

RESUMEN

La administración de estrógenos como terapia hormonal sustitutiva (THS) en mujeres menopáusicas mejora la función mental y el estado emocional, efectos que pueden ser dados por el acción favorable en la función endotelial que se manifiesta por aumento del flujo sanguíneo cerebral mediado por óxido nítrico (NO). Sin embargo, la inducción de la síntesis no se limita a las células endoteliales ya que otros tejidos también son estimulados, como el cerebro, así que la mejora observada con suplencia estrogénica de las funciones encefálicas superiores de la mujer menopáusica puede deberse a un doble efecto de la THS, uno por aumento del flujo sanguíneo y otro por incremento de NO en el propio sistema nervioso central (SNC). La THS induce la síntesis de NO en mujeres menopáusicas, lo que se refleja a nivel sistémico en aumento de los niveles plasmáticos de nitritos y nitratos. El incremento de los metabolitos estables probablemente refleja una mejor producción de NO en endotelio vascular, que representa mejoría de la VMF. A nivel del SNC el efecto es selectivo y asimétrico.

ACCIONES DE LA TERAPIA DE REEMPLAZO HORMONAL
A TRAVÉS DE LA VÍA L-ARGININA : ÓXIDO NÍTRICO
EN EL SISTEMA CARDIOVASCULAR Y NERVIOSO
DE MUJERES MENOPÁUSICAS

ALBERTO PARDO PALENCIA, MD *
LUIS ALFONSO DÍAZ MARTÍNEZ, MD*
JUAN PABLO CASAS ROMERO, MD**
RAFAEL EDUARDO GARCÍA REY, MD⁵¹
JULIÁN CORTÉS YEPES, MD*
JUAN GUILLERMO BARRERA, MD §
GUSTAVO ADOLFO PARRA ZULUAGA, MD ^{*51}
KERMES JAIMES CARVAJAL, MD^W
ROSE MARY GARCÍA MARTÍNEZ, PS§
GAUTHAM CHAUDHURI, MD^{§§}
PATRICIO LÓPEZ-JARAMILLO, MD PHD ^{**M}

*Trabajo de investigación presentado como requisito para optar el título de
Especialista en Radiología e Imágenes Diagnósticas*

Estudio patrocinado por Colciencias (código 1241-04-10244, contrato 132-2000), el Instituto Colombiano de Investigaciones Biomédicas, la Fundación Cardiovascular del Oriente Colombiano, la Fundación Oftalmológica de Santander Clínica Carlos Ardila Lülle y la Universidad Autónoma de Bucaramanga.

Universidad Autónoma de Bucaramanga, Bucaramanga, Colombia.
Instituto Colombiano de Investigaciones Biomédicas, Bucaramanga, Colombia.
* Fundación Oftalmológica de Santander Clínica Carlos Ardila Lülle, Bucaramanga,
** Colombia.
† Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.
‡ Fundación Cardiovascular del Oriente Colombiano, Bucaramanga, Colombia.
§ University of California at Los Angeles, Los Angeles, Estados Unidos de América.
§§

Bucaramanga, 2002

INDICE

1. OBJETIVO GENERAL	1
1.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN	3
3. IMPACTO	1
4. MARCO TEÓRICO	13
4.1 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS	13
4.2 MENOPAUSIA Y SISTEMA CARDIOVASCULAR	14
4.3 ACCIONES DE LOS ESTRÓGENOS SOBRE EL SISTEMA CARDIOVASCULAR.	17
4.4 METODOLOGÍA DE LA VASODILATACIÓN MEDIADA POR FLUJO	20
4.4.1 Prueba	22
4.4.2 Factores de Control en el Momento de Selección de Pacientes	24
4.5 MENOPAUSIA Y SISTEMA NERVIOSO	25
4.5.1 Menopausia y Alteraciones del Estado de Ánimo	25
4.5.2 Menopausia y Alteraciones en la Memoria	26
4.5.3 Terapia Estrogénica, Producción de ON y Sistema Nervioso	27
4.5.4 Inventario de Depresión de Beck (IDB)	28
4.6 TOMOGRAFÍA CON EMISIÓN DE FOTÓN ÚNICO (SPECT)	29
4.6.1 Estudio de Perfusión Normal	29
4.6.2 SPECT con Neuroactivación	30
5. METODOLOGÍA	32
5.1 CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO CLÍNICO	32
5.2 PRUEBAS REALIZADAS	34
6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	37
7. RESULTADOS	39

7.2 SELECCIÓN DE PACIENTES	39
7.2 CARACTERÍSTICAS DE LAS PACIENTES INCLUIDAS	40
7.3 METABOLITOS DEL ÓXIDO NÍTRICO	44
7.4 PRUEBAS DE FLUJO VASCULAR	45
7.4.1 Vasodilatación Mediada por Flujo	45
7.4.2 Variación de la Velocidad Pico	50
7.5 PRUEBAS DE NEUROPSICOLOGÍA	52
7.5.1 Inventario de Depresión de Beck	52
7.5.2 Prueba de Memoria Reciente	53
7.6 PRUEBAS DE ACTIVIDAD CEREBRAL POR SPECT	55
8. DISCUSIÓN	60

1. OBJETIVO GENERAL

Establecer si cursos cortos de terapia de suplencia hormonal inducen un efecto beneficioso en el endotelio vascular y en el SNC de mujeres menopáusicas a través de la vía L-Arginina : Óxido Nítrico.

1.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a. Determinar si la Terapia de Reemplazo Hormonal (TRH) administrada durante tres meses, induce cambios en la función endotelial, valorada a través de la prueba de vasodilatación mediada por flujo.
- b. Determinar si la TRH administrada durante tres meses, induce un incremento en la síntesis de Oxido Nítrico, evaluado a través de la medición de Nitritos y Nitratos en plasma.
- c. Determinar si la TRH administrada durante tres meses, induce una mejoría en el estado de ánimo, valorada a través del test de Beck, que puede ser dependiente del incremento en la síntesis de ON.
- d. Evidenciar si la TRH administrada durante tres meses, induce cambios en los patrones de perfusión cerebral valorados a través del SPECT con neuroactivación.

- e. Determinar si la administración de estrógenos se relaciona con una mejoría en los resultados del Test de dígitos de la escala de inteligencia de Weschsler para adultos.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

La mayor expectativa de vida al nacer para las mujeres es un fenómeno universal¹. En parte, esa mayor supervivencia de la mujer esta dada por una menor ocurrencia de aterosclerosis y de las enfermedades asociadas a ella². Estas diferencias relacionadas con el sexo, han dirigido el interés hacia el impacto que tiene la presencia de los estrógenos endógenos o administrados en terapia de reemplazo hormonal sobre la función endotelial. Los cambios en el perfil lipídico, con un aumento de colesterol HDL, disminución del colesterol total y LDL con relación a la presencia de estrógenos endógenos o administrados en terapia de reemplazo hormonal³ Explican en parte estas diferencias, pero el efecto favorecedor de estas hormonas sobre la liberación de sustancias vasodilatadoras como el ON por el endotelio, amplían aun más su potencial protector en el Sistema Vascular. Igualmente, la regulación del estado de oxidación a nivel vascular^{5 6} y la reducción de radicales libres sugiere la posibilidad de disminuir globalmente los efectos del envejecimiento mediante el uso de estrógenos.

Por otra parte, se han descrito también efectos favorables de los estrógenos en la función mental y en el estado emocional de la mujer

menopausica, que han sido respaldados por estudios que indican aumento en el flujo sanguíneo cerebral^{7 8}.

Nuestro país, actualmente en fase de transición demográfica, se encuentra en un periodo de envejecimiento relativo de la población. La esperanza de vida al nacer ha aumentado de 50,6 años a mediados de siglo, a 69,2 años en la actualidad. Esto corresponde a un incremento promedio de la expectativa de vida de 0,8 años por cada decenio transcurrido. Es así, como aproximadamente el 6,5% de nuestra población se encuentra por encima de los 60 años (más o menos 2'340.000 de habitantes), y aproximadamente 18% de las mujeres están por encima de los 45 años⁹¹⁰ .

Dado que la expectativa de vida de la mujer después de la menopausia puede variar entre 20 y 30 años, es importante evitar la morbimortaiidad y mantener la funcionalidad física y mental en esta edad. Característicamente las enfermedades que tienen mayor ocurrencia en este grupo de edad, incluyendo las cardiovasculares, osteoporosis, demencia, depresión, pueden afectarse favorablemente por el uso de estrógenos. La presencia de receptores para los estrógenos en diferentes tejidos: reproductivo, vasos sanguíneos, hueso, hígado y cerebro han explicado la utilidad de la terapia estrogénica para prevenir muchas de estas alteraciones.

La terapia de reemplazo hormonal juega un papel importante en la reducción y/o prevención de la enfermedad cardiovascular en la mujer posmenopáusicas. La evidencia sugiere que los estrógenos protegen contra la lesión aterosclerótica en evolución. Los mecanismos potenciales de ese efecto incluyen el incremento de lipoproteínas de alta densidad C-HDL, la reducción en la proliferación celular, incremento en la síntesis de óxido nítrico (ON) y disminución del potencial oxidoreductor de la pared vascular. Además los estrógenos limitan la infiltración celular del endotelio estimulando la síntesis de mitógenos celulares específicos. Las células endoteliales poseen receptores de estrógenos y por tanto son blanco fisiológico de su acción. Las respuestas celulares son mediadas por vía genómica y no genómica. Un gen importante sobre el cual actúan los estrógenos es el de la ON Sintasa (ONS). Los estrógenos estimulan la síntesis de ONS en muchos tejidos incluyendo vasos sanguíneos, corazón, cerebro, y músculo esquelético³¹¹.

En el presente trabajo se pretende evaluar la respuesta endotelial a estrógenos exógenos administrados durante diferentes etapas posteriores a la menopausia, y específicamente la conservación de la respuesta vasodilatadora mediada por ON, evaluando si la respuesta se mantiene con el tiempo. Para esto se utilizarán como indicadores, las variaciones en las siguientes pruebas: Prueba de vasodilatación mediada por flujo en la arteria braquial, la medición de nitritos y nitratos en plasma, tomografía cerebral con emisión de fotón único (SPECT) con neuroactivación

mediante el test de dígitos de la prueba de Weschler para adultos y la evaluación del estado de ánimo por medio del inventario de Beck.

3. IMPACTO

La transición demográfica de los últimos años, en el mundo y en América Latina, no es ajena a la situación de Colombia, y principalmente los cambios generados por la prevención y control de enfermedades han redundado en el aumento progresivo en la esperanza de vida al nacer, que pasó de 50,6 años a mediados de siglo a 69,2 años en nuestros días⁹. Esto corresponde a un incremento promedio de la expectativa de vida de 0,8 años por cada decenio transcurrido.

Asociado al anterior cambio, tenemos factores como: disminución en la disponibilidad, accesibilidad, calidad y demanda de alimentos saludables; alteraciones en patrones de ingesta y actividad física; el incremento de la carga de tensión psicológica y social en el ámbito familiar y laboral; el incremento en el consumo de sustancias como el tabaco y el alcohol, así como riesgos ambientales y ocupacionales, factores todos que incrementan la posibilidad de desarrollar enfermedades cerebro cardiovasculares y el desarrollo de sus principales factores de riesgo⁹.

Estos cambios demográficos, además han llevado a un incremento constante de la proporción de personas mayores de 60 años, representando en la actualidad, cerca del 6,5% de la población

colombiana (aproximadamente 2'340.000 de habitantes de 36'000.000 de habitantes), y dentro de éstos, aquellos procesos patológicos del envejecimiento y que se iniciaron en su juventud, representan una carga importante de enfermedad, si no son prevenidos, detectados ni atendidos oportunamente; encontrando que las personas ancianas afectadas por estas patologías tienden a usar los servicios asistenciales con más frecuencia, dando una carga desproporcionada de costos de atención¹².

De la gran variedad de enfermedades cerebro cardiovasculares, se destacan las asociadas a enfermedad aterotrombótica, ya que son las responsables del mayor número de muertes y años de vida saludable perdidos en el mundo. Si tenemos en cuenta, que la enfermedad coronaria y cerebrovascular es mucho menos común en mujeres jóvenes o en edad media, comparado con los hombres; y hay una gran diferencia por la muerte por aterosclerosis, que cambia y se hace menos marcada después de la menopausia. La disfunción endotelial es un evento precoz en la aterogénesis y cumple una importante dinámica en la estenosis ocasionada por la placa con el paso de la vida¹³. Muchos investigadores se atreven a sugerir que la base para la protección de la aterosclerosis en la mujeres jóvenes y en la edad media está relacionado con el exceso de hormonas estrogénicas^{14 15}.

Utilizando la medición de la función endotelial mediante la vasodilatación mediada por flujo en personas mayores de edad. En hombres se

encontró que está preservada, en los que tienen menos de 40 años, y que la dilatación arterial disminuye en un 0,21% por año. En la mujeres esta dilatación permanece estable, hasta antes de los 50 años, luego de lo cual disminuye la vasodilatación arterial mediada por flujo en 0,49% por año con una $p=0,002$, comparado con el hombre¹³.

Estudios observacionales en mujeres posmenopáusicas, quienes usaron terapia hormonal, disminuían de un 30-50% la mortalidad por todas las causas, comparada con las mujeres que no utilizaron hormonas, en donde el uso de terapia de reemplazo hormonal puede ser utilizada en las mujeres para prevención, y se debe considerar los beneficios y la disminución de riesgos¹⁶.

La administración de estrógenos en mujeres posmenopáusicas, esta asociada con una disminución de aproximadamente un 50% en el desarrollo de manifestaciones clínicas de enfermedad coronaria, los cuales pueden ser explicados en estudios en los que han administrado etínil estradiol y han demostrado efectos cardioprotectores de los estrógenos, manifestados por un aumento en el flujo coronario, y disminución de la resistencia vascular¹⁷. La asociación después de la menopausia y su consecuente cambio en la función endotelial, promueve el desarrollo de estudios e investigaciones que requieren el uso de hormonas como terapia de reemplazo para prevenir o retardar los

cambios relacionados con la edad, en la fisiología arterial de mujeres posmenopáusicas.

Muchas mujeres son potencialmente candidatas para la terapia hormonal de reemplazo, pero no se tiene suficiente información sobre la repercusión en cuanto a prevención o disminución de la osteoporosis, pero si hay evidencia de la protección que generan sobre los cambios en la pared arterial y la reducción del riesgo cardiovascular.

El método no invasivo que utiliza la vasodilatación mediada por flujo, es una manera de tener acceso al estado o la salud vascular, y en investigaciones apropiadas de su relación con la terapia hormonal, tiene utilidad tanto en la valoración individual como en los trabajos de grandes poblaciones¹³.

Un estudio de cohortes canadiense, reporto un incremento en el porcentaje de síntomas depresivos en mujeres post menopáusicas. Un 51% de las mujeres que resultaron positivas en el tamizaje realizado en centros de estudios epidemiológicos, utilizando la escala de depresión por 3 años, pero que fue relacionado con una pobre percepción de su estado de salud, pero por la menopausia *per se*¹³. Otros dos estudios de cohortes de Estados Unidos y del Reino Unido, identificaron un incremento en el porcentaje de depresión perimenopáusica, siendo mas vulnerables las pacientes que tenían desordenes previos de afecto e

incrementan el riesgos de disturbios durante la menopausia^{19 20}. En contraste, mujeres que fueron atendidas por síntomas clínicos de menopausia, el porcentaje de depresión clínica es muy alto, de un 45%²¹. Y sobre esta base, el beneficio demostrado en estudios placebo-controlados, con monoterapia estrogénica, tiene resultados clínicos significativos sobre la depresión mayor²².

Hay evidencia de una relación causal entre menopausia y osteoporosis y un alto porcentaje de fracturas en mujeres posmenopáusicas, con evidente perdida de la densidad mineral ósea después de la menopausia y una preservación de la densidad mineral ósea cuando se utiliza terapia hormonal²³. Por supuesto hay suficiente evidencia en la prevención de fracturas con el uso de hormonas en estudios observacionales, y en los estudios de cohortes se sobre estima la terapia hormonal sobre la osteoporosis²⁴.

Aún no está claro el tiempo en el cual se debe iniciar la terapia hormonal, para proteger las fracturas osteoporóticas, algunos estudios hablan de 5 años desde el inicio de la menopausia, otros hablan de 10 años^{24 25}. Por lo tanto se hace necesario realizar más trabajos prospectivos, controlados, para demostrar la eficiencia de esta terapia, en la prevención, intervención y la modificación de las alteraciones descritas previamente y al impacto que tendrían sobre la modificación de la calidad de vida en la población, y que se puedan trazar pautas de manejo que

justifiquen la inversión de las terapias de suplencia a grupos masivos o a grandes poblaciones en nuestro país.

4. MARCO TEÓRICO

4J DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

La menopausia es la cesación permanente de las menstruaciones debida a perdida de la función folicular ovárica. Clínicamente, la menopausia se diagnostica después de 12 meses de amenorrea. La edad promedio de inicio es de aproximadamente 51 años. Durante este período que precede a la desaparición total de los ciclos menstruales, algunas mujeres experimentan síntomas menopáusicos clásicos, tales como las oleadas de calor, y algunos indicadores de riesgo para enfermedades crónicas, como el perfil lipídico, presentan cambios.

Terapia de reemplazo hormonal (TRH): Después de la menopausia las concentraciones séricas de estrógenos caen a valores similares o más bajos que aquellos observados en hombres de la misma edad (5 a 20 pg /mi o 18 a 74 pmol/l)²⁶.

La TRH incluye preparados de estrógenos o la combinación de estrógenos y progestágenos. La adición de éstos últimos se utiliza en mujeres posmenopáusicas con útero intacto, ya que un estímulo estrogénico persistente, se ha asociado con la presencia de hiperplasia y

cáncer endometrial, y también se ha asociado en forma muy discutida con cáncer de seno^{27 28 29 30}.

El uso de la terapia estrogénica se fundamenta en la presencia de receptores para estas hormonas, en diferentes tejidos. Se han descrito dos tipos de receptores para los estrógenos, denominados α y β , y más recientemente el receptor γ , ambos pertenecientes a la super familia de receptores de hormonas esteroideas. Estos receptores son factores de transcripción, y al unirse a la hormona desencadenan una serie de eventos moleculares que terminan en la expresión o represión de genes específicos. Recientemente se ha planteado la existencia de receptores ubicados en la membrana celular y cuyo mecanismo de acción no involucra la activación genética sino a segundos mensajeros que median, por ejemplo, los rápidos efectos de los estrógenos en el sistema vascular¹¹.

4.2 MENOPAUSIA Y SISTEMA CARDIOVASCULAR

El sexo y la edad juegan papeles muy importantes en la modulación de los riesgos y eventos cardiovasculares. En cuanto al primero, la enfermedad coronaria es más frecuente en hombres y esta diferencia es más significativa en el grupo menor de 50 años, pero se reduce a partir de esta edad hasta el punto en que la incidencia es igual en ambos sexos después de los 60 años. Todos los estudios de IAM han encontrado que

las mujeres tienen infartos a una edad mayor que los hombres y que en gran medida el incremento en la mortalidad y morbilidad pueden deberse a los efectos de la edad avanzada y las condiciones coexistentes con esta. No obstante hay diferencias en la historia natural de la enfermedad coronaria que no son relacionadas con la edad. Así, se ha observado que en las mujeres existe un mayor intervalo entre el inicio de los síntomas y la presentación, una mayor prevalencia de angina inestable, mayor probabilidad de clínica menos severa o de encontrar angiografías normales^{31 32 33}.

Una de las observaciones del estudio Framingham fue que la mortalidad por enfermedad arterial coronaria fue menor en las mujeres premenopáusicas, que en las posmenopáusicas de la misma edad³⁴. En Estados Unidos, la enfermedad cardiovascular es la primera causa de muerte entre las mujeres posmenopáusicas, más mujeres mueren por enfermedad cardiovascular anualmente que por todos los cánceres combinados²⁷. Estos hallazgos relacionados con el sistema cardiovascular, se suman a las alteraciones observadas en otros tejidos, encontrándose igualmente una pérdida de densidad mineral ósea y una mayor incidencia de fracturas en las mujeres posmenopáusicas, así como de alteraciones en la función sexual y mayor incidencia de síntomas depresivos, deterioro cognitivo, etc²⁶.

Estas evidencias epidemiológicas sugieren que durante la edad fértil existe una protección natural que retarda el daño arterial y protege el hueso, pero que desaparece con el inicio de la menopausia. La administración exógena de estrógenos, después de ocurrida la supresión ovárica, resulta en la prolongación del factor de protección durante la menopausia^{35 36}.

En el estudio de Stampfer y cols¹, se informó una reducción aproximada del 50% en el riesgo cardiovascular en mujeres con TRH, comparado con aquellas que nunca habían recibido estrógenos. Los metanálisis estiman que el riesgo relativo de enfermedad cardíaca coronaria en usuarias vs. no usuarias de estrógenos es de 0,5 y 6 respectivamente. En el estudio PEPI (postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions)³⁷, se demostró que los estrógenos equinos conjugados producen un mayor incremento en la HDL, mientras que la terapia combinada Estrógenos - Progesterona mostró tan sólo una ligera elevación en éstas, pero fue mayor que con placebo. El estudio HERS (Heart and estrogen/ progestin replacement study), la terapia combinada de estrógenos conjugados y medroxiprogesterona y placebo le fueron administrados a 2700 mujeres con enfermedad coronaria preexistente; en este estudio se encontró que durante el primer año el grupo que recibió hormonas presentó un mayor número de eventos cardíacos, pero esta cifra fue inferior al del grupo placebo durante los años 4 y 5. Por lo tanto, si bien la utilidad de la TRH no se discute en prevención primaria, estos resultados ponen en duda los

beneficios de la TRH en prevención secundaria de enfermedad coronaria³⁸.

Varios estudios han abordado el estudio de la función endotelial con TRH utilizando terapia combinada estrógenos - progestágenos, mostrando que la adición de progestágenos no impide la mejoría en la función comparado con el placebo³⁹.

4.3 ACCIONES DE LOS ESTRÓGENOS SOBRE EL SISTEMA CARDIOVASCULAR.

El endotelio sano, brinda una superficie que es vasodilatadora, anticoagulante, antiadhesiva para los leucocitos y que es capaz de inhibir la proliferación de las células musculares lisas. Los estrógenos modifican directamente las funciones del endotelio y de las células musculares lisas, por tanto tienden a corregir las alteraciones asociadas con la biología de la aterosclerosis⁴⁰.

Los estrógenos inducen respuestas vasculares de inicio rápido a través de mecanismos no genómicos, y respuestas de mayor duración a través de mecanismos genómicos. A través del primer mecanismo, inducen liberación de sustancias vasoactivas como el ON. Las acciones a largo plazo, involucran cambios en la expresión genética en las células endoteliales y musculares lisas de los vasos y se relacionan con inhibición

en la respuesta a la injuria vascular y con la prevención de la aterosclerosis¹¹⁴¹.

La oxidación de las lipoproteínas tiene un papel importante en el proceso aterogénico. En modelos de experimentación se ha demostrado que la pared aterosclerótica genera mayores cantidades de ión superóxido ($O_2^{\cdot -}$) lo cual a su vez induce una acelerada degradación de ON y favorece la disfunción endotelial. Por otra parte existe suficiente evidencia experimental acerca de la capacidad del ON de bloquear el estrés oxidativo. En un modelo de ratón deficiente de Apolipoproteína E, la inhibición de la producción de ON por L-NAME incrementó los niveles plasmáticos de LDL oxidada^{42 43}.

Se ha sugerido que los estrógenos pueden limitar el proceso aterosclerótico, interfiriendo en las reacciones de propagación de la peroxidación lipídica y por un efecto antioxidante directo⁴¹. En mujeres posmenopáusicas, la administración a corto y largo plazo de 17p estradiol puede disminuir la oxidación del colesterol LDL⁴⁴.

Así, estos efectos de los estrógenos puede relacionarse con la producción de ON, o con la expresión de genes para enzimas que regulan la producción local y la degradación de $O_2^{\cdot -}$ ^{6 41}. Los estrógenos pueden causar una rápida vasodilatación por mecanismos tanto dependientes, como independientes del endotelio. Estos efectos parecen no involucrar

cambios en la expresión genética e involucran dos mecanismos: alteración en la función de canales iónicos y mayor producción de ON⁴⁵
46

Por otra parte, también a concentraciones fisiológicas, los estrógenos estimulan la apertura de canales de potasio activados por calcio, a través de una vía dependiente de ON - GMP_C, hiperpolarizando y relajando la célula muscular lisa, y promoviendo de esta manera la vasodilatación¹¹⁴⁷.

López-Jaramillo y cois, demostraron una asociación entre la mayor producción de ON observada en las mujeres embarazadas y elevadas concentraciones de estrógenos. Igualmente, se ha observado en mujeres, que los niveles circulantes de nitritos (NO₂') y nitratos (NO₂'), metabolitos estables del ON, aumentan con el desarrollo folicular y se correlacionan directamente con las concentraciones circulantes de estrógenos, pero no con las de la progesterona, hormona luteinizante y hormona folículo estimulante^{48 49}.

En mujeres posmenopáusicas se ha podido comprobar que la TRH atenúa las respuestas vasomotoras coronarias anormales a la Acetil colina⁵⁰ e incrementa significativamente los niveles circulantes de NO₂' y NO₃. No obstante estos estudios sugieren que la administración concomitante de progestágenos puede atenuar los efectos benéficos de los estrógenos sobre el ON^{51 52}.

La administración a largo plazo de estrógenos, incrementa la vasodilatación coronaria mediada por Acetil colina en primates, mujeres posmenopáusicas normales y con angina. Además, estas hormonas, contrarrestan la vasoconstricción en anillos vasculares de animales en los cuales se había discontinuado la terapia estrogénica. Variaciones duraderas inducidas por los estrógenos, como por ejemplo el incremento a largo plazo de la expresión de genes para importantes enzimas vasodilatadoras como la Prostaciclina Sintetasa y la NOS pueden influir en los efectos rápidos de los estrógenos^{5 1155} .

El incremento en la liberación de NO estimulado por los estrógenos, se relaciona no sólo con la vasodilatación dependiente del endotelio sino también con importantes efectos antiaterogénicos, por su capacidad de inhibir la agregación plaquetaria, la adhesión de plaquetas y células inflamatorias a las paredes de los vasos y la liberación de factores que estimulan el crecimiento y migración de las células musculares lisas^{54 55}
56 .

4.4 METODOLOGÍA DE LA VASODILATACIÓN MEDIADA POR FLUJO

La vasodilatación mediada por flujo, descrita como prueba no invasiva en 1992 por Celermajer y cols⁵⁷, tiene aplicación en la determinación de la función endotelial y la respuesta vasodilatadora dependiente de óxido nítrico, en poblaciones y grupos de estudio⁵⁸, que es reproducible y

precisa. Sack y cols⁵⁹, demostraron que los estrógenos atenúan la susceptibilidad de las LDL a la oxidación en las mujeres, y estudios en mujeres posmenopáusicas, demostraron que la administración de acetilcolina induce respuestas de vasoconstricción paradójica coronaria.

El mecanismo por el cual los estrógenos tienen efecto endotelial, en animales de experimentación y en humanos no están aún claros, pero la potenciación del flujo por acetilcolina en presencia de estrógenos resulta por la relajación del músculo liso vascular, causado por un incremento en la producción y liberación del factor relajante derivado del endotelio, óxido nítrico y prostaciclina^{60 61 62} o la inhibición de la liberación, o de la actividad de sustancias vasoconstrictivas como la endotelina y angiotensina II⁶³. Además el efecto liberador de óxido nítrico se relaciona con la cardioprotección de los estrógenos⁶⁴.

Hay 2 estudios recientes sobre la presencia de receptores para estrógenos en la célula endotelial de aorta de bovinos y arterias coronarias humanas, indicando la posibilidad de un efecto mediador de la expresión de la óxido nítrico sintetasa, a través de éste receptor que conlleva al incremento en la síntesis y liberación de óxido nítrico^{65 66}.

Guetta y cols⁶⁷, demostraron los efectos benéficos de la administración aguda de estrógenos sobre el flujo sanguíneo relacionado con óxido nítrico. El efecto contrario se observa con la administración de

progestágenos como la medroxiprogesterona, comúnmente utilizados en combinación como terapia de suplencia hormonal⁶⁸, observando que no hubo actividad similar de la óxido nítrico sintetasa en el grupo que recibió progesterona o testosterona.

Se ha encontrado también, una mediación del óxido nítrico sobre el incremento del GMP_C , que cumple otras propiedades homeostáticas importantes del endotelio, como la inhibición de la activación de genes pro inflamatorios, estos genes promueven la síntesis de citoquinas, quinoquinas y moléculas de adhesión celular de la pared de los vasos, que conlleva a efectos proaterogénicos, reactividad de oxígeno, factores de crecimiento, factores protrombóticos, y en el caso de los monocitos, la transformación celular no regulada de la oxidación de la LDL^{69 70} .

4.4.1 Prueba

Al tener disponible una técnica no invasiva para la medición de la función endotelial⁵⁷, que utiliza el ultrasonido de alta resolución para abordar la arteria braquial, con un transductor de 10MHz, y de ésta manera traducir la respuesta vascular endotelio-dependiente (óxido nítrico dependiente), mediante un estímulo mecánico de rozamiento o fricción de la pared del endotelio, después de una hiperemia reactiva secundaria a la oclusión arterial por medio de un manguito o brazalete de tensiometro, insuflado a 200mmHg durante 5 minutos en la porción proximal de la arteria braquial y la inmediata liberación del flujo, obteniendo mediciones comparativas

del diámetro basal de la arteria braquial, antes de la maniobra de compresión, con el diámetro a los 60 segundos, determinado el porcentaje de cambio de diámetro, mediante una ecuación simple de regla de tres, expresada así:

$$\frac{\text{Diámetro post hiperemia} - \text{Diámetro basal}}{\text{Diámetro basal}} \times 100$$

En los estudios de Anderson^{71 72}, la prueba de vasodilatación mediada por flujo en la arteria braquial define el porcentaje del 3%, como límite de dilatación, por debajo de ésta se considera disfuncionante, y si el diámetro supera esta medida, se considera un endotelio normal.

Estudios realizados recientemente, y en publicación por el grupo de López-Jaramillo y cois, en la Revista Colombiana de Cardiología, muestra que en la población latinoamericana, este límite de porcentaje de dilatación debe ser modificado a una cifra del 10%, y cualquier cifra inferior, determinará individuos disfuncionantes, y mayores a 10% normofuncionantes.

La dilatación anormal braquial tiene un valor predictivo positivo del 95%, sobre la disfunción endotelial, en un grupo de pacientes referido para angiografía coronaria⁷³.

4.4.2 Factores de Control en el Momento de Selección de Pacientes

Existen variaciones de la vasodilatación dependiente del endotelio durante el ciclo menstrual, hay un incremento de la vasodilatación mediada por flujo durante la fase folicular y luteal, cuando los niveles séricos de estradiol son altos, el diámetro de las arterias se mantiene constante y el control del ciclo menstrual tiene valor relevante en las mujeres pre menopáusicas⁷¹.

Se debe tener en cuenta que la hipercoiesterolemia está asociada con la disfunción endotelial en la arteria braquial^{73 75}. La disminución aguda de niveles de coiesterol mejora significativamente la función endotelial⁷⁶.

Una ingesta extrema de una dieta rica en grasas, reduce transitoriamente, hasta en un 50%, la vasodilatación mediada por flujo⁷⁷, que se debe al aumento agudo de los niveles de triglicéridos.

El ejercicio modifica la vasoactividad mediada por la arteria braquial y hay mejoría de la vasodilatación en individuos jóvenes⁷⁸.

Los factores de riesgo tradicionales están asociados con disfunción endotelial y con cambios funcionales de reactividad del endotelio⁷⁹.

El cigarrillo disminuye la vasodilatación mediada por flujo, y es dosis dependiente potencialmente reversible⁸⁰.

La diabetes mellitus está asociada con disfunción endotelial progresiva, que demostró una relación inversa de la dilatación mediada por flujo, con la duración de la enfermedad y niveles de LDL^{8'}.

4.5 MENOPAUSIA Y SISTEMA NERVIOSO

El incremento de la edad supone para la mujer cambios en su esfera cognitiva y emocional. Así aparece una declinación en su capacidad de memoria, y existe una mayor incidencia de enfermedad de Alzheimer, y a su vez incrementa la aparición de síntomas depresivos¹⁶.

4.5.1 Menopausia y Alteraciones del Estado de Ánimo

La melancolía involutiva, llamada también reacción involutiva sicótica, conducta involutiva y depresión de la edad madura, (no señalada como sicopatología del estado de ánimo) se presenta en este período de la vida de la mujer.

Un estudio de cohortes canadiense, reportó un incremento en el porcentaje de síntomas depresivos en mujeres posmenopáusicas. Durante un período de observación de 3 años, aproximadamente, un 51% de las mujeres resultaron positivas en el tamizaje realizado en centros de estudios epidemiológicos, utilizando una escala de depresión, pero los altos puntajes en ésta, se relacionaron con una pobre percepción de su estado de salud, en sí misma. Igualmente se ha observado un alto grado

de distrés psicológico en las mujeres con menopausia quirúrgica. El beneficio demostrado en estudios placebo-controlados, con monoterapia estrogénica, tiene resultados clínicos significativos sobre la depresión mayor^{82 83}.

4.5.2 Menopausia y Alteraciones en la Memoria

El envejecimiento normal, se acompaña de defectos cognitivos y deterioro de la memoria, la mayor parte de las personas mayores de 65 años tienen déficits subjetivos para recordar lugares donde están los objetos y otros déficits cognitivos, pero estas alteraciones pueden ser también el inicio de la Enfermedad de Alzheimer, cuya incidencia aumenta con la edad, siendo cercana al 30% cerca de los 85 años. Algunas medidas como la perfusión cerebral, test objetivos de memoria, el sexo y la educación se han utilizado para predecir la incidencia de esta enfermedad en personas ancianas con pérdida de la memoria, y su evolución si ya se ha diagnosticado^{84 85 86}.

Varios estudios describen una frecuencia creciente de alelos Apo E s 4, los cuales se han asociado con enfermedad coronaria y aterosclerosis en personas de mediana edad y con la EA tanto esporádica como hereditaria. Así la disfunción endotelial y una alteración en la producción de ON tanto neurona) como endotelial, podría estar involucrado en la EA⁸⁷

4.5.3 Terapia Estrogénica, Producción de ON y Sistema Nervioso

En el SN se han encontrado receptores para los estrógenos en distintas estructuras: hipotálamo, hipófisis e hipocampo, entre otros⁶⁹ y se han relacionado con actividades tanto estructurales como funcionales en el SNC, como por ejemplo, promueven el crecimiento neuronal, previenen la atrofia celular neuronal, regulan la plasticidad sinóptica⁹⁰.

Experimentalmente, se ha demostrado que la administración de estrógenos, reduce la actividad de la monoamino oxidasa en la amígdala e hipotálamo basolateral, además de sus niveles séricos; lo cual podría relacionarse con un aumento de los niveles de serotonina, norepinefrina y dopamina en el SNC, ya que esta enzima es fundamental en su metabolismo. El déficit del primero de estos neurotransmisores, se ha implicado como una causa de depresión clínica y anomalías en los otros dos han sido descritas en la enfermedad de Alzheimer⁹⁰.

Clínicamente, la administración de estrógenos se ha relacionado con mejoría en el patrón clínico de la depresión involutiva, así como en los puntajes de algunas pruebas que evalúan la presencia de síntomas depresivos como el inventario de Beck y el test de Hamilton^{90 91}.

Igualmente, en mujeres posmenopáusicas la administración de estrógenos se ha relacionado con mejoría en sus funciones cognitivas, y se ha observado que el riesgo relativo para EA se reduce en mujeres

que han utilizado la TRH por más de un año con respecto a las no usuarias⁵. Además en mujeres con Enfermedad de Alzheimer se ha observado un incremento en los puntajes de medidas psicométricas como el test Minimental⁹¹⁹².

Las acciones de los estrógenos en el SN se han relacionado también con la producción de ON. El embarazo y la terapia con estrógenos, incrementan la producción de la ONS neuronal, además de la endotelial. La distribución de los receptores para estrógenos se corresponde en gran medida con la distribución de la ONS, y varias de las acciones mencionadas anteriormente se han descrito también como reguladas por la producción de ON en el SNC⁹³.

4.5.4 Inventario de Depresión de Beck (IDB)

El diagnóstico de la depresión incluye la entrevista clínica y la aplicación de algunos instrumentos. Así, se han creado múltiples escalas de medición objetiva (como la Escala de Hamiiton) y otras subjetiva o de auto evaluación (IDB, escala de Zung, etc.), como excelentes auxiliares en la determinación de este estado afectivo.

IDB, es uno de los instrumentos, ampliamente estudiado y validado. En nuestro medio es frecuentemente utilizado en la determinación de los estados depresivos asociados al estrés, la edad, enfermedades crónicas, entre otros. Esta es una escala de auto evaluación para medir los

síntomas depresivos y su intensidad; incluye 3 factores de medición: conductual, cognitivo y somático^{94 95 96 97}.

4.6 TOMOGRAFÍA CON EMISIÓN DE FOTÓN ÚNICO (SPECT)

La medicina nuclear es una técnica imagenológica que estudia la función de los órganos mas que su anatomía, utiliza isótopos, que son sustancias que se integran al metabolismo de los diferentes sistemas y que al emitir energía, básicamente Rayos Gamma pueden ser detectadas externamente mediante gamma cámaras, las cuales pueden ser planares o tomográficas.

En el caso del estudio de la fisiología cerebral, se utiliza un vehículo capaz de cruzar la barrera hematoencefálica y entrar a la célula nerviosa, como es el caso del HMPAO-Tc99, el cual ofrece excelente resolución de las imágenes y baja irradiación para el paciente⁹⁸.

4.6.1 Estudio de Perfusión Normal

El flujo de la sustancia gris esta calculada en 65 a 85mililitros por minuto por 100 gramos de tejido, mientras el nivel de la sustancia blanca es de 25 a 35 mi por minuto por 100g de tejido, esta proporción de actividad es la que esperamos encontrar en la distribución normal cuando inyectamos el radiotrazador, por lo cual la sustancia gris puede identificarse

perfectamente, pero no la sustancia blanca. La relación de sustancia gris a sustancia blanca es igual a 4 a 1" ^{100 101}.

El SPECT es un estudio tridimensional, a través del cual se obtienen cortes tridimensionales del cerebro: transversos, sagitales, y coronales

Con el fin de dar mayor objetividad a los hallazgos gammagráficos se implemento el método de la cuantificación, lo cual tiene como objeto medir cuantitativamente (índices de áreas contralaterales) la actividad de determinada área y poder correlacionarla con otras zonas de actividad en e) cerebro, con este método es posible determinar alteraciones locales y cambios de perfusión posterior administración de un estímulo.⁹⁸

4.6.2 SPECT con Neuroactivación

Los estudios de activación con SPECT consisten en obtener imágenes del cerebro, durante o después de una función específica que afecta la actividad cerebral (activación de la atención, la memoria, el lenguaje, etc). En el preciso momento en que el paciente esta realizando esta actividad se inyecta el radiotrazador que es captado en forma diferencial por las distintas áreas cerebrales dependiendo de la actividad realizada (hablar, pensar, realizar un test neuro-psicológico)^{102 103 104} .

Existen dos tipos de activación la farmacológica y la cognitiva que generan cambios detectables y reproducibles en el flujo cerebral. Una

prueba de activación ideal debe ser controlable, sostenible y repetible. Algunas de las pruebas presentan ventajas e inconvenientes. Para evaluación de memoria se han utilizado múltiples test entre los que se incluye Test de dígitos, perteneciente a los test verbales de la escala de inteligencia de Weschsler para adultos (Weschler Adult Intelligence Scale o WAIS), e indica niveles de capacidad de memoria reciente o inmediata en los sujetos.

5. METODOLOGÍA

5.1 CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO CLÍNICO

Se realizó un ensayo clínico cruzado del efecto de los estrógenos conjugados (0.625 mg/día) versus placebo, administrados ambos por un período de 12 semanas, separados por un lapso de lavado de 2 semanas sin medicamentos. Las pacientes fueron asignadas aleatoriamente por bloques a uno de dos esquemas posibles¹⁰⁵, uno en el que empezaba a tomar estrógenos y luego placebo, y otro de placebo seguido de estrógenos.

Todas las pacientes dieron su consentimiento por escrito luego de haber sido informadas al detalle de las características del estudio, los riesgos y beneficios personales que implicaban participar en el estudio, así como de las garantías que para su seguridad se tenían dispuestas. El protocolo había sido aprobado previamente por todos los comités de ética en investigación de las entidades involucradas en el estudio. No se brindó compensación alguna a las pacientes o sus familias por la participación en el estudio.

En ambas fases de tratamiento, tanto las pacientes como las personas encargadas de hacer el seguimiento y las evaluaciones clínicas y paraclínicas estaban enmascaradas al tipo de sustancia que ingerían en cada fase. Los estrógenos y el placebo fueron suministrados por el mismo fabricante (Estermax®, Laboratorios Chalver, España) y dispensadas a cada paciente cada cuatro semanas, de tal manera que era imposible reconocer los compuestos que contenía cada blister y cada tableta dado que tenían las mismas características organolépticas y de empaque. Durante estas visitas de control cada cuatro semanas se hacía recuento de tabletas consumidas y se evaluaban posibles efectos secundarios de la medicación tomada, así como el registro de cualquier medicamento adicional que la paciente ingería, fuese luego de consulta médica o por automedicación.

Las pacientes eran mujeres mayores de 45 años con diagnóstico clínico de menopausia, histerectomizadas previamente y que cumplían con los siguientes requisitos:

- a. No haber recibido terapia de reemplazo hormonal en el último año; de haberla recibido, no debía haber sido por más de un año en total.
- b. No tener patología neurológica o psiquiátrica que afectara la esfera cognoscitiva.

- c. No tener factores de riesgo cardiovascular como hipertensión estadio 3 y 4, enfermedad coronaria, eventos isquémicos de cualquier naturaleza, enfermedad arterial oclusiva de las extremidades o carotídea, diabetes mellitus, colesterol LDL mayor de 160 mg/dl, triglicéridos por arriba de 400 mg/dL, o índice de masa corporal inferior a 30 kg/m² .
- d. No tener historia personal de enfermedades tromboembólicas o tromboflebitis, de cáncer de mama, ni de cualquier otra enfermedad crónica severa o terminal.
- e. No tener historia de intolerancia o contraindicación para el uso de estrógenos.
- f. No estar pasando por procesos de duelo por pérdida significativa, separación o muerte.

5.2 PRUEBAS REALIZADAS

Al final de cada período de doce semanas a cada paciente se le practicó prueba de vasodilatación mediada por flujo (VMF)⁵⁸, niveles séricos de nitritos y nitratos⁷³, Inventario de Depresión de Beck⁹⁴, y SPECT cerebral con neuroactivación por medio de la prueba de memoria reciente de Weschsler⁹⁸.

La medición de nitritos y nitratos se hizo por medio del método colorimétrico de Cayman Chemical (USA), previo ayuno de al menos 24

horas de todo tipo de verdura y tubérculos, queso, agua mineral, vino, cerveza, enlatados y encurtidos, carnes curadas, pasabocas, tabaco, condimentos y conservantes (E250, E251 y E252), así como todo tipo de medicamentos que contuviesen nitroglicerina.

La VMF se realizó con la paciente en decúbito supino luego de 15 minutos de reposo en esa posición y en un habitación con temperatura controlada a 22 °C. La paciente debía estar en ayuno de al menos 6 horas y con supresión del consumo de bebidas alcohólicas o de aquellas que contuvieran cafeína, así como de tabaco de al menos 24 horas. La prueba de VMF consiste en la medición de la diferencia relativa del diámetro interno de la arteria braquial luego de 5 minutos de supresión del flujo sanguíneo producida con un brazalete de 10 cm de un tensiometro aneroide insuflado a 200 mmHg. Las medidas que se toman son las del diámetro arterial en diástole en el mismo punto antes de la supresión y a los 60 segundos de suspendida esta; igualmente se toma el pico sistólico del flujo sanguíneo previo a la supresión del flujo sanguíneo y a los 15 segundos de suspendida esta. Las mediciones fueron hechas por el mismo operador, utilizando un equipo de ultrasonido de alta resolución ATL HDI 3000, con un transductor superficial de 10 MHz. Por medio de esta técnica se ha logrado establecer que en Colombianos cuando la variación del diámetro arterial en diástole es inferior a 10.4% se puede hablar de alteración de la función vascular.¹⁰⁶

El SPECT cerebral se realizó 25 minutos después de la neuroactivación en una gammacámara SMV ST-XL® de dos cabezas y ángulo variable, y colimador FAM BEAN de ultra alta resolución y bajas energías. Un minuto antes de finalizar la neuroactivación se inyectaron por vía endovenosa 25 a 30 milicurios (925 o 1110 megabiquilrios) de tecnecio 99 unido a dehidrocloruro de vicisate (Neurolite®, DuPont Pharmaceutical, USA). Se generaron 64 proyecciones, 32 por cada cabezal, que cubre la totalidad de la masa encefálica; cada par de proyecciones se hicieron con un intervalo de 25 segundos. La información así generada se procesó en computador para obtener múltiples cortes axiales, sagitales, coronales, del lóbulo temporal y tridimensionales por medio del algoritmo de retroproyección por medio de filtros Butterworth Order 5® calibrados a 0.30. Finalmente se obtuvo el total de cuentas de radiación que existían en 28 zonas encefálicas, 20 de ellas bilaterales, para un total de 48 zonas por paciente y por examen.

6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La información obtenida se digitó por duplicado en una base de datos generada en Epi Info 6.04c⁰⁷, para ser luego analizada en STATA 7.0⁰⁸. En primera instancia se confirmó la similitud entre las pacientes asignadas a la secuencia placebo-estrógenos frente a las asignadas a la secuencia estrógenos placebo, así como la existencia de efectos secundarios que fueran diferentes en los dos momentos. Posteriormente se compararon las diferencias que existían entre las pacientes luego de la fase de estrógenos frente a la de placebo en cuanto a VMF, flujo pico sistólico, Inventario de Depresión de Beck, prueba de memoria reciente de Weschsler. Finalmente, se compararon estos resultados por grupos de edad, los cuales se conformaron dividiendo el grupo de pacientes en cuatro grupos de igual tamaño según los cuartiles de la distribución de edad.

En todas las pruebas se utilizó el criterio de intención de tratar; para ello se utilizaron pruebas pareadas, t de Student para aquellas que tenían una distribución normal según la prueba de Shapiro-Francia disponible en STATA, o de Wilcoxon para las que no. Se aceptaron como significativas aquellas diferencias que tenía un alfa inferior a 0.05. En todas las

variables numéricas se calculó el intervalo de confianza al 95% (IC 95%) del estimado del promedio calculado.

Al comparar los cambios existentes en la VMF en un mismo individuo esta medición ha de hacerse en el mismo sitio y segmento arterial,¹¹ por lo que se evaluó la variabilidad de los diámetros basales por medio de la prueba Kappa de Cohén,¹⁰³ así como con el análisis de los límites de acuerdo propuesto por Bland y Altman¹¹⁰.

7. RESULTADOS

7.2 SELECCIÓN DE PACIENTES

Como se ve en la figura 1, fue necesario contactar 272 señoras histerectomizadas y con historia de menopausia para lograr vincular las 50 personas necesarias para el estudio. Las 50 pacientes quedaron distribuidas equitativamente en las dos secuencias del estudio, placebo-estrógeno y estrógeno-placebo. Diez señoras (20%) no completaron el estudio, abandonándolo por voluntad propia, estando en igual proporción en cada grupo de secuencia de medicamentos.

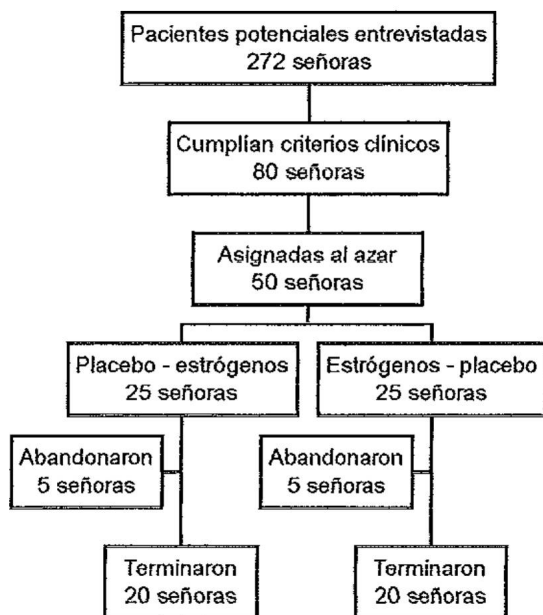


Figura 1. Secuencia captura, evaluación, asignación y seguimiento de las pacientes

7.2 CARACTERÍSTICAS DE LAS PACIENTES INCLUIDAS

Las 40 pacientes incluidas en el estudio y que terminaron el seguimiento correspondían a mujeres entre 45 y 72 años de edad. Los grupos de edad en los que se dividieron las pacientes fueron de 45 a 48 años (11 pacientes), 49 a 50 años (9 pacientes), 51 a 55 años (10 pacientes) y 56 a 72 años (10 pacientes); las pacientes de los cuatro grupos de edad estuvieron distribuidas equitativamente entre las dos secuencias de tratamiento, así como las demás características básicas requeridas para ser incluidas en el estudio (tabla 1).

Tabla 1. Características básicas de las pacientes.

Característica	Secuencia de medicación		P
	Estrógeno-placebo	Placebo-estrogeno	
Edad (años)	53.1 ± 6.3	51.9 ± 6.1	0.545
Peso (Kg)	60.5 ± 7.6	60.5 ± 7.6	0.945
Talla (m)	1.57 ± 0.06	1.55 ± 0.07	0.205
IMC (Kg/m ²)	25.3 ± 2.4	25.3 ± 2.4	0.298
Glucemia (mg/dL)	90.2 ± 5.9	92.2 ± 5.9	0.291
Urea (mg/dL)	0.88 ± 0.08	0.89 ± 0.12	0.719
Calcio (mg/dL)	9.8 ± 0.3	9.8 ± 0.3	0.889
Índice de masa ósea (TBS)	0.83 ± 0.06	0.83 ± 0.05	0.854
Glicemia (mg/dL)	90.2 ± 5.9	92.2 ± 5.9	0.291
Urea (mg/dL)	0.88 ± 0.08	0.89 ± 0.12	0.719
Calcio total (mg/dL)	9.8 ± 0.3	9.8 ± 0.3	0.889
HDR (mg/dL)	46.8 ± 9.4	46.6 ± 11.3	RÍE
VLDL (mg/dL)	25.4 ± 15.1	30	0.296
LDL (mg/dL)	131.5 ± 21.7	142.2 ± 34.5	0.248
TGT (mg/dL)	129.1 ± 74.1	152.7 ± 77.6	0.331
pBAS (mTnHg)	15.3 ± 15.3	116.4 ± 116.4	0.568
PAD (mmHg)	73.1 ± 6.7	74.2 ± 7.3	0.639

12 (30%) de las pacientes estudiadas y que terminaron no tenían enfermedad alguna al inicio del estudio (tabla 2); 11 (27.5%) tenían cambios fibroquísticos al examen mamográfico, pero en ninguna de ellas esto significaba contraindicación para la terapia de reemplazo hormonal.

Seis pacientes (15%) tenían hipertensión controlada con un medicamento del tipo inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, agregándole dos de ellas otra sustancia antihipertensiva; estas seis pacientes se distribuyeron equitativamente en ambos grupos de secuencia terapéutica.

Tabla 2. Patología preexistente al momento de iniciar el estudio.

Entidad	Pacientes	Proporción
J-Cefalea/migraña	11	27.5
z-Cám	11	27.5
Hipertensión arterial	6	15.0
Alteración osteoarticular	3	7.5
Cambios de la pigmentación de la piel	3	7.5
Defecto refractivo/óptico	3	7.5
Tabaquismo	3	7.5
Várices	3	7.5
Hipotiroidismo	2	5.0
Asma	1	2.5
Colon irritable	1	2.5
Parálisis facial periférica	1	2.5
Estenocardia	1	2.5
Queteóporosis	1	2.5
Pedunculitis	1	2.5
Prótesis mamaria	1	2.5
Vértigo	1	2.5
Depresión clínica	1	2.5
Ninguna	12	30.0

En la Tabla 3, se pueden apreciar los medicamentos que ingirieron las pacientes durante cada fase del estudio, mientras que en la Tabla 4, se encuentra la relación de efectos secundarios que las pacientes refirieron a la medicación tomada. Las diferencias existentes en estas proporciones durante las dos fases del estudio no son estadísticamente significativas.

Tabla 3. Medicamentos adicionales utilizados durante el estudio.

Medicamento	Fase placebo		Fase estrógenos	
	Casos	%	Casos	%
Acetaminofen	1	2.5	2	5.0
AINE	8	20.0	9	22.5
Amitriptilina	1	2.5	-	-
Antiácido	-	-	1	2.5
Antibiótico	5	12.5	2	5.0
Antihistamínico	2	5.0	1	2.5
Beclometasona inhalada	-	-	1	2.5
Calcio	3	7.5	-	-
Carbamazepina	1	2.5	1	2.5
Dimenhidrinato	1	2.5	1	2.5
Estrógeno vaginal	1	2.5	-	-
Flunarizina	2	5.0	-	-
Gabapentín	1	2.5	-	-
Ginkgo biloba	3	7.5	3	7.5
Hidroclorotiazida	1	2.5	1	2.5
IECA	6	15.0	6	15.0
Lidocaina tópica	-	-	1	2.5
Metocarbamol	2	5.0	1	2.5
Neosaldina	-	-	1	2.5
Nimodipina	1	2.5	1	2.5
Omeprazol	2	5.0	1	2.5
Pentoxifilina	-	-	1	2.5
Propranolol	1	2.5	1	2.5
Rosidronato	1	2.5	1	2.5
Salbutamol	-	-	1	2.5
Tiroxina	2	5.0	2	5.0
Triamcinolona tópica	1	2.5	1	2.5
Vitaminas	4	10.0	2	5.0
Ninguno	15	37.5	18	45.0

Tabla 4. Efectos indeseables de la medicación.

Efecto	Fase placebo		Fase estrógenos	
	Casos	%	Casos	%
Acroparestesia	0	-	1	2.5
Adinamia	1	2.5	1	2.5
Asma	0	-	1	2.5
Cefalea	3	7.5	2	5.0
Cloasma	1	2.5	0	-
Depresión	2	5.0	1	2.5
Diaforesis	1	2.5	0	-
Dispareunia/dolor pélvico	1	2.5	0	-
Dolor mamario	2	5.0	4	10.0
Dolor en miembros inferiores	0	-	1	2.5
Epigastralgia	1	2.5	0	-
Estreñimiento	0	-	1	2.5
Hemorroides	0	-	1	2.5
Insomnio	0	-	1	2.5
Monoartritis	0	-	1	2.5
Polfagia	1	2.5	1	2.5
Oleadas de calor	3	7.5	0	-
Resequedad oral	0	-	1	2.5
Somnolencia	2	5.0	1	2.5
Vértigo	2	5.0	0	-
Ninguno	28	70.0	28	70.0

7.3 METABOLITOS DEL ÓXIDO NÍTRICO

Luego de la fase de placebo, las 40 pacientes tenía un nivel sérico de productos del metabolismo del óxido nítrico (nitritos y nitratos) de 8.28 ± 7.40 mmol/L, nivel que se incrementó significativamente luego de la fase con estrógenos (62.64 ± 81.11 mmol/L, $p < 0.0001$), tal como se puede apreciar en la Tabla 5 y ia Figura 2. Este incremento fue similar en los cuatro grupos de edad analizados, sin que fuera distinto entre ellos ($p < 0.122$; tabla 6).

Tabla 5. Niveles séricos de los metabolitos del óxido nítrico luego de las dos fases.

Sustancia (mmol/L)	Fase		p
	Placebo	Estrógenos	
Nitritos	1.86 ± 5.64	27.99 ± 61.05	0.0008
Nitratos	6.42 ± 5.85	62.64 ± 81.11	0.0000
Nitritos+nitratos	8.28 ± 7.40	62.64 ± 81.11	0.0000

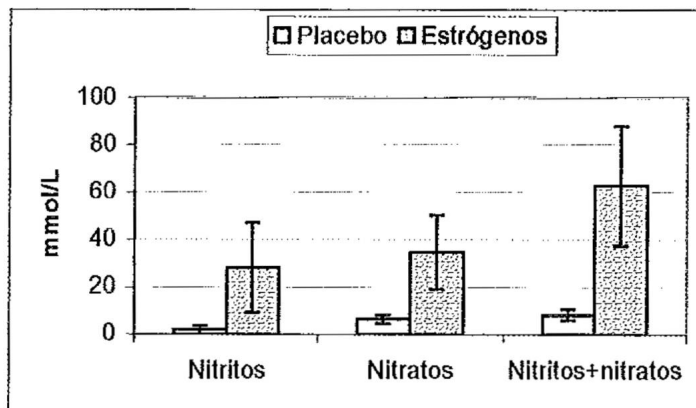


Figura 2. Niveles séricos de los metabolitos del óxido nítrico al final de las fases de placebo y estrógenos; las diferencias son significativas. Las líneas verticales (|) indican la amplitud del intervalo de confianza al 95% del estimado promedio representado por el límite superior de cada barra.

Tabla 6. Niveles séricos de los metabolitos del óxido nítrico luego de las dos fases por grupos de edad.

Grupo de edad	Pacientes	Placebo	Estrógenos	P	Diferencia Promedio
45-48 años	14	7.2 ± 5.8	107.2 ± 33.4	0.007	97.0 ± 108.4
49-50 años	9	8.3 ± 5.2	24.1 ± 10.9	0.020	15.8 ± 19.3
51-55 años	10	6.2 ± 5.4	64.2 ± 81.78	0.025	58.0 ± 80.4
56-72 años	10	11.6 ± 11.3	50.1 ± 63.4	0.032	38.5 ± 57.7

7.4 PRUEBAS DE FLUJO VASCULAR

7.4.1 Vasodilatador! Mediada por Flujo

En tres de las 40 pacientes que terminaron el estudio (7.5%) no fue posible obtener por completo todas las mediciones de vasodilatación medida por flujo (VMF), dos en la primera evaluación y otra en la segunda.

El promedio y desviación estándar de la VMF de estas 37 señoras luego de 12 semanas de placebo fue de 18.88% ± 16.49%, inferior al 20.16% ± 11.95% hallado luego de 12 semanas de estrógenos, diferencia que no es estadísticamente significativa ($p = 0.512$, Wilcoxon). En la Figura 3 se puede ver la variación individual de cada señora (panel izquierdo) y la distribución general de los datos hallados (panel derecho).

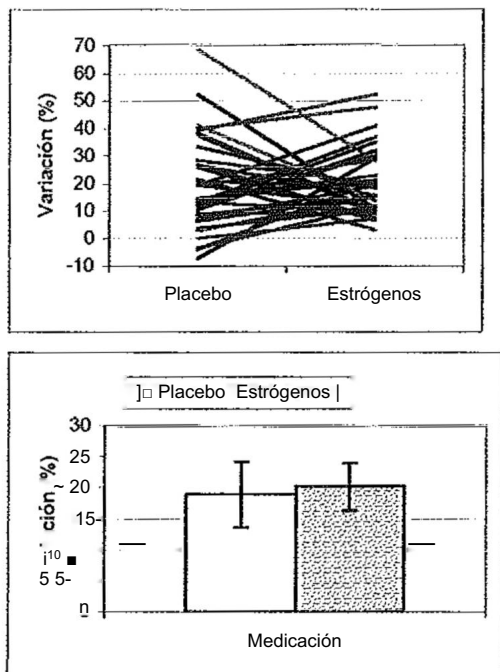


Figura 3. Panel izquierdo, variación individual de la VMF; panel derecho, distribución de los valores hallados ($p = 0.512$, Wilcoxon). Las líneas verticales (I) indican la amplitud del intervalo de confianza al 95% del estimado promedio representado por el límite superior de cada barra.

Uno de los aspectos que se considera fundamental al comparar los cambios existentes en la VMF en un mismo individuo es que esta medición se haga en el mismo sitio y segmento arterial original; en el caso particular de este estudio no siempre fue así. De hecho, sólo 13 (34.2%) de las 37 mediciones se hicieron en segmentos arteriales en los que el diámetro basal difería en menos de un 10%; 14 (36.8%) mediciones se hicieron a partir de diámetros basales que diferían entre 10 y 20%, 7 (18.4%) entre 20 y 30% y 4 (10.5%) entre 30 y 40%.

Esto indica que la variabilidad de los diámetros basales paciente a paciente es muy alta, tal como se aprecia en la Figura 4; esta falta de

concordancia es tan grande que si aceptamos como similares mediciones que discrepen en hasta 6 mm, la concordancia es apenas del 19.8%, según la prueba Kappa de Cohén. Esto se corrobora con el análisis de los límites de acuerdo propuesto por Bland y Altman, en donde se consideraría dentro de lo esperado por el azar variaciones de hasta un 6% (Figura 5).

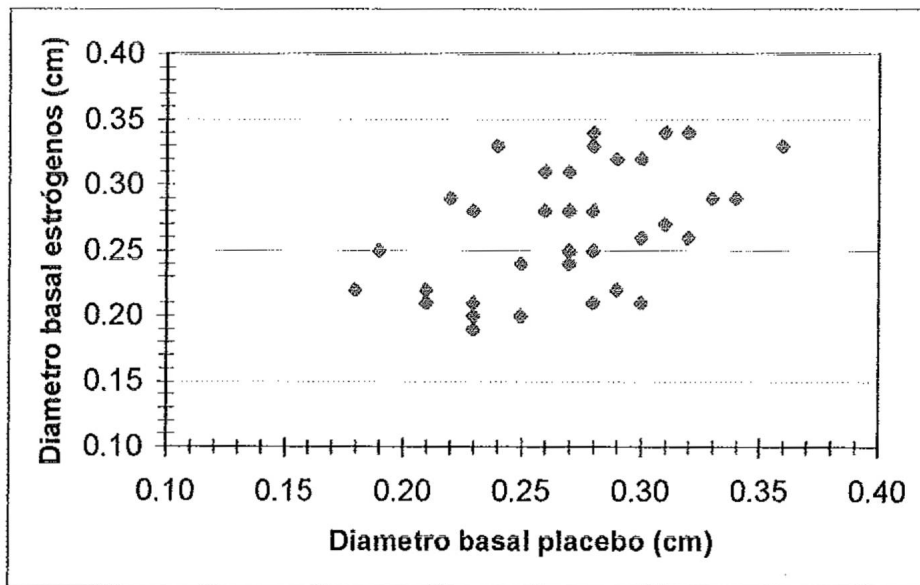


Figura 4. Variación en el diámetro basal de la VMF realizada en cada paciente luego de la fase de placebo y la fase de estrógenos.

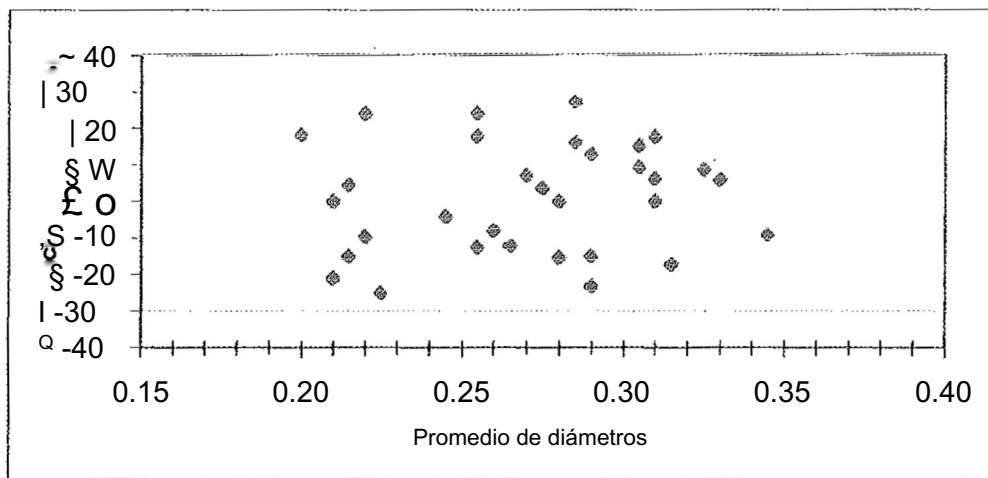


Figura 5. Límites de acuerdo de Bland y Altman para los diámetros basales para VMF luego de las fases de placebo y estrógeno. Se consideran dentro del rango de concordancia las mediciones con $\pm 6\%$ de diferencia de los dos diámetros basales.

Ante la poca reproducibilidad de la prueba se decidió hacer análisis de la modificación de VMF teniendo en cuenta distintos niveles de discrepancia entre los diámetros basales de cada una de las pruebas, tal como se puede ver en la tabla 7 en donde se relacionan y comparan la VMF del grupo de pacientes que cumplen cada criterio de discrepancia posible.

Según este análisis, se aprecia que si se acepta que una discrepancia de diámetros basales de hasta el 6% no afecta la comparatividad de las pruebas de VMF de una misma paciente, hay diferencia significativa de la VMF entre las cinco pacientes que cumplen este criterio ($6.6 \pm 9.7\%$ vs $18.0 \pm 8.8\%$; $p = 0.014$). Esta significación se mantiene cuando aceptamos como adecuadas discrepancia de los diámetros basales entre 12 y 20%, pero no cuando esta discrepancia es superior.

Tabla?. Variación de la VMF según distintos grados de discrepancia máxima entre los diámetros basales de las pruebas luego de placebo y estrógenos.

Discrepancia máxima entre los diámetros basales (%)	VMF placebo	VMF estrógenos	Pacientes	P
Hasta 3%	11.3 ± 10.9	19.6 ± 12.6	2	0.045
Hasta 4%	7.5 ± 10.1	15.5 ± 11.5	3	0.049
Hasta 6%	6.6 ± 9.7	18.0 ± 18.8	5	0.017
Hasta 7%	10.2	15.5 ± 7.8	8	0.001
Hasta 8%	10.5 ± 11.5	14.3 ± 7.4	10	0.013
Hasta 10%	12.3 ± 13.6	22.7 ± 17.5	13	0.083
Hasta 11%	12.8 ± 13.2	17.1 ± 14.7	13	0.117
Hasta 12%	13.2	19.0 ± 11.6	17	0.051
Hasta 13%	13.3 ± 12.9	20.2 ± 12.4	17	0.029
Hasta 14%	12.5 ± 12.5	19.5 ± 11.9	17	0.017
Hasta 15%	11.2 ± 10.2	18.9 ± 11.7	17	0.036
Hasta 18%	13.3 ± 11.7	19.8 ± 11.8	17	0.012
Hasta 19%	13.3 ± 11.7	19.6 ± 14.6	25	0.018
Hasta 20%	13.3 ± 11.7	20.4 ± 14.6	28	0.015
Hasta 22%	15.4 ± 13.5	19.3 ± 11.7	30	0.152
Hasta 23%	15.9 ± 13.6	19.2 ± 11.5	31	0.111
Hasta 25%	17.8 ± 13.6	19.6 ± 11.6	32	0.093
Hasta 26%	15.5 ± 13.3	19.6 ± 11.4	33	0.080
Hasta 31%	16.2 ± 13.5	20.4 ± 12.2	34	0.080
Hasta 32%	18.4 ± 16.4	20.5 ± 12.0	36	0.344
Hasta 38%	13.0 ± 11.5	19.2 ± 12.0	37	0.344

Si no se tienen en cuenta las pacientes con discrepancia entre diámetros basales, se puede ver que la variación de la VMF por grupos de edad, aunque se mantiene entre las pacientes de mayor edad, no es de la misma intensidad que entre las más jóvenes (Tabla 8). Dado que los grupos de edad quedan con muy pocas pacientes se ve afectada la capacidad para encontrar diferencias estadísticamente significativas, el agruparlas mejora dicho poder, luego de lo cual se ve que persiste el fenómeno de incremento, siendo mayor en el grupo de las mujeres de 45-50 años (13.6 ± 14.0 vs 22.2 ± 13.7 , $p = 0.040$) y pero no así en el de 51-

72 años (14.1 ± 9.4 vs 17.8 ± 8.6 , $p = 0.544$), como se puede ver en la

Figura 6.

Tabla 8. VMF luego de las dos fases por grupos de edad.

Grupo de edad	Pacientes	Placebo	Estrógenos	P
45-48 años	8	8.5 ± 15.3	18.3 ± 8.0	0.102
49-50 años	7	19.4 ± 10.5	26.7 ± 17.8	0.145
51-55 años	6	16.2 ± 10.5	19.91 ± 11.1	0.290
56-72 años	7	12.3 ± 8.8	16.0 ± 6.0	0.139

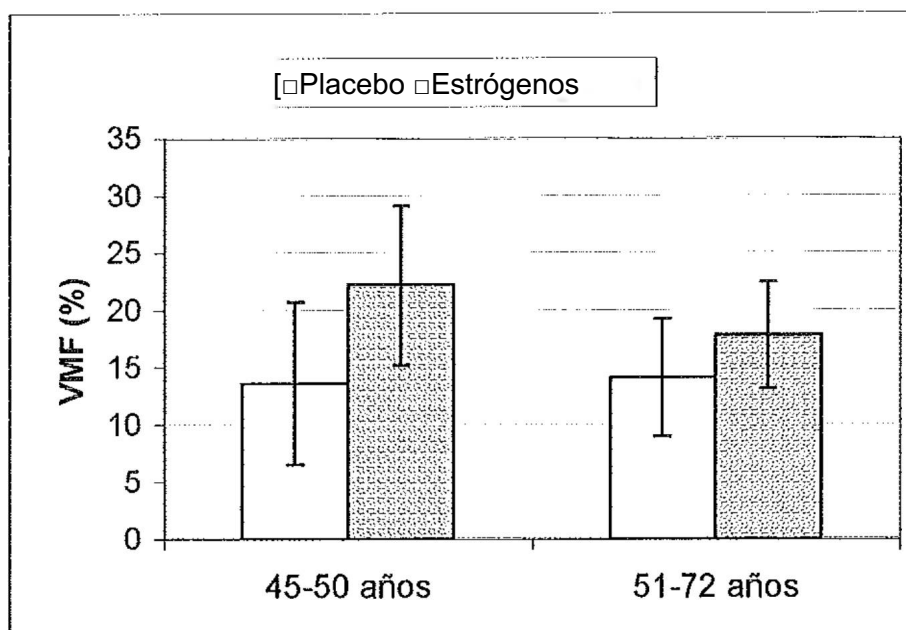


Figura 6. Variación individual de la VMF por grupos de edad. Las líneas verticales de cada columna (1) indican la amplitud del intervalo de confianza al 95% del estimado promedio representado por el límite superior de cada barra, ($p = 0.040$ para casos cv controles entre 45 -50 años; $p = 0.544$ entre mujeres de 51 y 72 años).

7.4.2 Variación de la Velocidad Pico

En 39 de las 40 pacientes fue posible obtener toda la información necesaria para analizar la variación de la velocidad pico. El promedio de esta variación fue de $11.81\% \pm 21.87\%$ luego del placebo, frente a $16.47\% \pm 17.96\%$ luego del estrógeno, diferencias que no son significativas desde el punto de vista estadístico ($p = 0.226$); esta

situación se mantiene cuando se analizan solo las pacientes sin hipertensión ($8.43\% \pm 21.28$ vs $13.95\% \pm 17.67\%$, $p = 0.201$) o por grupos de edad (Tabla 9). En la figura 7 se puede ver la variación individual de cada señora (panel izquierdo) y la distribución general de los datos hallados (panel derecho).

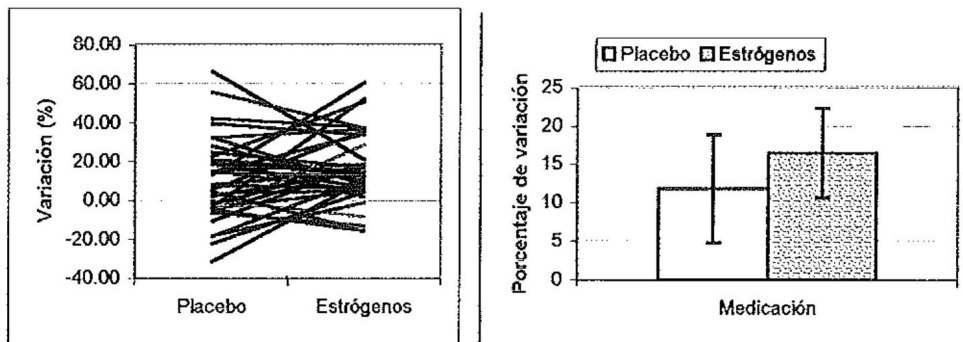


Figura 7. Panel izquierdo, variación individual de la velocidad pico; panel derecho, distribución de los valores hallados ($p = 0.226$). Las líneas verticales (I) indican la amplitud del intervalo de confianza al 95% del estimado promedio representado por el límite superior de cada barra.

Tabla 9. Variación del flujo pico luego de las dos fases por grupos de edad.

Grupo de edad	Pacientes	Placebo	Estrógenos	P
45-48 años	10	-9.3 ± 11.0	8.6 ± 21.8	0.480
49-50 años	9	15.2 ± 21.7	19.3 ± 13.5	0.199
51-55 años	10	9.7 ± 29.1	16.3 ± 19.4	0.237
56-72 años	10	13.5 ± 23.1	20.6 ± 15.5^A	0.227

7.5 PRUEBAS DE NEUROPSICOLOGÍA

7.5.1 Inventario de Depresión de Beck

Todas menos una de las 40 pacientes diligenciaron adecuadamente el formato del Inventario de Depresión de Beck. El puntaje promedio luego de placebo fue de 9.41 ± 6.04 , frente a 8.97 ± 5.99 luego del estrógeno, diferencias que no son significativas ($p = 0.749$, Wilcoxon). En la figura 8, se puede ver la variación individual de cada señora (panel izquierdo) y la distribución general de los datos hallados (panel derecho).

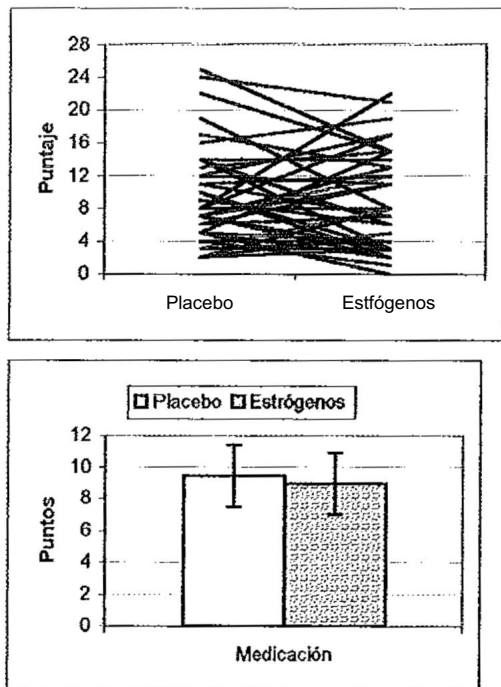


Figura 8. Panel izquierdo, puntaje individual del Inventario de Depresión de Beck; panel derecho, distribución de los valores hallados ($p = 0.749$, Wilcoxon). Las líneas verticales (I) indican la amplitud del intervalo de confianza al 95% del estimado promedio representado por el límite superior de cada barra.

Ahora bien, si se analiza desde la perspectiva del riesgo de severidad de la depresión que asigna la escala, se pueden apreciar los resultados que se ilustran en la Tabla 10, en donde las diferencias no son estadísticamente significativas ($p = 0.945$, Wilcoxon). Esto se mantuvo entre los distintos grupos de edad (Tabla 11).

Tabla 10. Variación del diagnóstico de riesgo de depresión según el Inventario de Depresión de Beck.

Depresión placebo	Depresión estrógenos			Total
	Ninguna	Leve	Moderada	
Ninguna	15	6	1	22
Leve	7	5	2	14
Moderada	0	2	1	3
Total	22	13	4	9

Tabla 11. Variación del puntaje del inventario de Depresión de Beck según los grupos de edad.

Grupo de edad	Pacientes	Placebo	Estrógenos	P
45-48 años	11	8.6 ± 5.4	8.3 ± 5.5	0.568
49-50 años	9	U.9 ± 5.4	6.9 ± 6.5	0.873
51-55 años	10	9.2 ± 7.8	10.4 ± 6.9	0.277
56-72 años	9	11.1 ± 10.3	10.3 ± 5.1	0.661

7.5.2 Prueba de Memoria Reciente

A todas las 40 pacientes se les aplicó la prueba de memoria reciente, siendo el puntaje similar en los dos momentos: 8.50 ± 1.79 luego de placebo y 8.58 ± 1.53 luego de estrógenos ($p = 0.356$); esto se mantiene cuando se analizan los grupos de edad (Tabla 12). En la figura 9 se puede ver la variación individual de cada señora (panel izquierdo) y la distribución general de los datos hallados (panel derecho).

Tabla 12. Variación de la prueba de memoria reciente luego de las dos fases por grupos de edad.

Grupo de edad	Pacientes	Placebo	Estrógenos	P
45-48 años	11	8.5 ± 1.8	9.0 ± 1.6	0.148
49-50 años	9	8.6 ± 1.0	8.7 ± 1.1	0.364
51-55 años	10	8.7 ± 2.3	8.9 ± 1.7	0.339
56-72 años	10	8.2 ± 1.9	7.7 ± 1.6	0.894

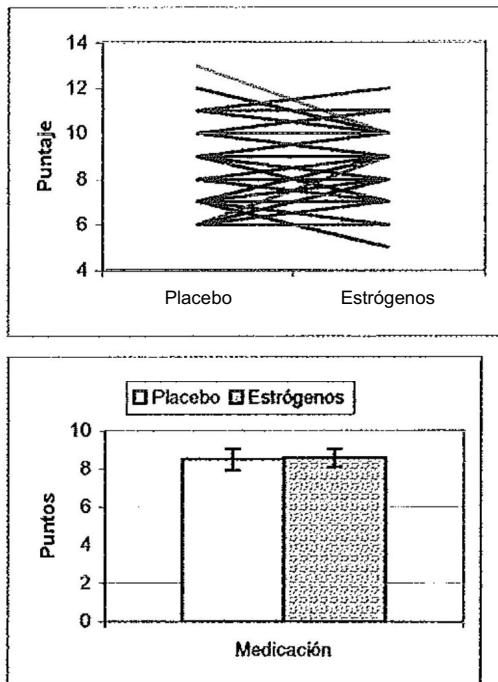


Figura 9. Panel izquierdo, puntaje individual de valoración de memoria reciente; panel derecho, distribución de los valores hallados ($p = 0.356$). Las líneas verticales (I) indican la amplitud del intervalo de confianza al 95% del estimado promedio representado por el límite superior de cada barra.

Al analizar la información desde la perspectiva del nivel de memoria que asigna la prueba, se pueden apreciar los resultados que se ilustran en la tabla 13, en donde se confirma que las diferencias no son estadísticamente significativas ($p = 1$, Wilcoxon).

Tabla 13. Diagnóstico de depresión según el Inventario de Depresión de Beck.

Memoria estrógenos				
Memoria placebo	Baja	Media	Alta	Total
Baja	17	5	0	22
Media	4	13	0	17
Alta	0	1	0	1
Total	21	19	0	40

7.6 PRUEBAS DE ACTIVIDAD CEREBRAL POR SPECT

Fue posible realizar la función neuronal en 38 pacientes luego de las fase de placebo y estrógenos; se analizaron 28 zonas, 20 bilaterales, resultados que se pueden apreciar en al tabla 14. Tan sólo se hallaron diferencias estadísticamente significativas en la función cerebral del tálamo y los dos cortes del lóbulo temporal, tai como se puede apreciar en la figura 10, hallazgos que se mantienen en los grupos de edad (Tabla 15).

Tabla 14. Cuentas de radiación promedio en SPECT en diversas áreas encefálicas luego de placebo y estrógenos.

Segmento	Lado	Medicación		P
		Placebo	Estrógenos	
Corteza prefrontal superior I	Derecho	-7452,238 ± 144,936	470,880 ± 148,614	0,301
	Izquierdo	454,904 ± 149,83112	474,346 ± 147,808	0,3094
	Diferencia D-I	2,665 ± 28,299	-3,466 ± 31,364 4	40/W94
Corteza prefrontal superior zz	Derecho	-632790347171,527 T	641,81 ± 143,620	0,738
	Izquierdo	7 649,478^176,956-	76:43,992 241-144,006	0,769*
	Diferencia D-I	16^5754 40,602-	2,181 ± 40,858	0,249*
Corteza prefrontal inferior I	Derechos	501,089 ± 115,563--	4=507,765493,969	0,649
	Izquierdo	497,201i£=120ri57-?	507,-706 ± 94,450	0,497-3
	Diferencia D-I	-3,888 ± 30,270	-59 ± 30,308	40,5674
Corteza prefrontal inferior liz.	Derecho	529,964 ± 111,463	510,288 ± 99,561	0,279
	Izquierdo	525/758 ± 416871=	-504,057 ± 104,125	l=0,289-
	Diferencia D-I	217H4,206±33300=	-6,230 ± 30,771	0,807
Corteza sensorio motriz I	Derecho	-520,373 ± 213,3264	539,824 ± 159,161 "	-0,343=
	Izquierdo	524,500 ± 188,998	533/920 ± 52i633	0,6782
	Diferencia DJ	4,127 ± 73,395	^4-5,903 ± 39,905-4	0,678*
Corteza sensorio motriz ti	Derecho	626,761 ± 180941-	633 619 ± 143 147	0,756
	Izquierdo	614,224 ± 174169	-6177955 ± 152,563--	=0=865
	Diferencia D-I	4=42,538 ± 838fez	z=4L5,663 ± 446,82 =	0,803*
Corteza parietal k	Derecho	639,050 ± 199,3574	6 8 4,691 ± 143r23-1 ±	0,764
	Izquierdo	697/297 ± 191,239	672 141 ± 192 355	0,536
	Diferencia D-I	4,247 ± 40,713	-12,500 ± 129,886 4	l 0,958*
Corteza parietal II	Derecho	4764,793 ± 147604^	759,797 ± 120?348=j5	i=0,842==
	Izquierdo	717 ^,94 ± 141222	752,3657 ± 123r132=¿	40,589"
	Diferencia D-I	2,601 ± 44919	-^ 7,428 ± 50,748	0,316*
Area de Broca	Derecho	zE397,4^13 ± r169,537	680,884 ± 134=990-	0,515
	Izquierdo	695,645 ± 171 ,966	671,877 ± 147,169	0,373
	Diferencia D-I	44?i,Z66±J5^04=	-9,003 ± 46,022	0,475
Area de Broca I s-i	Derecho	737,685 ± 1629264	711,520 ± 154,502	0,341
	Izquierdo	709,00 ± 147,00	708,496 ± 460,124"	^pf534
	Diferencia D-I	-6,916 ± 37192 4	-3,024437,89o'''	40,6324
Corteza occipital I	Derecho	829,196 ± 126,823-	849,147 ± 184,60IL	-0,558~
	Izquierdo	823,107 ± 175,011	830,090-1-17-3,864^	0,817-
	Diferencia D-I	==6,090 ± 42,220	■-19,057-+39,493	0,189

Tabla 14 (continuación). Cuentas de radiación de SPECT en diversas áreas encefálicas luego de placebo y estrógenos.

Segmento Lado	Medicación		P	
	Placebo	Estrógenos		
Corteza occipital 11	Derecho	899,713 ± 156,981	890,893 ± 146,275	0.746
	Izquierdo	886,693 ± 1173,932	870,339 ± 155,760	0.571
	Diferencia D-I	-13,020 ± 12,976	-20,554 ± 46,625	0.723*
Corteza temporal posterior I	Derecho	785,132 ± 124,363	802,261 ± 149,455	0.512
	Izquierdo	-787,474 ± 128,932	778,757 ± 188,131	0.815
	Diferencia D-I	-2,341 ± 47,962	-23,503 ± 144,046	0.7556*
Corteza temporal posterior II	Derecho	882,654 ± 154,799	857,792 ± 157,409	0.139
	Izquierdo	-883,359 ± 136,850	852,857 ± 159,735	0.177*
	Diferencia D-I	7 ± 70 ± 163,835	-4,936 ± 50,176	0.354*
Tálamo	Derecho	300,799 ± 480,596	283,436 ± 66,781	0.1084
	Izquierdo	300,42 ± 875,74	285,280 ± 71,266	0.168*
	Diferencia D-I	-256 ± 24,399	SE1 = 843 ± 20,619	0.709
Corteza temporales anterior-E	Derecho	846,497 ± 1,835,51	843,194 ± 208,655	0.923
	Izquierdo	814,123 ± 1,850,58	822,126 ± 198,015	0.790
	Diferencia D-I	-32,374 ± 51,781	-21,068 ± 546,55	0.197*
Núcleo estriado	Derecho	506,76 ± 1,110,76	507,89 ± 1,114,94	0.600
	Izquierdo	529,062 ± 113,973	513,316 ± 143,623	0.485
	Diferencia D-I	-6,918 ± 28,207	-14,093 ± 33,078	0.301
Géngiva	Derecho	1,992,71 ± 1,174,21	1,740,97 ± 1,100,01	0.110
	Izquierdo	1,935,109 ± 435,429	1,715,915 ± 364,899	0.018
	Diferencia D-I	57,602 ± 96,737	224,054 ± 93,624	0.934*
Corteza temporal lateral	Derecho	1,166,951 ± 334,565	1,108,926 ± 356,557	0.848
	Izquierdo	1,134,767 ± 306,217	857,753 ± 285,618	0.000*
	Diferencia D-I	-32,184 ± 76,401	251,172 ± 171,441	0.000
Corteza temporal lateral II	Derecho	822,734 ± 723,410	948,705 ± 834,101	0.012
	Izquierdo	839,560 ± 246,447	766,902 ± 226,246	0.000
	Diferencia D-I	16,826 ± 44,492	181,803 ± 234,791	0.000
Cíngulo anterior I	Derecho	865,784 ± 164,344	856,372 ± 200,787	0.420*
	Izquierdo	846,233 ± 137,654	834,290 ± 200,636	0.708*
	Diferencia D-I	19,551 ± 107,000	22,082 ± 114,031	0.700*
Tallos cerebrales	Derecho	477,859 ± 171,888	460,520 ± 126,875	0.402*
	Izquierdo	906,300 ± 149,273	904,996 ± 153,426	0.769*
	Diferencia D-I	-82,440 ± 158,104	43,476 ± 146,341	0.656*
Corteza orbitofrontal III	Derecho	951,314 ± 166,175	943,895 ± 165,526	0.803

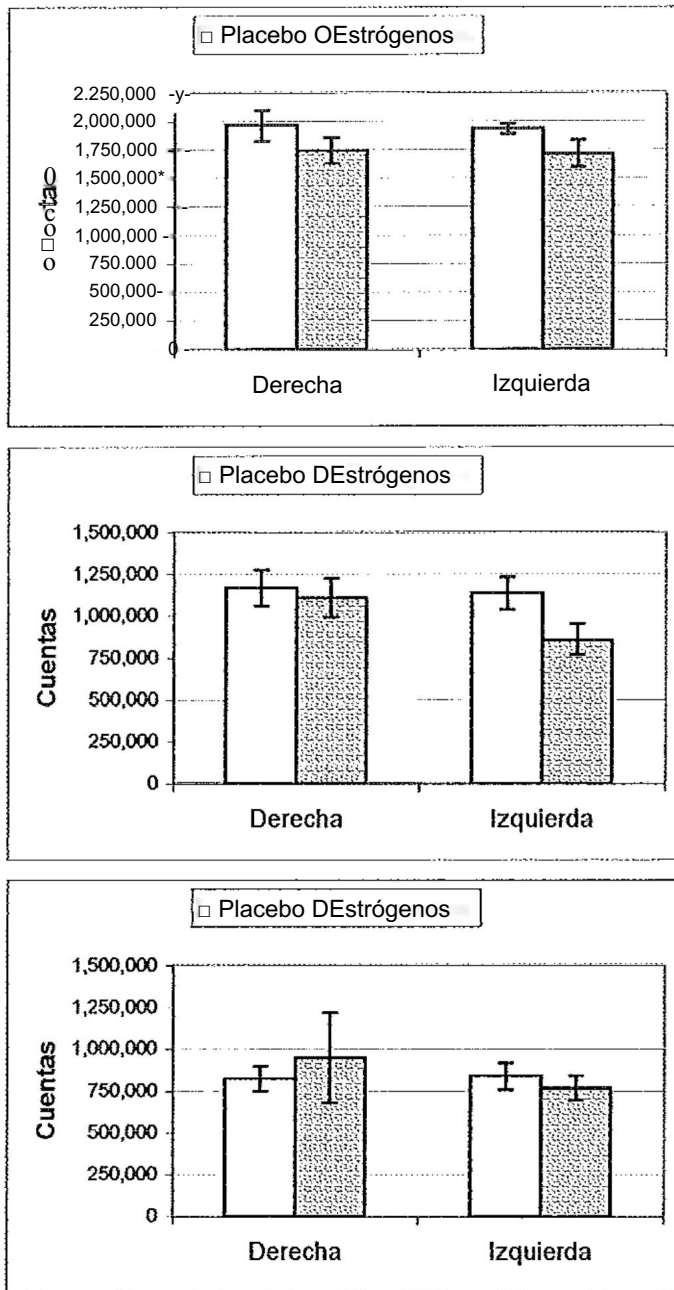


Figura 10. Variación en las cuentas de radiación de SPECT luego de placebo y estrógenos. Panel superior, cerebro; panel central, zona 1 del lóbulo temporal; y, panel inferior, zona 2 del lóbulo temporal. Las líneas verticales (I) indican la amplitud del intervalo de confianza al 95% del estimado promedio representado por el límite superior de cada barra.

Tabla 15. Variación de cuentas de radiación de SPECT luego de placebo y estrógenos por grupos de edad en cerebello y corteza temporal lateral.

Segmento	Lado de	Grupo		Medicación		P
		edad	Placebo	Estrógenos		
Cerebello	Derecho	45-50	-2,027,297 ± 483,981	1,792,500 ± 369,013	0.037	
		51-72	-1,857,811 ± 369,013	1,732,334 ± 384,745	0.126*	
	Izquierdo	45-50	-2,012,475 ± 501,819	1,790,901 ± 374,963	0.047	
		51-72	-1,821,255 ± 366,164	1,667,977 ± 363,342	0.084*	
	Diferencia	45-50	-14,822 ± 105,796	-1,598 ± 118,894	0.331	
	D-I	51-72	-41,498 ± 87,057	-48,499 ± 50,244	0.364	
Corteza temporal lateral I	Derecho	45-50	1,179,318 ± 398,848	1,060,101 ± 382,556	0.085	
		51-72	1,130,169 ± 274,143	1,134,815 ± 339,475	0.474	
	Izquierdo	45-50	1,134,238 ± 368,181	824,036 ± 255,790	0.001	
		51-72	1,116,883 ± 241,659	888,227 ± 309,448	0.004	
	Diferencia	45-50	-45,080 ± 69,322	-236,065 ± 192,661	0.000	
	D-I	51-72	-18,634 ± 83,021	-267,119 ± 149,719	0.000	
Corteza temporal lateral II	Derecho	45-50	876,756 ± 266,861	845,143 ± 413,994	0.645	
		51-72	79,022 ± 199,142	991,361 ± 259,773	0.000	
	Izquierdo	45-50	852,496 ± 285,008	758,919 ± 274,578	0.084	
		51-72	819,343 ± 201,738	762,715 ± 172,817	0.101	
	Diferencia	45-50	5,740 ± 45,808	-126,255 ± 292,915	0.035	
	D-I	51-72	28,527 ± 41,083	-240,470 ± 137,100	0.000	

8. DISCUSIÓN

Los resultados que se obtuvieron luego de 12 semanas de tratamiento con 0.625 mg/día de estrógenos conjugados frente a las mismas pacientes luego de 12 semanas de placebo, indican que TRH influyó positivamente sobre la producción de NO ya que se aumentó en 7.5 veces el valor promedio de los metabolitos estables de esta sustancia en plasma. Este aumento es producto de la activación que ejercen los estrógenos sobre las NOS calcio-dependientes a nivel del SNC y en las células endoteliales de diferentes vasos sanguíneos⁶¹.

El papel de regulación de los estrógenos sobre las NOS endotelial y neuronal es un mecanismo muy fino que ha permitido demostrar cambios en los niveles plasmáticos de nitritos y nitratos en situaciones fisiológicas como durante el ciclo menstrual, observándose una correlación positiva con los niveles plasmáticos de estrógenos, pero no con los de progestágenos, LH o FSH⁴⁹. Además, los resultados de este estudio confirman observaciones previas nuestras¹¹¹, en las que se demostró que la administración de TRH en mujeres menopáusicas con depresión involutiva aumenta significativamente los niveles plasmáticos de nitritos y nitratos, efecto que no se observó en el grupo que recibió placebo. En las mujeres de ese estudio se observó una significativa mejoría del puntaje

en el Inventario de Depresión de Beck en aquellas que recibieron estrógenos, por lo que propusimos que probablemente el incremento en los niveles plasmáticos de los metabolitos de NO provenían del producido en el SNC, por lo que se sugirió que los efectos beneficiosos reportados de la TRH sobre el SNC podrían ser mediados por NO⁹⁰.

El efecto de la TRH de aumentar los niveles plasmáticos de nitritos y nitratos fue evidente en todas las mujeres estudiadas, independiente de la edad en la que fue instaurada la administración de estrógenos, lo que sugiere que el efecto regulatorio de los estrógenos sobre las NOS calcio dependientes se produce de manera independiente del tiempo transcurrido desde el establecimiento de la menopausia. Este resultado es interesante de frente a la inquietud existente de si una mujer menopáusica que no ha recibido TRH inmediatamente después de la cesación de la menstruación debe o no ser tratada con TRH. Nuestros datos sugieren que al menos en términos de producción de NO la instauración de la TRH en cualquier momento posterior a la menopausia produce un incremento de la síntesis de NO.

En perspectiva de definir el tejido que participa en la mayor producción de NO inducido por la TRH se realizó en las pacientes incluidas en este estudio la valoración de la VMF. Esta prueba, que ha sido estandarizada por nuestro grupo¹⁰⁸, permite evaluar el efecto de la hiperemia reactiva en la liberación del NO endotelial que lleva a dilatación de la arteria braquial.

Los resultados obtenidos demuestran poca reproducibilidad de la VMF en una misma mujer en los diferentes momentos en que se realizó la prueba, situación que se relaciona con el hecho de no haberse evaluado la VMF exactamente en el mismo segmento arterial, lo que se demuestra al comparar los diámetros arteriales basales de las mediciones sucesivas. Esto obligó a realizar el análisis del efecto de la TRH en la VMF solamente en aquellas mujeres en las cuales la discrepancia de los diámetros basales de la arterial braquial fue inferior al 20%, caso en cual no se efecta la comparabilidad de las pruebas de VMF en una misma paciente. En las 29 pacientes que pudieron ser incluidas en el análisis se observó que la TRH mejoró significativamente la vasodilatación dependiente de NO. Estos datos, a pesar de la poca reproducibilidad de la prueba, siguen que la TRH que incrementa la producción de NO, evaluado por los niveles plasmáticos de nitritos y nitratos, podría deberse al efecto de los estrógenos en la sensibilización de la NOS endotelial, como fuera demostrado previamente en animales de experimentación⁶¹. Sin embargo, este efecto no es uniforme cuando se analiza de acuerdo a la edad de las pacientes; así, en las 15 mujeres comprendidas entre los 45 y 50 años la TRH aumenta significativamente la vasodilatación dependiente de NO, pero no tiene ningún efecto en las 13 mujeres de 51 a 72 años. Si bien la muestra es pequeña, luego de excluidas del análisis las pacientes con más de 20% de discordancia en el diámetro basal de la arterial braquial, los datos del análisis por edad siguen que el efecto de la TRH en la sensibilización de la NOS endotelial se observa solamente

en las mujeres en los primeros años luego de la menopausia, efecto que se pierde conforme se agranda el lapso entre el inicio de la menopausia y el inicio de la TRH. Esta observación, en caso de reproducirse en un estudio con mayor número de pacientes y con mejor reproducibilidad de la VMF, podría explicar los resultados de grandes ensayos clínicos con TRH que demuestran que esta intervención es útil para prevenir enfermedades cardiovasculares solamente en mujeres menopáusicas en las que se inicia la TRH pronto luego de la menopausia, y además, que la TRH no debe ser mantenida por muy largo tiempo¹¹²¹¹³¹¹⁴ .

La otra fuente de producción de NO inducida por la TRH podría ser el SNC. Es bien conocido que el NO producido en el SNC tiene un papel de neurotransmisor que está involucrado en procesos complejos como la memoria, el aprendizaje, el estado de ánimo y el estado de alerta, procesos fisiológicos en los cuales los estrógenos también juegan un papel preponderante⁹⁰. Como mencionamos con anterioridad, nosotros y otros grupos¹¹¹, observamos que la terapia sustitutiva con estrógenos tiene un efecto antidepresivo en mujeres menopáusicas con diagnóstico de depresión involutiva de acuerdo al Inventario de Depresión de Beck. En el presente estudio ninguna de las mujeres incluidas alcanzaron puntajes en la prueba compatibles con alteración del estado de ánimo; en estas circunstancias la TRH no afectó la puntuación de la prueba de Beck, siendo similar a los resultados que se obtuvieron mientras tomaron placebo. En su conjunto, estos resultados y los de la literatura sugieren

que la TRH tienen un efecto beneficioso en la evolución de la depresión únicamente en aquellas mujeres en las cuales existe un cuadro depresivo de base. En verdad, el Inventario de Depresión de Beck no fue útil para evaluar el posible efecto de la TRH en la producción neuronal de NO relacionado con el proceso de control del estado de ánimo, al igual que la prueba de dígitos para memoria de la Escala de Weschler para adultos, prueba que fue utilizada como estímulo para la realización del SPECT.

El SPECT utiliza un radiomarcador cerebral que permite evaluar la captación del mismo en diferentes zonas del SNC, la misma que es dependiente tanto del flujo sanguíneo cerebral como de la actividad intrínseca neuronal. Los análisis realizados hasta el momento, recalando que éste análisis no está finalizado pues demanda un tiempo prolongado, demuestran que la TRH produjo cambios selectivos en zonas específicas del SNC, especialmente en cerebelo y corteza temporal lateral, cambios que son independientes de la edad de las pacientes. Estos resultados sugieren que el efecto de la TRH en el SPECT no se relaciona con un efecto sistémico que incrementa el flujo cerebral, visto que no alteró la captación de medicamento en todo el SNC sino en zonas específicas. Estos resultados, todavía en análisis preliminar, sugieren que los estrógenos administrados a mujeres menopáusicas durante tres meses estimulan la actividad neuronal en zonas específicas, las que podrían eventualmente ser los tejidos que estén involucrados en la mayor producción de NO que se observa durante la TRH. En respaldo de esta propuesta, Weiner y cols observaron que la administración de 17-beta

estradiol a cobayas castradas produjo un incremento en la actividad de la NOS neuronal en el cerebro.

En conclusión, los resultados de este ensayo clínico demuestran que la TRH produce un incremento de la producción de NO, independientemente del tiempo transcurrido desde la menopausia al inicio de la TRH. La fuente del incremento de los metabolitos estables del NO en el plasma parece ser principalmente algunas áreas específicas del SNC y, en menor grado, y sobre todo en las mujeres más jóvenes, el endotelio vascular.

9. REFERENCIAS

- ¹ Stampfer Mj, Colditz GA, Willett WC, et al. Postmenopausal estrogen therapy and cardiovascular disease: ten-year follow-up from the Nurses Health Study. *NEJM* 1991;325:756-62.
- ² Barrett-Connor E, Bush TL. Estrogen and coronary heart disease. *JAMA* 1991; 265:1861-7.
- ³ Sullivan JM, Fowlkes LP. The clinical aspects of estrogen and the cardiovascular system. *Obster Gynecol* 1996; 87:S36-S43.
- ⁴ Wild RA. Estrogen: effects on the cardiovascular tree. *Obster Gynecol* 1996; 87:S27-S35.
- ⁵ Best PJM, Berger PB, Miller VM, Lerman A. The effect of estrogen replacement therapy on plasma nitric oxide and endothelin-1 levels in postmenopausal women. *Ann Intern Med* 1998;128:285-8.
- ⁸ Shwaery GT, Vita JA, Keaney JF Jr. Antioxidant protection of LDL by physiological concentrations of 17 p-estradiol. requerement for estradiol modification. *Circulation* 1997; 95:1378-85.
- ⁷ Steffens DC, Norton MC, Plassman BL, Tschanz JT, Wyse BW, Welsh-Bohmer KA, Anthony JC, Breitner JC. Enhanced cognitive performance with estrogen use in nondemented community-dwelling older women. *J Am GeriatrSoc* 1999; 47:1171-5.
- ⁸ Tang MX, Jacobs D, Stern Y, Marder K, Schofield P, Gurland B, Andrews H, Mayeux R. Effect of oestrogen during menopause on risk and age at onset of Alzheimer's disease. *Lancet* 1996 Aug 17; 348(9025):429-32.
- ³ Ministerio de Salud de Colombia Dirección General de Promoción y Prevención. Manual de prevención primaria y detección precoz de enfermedades cardiovasculares. Septiembre de 1998.
- ¹⁰ Onatra W. et al. Epidemiología de la menopausia en Colombia, estudio cooperativo *Rev Col Obstet Ginecol* 1994; 45:20-8.
- ¹¹ Mendelsohn ME, Karas RH. The protective effects of estrogen on the Cardiovascular System. *NEJM* 1999; 340:1801-11.
- ¹² Rice DP, Fieldman JJ. Living longer in the United States: Demographic change and health needs of the elderly. *Milbank memor foundation Q.* 1983;61:362-396.
- ¹³ Celermajer DS, Sorensen KE, Spiegelhalter DJ, Georgakopoulos D, Robinson J, Deanfield JE. Aging is asociated with endothelial dysfunction in healthy men years before the age-related decline women. *J Am Coll Cardiol* 1994;24:471-6.

-
- ¹⁴ Colditz GA, Willett WC, Stampfer MJ, Rosner B, Speizer FE, Hennekens CH. Menopause and the risk of coronary heart disease in women. *N Engl J Med* 1987;316:1105-10.
- ¹⁶ Haarbo J, Leth-Espensen P, Stender S, Chistiansen C. Estrogen monotherapy and combined estrogen/progestogenreplacement therapy attenuate aortic accumulation of cholesterol in ovariectomized cholesterol-fed rabbits. *J Clin Invest* 1991;87:1274-9.
- ¹⁶Greendafe GA, Lee NP, Arrióla ER. The menopause. *Lancet* 1999;353:571-80.
- ¹⁷ Reís SE, Gloth ST, Blumenthal RS, Rosar JR, Zacur HA, Gerstenblith G, Brinker JA. Ethinyl estradiol acutely attenuates abnormal coronary vasomotor responses to acetylcholine in postmenopausal women. *Circulation* 1994;89:52-60.
- ¹⁸ Kaufert PA, Gilbert P, Tate R. The manitoba project: a re-examination of the link between menopause and depression. *Maturitas* 1992;14:143-55.
- ¹⁹ Avis NE, Brambilla D, McKinlay SM, Vass K. A longitudinal analysis of the association between menopause and depression. Results from the Massachusetts Women's Health Study. *Ann Epidemiol* 1994;4:214-20.
- ²⁰ Hunter MS. Psychological and somatic experience of the menopause: a prospective study. *Psychosom Med* 1990;52:357-67.
- ²¹ Hay AG, Bancroft J, Johnstone EC. Affective symptoms in women attending a menopausal clinic. *Br J Psychiatry* 1994;164:513-16.
- ²² Scheneider LS, Small GW, Hamilton SH, Bistrisky A, Nemeroff CB, Meyers BS. Estrogen replacement a response to fluoxetine in a multicenter geriatric depression trial. *Am J Geriatr Psychiatry* 1997;5:97-106.
- ²³ Hansen Ma, Overgard K, Riis BJ, Christiansen C. Role of peak bone mass and bone loss in postmenopausal osteoporosis. *BMJ* 1991;303:961-64.
- ²⁴ Grady D, Rubin SM, Petitti DB, et al. Hormone therapy to prevent disease and prolong life in postmenopausal women. *Ann Intern Med* 1992;117:1016-37.
- ²⁸ Cauley JA, Seeley DG, Ensrud K, Ettinger B, Black D, Cummings SR. Estrogen replacement therapy and fractures in older women. *Ann Intern Med* 1995;122:9-16.
- ²⁶Greendale GA, Lee NP, Arrióla ER. The menopause. *Lancet* 1999; 353:571-9.
- ²⁷ Barrett-Connor E, Cox D, Anderson P. The potential of SERMs for reducing the risk of Coronary Heart Disease. *TEM*. 1999; 10:320-324.
- ²³ Martínez G. Terapia hormonal de reemplazo y riesgo de cáncer en la menopausia. *Rev Col Men* 1996 <http://www.encolombia.com/>
- ²³ The Writing Group for the PEPI Trial. Effects of hormonal replacement therapy on endometrial histology in postmenopausal women. *JAMA* 1996; 275:370-5.
- ³⁰ Sorenson KE, Dorup I, Herrmann AP, Mosekilde L. Combined hormone replacement therapy does not protect women against the age-related decline in endothelium-dependent vasomotor function. *Circulation* 1998;97:1234-8.

-
- ³¹ Vaccarino V, Parsons L, Every NR, Barron HV, Krumholz HM. Sex based differences in early mortality after myocardial infarction. *NEJM* 1999; 341:217-25.
- ³² Wexler L. Studies of Acute Coronary Syndromes in women - Lessons for everyone. *NEJM* 1999; 341:275-6.
- ³³ Barón G, Piñeros JA. Efecto de la terapia estrogénica y combinada estrógeno-progestacional sobre el perfil lipídico en pacientes con suplenencia para Síndrome Climatérico. *RevCol Men* 1999; 5: <http://www.encolombia.com/>
- ³⁴ Wilson PWF, Garrison RJ, Castelli WP. Postmenopausal estrogen use, cigarette smoking, and cardiovascular morbidity in women over 50. The Framingham Study. *NEJM* 1985; 313:1038-43.
- ³⁵ Colditz GA, Willett WC, Stempfer MJ, Rosner B. Menopause and the risk of coronary heart disease in women. *NEJM* 1987; 316:1105-10.
- ³⁶ Barrett-Connor E. Postmenopausal estrogen and prevention bias. *Ann Intern Med.* 1991; 115:155-6.
- ³⁷ The Writing Group for the PEPI Trial. Effects of estrogen or estrogen/progestin regimens on heart disease risk factors in postmenopausal women. *JAMA* 1995; 273:199-208.
- ³⁸ Hulley S, Grady D, Bush T, et al. Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. Heart and estrogen/progestin replacement study (HERST) research group. *JAMA* 1998; 280:605-13.
- ³⁹ Gerhard M, Walsh BW, Tawakol A, Haley EA, Creager SJ, Seely EW, Ganz P, Creager M. Estradiol Therapy Combined With Progesterone and Endothelium Dependent Vasodilation in Postmenopausal Women. *Circulation* 1998; 98:1158-63.
- ⁴⁰ Gerhard M, Ganz P. How Do We Explain the Clinical Benefits of Estrogen? From bedside to Bench. *Circulation* 1995; 92:5-8.
- ⁴¹ Hodges YK, Richer JK, Horwitz KB, Horwitz LD, Miller VM. Gender and vascular reactivity. *Lupus* 1999; 8:409-15.
- ⁴² Arnal JF, Clamens S, Pechet C, Negre-Salvayre A, Allera C, Girolarnij P, Salvaure R, Bayar R, Bayard F. Ethinyl estradiol does not enhance the expression of nitric oxide synthase in bovine endothelial cells but increases the release of bioactive nitric oxide by inhibiting superoxide anion production. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93:4108-13.
- ⁴³ White CR, Darley VM, Oparil S. Gender and cardiovascular disease: recent insights. *Trends Cardiovasc Med* 1997; 7:94-100.
- ⁴⁴ Sack MN, Rader DJ, Cannon RO. Oestrogen and inhibition of oxidation of low-density lipoproteins in post-menopausal women. *Lancet* 1994; 343:269-70.
- ⁴⁶ Morley P, Whitfield JF, Vanderhyden BC, Tsang BK, Schwartz JL. A new, nongenomic estrogen action: the rapid release of intracellular calcium. *Endocrinology* 1992;131:1305-1312.

-
- ⁴⁶Chen Z, Yuhanna 1S, Galcheva-Gargova Z, Karas RH, Mendelsohn ME, Shaul PW. Estrogen receptor alpha mediates the nongenomic activation of endothelial nitric oxide synthase by estrogen. *J Clin Invest* 1999 103:1363.
- ⁴⁷ Berg G, Halperin A, Vilariño A, López G, et al. Plasma Apolipoproteins and Lipid Composition of Lipoproteins in pre- and Postmenopausal Women. *Eur men J* 1997;4: 4-13.
- ⁴⁸ López-Jaramillo P, Narváez M, Félix C, Sosa C, Calle A, Nava E, Palmer RMJ, Moneada S. Decreased nitric oxide synthesis in Andean ecuadorian women with pregnancy-induced hypertension. In: Moneada S, Marletta MA, Hibbs JB Jr, Higgs E, eds. *Biology of Nitric Oxide*. Portland Press. London. 1992: 376 -379.
- ⁴⁹ Rosselli M, Imthurn B, Macas E, Keller PJ, Dubey RK. Circulating nitrite/nitrate levels increase with follicular development: indirect evidence for estradiol mediated NO-release. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 202:1543-52.
- ⁵⁰ Reis SE, Gloth ST, Blumenthal RS, Resar JR, Zacur JA, et al. Ethynyl Estradiol Acutely Attenuates Abnormal Coronary Vasomotor Responses to Acetylcholine in postmenopausal Women. *Circulation* 1994; 89:52-60.
- ⁵¹ Roselli M, Imthurn B, Keller PJ, Jackson EK, Dubey RK,. Circulating nitric oxide (nitrite/nitrate) levels in postmenopausal women substituted with 17 β estradiol and norethisterone acetate. *Hypertension* 1995; 25:848-53,
- ⁵² Imthurn B, Rosselli M, Jaeger AW, Keller PJ, Dubey RK. Differential effects of hormone-replacement therapy on endogenous nitric oxide (nitrite/nitrate) levels in postmenopausal women substituted with 17 beta-estradiol valerate and cyproterone acetate or medroxyprogesterone acetate. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:388-94.
- ⁶³ Proudler AJ, Ahmed AI, Crook D, Fogelman I, Rymer JM, Stevenson JC. Hormone replacement therapy and serum angiotensin-converting enzyme activity in postmenopausal women. *Lancet* 1995; 346: 89-90.
- ⁶⁴ Guetta V, Quyyumi AA, Prasad A, Panza JA, Waclawiw M, Cannon RO III. The role of nitric oxide in coronary vascular effects of estrogen in postmenopausal women. *Circulation* 1997; 96:2795-801.
- ⁶⁶ Kolodgie ED, Kolodgie FD, Jacob A, Wilson PS, et al. Estradiol attenuates directed migration of vascular smooth musclecells *in vitro*. *Am J Pathol* 1996;148: 969-76.
- ⁵⁶ Bhalla RC, Toth KF; Bhatta RA, Thompson LP, Sharma RV. Estrogen reduces proliferation and agonist-induced calcium increase in coronary artery, smooth muscle cells. *Am J Physiol* 1997; 272:H1996-H2003.
- ⁶⁷ Celermajer DS, Sorensen K, Gooch V, Miller O, Spiegelhalter D, Sullivan i, Deanfield JE. Noninvasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992;340:1111-5.
- ⁶⁸ Sorensen K, Celermajer DS, Spiegelhalter D, Georgakopoulos D, Robinson J, Thomas O, Deanfield JE. Noninvasive measurement of endothelium dependent arterial responses in man: accuracy and reproducibility. *Br Heart J* 1995;74:247-53.
- ⁶⁸ Sack MN, Rader DJ, Cannon RO III. Oestrogen and inhibition of oxidation of low-density lipoproteins in post-menopausal women. *Lancet* 1994;343:269-270.

-
- ⁶⁰ Hayashi T, Fukuto JM, Ignarro LJ, Chaudhuri G. Basal release of nitric oxide from aortic rings is greater in female rabbits than male rabbits: implications for atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1992;89:11259-11263.
- ⁶¹ Weiner CP, Lizasoain I, Baylis SA, Knowles RG, Charles IG, Moneada S. Induction of calcium-dependent nitric oxide synthases by sex hormones. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994;91:5212-5216.
- ⁶² Chang WC, Nakao J, Orimo H, Murota SI. Stimulation of prostacyclin biosynthetic activity by estradiol in rat aortic smooth muscle cells in culture. *Biochim Biophys Acta*. 1980;619:107-118.
- ⁶³ Proudler AJ, Ahmed AI, Crook D, Fogelman I, Rymer JM, Stevenson JC. Hormone replacement therapy and serum angiotensin-converting enzyme activity in postmenopausal women. *Lancet* 1995;346:89-90.
- ⁶⁴ Sullivan JM, Vander Zwaag R, Lemp GF, Hughes JP, Maddock V, Kroetz FW, Ramanathan KB, Mirvis DM. Postmenopausal estrogen use and coronary atherosclerosis. *Ann Intern Med*. 1988;108:358-363.
- ⁶⁶ Venkov CD, Rankin AB, Vaughan DE. Identification of authentic estrogen receptor in cultured endothelial cells: a potential mechanism for steroid hormone regulation of endothelial function. *Circulation* 1996;94:727-733.
- ⁶⁶ Kim-Schulze S, McGowan KA, Hubchak SC, Cid MC, Martin MB, Kleinman HK, Green GL, Schnaper H. Expression of an estrogen receptor by human coronary artery and umbilical vein endothelial cells. *Circulation* 1996;94:1402-1407.
- ⁶⁷ Guetta V, Quyyumi AA, Prasad A, Panza JA, Maclawiw M, Cannon RO III. The role of nitric oxide in coronary vascular effects of estrogen in postmenopausal women. *Circulation* 1997;96:2795-2801.
- ⁶⁸ Adams MR, Register TC, Golden DL, Wagner JD, Williams JK, Medroxyprogesterone acetate antagonizes inhibitory effects of conjugated equine estrogens on coronary artery atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:217-221.
- ⁶⁹ Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993;362:801-809.
- ⁷⁰ Berliner JA, Nabyab M, Fogelman AM, Frank JS, Demer LL, Edwards PA, Watson AD, Lusis AJ. Atherosclerosis: basic mechanism: oxidation, inflammation, and genetics. *Circulation* 1995;91:2488-2496.
- ⁷¹ Anderson TJ, Meredith IT, Yeung AC, Frei B, Selwyn AP, Ganz P. The effect of cholesterol-lowering and antioxidant therapy on endothelium-dependent coronary vasomotion. *N Engl J Med* 1995;332:488-93.
- ⁷² Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD, Meredith IT, Knab S, Delegrange D, Lieberman EH, Ganz P, Yeung AC, Selwyn AP. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulation. *J Am Coll Cardiol* 1995;26:1235-41.
- ⁷³ Joannides R, Haefeli W, Linder L, Richard V, Kakkali EH, Thuillez C, Luscher TF. Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. *Circulation* 1995;91:1314-19.

-
- ⁷⁴ Hashimoto M, Akishita M, Eto M, Ishikawa M, Kosaki K, Toba K, Sagara Y, Taketani Y, Orimo H, Ouchi Y. Modularon of endothelium-dependent flow-mediated dilatation of the brachial artery by sex and menstrual cycle. *Circulation* 1995;92:3431-35.
- ⁷⁶ Clarkson P, Adams MR, Powe AJ, Donald AE, McCredie R, Robinson J, McCarthy SN, Keech A, Celermajer DS, Deanfield JE. Oral L-arginine improves endothelium-dependent dilatation in hypercholesterolemic young adults. *J Clin Invest* 1996;97:1989-94.
- ⁷⁶ Igarashi K, Horimoto M, Takenaka T, Inoue H, Miyata S. Acute cholesterol lowering with LDL-apheresis improves endothelial function of the epicardial coronary artery in patients with hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol* 1996;27:19^a.
- ⁷⁷ Plotnick GD, Coretti MC, Vogel RA. Transient impairment of endothelium-dependent brachial artery vasoactivity following a fatty meal. *J Am Coll Cardiol* 1996;27:287^a.
- ⁷⁸ Clarkson P, Montgomery H, Donald A, Powe A, Bull T, Dolery C, Jubbs M, World M, Deanfield J. Exercise training enhances endothelial function in young men. *J Am Coll Cardiol* 1996;27:288^a.
- ⁷⁸ Celermajer DS, Sorensen KE, Bull C, Robinson J, Deanfield JE. Endothelium-dependent dilatation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. *J Am Coll Cardiol* 1994;24:1468-74.
- ⁸⁰ Celermajer DS, Sorensen K, Georgakopoulos D, Bull C, Thomas O, Robinson J, Deanfield JE. Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilatation in healthy young adults. *Circulation* 1993;88:2149-55.
- ⁸¹ Clarkson P, Celermajer DS, Donald AE, Samson M, Sorensen KE, Adams M, Yue DK, Betteridge DJ, Deanfield JE. Impaired vascular reactivity in insulin-dependent diabetes mellitus is related to disease duration and low density lipoprotein cholesterol levels. *J Am Coll Cardiol* 1996;28:573-9.
- ⁸² Kaufert PA, Gilbert P, Tate R. The Manitoba Project: Re-examination of the link between menopause and depression. *Maturitas* 1992; 14:143-55.
- ⁸³ Avis NE, Brambilla D, McKinlay SM, Vass K. A longitudinal analysis of the association between menopause and depression. Results from the Massachusetts Women's Health Study. *Ann Epidemiol* 1994; 4:214-220.
- ⁸⁴ Hagstadius S, Risberg J. Regional cerebral blood flow characteristics and variations with age in resting normal. *Brain Cogn* 1989; 10:28-43.
- ⁸⁶ Small GW, La Rue A, Komo S, Kaplan A, Mandelkern MA. Predictors of cognitive change in middle-aged and older adults with memory loss. *Am J Psychiatry* 1995; 152:1757-64.
- ⁸⁶ Wolfe N, Reed BR, Eberling JL, Jagust WJ. Temporal lobe perfusion on single photon emission computed tomography predicts the rate of cognitive decline in Alzheimer's disease. *Arch Neurol* 1995, 52:257-62.

-
- ⁸⁷ Elias MF, Wolf PA, D'Agostino RB, Cobb J, White LR. Untreated blood pressure level is inversely related to cognitive functioning: The Framingham Study. *Am J Epidemiol* 1993; 138:353.
- ⁸³ Skoog I, Lernfelt B, Landahí S, Palmertz B, Andreasson LA, Nilsson L, Persson G, Oden A, Svanborg A. A 15-year longitudinal study of blood pressure and dementia. *Lancet* 1996; 347:1141-6.
- ⁸⁹ Ciocca DR, Vargas Roid LM. Estrogen receptors in human nontarget tissues. Biological and clinical implications. *Endocr Rev* 1995; 16:35-57.
- ⁹⁰ Lopez-Jaramillo P, Teran E. Improvement in Functions of the Central Nervous System by Estrogen Replacement Therapy Might Be Related with an Increased Nitric Oxide Production. *Endothelium* 1999; 6: 263-266.
- ⁹¹ Ditkoff EC, Crary WG, Cristo M, Lobo RA. Estrogen improves psychological function in asymptomatic postmenopausal women. *ObstetGynecol* 1991; 78:991-5.
- ⁹² Ohkura T, Isse K, Akazawa K, Hamamoto M, Yaoi Y, Hagino N. Evaluation of estrogen treatment in female patients with dementia of the Alzheimer type. *Endocr J* 1994; 41:361-71.
- ⁹³ Weiner CP, Lizasoain I, Baylis SA et al. Induction of calcium dependent nitric Oxide synthases by sex hormones. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 5212-16.
- ⁹⁴ Bernal G. Confiabilidad interna y validez de construcción lógica de dos instrumentos para medir sintomatología psicológica en una muestra clínica : El inventario de depresión de Beck y la lista de cotejo de síntomas. *Rev Latín Psi* 1995; 27:207-29.
- ⁹⁵ Carro i. Validación de dos pruebas para medir depresión en la población cubana: Inventario de depresión de Beck y escala de actitudes disfuncionantes. 1996.
- ⁹⁶ Torres M. Validez y reproductibilidad del inventario para depresión de Beck en un hospital de Cardiología . En *Enciclopedia de salud mental*. Vol 14, Pag 1-7.
- ⁹⁷ Vaques C, Sanz J. Fiabilidad y validez factorial de la versión española del Inventario de depresión de Beck. Comunicación presentada en el II Congreso de evaluación Psicológica, Barcelona, 1991.
- ⁹³ Croft BY. Instrumentation and computers for brain single photon emission computed tomography. *Semin Nucl Med* 1990; 20:281-289.
- ⁹⁹ Alavi.A. Hirsch. LJ. Studies of central nervous system disorders with single photon emission computed tomography and positron emission tomography: evolution over the past two decades. *Semin Nucl Med* 1991; 21: 58-81.
- ¹⁰⁰ Costa.DC, Ell Pj. *Brain blood flow in neurology and psychiatry*. Churchill Livingstone. Edinburgh.1992.
- ¹⁰¹ Costa DC, Morgan GF, Lassen. NA. *New trends in nuclear neurology and psychiatry*. Jhon Libbey & Company. London.1993.
- ¹⁰² Amaral DG, Ishizuka N, Claiborne B. Neurons, numbers, and the hippocampal network. In: Storm-Mathisen J, Zinunerand OP, eds. *Progress in Brain Research*, Vol.83, 1990.

-
- ¹⁰³ Damasio A. Category-related recognition defects as a clue to the neural substrates of knowledge. *TIN* 1990; 13:95-98.
- ¹⁰⁴ Posner MI, Petersen SE. The attention system of the human brain. *Ann Rev Neurosci* 1990;13:25-42.
- ¹⁰⁵ Zelen M. The randomization and stratification of patients to clinical trials. *J Chronic Dis* 1974; 27:265-75.
- ¹⁰⁶ Accini JL, Sotomayor A, Trujillo F, Barrera JG, Bautista LE, López-Jaramillo P. The use of noninvasive determination of endothelium-mediated vasodilatation (CANDEV). Normal values and factors associated. *Endothelium* 2001; 8:157-66.
- ¹⁰⁷ Deán J, Deán DA, Colombier D, Brebdel KA, Smith DC, Burton, AH et al. Epi Info 6.04c. A word processing, database, and statistic program for public health. Center for Disease Control and Prevention (Atlanta, USA), and World Health Organization (Geneva, Switzerland), 1997.
- ¹⁰⁸ STATA 7.0. STATA Corporation, Inc., College Station, 2001.
- ¹⁰⁹ Orozco LC, Camargo DM. Evaluación de tecnologías diagnósticas y tipos de muestreo. *Biomédica* 1997; 17:321-4.
- ¹¹⁰ Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986; 1:307-10.
- ¹¹¹ López-Jaramillo P, Terán E, Molina G, Rivera J, Lozano A. Oestrogens and depression. *Lancet* 1996; 348(9020):135-6.
- ¹¹² Grady D, Herrington D, Bittner V, et al. Cardiovascular disease outcomes during 6.8 years of hormone therapy. Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study follow-up (HERS II). *JAMA* 2002; 288:49-57.
- ¹¹³ Hulley S, Furberg C, Barrett-Connor E, et al. Noncardiovascular disease outcomes during 6.8 years of hormone therapy. Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study follow-up (HERS II). *JAMA* 2002; 288:58-66.
- ¹¹⁴ Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators. Risks and Benefits of Estrogen Plus Progestin in Healthy Postmenopausal Women: Principal Results From the Women's Health Initiative Randomized Controlled Trial. *JAMA* 2002; 288:321-33.