

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

ESTUDIO DE LA ABSORCION TRANSDERMICA DE ESTRADIOL
OBTENIDO DE LA PLACENTA HUMANA EN LA POSTMENOPAUSIA



QUIMICA BIOLOGA

UNIVERSIDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

GUATEMALA, OCTUBRE DE 1995

A 06
T (1686)
C-3

**JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

DECANO	LIC. JORGE RODOLFO PEREZ FOLGAR
SECRETARIA	LICDA. ELEONORA GAITAN IZAGUIRRE
VOCAL I	LIC. MIGEL ANGEL HERRERA GALVEZ
VOCAL II	LIC. GERARDO LEONEL ARROYO CATALAN
VOCAL III	LIC. MIGUEL ORLANDO GARZA SAGASTUME
VOCAL IV	BR. ANA MARIA RODAS CARDONA
VOCAL V	BR. HAYRO OSWALDO GARCIA GARCIA

DEDICO ESTE ACTO

- A DIOS: Por ser la luz que ilumina mi vida
- A LA VIRGEN: Por su vida de ejemplo, perseverancia y amor
- A MIS PADRES:
Lidia López de Girón
Rodolfo Antonio Girón Martínez
POR SU INMENSO AMOR HACIA MI Y PERSEVERANCIA
- A MIS HERMANOS:
Sara Elisa, Luis Ricardo, Rodolfo Antonio,
Jorge Orlando Girón López
CON MUCHO CARIÑO
- A MIS TIAS:
Angela López
Thelma López
POR SU APOYO Y CARIÑO DE SIEMPRE
- A MIS SOBRINOS:
Adela María, Sara Elisa, Rosa María, Sofía
Elisa y Julio Rodolfo
CON GRAN AMOR

MUY ESPECIALMENTE A MIS PADRINOS:

José Luis Gabriel
Miriam Girón de Gabriel

Familia López Morales

CARIÑOSAMENTE

Ethelvina Wong de Hernández

POR SU COLABORACION DURANTE MI PRACTICA DE
EJERCICIO PROFESIONAL SUPERVISADO

Edilia Santizo

POR SU AMISTAD, APOYO Y AYUDA ESPIRITUAL
DURANTE LA CARRERA

A MIS ASESORES:

Licda. Aída Cifuentes de Menéndez

POR LA OPORTUNIDAD DE REALIZAR EL PRIMER
TRABAJO DE TESIS QUE FUNDAMENTA LAS PROPIEDADES
QUE POSEE ESTROGEN-AID^R, creado científicamente
por ella

Dr. Romeo Menéndez

POR SU APOYO, DEDICACION Y APORTE DEL PRODUCTO
BIOLOGICO ESTROGEN-AID^R

AGRADECIMIENTOS

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA, CASA DE ESTUDIOS QUE
ME DIO LA OPORTUNIDAD DE REALIZAR UNO DE MIS GRANDES ANHELOS

Al personal Técnico, administrativo y de la Biblioteca de la
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

POR EL APOYO Y COLABORACION QUE ME BRINDARON DURANTE MI
CARRERA DE ESTUDIANTE

Ministerio de Energía y Minas

POR SU COLABORACION AL PROPORCIONAR LOS REACTIVOS PARA LA
MEDICION DE ESTRADIOL EN SANGRE

MUY ESPECIALMENTE:

Licda. Carolina Richter

INDICE

	Página
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCION	3
3. ANTECEDENTES	6
3.1 Menopausia	6
3.2 Cambios observados en la piel	7
3.3 Cambios observados en la vagina	9
3.4 Estrógenos	11
3.4.1 Definición	11
3.4.2 Procedencia	11
3.4.3 Absorción	12
3.4.3.1 Oral	12
3.4.3.2 Intramuscular	12
3.4.3.3 Transdérmica	13
3.4.4 Estructura Química	14
3.4.5 Metabolismo Bioquímico	14
ESTROGEN-AID ^R	24
4. JUSTIFICACION	27
5. OBJETIVOS	29
6. HIPOTESIS	30

7.	MATERIALES Y METODOS	31
8.	RESULTADOS Y DISCUSION	39
9.	CONCLUSIONES	43
10.	RECOMENDACIONES	44
11.	REFERENCIAS	45
12.	ANEXOS	52

1. RESUMEN

Recientemente se ha elaborado en Guatemala un producto biológico con un alto contenido de estradiol y colágeno, obtenido como un extracto de placenta humana, el cual es aplicado tópicamente sobre la piel, ejerciendo sobre ella cambios notables, el incremento de estrógenos en la circulación sanguínea y cambios epiteliales a nivel vaginal. El presente estudio demostró la efectividad de este preparado en el rejuvenecimiento de la piel de mujeres postmenopáusicas.

Se seleccionaron treinta pacientes postmenopáusicas aceptando voluntariamente participar en el estudio, de las cuales únicamente quince recibieron estradiol por vía transdérmica procedente de placenta humana, a las otras quince un extracto acuoso a manera de placebo. A todas las pacientes se les tomó una foto del rostro y se les hizo exámenes de Papanicolaou (citológico) en el cual se determinó el índice de maduración y estradiol antes del tratamiento y después de los tres meses de tratamiento.

En el primer mes las pacientes se aplicaron el tratamiento todos los días, el segundo y tercer mes cada dos días. Se realizó un estudio de doble ciego, seleccionando treinta pacientes postmenopáusicas de las cuales quince constituyeron el grupo de estudio (usuarias de estradiol transdérmico) y el grupo control (usuarias de placebo); tanto el analista responsable de la investigación como las pacientes desconocieron en qué grupos

estaban ubicadas, al final se confrontaron los resultados de estradiol por el método de la T pareada con los cambios estéticos y el índice de maduración.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

2. INTRODUCCION

La perimenopausia o período climatérico ofrece múltiples manifestaciones clínicas que en la mayoría de los casos requieren atención médica especializada, que puede oscilar desde el control temporal de síntomas hasta el seguimiento permanente de trastornos fisiológicos y orgánicos que puede padecer la mujer de tercera edad.

Se cree que la privación estrogénica causada por el cese de la función ovárica es determinante en el proceso de envejecimiento tisular, por cuanto la denominada “hormona sexual femenina” es responsable tanto de las características femeninas, como de los efectos sobre la fisiología general, controlando las proteínas y lípidos sanguíneos, influenciando los tejidos de sostén, especialmente los sistemas esquelético y vascular. Los cambios anatómo-funcionales que experimenta la piel en mujeres postmenopáusicas dan manifestaciones obvias que alteran la estética femenina.

La industria farmacéutica actual ofrece diversos preparados estrogénicos, naturales y sintéticos que son utilizados como terapia sustitutiva. Recientemente se ha elaborado en Guatemala un producto biológico con un alto contenido de estradiol y colágeno, obtenido como un extracto de la placenta humana, el cual es aplicado tópicamente sobre la piel, ejerciendo sobre ella cambios plásticos notables. En el presente estudio se demostró la efectividad de este preparado en el rejuvenecimiento de la piel de mujeres postmenopáusicas.

Se seleccionaron treinta pacientes postmenopáusicas de las cuales únicamente quince recibieron tratamiento de estradiol por vía transdérmica procedente de placenta humana, a las otras quince un extracto a manera de placebo.

A todas las pacientes se les tomó una fotografía del rostro y se les hizo exámenes de Papanicolaou (citológico) en el cual se determinó el índice de maduración y estradiol antes del tratamiento y después de los tres meses de tratamiento.

En el primer mes se aplicaron el tratamiento todos los días, el segundo y tercer mes cada dos días.

Se realizó un estudio doble ciego, se seleccionaron treinta pacientes postmenopáusicas de las cuales quince constituyeron el grupo de estudio (usuarias del estradiol transdérmico) y el grupo control (usuarias de placebo); tanto el analista como las pacientes desconocían en qué grupos estuvieron ubicadas. Al final se confrontaron los resultados de estradiol por el método de la T pareada con los cambios estéticos y el índice de maduración.

La utilización de un estrógeno natural de procedencia humana, con resultados positivos tanto estéticos como biológicos, permite ser una alternativa más sencilla, cómoda

y con menos efectos colaterales adversos, como terapia hormonal sustitutiva en esta etapa tan importante en la vida de la mujer.

3. ANTECEDENTES

3.1 Menopausia

La menopausia no es una enfermedad sino un evento único en la vida de la mujer; su última menstruación. La menarquia anuncia el inicio de la función de la reproducción y la menopausia señala su fin este “cambio de vida” es una época de marcada declinación endocrinológica en la producción de hormonas ováricas, en especial estradiol.

Los cambios fisiológicos empiezan antes de la menopausia y varían de manera considerable, tanto en grado como en extensión, antes de la fase afolicular, en la que en efecto se vacían los folículos; en ocasiones este cambio fisiológico recibe el nombre de insuficiencia ovárica. La perimenopausia es el período de vida antes y después de la menopausia; algunos prefieren el término climatérico para la mujer en transición. Esto significa literalmente “subir otro peldaño en la escalera de la vida”.

En 10 por ciento de las mujeres los cambios fisiológicos pueden ser sutiles y asintomáticos; la anovulación se presenta con la pérdida de progesterona, y para muchas trae alivio de los síntomas premenstruales y la dismenorrea que ocurre antes de la menopausia. La declinación de la producción de estradiol provoca cambios en la respuesta hormonal de los tejidos, 75 a 80 por ciento de las mujeres no los perciben; muchas comprenden estos cambios, los aceptan y no buscan ayuda, pero en 10 a 15 por ciento

restante dichos cambios son graves e interfieren de manera notable con su capacidad para desempeñar las actividades diarias, por lo general estas pacientes necesitan y buscan ayuda.

La edad promedio en que se presenta la menopausia es de 51 años con límites de 41 a 59. Se desconoce si existe relación entre la edad y la raza, edad del primer período menstrual, número de hijos, tamaño corporal o factores socioeconómicas. La menopausia es un diagnóstico retrospectivo ya que antes de los 12 meses no puede definirse si una menstruación determinada fue la última. En ocasiones hay ciclos irregulares durante dos o tres años, lo que dificulta aún más saber que fue en efecto lo que produjo el último sangrado y diferenciar de lo que es un sangrado anormal.

3.2 Cambios observados en piel

Las mujeres están muy conscientes de los cambios que en la piel ocasiona la edad. Entre las molestias más comunes se encuentran las arrugas, sequedad, formación de bolsas debajo de los ojos, adelgazamiento de cuero cabelludo, aumento del pelo facial, áreas de cambios en la pigmentación blanca, roja o café; la piel se traumatiza con mayor facilidad. Todos estos cambios se relacionan con alteraciones de la piel y sus apéndices por el envejecimiento, y pueden acelerarse con la exposición a la luz solar¹.

Una microcirculación nutre el pitelio de la piel a través de capilares, los cuales disminuyen con la edad²; esto causa reducción del espesor epitelial, adelgazamiento dérmico, pérdida de la fuerza tensil y la turgencia, disminución de la movilidad y la compresibilidad. El deterioro de la red elástica, informado por Kligman y colaboradores, hace que la piel se vuelva más laxa y excesiva, con pérdida de la capacidad para regresar a su estado original cuando se deforma³.

La piel seca se debe a menor respuesta de la glándulas sudoríparas y actividad sebácea más baja⁴. La piel se vuelve más susceptible a traumatismos; la cicatrización de heridas es más lenta; la actividad de los melanocitos se reduce, lo que explica la despigmentación o áreas de vitiligo⁵. También puede haber hiperpigmentación lo que ocasiona las denominadas “manchas de la vejez”, que son más comunes en la mujeres de raza blanca y la exposición excesiva a los rayos ultravioleta del sol.

En 1980, Hasselquist y Cols. clasificaron los receptores estrogénicos de la piel humana; la mayor concentración está en la cara, con cantidades menores en mamas y muslos. La colágena de la piel declina después de la menopausia, y se piensa que refleja la pérdida corporal de dicha sustancia, y que se relaciona con niveles de colágena ósea más bajos⁶.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE GUATEMALA
Biblioteca Centro

Durante el Primer Congreso Internacional sobre la menopausia realizado en la Grande Montte, Francia 1976⁷, diversos autores señalaron efectos positivos de los

estrógenos en la seborrea y el acné. Los estrógenos influyen sobre la piel evitando la atrofia epidérmica y la reducción de la mitosis seguida de una deficiencia estrogénica, pues provocan una retención extracelular de agua, estimulando la hialuronidasa, mejorando la circulación dérmica, afectando los folículos pilosos y la producción sebácea. Los estrógenos se oponen al efecto de los andrógenos sobre las glándulas sebáceas y los folículos pilosos en la regiones sexuales⁸.

3.3 Cambios observados en la vagina

El epitelio vaginal es rico en receptores de estrógeno y responde muy bien al tratamiento. Después de la menopausia se reduce la maduración del epitelio y éste se lesiona con mayor facilidad. El pH vaginal se eleva de 4.0-5.5 a 6.0-8.0. La producción de glucógeno es menor y se reducen los bacilos de Doderlein, permitiendo una mayor colonización de microorganismos coliformes y de otro tipo.

Entre los síntomas de vaginitis atrófica se incluyen sequedad, ardor, leucorrea, prurito, dispareunia y sangrado; el coito puede ser tan doloroso que se evita, pero a menudo las mujeres que continúan teniendo coitos en forma regular presentan menos problemas. A la exploración suele encontrarse una mucosa más pálida y delgada con pérdida de rugosidades y secreciones; el cuello uterino queda al ras de la vagina, lo que al disminuir de tamaño se vuelve menos distensible.

Para las mujeres con síntomas leves es suficiente el tratamiento con lubricantes del introito y la vagina, pero los cambios más avanzados requieren ser tratados con estrógenos. La crema de estrógenos aplicada por vía vaginal es simple, de dosis baja y eficaz; no obstante, se absorbe sistemáticamente y requiere valoración pretratamiento y supervisión; incluso cuando se prescribe tratamiento hormonal por vía bucal, sigue necesitándose en ocasiones la lubricación vaginal adicional.

Al envejecer la unión planocilíndrica del cuello uterino, involuciona en una parte más superior al mismo. Es esencial tomar muestras de esta área, ya que en este sitio se origina la mayor parte de las neoplasias malignas. Las muestras citológicas se obtienen rotando un hisopo en el conducto, además el raspado ectocervical. El orificio cervical a menudo es más pequeño y puede volverse estenótico, el epitelio es más delgado y se desprende con mayor facilidad; hay que valorar toda sangre o pus que se vea en el cuello uterino para descartar alguna malignidad. Las lesiones macroscópicas del cuello requieren biopsia y se recomienda la prueba de papanicolaou (citología cervical) a intervalos anuales¹.

3.4 Estrógenos

3.4.1 Definición

Existe una variedad bastante grande de sustancias que ejercen efectos estrogénicos y que se usan en clínica para varias indicaciones terapéuticas. Aunque pueden ser muy diferentes sus estructuras químicas, obedecen, sin embargo, a la definición biológica de estrógeno:

Es una sustancia capaz de provocar las modificaciones típicas del “estro”: Hipertrofia del útero, “cornificación” de la vagina, e inclinación a la cópula, en animales inmaduros o adultos ooforectomizados⁹.

3.4.2 Procedencia

La mujer normal no embarazada secreta estrógenos en cantidades importantes solamente por los ovarios, y cantidades mínimas por las cortezas suprarrenales. Durante el embarazo también secreta cantidades enormes la placenta, hasta 50 veces la cantidad secretada por los ovarios durante un ciclo normal¹⁰. Se han aislado del plasma sanguíneo de la mujer varios estrógenos naturales, pero solo tres en cantidades notables: Estradiol, estrona y estriol ^(Anexo No. 1).

3.4.3 Absorción

3.4.3.1 Oral

Por vía oral los estrógenos no conjugados de origen natural son inactivados en el tractogastrointestinal y en el hígado; de ahí que estos estrógenos son usualmente administrados por vía parenteral. Los estrógenos conjugados; algunos sintéticos derivados de estrógenos naturales, con los estrógenos no esteroideos deben ser administrados oralmente. La absorción y el metabolismo que sigue a la administración oral de estas drogas es rápido, requiriéndose dosis diaria.

El clorotrianceno, tiene una acción de larga duración la cual proviene de su almacenaje en el tejido adiposo por lo que está considerado dentro de los estrógenos de liberación lenta, al igual que el quinestrol.

3.4.3.2 Intramuscular

La absorción de estrógenos administrados intramuscularmente, ya sea por suspensiones acuosas de estrógenos cristalinos o soluciones aceitosas se inicia rápidamente y continúa por varias vías. Este tipo de administración retarda la acción de esta droga por sufrir reacciones de esterificación polimerización.

BIENHECHER DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

3.4.3.3 Transdérmica

Los estrógenos son rápidamente absorbidos a través de la piel, membrana mucosas, dependiendo de la cantidad de estrógeno aplicado; tanto los efectos sistémicos como locales, pueden ocurrir inmediatamente después de la aplicación tópica.

En vista de que la administración transdérmica de estrógeno evita la vía hepática, existe una buena razón para esperar menor interferencia con el metabolismo hepático. Un grupo de estudio en Los Ángeles, Estados Unidos, comparó, los efectos de terapia estrogénica transdérmica y oral sobre el metabolismo hepático, usando la síntesis del sustrato de renina como uno de los indicadores clave¹¹.

Los estrógenos conjugados orales a dosis de 0.625 miligramos o 1.25 miligramos diariamente produjeron incrementos significativos en la síntesis de sustrato de renina, mientras que dosis transdérmica de 25 a 200 microgramos en 24 horas no tuvieron ningún efecto significativo. Aunque la relevancia clínica de estos datos ha sido discutida, está claro que la administración no oral minimiza los cambios hepáticos en la actividad de la renina, la cual puede estar asociada con un riesgo de hipertensión en pacientes que toman estrógenos orales¹².

3.4.4 Estructura Química

Los estrógenos son de origen sintético o natural; los sintéticos pueden ser esteroideos y no esteroideos y estas diferencias creas dos grandes divisiones. Todos los estrógenos naturales son esteroideos y contienen una estructura de anillo cilcopentanoperidrofenantreno con un anillo insaturado A, un grupo metilo en el carbono trece, un grupo hidroxil-fenólico en el carbono tres y un grupo ceto o hidroxilo en el carbono diecisiete. Un número muy limitado de cambios pueden hacerse en esta estructura básica sin perder la actividad estrogénica.

Los estrógenos naturales (estradiol, estrona, estriol, equilina, equilenina) y sus conjugados son usualmente obtenidos de orina de hembras embarazadas o preparadas sintéticamente. Los estrógenos naturales son insolubles en agua pero solubles al ser conjugados como sulfatos o glucurónidos. Los estrógenos no esteroidales incluyen dietilestilbestrol (DES), dienestrol y clorotrianiceno¹¹.

3.4.5 Metabolismo Bioquímico

Todas la células de los órganos blanco contienen proteínas receptoras que tienen afinidad por los estrógenos, varios millones de veces mayor que la de las proteínas del plasma. Estos receptores existen en el citoplasma y en el núcleo celular. Se admite que el estrógeno penetra en la célula efectora atravesando la membrana por difusión simple, y

que su efecto a nivel celular sea más bien el de un biocatalizador¹³. Los efectos biológicos observados se deben a su mayor parte a la acción de estrona (E_1) y el estradiol (E_2), los cuales sufren interconversiones entre sí, siendo la potencia estrogénica del estradiol, dos veces mayor que la de la estrona y ochenta veces mayor que la del estriol¹⁰. Estas diferencias obedecen a los procesos celulares a saber:

a) Diferencia de afinidad relativa de diferentes estrógenos por el receptor citosólico (siendo más fuerte el estradiol 17 β que el estriol y la estrona)¹⁶.

b) Efecto competitivo con respecto a un estrógeno ya fijado al receptor citosólico (el estriol puede desplazar al estradiol del receptor)¹⁷.

c) Velocidad de disociación del complejo estrógeno-receptor citosólico antes de que pase al núcleo (el estriol se disocia más rápidamente que el estradiol 17 β)¹⁸.

d) Velocidad de disociación del complejo estrógeno-receptor nuclear activado (las velocidades de disociación son por orden creciente estradiol, 17 β -estriol-estrona)¹⁹.

Ahora resulta más fácil comprender porque hay diferencias de acción biológica entre los tres estrógenos naturales (estradiol 17 β , estriol y estrona. De esto se derivan dos aspectos fundamentales:

1. Por una parte a nivel de la célula blanco como por ejemplo, la del endometrio, donde hay un mecanismo de regulación de la actividad del estradiol 17B; en efecto, bajo la acción de la progesterona o de los prostágenos, hay una estimulación de una deshidrogenasa que induce a la conversión del estradiol 17B en estrona por oxidación del hidroxilo en C-17 que se transforma en cetona¹⁹.

2. Por otra parte, cuando se administra la estrona marcada y se compara la relación estrona-estradiol 17B en el plasma con relación a la célula efectora, se encuentra una relación E_1/E_2 más baja en la célula blanco, lo cual significa que la estrona debe transformarse en estradiol para ligarse al receptor. Expresado de otra manera, hay interconversiones entre estradiol y la estrona que causan los efectos biológicos que se observan²⁰.

Acción metabólica de los estrógenos naturales

Las células de la Teca de los folículos ováricos sintetizan estradiol el cual entra inmediatamente en equilibrio con la estrona. El estrógeno es transportado a los órganos blanco por conjugación con una proteína fijadora de estrógenos específica, haciéndola biológicamente inactivo. Es conjugado a sulfato y/o glucurónido en el endometrio, hígado, riñón e intestino. Es metabolizado por el hígado a estriol. Existe una contribución adicional a la cantidad total del estrógeno corporal, que está dada por la conversión periférica de androstenodiona, la cual es sintetizada tanto por células adrenales como por

el estrona ovárico. Es convertida a estrona por la piel y sus apéndices, y es la mayor fuente de estrógeno en la mujer postmenopáusica, cuando el funcionamiento ovárico prácticamente ha declinado⁸.

Las mediciones séricas de estradiol (E₂) durante la edad reproductiva en un ciclo menstrual, según diversos autores^{4,10}, han demostrado los siguientes valores:

Fase Folicular	20-200 pg/ml
A medio ciclo	500-700 pg/ml
Fase Lútea	20-250 pg/ml

Durante la perimenopausia estos valores descienden a un promedio de 10 pg/ml¹⁴ (Anexo No. 2).

Los estrógenos esteriodales son metabolizados principalmente en el hígado, sin embargo, los riñones, las gónadas y los tejidos musculares pueden estar involucrados algunas veces. Los esteroides y sus metabolitos son conjugados al grupo hidroxilo en la posición del carbono tres, con ácido sulfúrico o ácido glucurónico; estas conjugaciones pueden disminuir y cambiar el metabolismo. La conjugación incrementa la solubilidad en agua y facilita la excreción en la orina. Grandes cantidades de estrógenos libres son distribuidos hacia la bilis, reabsorbidos por el tractogastrointestinal y recirculados a través

del hígado donde son degradados. Los estrógenos y sus metabolitos son excretados grandemente en la orina, sin embargo, pequeñas cantidades se encuentran en las heces.

El metabolismo de los estrógenos sintéticos no ha sido totalmente analizado. El metabolismo del dietilestilbestrol, sin embargo, parece ser similar al de los estrógenos naturales ya que la droga es excretada, como un glucurónido en la orina¹¹.

3.4.6 Extracto Placentario

Placenta

La placenta es cualquier unión entre tejidos fetales y maternos que intervengan en el intercambio fisiológico.

Al envejecer la placenta, el tallo corto, grueso, primitivo de las vellosidades se ramifica repetidamente y forma subdivisiones cada vez más finas y cantidades mayores de vellosidades progresivamente más pequeñas. Cada una de la vellosidades tronculares principales y sus ramificaciones constituyen un cotiledón fetal⁹.

Basado en las ultraestructuras, Wynn y otros consideran al sincitio como la forma diferenciada del trofoblasto; capaz de síntesis de moléculas complejas y responsable de la

producción de todas las hormonas placentarias, confiriendo al citotrofoblasto de ultraestructura simple un papel primario en el crecimiento y la diferenciación celular.

La placenta humana a término es un órgano discoide que mide aproximadamente quince a veinte centímetros de diámetro y dos a tres centímetros de grosor. Pesa alrededor de una 500 gramos y está generalmente localizada en el útero por delante o por detrás cerca del fondo.

La cara fetal se halla cubierta por amnios transparentes debajo del cual cursan los vasos coriónicos; las arterias pasan por encima de las venas.

La superficie materna de la placenta está dividida en lóbulos irregulares por surcos producidos por tabiques que se componen de tejido fibroso con vasos escasos confinados principalmente a sus bases¹⁵.

Con respecto a las hormonas placentarias, el sincitio constituye una fuente de esteroides placentarios cuya localización histoquímica de Wislocki con las gotitas sudáfilas, se encuentran en el sincitio trofoblasto el cual está asociado a la presencia de estrógenos y progesterona, así mismo la gonadotropina coriónica humana está asociada a la proliferación citotrofoblástica, sitio de donde se genera²⁰.

Amnios

El amnios normal tiene un grosor de 0.02 a 0.5 mm. El epitelio se compone normalmente de una sola capa de células cuboides no ciliadas. Según Bourne, existen cinco capas, que desde dentro a afuera son el epitelio, la membrana basal, la capa compacta, la capa fibroblástica y la capa esponjosa⁴⁶. A término del embarazo se encuentran a menudo pequeñas placas redondeadas en el amnios, particularmente cerca de la fijación del cordón umbilical. Estas "carúnculas amnióticas" se componen de epitelio estratificado escamoso que recuerde histológicamente la piel⁴⁷.

French, Max Lennan y Wynn, han demostrado recientemente que el amnios humano es rico en nucleósido fosfatasa de membranas que están a menudo relacionadas con el transporte activo²².

Obtención de Estrógenos

Diversos autores han obtenido estrógenos a través de muchas técnicas y procedimientos provenientes de orina humana^{25,26}, plantas, animales^{29,34}, compuestos sintéticos, extrayendo los estrógenos o sintetizándolos y purificándolos a través de reacciones químicas, industriales, de microorganismos (Actinomicetales, Eubacteriales, Gilberella zeal, Corynebacterium hoagui^{36,39,41,42}).

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

Arthur S., y Colaboradores en 1950 han obtenido una sustancia hormonal estrogénico soluble en agua, extrayéndola de orina humana acidificada concentrándola con solventes orgánicos inmiscibles en agua y neutralizando la fracción acuosa después de obtenida. Esta técnica es engorrosa por utilizar diversos reactivos orgánicos e inorgánicos, además de costo elevado, entre ellos cloroformo, piridina al 90 por ciento, ácido sulfúrico al 15 por ciento, dicloruro de etileno, éter, acetona. Esta sustancia se presenta en forma de polvo para ser ingerida oralmente y aliviar los síntomas de la menopausia.

En 1951, Desmond Beall, obtuvo estrógenos libres de la hidrólisis de sulfatos de estrógenos con dioxano a temperatura ambiente, demostrando que no hay pérdida del estrógeno y su potencial, produce además equilina²³.

El 1951, Alain Horeau y Colaboradores preparan estrógenos sintéticos y subproductos tomando como base el ácido 3-6 hidroxil-2-naftil-2,2-dimetilfenilpentanoico, luego es deshidratado al éter correspondiente, calentando con KHSO_4 a $48-51^\circ\text{C}$, luego este éster insaturado es convertido a ácido saturado de metoxilado, obteniendo el producto con actividad estrogénica.

En 1958, Mortimer y Col. sintetizaron estrógenos a partir del 6-oxoestradiol-17 β -16C¹⁴ reducido con mercurio de sodio (NaHg), extraído con etanol 20 (Et_{20}) y cromatográficamente sobre silicagel, esto da 12.7 g de estriol-16-C y 16-epiestriol 16-c en una relación de 7:3. Cuando éste compuesto se le administra intramuscularmente a

mujeres alrededor del 50 por ciento de estriol -16C se detectó en la orina como glucurónido.

En 1961, Tad. L. Patton en la Universidad de Texas sintetizó estrógenos en forma de 2 y 4 -alquilestronas arreglando los compuestos de estrona 3-alil éster y estrona 3 crotil éter, obteniendo 2 alquil 4 alquil estrona utilizando diversas mezclas de reactivos como Et₂O, ácido clorhídrico 4N, sulfato de sodio (Na₂SO₄), hidróxido de sodio (NaOH); además utiliza técnicas cromatográficas, de evaporación y filtración. La técnica es cara, utiliza mucho tiempo de reposo y es de metodología compleja, el objetivo principal es demostrar la síntesis de hormonas in vitro para su posterior industrialización³⁷.

En 1961, A. Marquel y Col. sintetizaron hormonas estrogénicas a través de reacciones de ionización del 5 metoxi -2 acetilnaftaleno y ácido B-(6-metoxi-2naftoil) propiónico en presencia de cloruro de aluminio (AlCl₃) en Et₂O, tratado con 20 ml de ácido bromhídrico de 0.8 N en Et₂O, tetrahidrofurano, fenil trimetil amonio, acidificado con ácido clorhídrico, calentado a 100°C, hidróxido de sodio (NaOH) concentrado, sales de pridium. El procedimiento es muy largo y complejo.

En 1962, N. Protiva y Col. sintetizaron hormonas estrogénicas derivadas del 3 metil-6 fenil-3 carboxiciclohexanona, el trabajo fue un seguimiento de la síntesis efectuada por Borovicka y Col., el procedimiento dura dos días, es caro y utiliza muchas metodologías e instrumentación apropiada³⁸.

En 1963, T. Miki y Col. presentaron una nueva ruta de obtención de estradiol y equilenina condensando 6-metoxi -1- tetralol con 2 metilciclopentano 1,3 dione en presencia de tritón B lo cual dió 3 metoxi 8-14-secoestra-1,3,5,¹⁰, 9 tetraen- 14-17-dione, el cual es convertido con P₂O₅ a 120°C a 3- metoxi-estia-1,3,5,¹⁰, 8, 14-setaen 17-ona, lo cual da isiequilenina y 7 metoxi-3 metil 1,2 ciclopantanofenentreno y luego este compuesto es convertido a estradiol -3- metil éter³⁵.

En 1968, Hodge y Col, obtuvieron compuestos orgánicos en el fin de promover el crecimiento en ganado para mejorar la calidad de la carne. Se puso a fermentar un compuesto A conteniendo grupos CH-CH y un compuesto R con grupos H⁺, con alquil o acil en menor cantidad, con cepas de Gibberella acae NRRL 2830 más deshechos de maíz, durante 20 días a 25°C en cuarto obscuro en atmósfera de humedad, luego se toman 300 g de este compuesto con 500 ml de agua destilada, se calienta 75°C durante 15 minutos y se filtra usando etanol, se evapora, hasta secar los restos, los cuales se disuelven en 20 ml de carbonato de sodio (Na₂CO₃) y cloruro de metano (CHCL₄) al 5 por ciento ajustando el pH a 11.2. Luego ácido clorhídrico para bajar el pH a 6.2 se divide este residuo en 100 tubos conteniendo caldo nutritivo para permitir el paso fina de la fermentación de la sustacias estrogénicas y luego extraídas con un proceso que incluye Carbonato ácido de sodio (NaHCO₃), nitrosometilurea, hidróxido de potasio (KOH) al 50 por ciento, y otras. Las modificaciones al método la realizaron los mismo autores para simplificarlo²⁷⁻²⁸.

En 1977, Bianchini y Col. realizaron un esquema de preparación extrayendo fracciones solubles e insolubles de sustancias de placenta humana y bovina para demostrar la acción biológica de los mismos estrógenos. Demostraron que la fracción estrogénica estimuló la cornificación de la vagina, demostró propiedades uterotrópicas y actividades progestacionales, pero no demostró actividad timolítica pero si actividad antiinflamatoria²⁴.

En 1978, Smith y Col. obtuvieron un método de síntesis de estrógenos utilizando el kenolato y la reducción de este compuesto dió estrona-metil-éter. El proceso es caro y utiliza material e instrumentación sofisticada⁴⁰.

Estrogen-AID^R

Definido como un producto biológico, se ha denominado así, a un preparado hecho a base de placenta humana de mujeres guatemaltecas, cuyo uso ha sido propuesto para proteger contra las consecuencias de los cambios degenerativos que se observan en la piel por el envejecimiento celular y tisular, y para restablecer estos cambios cuando está presente el déficit estrogénico a nivel sistémico. Su principio biológico activo se fundamenta en la presencia de un alto contenido de estrógeno, colágeno y demás nutrientes en la placenta humana.

La inventora del producto reporta a la fecha, las siguientes experiencias obtenidas con Estrogen-AID^R:

1. Mayor turgencia de la piel
2. Mayor suavidad de la piel
3. Disminución de la cantidad y profundidad de las arrugas
4. Mayor firmeza de los tejidos
5. Disminución de la inflamación y cicatrices provocadas por el acné
6. Mayor rapidez en el proceso de cicatrización de heridas
7. Limpieza de manchas o disminución en su intensidad en casos de cloasma y manchas de la vejez
8. Pigmentación en el caso de placas blanquecinas secundarias a vitiligo
9. Disminución del hirsutismo facial
10. Aumento del cabello en casos de escasez o caída del mismo por diferentes causas

Todo esto se ha logrado mediante la aplicación tópica de este producto, usándolo por lo menos tres veces por semana, en períodos que han oscilado entre dos semanas a tres meses de uso. Se ha dosificado su contenido estrogénico, el cual en promedio reporta valores de 2,000 a 3,000 pg/ml de Estradiol (E₂), lo cual demuestra su potencia y eficacia, si comparamos estas cantidades con niveles séricos de E₂ en cualquier época del

ciclo menstrual de una mujer en edad reproductiva, y aún más si lo comparamos con niveles séricos de mujeres perimenopáusicas.

Además de la acción estrogénica se asume que existe una incorporación muy importante de tropocolágeno, unidad básica estructural y funcional del colágeno, presente en la membrana amniótica, al tejido dérmico⁴³.

La absorción de Estradiol se realiza en todos los tejidos de la piel, pero se lleva a cabo más lentamente cuando el tejido es adiposo^{6,45}.

4. JUSTIFICACION

Se ha obtenido un extracto de placenta humana con un alto contenido de Estradiol, cuyo uso ha sido propuesto para proteger al organismo humano contra las consecuencias de los cambios degenerativos que se observan en la piel por envejecimiento celular y tisular.

Al observar su efecto sobre la piel se ha encontrado que los estrógenos hacen que ésta tome una estructura especial, blanda y generalmente lisa¹³. La piel absorbe estrógeno con facilidad y se requieren dosis más bajas por vía transdérmica que bucal para obtener los niveles fisiológicos de ellos⁴. Además, los efectos metabólicos indeseables son despreciables, debido a que el sustrato de renina no aumenta y esto permite que no exista riesgo de hipertensión arterial, no existe una mayor incidencia en la formación de cálculos biliares y tampoco se da el aumento de la coagulación intravascular.

Con el presente estudio se pretendió demostrar las propiedades y bondades de un producto biológico generado en Guatemala. El aspecto vital de este producto es que contiene un estrógeno natural, los elementos importantes a demostrar en cuanto a sus propiedades fueron sus efectos cosméticos sobre la piel, su absorción transdérmica, cambios epiteliales en órganos y tejidos distantes como lo es la vagina.

Este producto biológico es de fácil preparación, porque todo lo que se necesita para su fabricación es accesible su obtención. Es de bajo costo y requiere de un Obstetra,

medición de los niveles de estradiol y progesterona, cultivos bacteriológicos, prueba de VIH y Hepatitis B, desinfectantes, miel pura de abejas y avena.

6. HIPOTESIS

La absorción transdérmica de Estradiol proveniente de placenta humana logra incremento de estrógenos circulantes, cambios epiteliales a nivel vaginal y cambios plásticos en piel de mujeres post-menopáusicas.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

7. MATERIALES Y METODOS

7.1 Universo de Trabajo

Se seleccionó a treinta pacientes que cumplieran con el criterio clínico de post-menopausia, es decir, ausencia de menstruación durante doce meses consecutivos. Se consideró además que las pacientes fueron mayores de 45 años y aceptaron voluntariamente participar en el estudio. De las cuales únicamente quince tuvieron tratamiento de Estradiol por vía transdérmica procedente de placenta humana y las otras quince un extracto acuoso a manera de placebo (Anexo No. 3).

7.2 Medios

7.2.1 Recursos Humanos

- Estudiante responsable de la investigación:

Miriam Liliana Girón López

- Asesores del proyecto:

Licda. Aída Cifuentes de Menéndez

Dr. Romeo Menéndez

- Colaboradores para la obtención de muestras:

Centro de Atención Médica Integral a Pensionadas (CAMIP)

7.2.2 Recursos Materiales

Materiales

Hisopos

Espéculos medianos

Algodón

Jeringas de 5 ml

Agujas No. 21

Tubos de ensayo

Porta-objetos

300 frasquitos (5 ml) de Extracto de placenta humana

Cámara fotográfica y rollo

Reactivos

Fijador alcohol-éter

Alcohol al 50, 70, 80 y 95 por ciento

Agua destilada

Hematoxilina de Harris

Acido clorhídrico 0.25 por ciento

EA 36 y OG6

EA 36

- Verde claro SF amarillento al 0.14 por 100 en alcohol al 95 por ciento.
- Pardo Y de Bismarck al 0.5 por ciento en alcohol al 95 por ciento.
- Amarillento de Eosina (soluble en agua y alcohol) al 0.55 por ciento en alcohol al 95 por ciento.
- Acido Fosfotúngstico.
- Solución acuosa saturada de carbonato de litio.

OG6

- Anaranjado G-solución al 0.5 o al 1 por ciento en alcohol al 95 por ciento.
- Acido Fosfotúngstico

Xileno

Estradiol procedente de placenta humana

Extracto acuoso a manera de placebo

7.3 Procedimiento

7.3.1 Asignación

La asignación de las pacientes voluntarias a los tratamientos se hizo de manera aleatoria, de las cuales únicamente quince recibieron tratamiento de estradiol por vía transdérmica procedente de placenta humana, a las otras quince un extracto acuoso a manera de placebo.

A todas las pacientes se les tomó una fotografía del rostro con el fin de apreciar los cambios plásticos en la piel siendo ellos los siguientes: Sequedad, reafirmación de tejido, brillo, disminución de la profundidad de arrugas y mejoramiento visual general.

Además se le hicieron los exámenes de Papanicolaou (citológico en el cual se determinó el índice de maduración y la cuantificación de estradiol por el método de radioinmunoensayo Coat-A-Count, antes del tratamiento y después de los tres meses de tratamiento y después de los tres meses de tratamiento (Anexo No. 3).

El primer mes se aplicaron el tratamiento todos los días, el segundo y tercer mes cada dos días (Anexo No. 4).

7.3.2 Metodología

7.3.2.1 Papanicolaou

Es el estudio de frotos de células descamadas en las paredes laterales del tercio superior de la vagina. Debido al color azul del citoplasma fino y transparente permite ser coloreado con soluciones de coloración citoplásmica en medio rico en alcohol.

Los porta-objetos con la muestra vaginal se fijaron con spray y secados a temperatura ambiente. Se tiñeron cuatro minutos en Hematoxilina de Harris, fueron enjuagados rápidamente con agua destilada. Después sumergidos en ácido clorhídrico al 0.25 por 100 en alcohol al 50 por 100, seis veces (entre 20 y 60 segundos). Se dejaron seis minutos en agua de la llave corriente. Enjuagados con agua destilada y se pasaron sucesivamente por alcohol al 50, 70, 80 y 95 por 100.

Después se tiñeron de 90 segundos a cuatro minutos con OG6. Enjuagados dos veces con alcohol etílico al 95 por 100. Se tiñeron de 90 segundos a cuatro minutos con EA 36 (ó EA 50). Se lavaron tres veces con alcohol al 95 por 100. Deshidratados con alcohol absoluto, y tratados luego con una mezcla en partes iguales de alcohol absoluto y xileno; aclarados en xileno y se montaron.

7.3.2.2 Placebo

- Agua 75 por 100
- Miel de abejas 10 por 100
- Avena 15 por 100

Se cuantificó midiendo estradiol en suero por el método de radioinmuno ensayo Coat-A-Count Estradiol.

Estradiol

I^{125} designado para la medición cuantitativa de estradiol en suero.

1. Se rotularon cuatro tubos de propilen de 12x75 mm y NSB (astringente específico) en duplicado. Luego catorce tubos de A hasta G en duplicado, otros adicionales con anticuerpo; para controles y pacientes siempre en duplicado.

Calibrador	pg/ml	mmol/ml
A	0	0
B	20	0.07
C	50	0.18
D	150	0.55
E	500	1.84
F	1800	6.61
G	3600	13.20

2. Se pipetearon 100 ml del calibrador cero AS dentro de los tubos NSB y A, y 100 ml de cada calibrador restante, muestra control, muestra paciente, trasvasó directamente al centro.

3. Añadió 1.0 ml de I^{125} Estradiol a cada tubo, agitó.

4. Fue incubado por tres horas a temperatura ambiente.

5. Luego se trasvasó completamente a otro recipiente, todos los tubos excepto los tubos T, dejó drenar por 2 ó 3 minutos, después se agitaron con fuerza en un papel absorbente para hacer caer todos los residuos.

6. Se contaron por un minuto en un contador gamma.

7.3.2.3 Diseño y Análisis de Datos

La asignación de las pacientes a los tratamientos se hizo de manera aleatoria; donde tanto el analista como las pacientes desconocían en qué grupo estaban ubicadas. Al final se hizo una comparación entre cada grupo por el método de la T PAREADA y gráficas paralelas antes y después del tratamiento.

Se evaluó se estradiol aumentó en el grupo con tratamiento respecto al grupo placebo a través del análisis de Covarianza. Y por último se buscó la asociación entre los cambios estéticos, el índice del maduración y los niveles de estradiol por medio de los porcentajes de cambio de placebo con respecto al porcentaje de cambio del tratamiento.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

8. RESULTADOS Y DISCUSION

Al obtener el registro de las treinta pacientes, once manifestaron sentir calores, dolor de cabeza y cuerpo, decaimiento, mareos, alta presión, náuseas, depresión y las diecinueve restante no presentaron molestias.

En las usuarias de estradiol se obtuvo disminución de los síntomas mientras que las que tenían placebo, los síntomas permanecieron y las que no habían reportado tener molestias empezaron a sentirlas.

Los receptores estrogénicos de la piel humana se encuentra la mayor concentración en la cara y es por ello que el presente estudio demuestra que estradiol fue absorbido por medio de la vía transdérmica, observándose disminución y profundidad de las arrugas, mayor suavidad de la piel y mejorando el estado emocional de las pacientes.

En la Tabla No. 1 apreciamos cambios notables antes y después del tratamiento con estradiol, pues al inicio estaban sus niveles muy bajos mientras que al final del mismo los resultados de estradiol en sangre aumentaron, lo cual es estadísticamente significativo en el método de la T pareada y con una diferencia significativa ($p=0.0046$), y claramente observable en los gráficos paralelos 7, 8.

A nivel citológico el índice de maduración sin estrógenos es de 90/10/0 indicando preponderancia de la células parabasales, mientras que al ser absorbido estradiol por vía transdérmica el índice de maduración presentó predominio hacia las células superficiales (Tablas No. 1 y 2).

Tabla No. 2 Las usuarias de placebo permanecen con los niveles de estradiol bajos después del tratamiento (Gráficas 6,8). En el gráfico paralelo podemos observar estos cambios de estradiol en forma clara en donde toman diferentes vías, mientras que con placebo antes y después no se ve diferencia significativa pues las líneas permanecen en las mismas direcciones ($p=0.2432$).

Al hacer el análisis de covarianza se encontró que ambos grupos al inicio eran iguales ($F=0.0819$) y que al compararlos al terminar el tratamiento si existió diferencias significativa ($F=0.0070$) con marcado aumento de la hormona en el grupo tratamiento.

8. RESULTADOS

TABLA No. 01
USUARIAS DE ESTRADIOL

PACIENTES	ESTRADIOL*		PAPANICOLAOU					
	ANTES	DESPUES	ANTES			DESPUES		
			P	CIN	S	P	CIN	S
1	50.5	220	0	95	5	0	75	25
2	7.0	170	5	95	0	0	90	10
3	9.0	72	5	95	0	0	100	0
4	18.24	50	80	20	0	0	85	15
5	11.0	45	75	25	0	0	90	10
6	19.0	42	80	20	0	0	90	10
7	20.0	40	95	5	0	0	95	5
8	10.0	40	85	15	0	0	95	5
9	20.0	39	90	10	0	0	90	10
10	8.1	38	80	20	0	50	50	0
11	7.0	36	80	20	0	15	85	0
12	19.0	36	100	0	0	0	95	5
13	19.0	32	100	0	0	0	95	5
14	11.0	27	100	0	0	3	97	0
15	13.0	20	90	10	0	80	20	0

P = Células parabasales
 CIN = Células intermedias
 S = Células superficiales
 * = Unidades pg/ml

TABLA No.02

USUARIAS DEL PLACEBO

PACIENTES	PLACEBO*		PAPANICOLAOU					
	ANTES	DESPUES	ANTES			DESPUES		
			P	CIN	S	P	CIN	S
1	9.0	22.0	50	50	0	80	20	0
2	10.0	10.0	15	85	0	80	20	0
3	19.0	22.0	75	25	0	95	5	0
4	19.0	19.0	80	20	0	100	0	0
5	4.29	4.29	90	10		100	0	0
6	19.0	19.0	85	15	0	95	5	0
7	15.0	15.0	90	10	0	90	10	0
8	19.0	19.0	5	95	0	100	0	0
9	9.0	9.0	95	5	0	100	0	0
10	7.7	7.7	75	25	0	90	10	0
11	9.0	9.0	80	20	0	85	15	0
12	4.0	4.0	90	10	0	95	5	0
13	11.0	11.0	70	30	0	80	20	0
14	9.0	9.0	85	15	0	90	10	0
15	7.0	7.0	75	25	0	85	15	0

P = Células parabasales
 CIN = Células intermedias
 S = Células superficiales
 * = Unidades pg/ml

9. CONCLUSIONES

- 10.1 La absorción transdérmica de ESTRADIOL proveniente de placenta humana, logró incrementos de estrógenos circulantes, cambios epiteliales a nivel vaginal y cambios plásticos en piel de postmenopáusicas.
- 10.2 La absorción de estradiol se realizó en los diferentes tipos de piel, pero se llevó más lentamente en las pacientes que poseían cutis adiposo.
- 10.3 Las pacientes usuarias de estradiol presentaron disminución y profundidad de las arrugas, mayor turgencia y suavidad de la piel.
- 10.4 Las usuarias de estradiol manifestaron sentirse mejor , al obtener la disminución de los síntomas.

10. RECOMENDACIONES

11.1 La utilización de un estrógeno natural de procedencia humana, con resultados positivos tanto estéticos como biológicos, permitirá una alternativa más sencilla, cómoda y con menos efectos colaterales adversos, como terapia hormonal sustitutiva en esta etapa tan importante en la vida de la mujer.

11. REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

1. Barbo DM., Fisiología de la Menopausia. Clínicas Médicas de Norteamérica: Interamericana, 1987. (p. 15-26).
2. Ryan T., The microcirculation of the skin old age. Gerontol Clin. 1966; 8:327.
3. Kilgman A. et al, The anatomy and pathogenesis of wrinkles. Br. J.Dermatol. 1985; 113:37.
4. Marks R., Sahrad P., Skin changes at the time of the climateric. Clin Obstet Gynecol. 1977; 4:207.
5. Quevedo W. et al, Influence of age and Uv on the population of depositive melanocytes in human skin. J invest Derm. 1969; 52:287.
6. Hasselquist M. et al, Isolation and characterization of the estrogen receptors in human skin. J Clin Endocrinol Metab. 1980; 50:76.
7. Rauramo L. et al, Tejidos efectores no genitales de estrógenos. Francia: Congreso Internacional sobre la menopausia, Sociedad Americana de Geriatria, Facultad de Medicina de Montpellier, 1976.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD AMERICANA DE GUATEMALA
BIBLIOTECA CENTRAL

8. Jones H, Jones GS., Fisiology of menstruation and pregnancy. USA: In novaks Textbook of Gynecology, 1981.
9. Hellman L, Pritchard, El ciclo ovárico y sus hormonas. Williams OBSTETRICIA: Salvat Editores, 1973. (p. 51-78).
10. Guyton A., Funciones sexuales en la hembra y hormonas sexuales femeninas. Interamericana, 1973. (p. 1080-1097).
11. AHFS., Hormones and syntheric substitutes. Drugs Information. 1989; 68:16.
12. Whitehead M. Schenkel L. eds. The development of transdermal estradiol therapy. En: Transdermal Hormone Replacement. Longterna Effects. New Yersey. 1990. (p. 18-20).
13. Neves E. et al, Destino de los estrógenos después de su administración en terapéutica. Publicada en Actualités Gynecologiques. París 1981.
14. Thorneycroft I. et al, Serus gonadotropin and steroid patterns in early human gestation. Am Jo Obstet Gynecol. 1971. 111:947

15. Wynn R., Comparative morphogenesis and vascular relationship of the hemochorial placets. *Amer J Obstet Gynecol.* 1964. 90:758.
16. Bouton M. et al, The relevance of kinetic parameters in the determination of specific binding to the estrogen receptor. *J Steroid Biochem.* 1978. (p.9-15).
17. Bergink W., Estriol receptor interactions: Their biological and therapeutic implications. *Acta Endocrinol (DBH).* 1980. suppl. 9-16
18. Weichman BM. et al, Estrogen receptor activation and the dissociation Kinetics of estradiol, estriol and estrone. *Endocrinology.* 1980 (p. 106,434-439).
19. Gurpiede E. et al, Estrogen receptors. *Pharmatherapeutica.* 1980. (p. 2, 63-75).
20. Thijssen J. et al, On the biological activity of estrone in vivo. *Pront Hormone Res.* 1978. (p. 5, 220-229).
21. Wislocki G. et al The histology and cytology of the human and monkey placenta with special reference to the trophoblast. *Amer J Ant* 1943. 73:335.
22. French G. et al, Localization of nucleoside phosphatases in human amnion. *Obstet Gynec.* 1971.

23. Beall D., Free estrogens from the hidrolisis of estrogena sulfates. Can 1951.
(p. 472, 282).
24. Bianchini P. et al, Biologically active substances in placental extracts farmaco.
Ital: Prat. 1977. 32(3), 132-51.
25. Cook A. et al, Water soluble estrogenic hormone substance. Brit: 1950. (p. 414,
645).
26. Green G. et al, Fermentation action of *Corynebacterium hoaguii* on dl-13, E-alkyl-
17B-substituted-yon-4-en-3-ones yields 17B-hidroxy - and 17 oxo-13 alkylgona
1,3,5, (10)-trienes.
27. Hodge E. et al, Estrogenic compound and animal growth promoters. U.S. 3373025
(Cl. 99-2), Appl. 28 Feb 1966, 3 March 1967 and 12 Mar 1968. 5p
28. Hodge E. et al, Estrogenic compounds and animal growth promoters. U.S. 3373025
(Cl. 99-2), Appl. 7 Mar 1966, 3 March 1967 and 12 Mar. pp4. Continuation in part
of U.S.A. 3, 239, 341.
29. Hodg E. et al, Estrogenic compound and animal growth promoters. U.S.A. 3, 239,
341 (Cl. 99-2 March 8, 1966; Appl. Feb. 14, 1965 pp: 4.

30. Hodge E. et al, Estrogenic compound and animal growth promoters U.S.A. 3, 239, 312 (Cl. 99-2), March 8, 1966, Appl. Feb 15, 1965. pp:3.
31. Huffman M. Estrogenic compounds. U.S.A. 1995. (p.2, 239, 705).
32. Kluepfel D. et al, Microbiological preparation of estrogens, in particular equilin, equilinin and their respective dihydro derivation. U.S.A. 3, 549, 497, (Cl. 195 - 515; CO7c), 22 Dec (970, Appl. 05 Dec. 1967) pp:2.
33. Levitz M. et al, Interconversions of 16 -oxygenated estrogens. Synthesis of estriol - 16-C¹⁴ and its metabolism in man. J. Biol Biochem. 231, 787-97 (1958); cf.ca. 2982 f.
34. Marquet A. et al, Synthesis in the estrogenic hormone group XXII bromination of 6-methoxy -2-acetylnaphthlene and B-(6 -methoxy-2-naphtoyl) propionic acid. Collection Czechoslov. Chem. Communs 26, 1961. (1975-9), of CA 55; 27132f.
35. Miki T. et al, An imponed synthesis of estrogens. Proc. Chem Soc. 1963. pp: 139.
36. Novak L. et al, Synthesis in the estrogenic hormone group XXIV Derivatives of-3 methyl-6- (p-methoxyphenyl)-3 carboxy cyclohexanone. Collection Czech. Chem Commun. 1962. (p. 27, 1261-72). cf CA 57. 3307c.

37. Patton T., Estrogena IV synthesis of 2 and 4-alkylestrones. J. Org. Chem. 27. 1962 (p. 910-14), cf. ibid. 26; 1677. (1961) of CA 55. 23589c.
38. Protiva M. et al. Synthesis in the estrogenic hormones group XXIII Derivatives of 3-methyl-6-phenyl 3 carboxycyclohexanone. Collection Czech. Chem. Commun. 27. 1962 (p. 550-66); cf. CA 56, 2392 a.
39. Roussel -UCLAF: Estrogens. Belg. 634, 308. Dec. 30, 1963. Fr. Appl. June 29, 1962. pp:6 addn. to Belg. 614, 523 (See fr. 1290, 876, CA 58, 15190).
40. Smith H. et al. Total synthesis of estrogenic hormone. Engl. Experientis 19, 1963 (p. 177-8).
41. Wolters B., Esteroid hormones. Synthesis with the aid of microorganism inst. Pharm. Biol. TV. 3300 Braunschweig. Fed. Rep. Ger. Dtsch Aposth. Ztg. 1985. 125 (13) 643-7.
42. Yukio Y. et al. Steroid fermentation industries, Hakko to Kogyo. 1980. 38 (12), 1117-32.

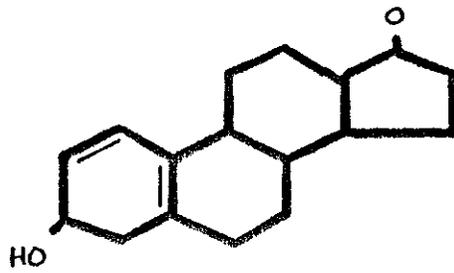
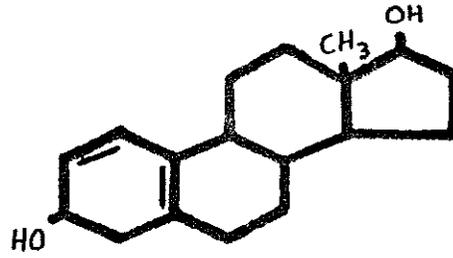
43. Cifuentes A., Novedoso procedimiento para el aprovechamiento de hormonas femeninas y del colágeno, proveniente de placenta humana para la regeneración de células humanas. Protocolo para patente de invención. Guatemala. 1988.
44. Diesfalusy E. et al, Pharmacokinetics and some pharmacodinamic properties of three estrogen preparations in post-menopausal women (Asbtract). Presented at international Congress on menopauses. Orlando. 1984.
45. Chetkowski R. et al, Biologic effects of transdermal estradiol. N. Engl J Med. 1986; 314:1615.
46. Bourne G., The human amnion and chorion Chicago: Year book publishers. 1962.
47. Hellman L., et at La placenta y sus hormonas. En Williams Obstetricia: Salvat Editores, S.A. 1973. (125-171).

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

ANEXOS

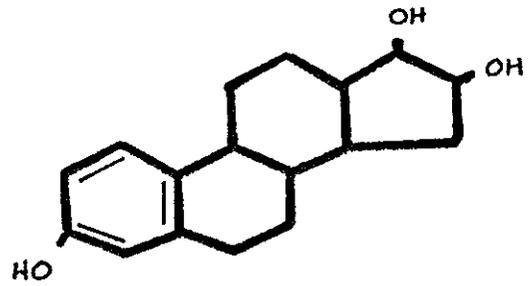
ANEXO No 1

ESTRADIOL



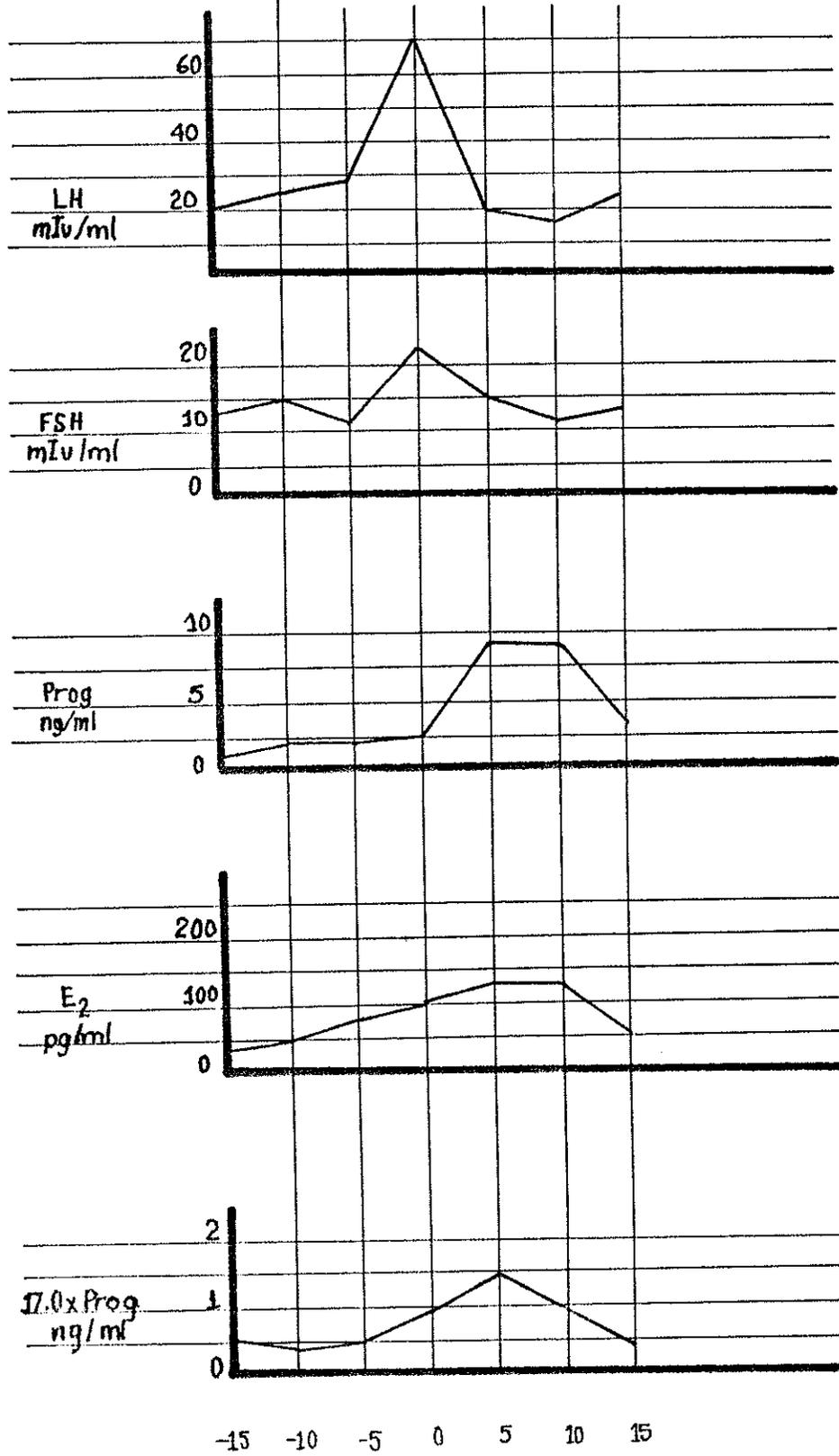
ESTRONA

ESTRIOL



ANEXO No 2

Ciclo Menstrual Normal



ANEXO No. 3

No. _____

Registro de Pacientes

Nombre: _____

Dirección: _____ Teléfono: _____

Edad: _____ Estado Civil: _____ Número de hijos: _____

Ocupación _____

Edad de la menopausia: _____

Padecimientos concomitantes: _____

Antecedentes Quirúrgicos: _____

Toma de muestras:

Fecha del primer Papanicolaou: _____

Fecha de la primera extracción de sangre (Estradiol): _____

Fecha de la primera fotografía: _____

Después de los tres meses

Fecha del segundo Papanicolaou: _____

Fecha de la segunda extracción de sangre (Estradiol): _____

Fecha de la segunda fotografía: _____

Resultados

Primer Papanicolaou: _____

Primera extracción de sangre (Estradiol): _____

Segundo Papanicolaou: _____

Segunda extracción de sangre (Estradiol): _____

Firma de la Paciente

Anexo No. 4

Ficha de Registro Mensual

Cada paciente anotó con una X los días que sí usó el extracto, para la obtención de datos confiables.

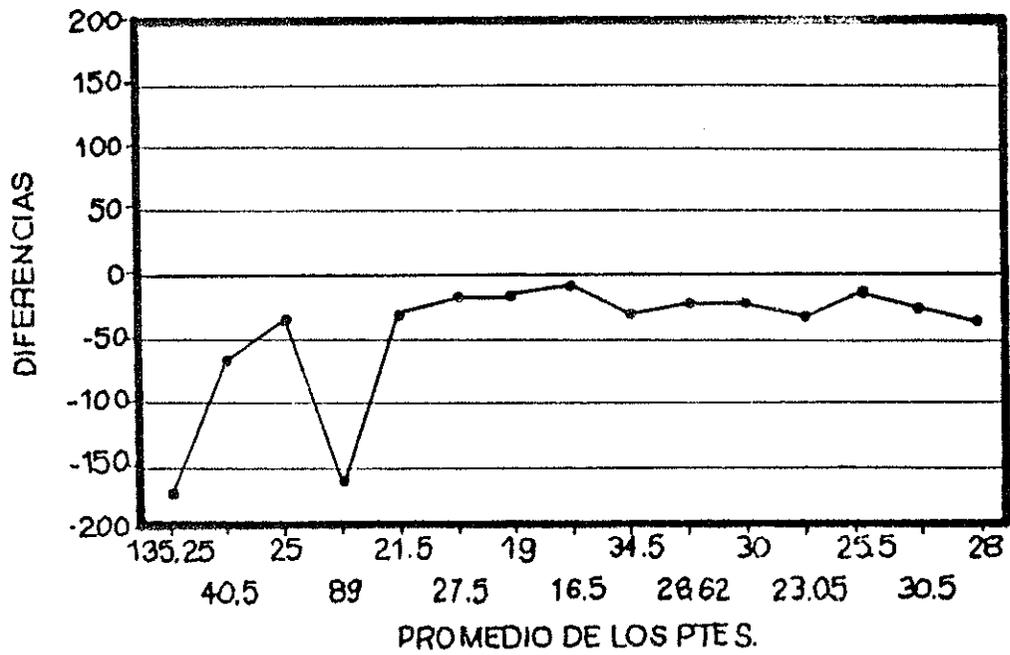
Mes: _____

Paciente No.: _____

1	2	3	4	5	6	7
8	9	10	11	12	13	14
15	16	17	18	19	20	21
22	23	24	25	26	27	28
29	30	31				

DIFERENCIA DE ESTRADIOL

EN GRUPO TRAT.



PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE CHATEMPUL
PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE CHATEMPUL
Biblioteca Ce.

DIFERENCIA DE ESTRADIOL

EN GRUPO CONTROL

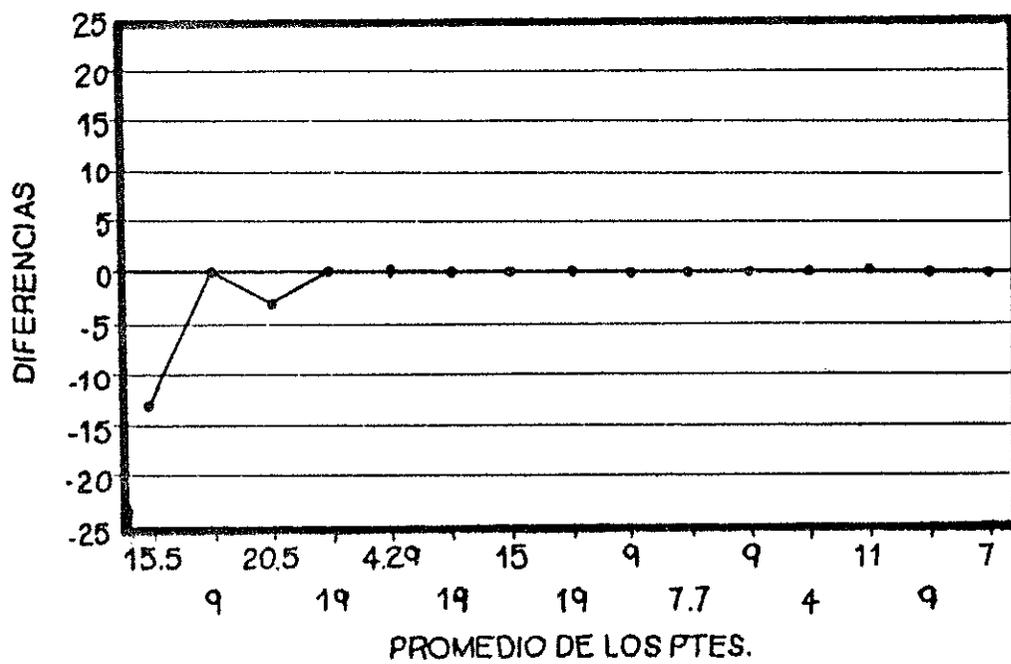


GRAFICO PARALELO GRUPO ESTROGEN-AID

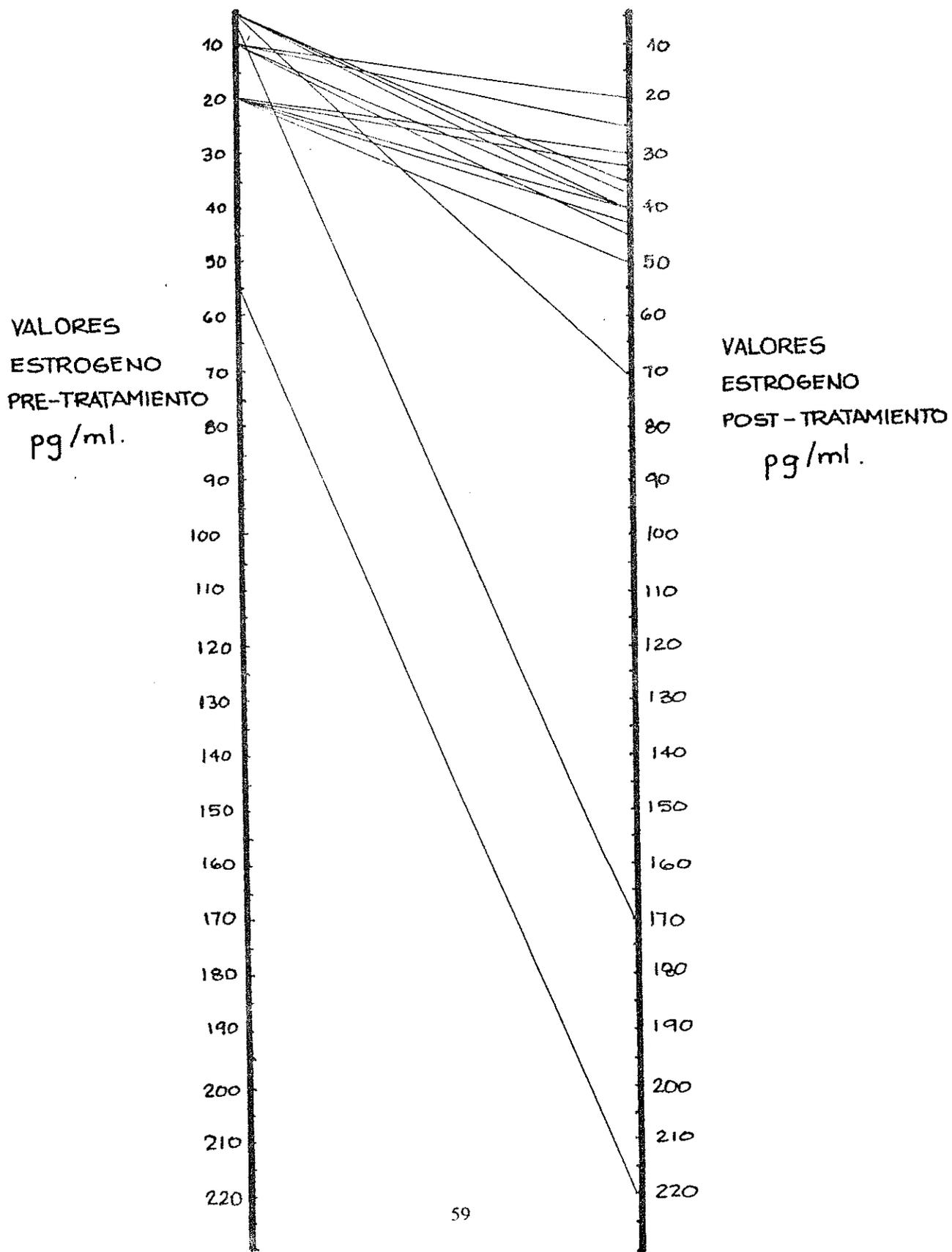
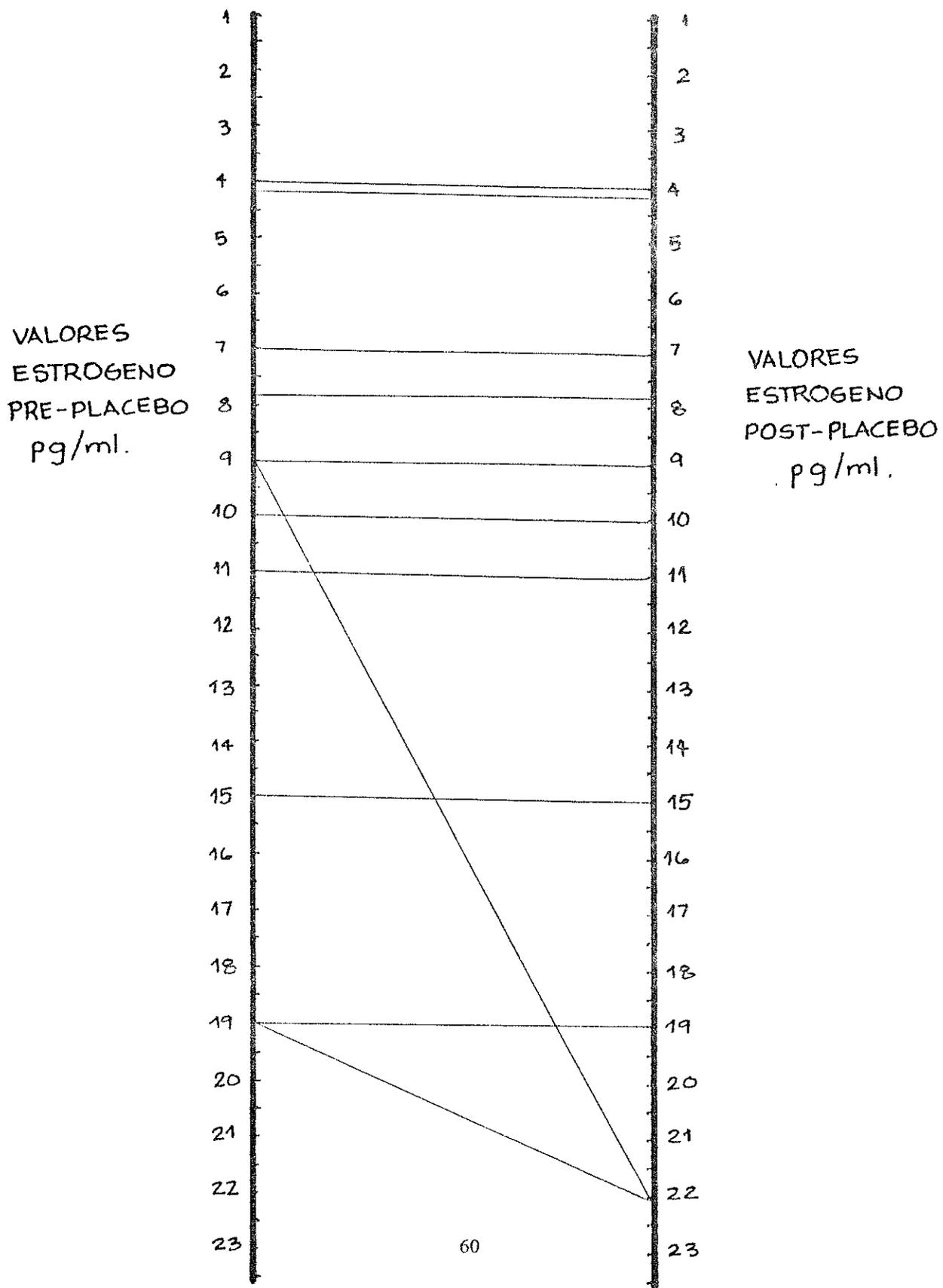
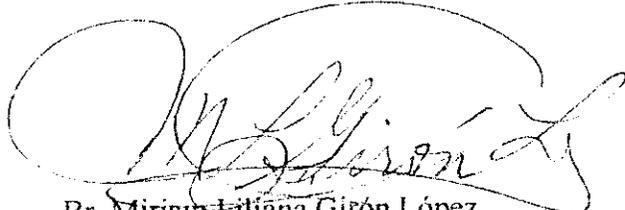


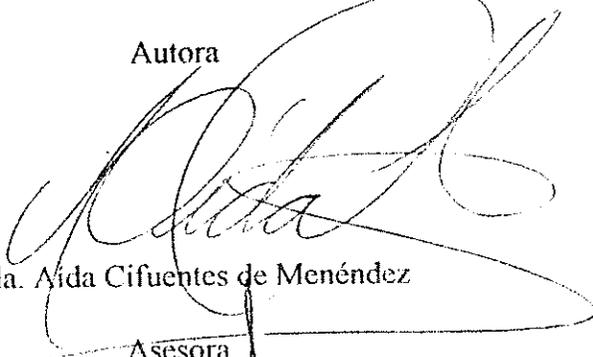
GRAFICO PARALELO GRUPO CONTROL: PLACEBO





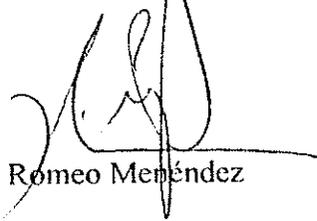
Br. Miriam Eliana Girón López

Autora



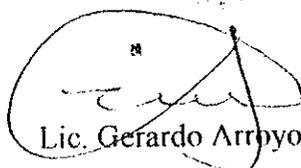
Licda. Aida Cifuentes de Menéndez

Asesora



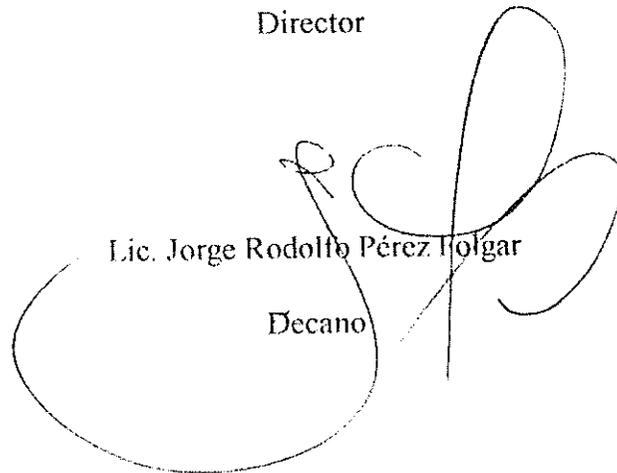
Dr. Romeo Menéndez

Asesor



Lic. Gerardo Arroyo

Director



Lic. Jorge Rodolfo Pérez Holgar

Decano