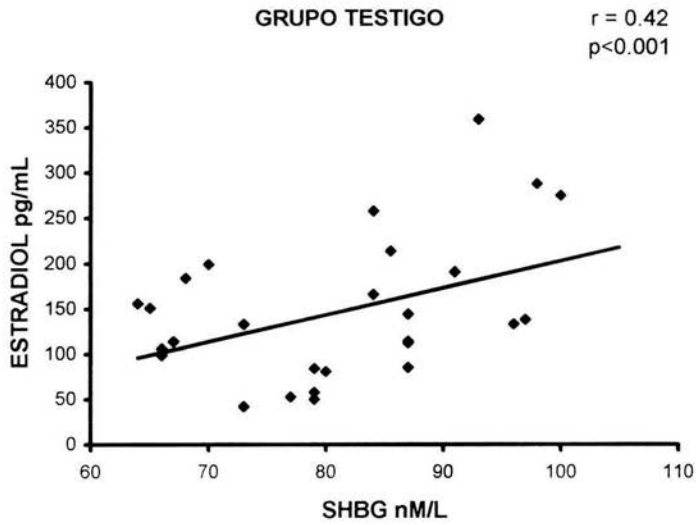


b)

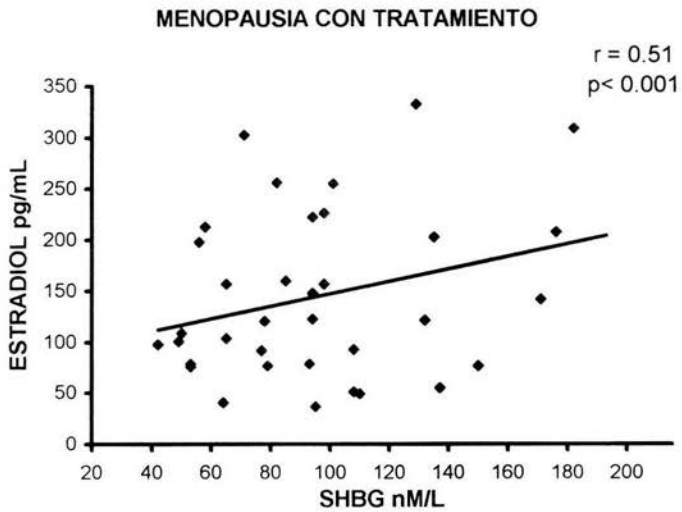


GRAFICA 9 Correlación de la concentración de la proteína transportadora de hormonas sexuales (SHBG) con los niveles de Testosterona en el grupo testigo (a) y en mujeres tratadas con estrógenos conjugados (b)

a)



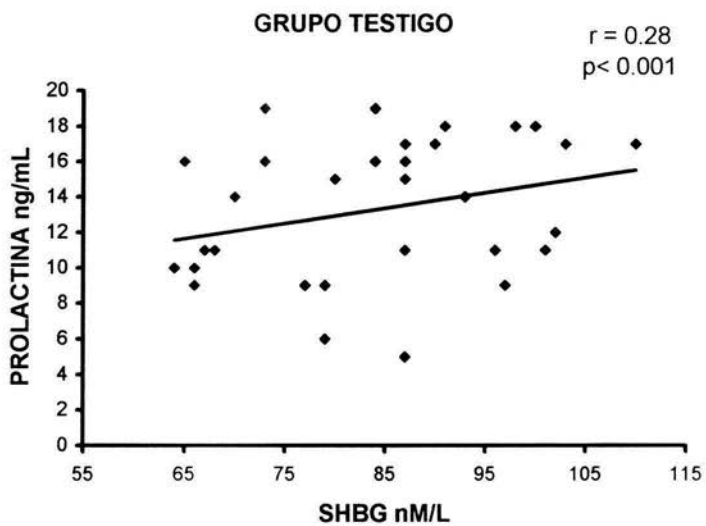
b)



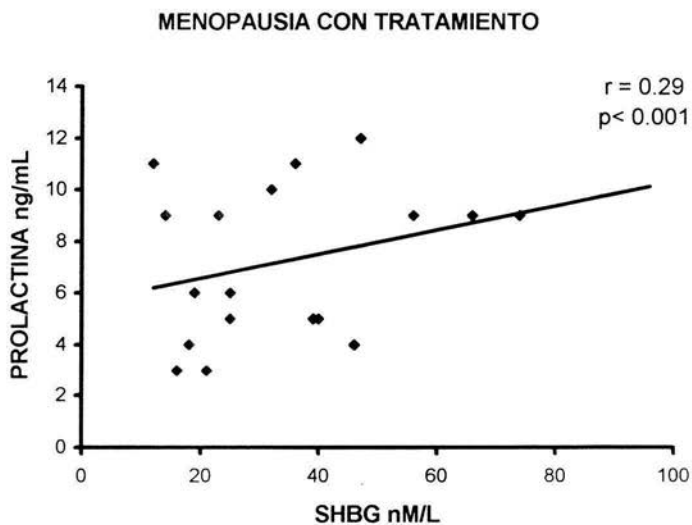
GRAFICA 10

Correlación de la concentración de la proteína transportadora de hormonas sexuales (SHBG) con los niveles de Estradiol en el grupo testigo (a) y en mujeres tratadas con estrógenos conjugados (b)

a)



b)



GRAFICA 11 Correlación de la concentración de la proteína transportadora de hormonas sexuales (SHBG) con los niveles de Prolactina (PRL) en el grupo testigo (a) y en mujeres tratadas con estrógenos conjugados (b)

CUADRO 5 Concentración sérica hormonal y de SHBG en las mujeres participantes de acuerdo con la edad

EDAD años	LH (mUI/mL)	FSH (mUI/mL)	PRL (ng/mL)	TEST (ng/mL)	ESTRADIOL (pg/mL)	SHBG (nM/L)
20-35*	10.7 ±3.3	4.8 ±2.3	14.68 ±2.8	0.45 ±0.19	176 ±79.6	84 ±32
36-45*	7.95 ±4.3	6.6 ±3.5	11 ±4.1	0.35 ±0.17	86.2 ±43.5	81 ±33
46-55	56.2 ±14.6	84 ±21.5	7 ±2.9	0.31 ±0.12	11.9 ±6.1	33.9 ±15

Se representa la M ± DE de los valores de cada grupo

*Las muestras fueron tomadas entre los días 12-14 del ciclo menstrual

CUADRO 6 Concentración sérica hormonal y de SHBG de mujeres en edad reproductiva y en menopáusicas sin tratamiento y con terapia de estrógenos equinos conjugados (EEC) a 3 dosis diferentes

GRUPO	LH (mUI/mL)	FSH (mUI/mL)	PRL (ng/mL)	TEST (ng/mL)	ESTRADIOL (pg/mL)	SHBG (nM/L)
TESTIGO (20-45 años)	9.13 ± 4	5.6 ± 3	12.6 ± 4.1	0.39 ± 0.18	128 ± 77	82.5 ± 32
MENOPAUSIA (Sin Tx)	56.2 ± 14.6	84 ± 21.5	7 ± 2.9	0.31 ± 0.12	11.9 ± 6.1	33.9 ± 15
EEC 0.312 mg	51.3 ± 8.1	81 ± 15	12.7 ± 5	0.28 ± 0.09	47.7 ± 8.7	122.5 ± 36
EEC 0.625 mg	47 ± 12.8	52 ± 12.6	11.4 ± 3.4	0.39 ± 0.2	100.8 ± 22.7	79 ± 31
EEC 1.25 mg	41 ± 18.7	59 ± 17.8	14 ± 3.9	0.3 ± 0.1	226.8 ± 55	99.8 ± 35.6

Se representa la M ± DE de los valores de cada grupo

REFERENCIAS

1. Lobo RA. Treatment of the postmenopausal woman. 2th Ed. USA: Lippincott Williams and Wilkins 1999; 69-75,97-102,113-114.
2. Overlie I, Moen MH, Morkrid L, The endocrine transition around menopause a five years prospective study. *Obst et Gynecologic Scand* 1999; 78: 642-7
3. Yen S, Jaffe R, Barbieri R. Reproductive endocrinology, physiology, pathophysiology and clinical management. 4th Ed. USA WB Saunders Co. 1999; 260-61.
4. Erickson GF. Normal ovarian function. *Clin Obstet Gynecol* 1978; 21:31-52
5. Hicks JJ, Díaz JC. *Bioquímica e Inmunología México Ed. Piensa* 1988 Vol 1 pp 171, Vol 2 pp 54,84-92
6. Williams JD, Foster DW. *Endocrinology* 7th USA W.B. Saunders Co 1985 Vol 1 pp 33-60.
7. Knochenhauer ES, Boots LR, Potter HD. Differential binding of estradiol and testosterone to SHBG. Relation to circulating estradiol levels. *Journal of Reproductive Medicine* 1998; 43: 665-670
8. Stomati M. Effects of hormonal replacement therapy on plasma sex hormone-binding globulin, androgen and insulin-like growth factor-1 levels in postmenopausal women. *J Endocrine Invest*: 1996;19: 535-541.
9. Anderson DC. Sex hormone binding globulin. *Clin Endocrinol* 1974;3:69-96
10. Lindstedt G. Sex hormone-binding globulin-still many questions. *Scand J Clin Lab Invest* 1985; 45:1-6

11. Fortunati N. Sex hormone-binding globulin: not only a transport protein. What news is around the corner. *J Endocrinol Inv.* 1999; 22: 223-234.
12. Bond A, Davis C. Sex hormone binding globulin in clinical perspective. *Acta Obstet Gynecol Scan* 1987; 66: 255-62.
13. Elmlinger MW. Reference ranges for serum concentrations of lutropin (LH), Follitropin (FSH), estradiol (E2), prolactina, progesterone, sex hormone-binding globulin (SHBG), dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS), cortisol and Ferritin in neonates, children and young adults *Clin Chem. Lab Med* 2002; 40: 1151-60.
14. Cortes Blanco A. Reference values of FSH, LH, LH Testosterone, Estradiol and SHBG in healthy children in Zaragoza. *Anales Españoles de Pediatría* 1999; 51: 159-166
15. Tchernof A. Sex hormone-binding globulin levels in middle-aged premenopausal women. *Diabetes care* 1999; 22: 1875-1881.
16. Bruschi F. Changes in sex hormone-binding globulin plasma concentrations induced by body weight and estrogen status in perimenopausal years. *Menopause* 1997; 1:28-31
17. Jiroutek MR. Changes in reproductive hormones and sex hormone-binding globulin in a group of postmenopausal women measured over 10 years. *Menopause* 1998; 2: 90-94.
18. Pasqueli R. Determinants of sex hormone-binding globulin blood concentrations in premenopausal and postmenopausal women with different estrogen status; *Medline* 1997; 46: 5-9.

19. Burger HG, Dudley EC, Hoopen JL. The endocrinology of the menopausal transition: a cross-sectional study of a population based sample. *L Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 3537-45
20. Malacara JM. Menopausia: Nuevas evidencias, nuevos enigmas *Endocrinología y Nutrición* 2003; 11: 61-72
21. Velasco E, Malacara JM, Cervantes F, Díaz de Leon J, Dávalos G. Gonadotropins and prolactin serum levels during the perimenopausal period: correlation with diverse factors. *Fértil Steril* 1990; 53: 56-60
22. Berrino F. The therapy of hormone substitution in menopause: the therapeutic benefits and preventive risks. *Annali istituto dell superiore di Sanita* 1997; 33: 213-215
23. Abraham GE, Manlimos FS, Garza R. Radioimmunoassay, of steroids. In: "Handbook of Radioimmunoassay", Abraham GE ed, M. Dekker Inc, New York. 1977:591.
24. Yalow RS, Berson SA. Assay of plasma insulin in human subjects by immunological methods. *Nature* 1959; 184: 1618-19.
25. Miles M, Lipschitz DA, Bieber CP, Cook JD. Measurement of serum ferritin by a 2-site immunoradiometric assay. *Analyt Biochem* 1974; 61: 209-224.
26. Pugeat M, Request JC, Toumiaire J, The clinical utility of sex that hormones measure of the globulin. *Horm-head* 1996; 45: 148-55.
27. Koistinen R, Koistinen H, Angervo M, Leinonen P, Seppala M. Estradiol increases the production of sex hormone-binding globulin but not insulin-like growth factor binding protein-1 in cultured human hepatoma cells. *Fertil Steril*. 1999; 72: 325-9.

28. Plymate SR. Regulación en la producción de SHBG por factores de crecimiento. *Metabolic*. 1990; 39: 967-70.
29. Gambineri A. Obesity and polycystic ovary syndrome. *I J of Obesity* 2002; 26: 883-
30. Bancroft J, Cawood H. The androgens and the menopause; a study of 40-60 years old women. *Clin Endocrinology* 1996; 45: 577-87.
31. Rigano A, Sturlese E, Rigano M, Baviera G, Endocrine changes in postmenopausal woman after high-dose danazol therapy. *Panminerva medica*. 1999; 41: 139-42.
32. Zacar HA. Polycystic syndrome hiperandrogenism and insulin resistencia. *Obstet Gynecol* 2001;28:21-33.
33. Reinecke H, Bogdanski J, Woltering A, Breithardt G, Assmann G, Kerber S, von Eckardstein A. Relation of serum levels of sex hormone binding globulin to coronary heart disease in postmenopausal women. *Am J Cardiol* 2002; 90 : 364-8.
34. Pugeat M, Moulin P. Interrelations between sex hormone-binding globulin (SHBG), plasma lipoproteins and cardiovascular risk. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1995; 53:567-572.
35. Matthews KA, Kuller LH, Sutton K. Changes in cardiovascular risk factors, during the perimenopause and postmenopause and carotid artery atherosclerosis in healthy women. *Stroke* 2001;32: 1104-1111.