Revista de

# Farmacología de Chile

Órgano oficial de la Sociedad de Farmacología de Chile • http://www.sofarchi.cl

Volumen 7, Número 1 ISSN N° 0718-8811 Año 2014

## Farmacología Endocrina

### ARTÍCULOS DE REVISIÓN EN FARMACOLOGÍA ENDOCRINA


- **ROL DE LAS HORMONAS SEXUALES SOBRE CIRCUITOS DOPAMINÉRGICOS CEREBRALES.** Roxana Silva y cols.
- **WHAT WE KNOW ABOUT THE LONG-TERM CONSEQUENCES OF EARLY MATERNAL SEPARATION AND NEUROENDOCRINE RESPONSE TO STRESS.** Mª Angélica Rivarola y Georgina M. Renard
- **SISTEMA ENDOCANABINOIDE Y TRATAMIENTO DE LA OBESIDAD: PERSPECTIVAS FARMACOLÓGICAS.** Carina Valenzuela y Gonzalo Cruz
- **PROGRAMACIÓN FETAL DE LAS ENFERMEDADES METABÓLICAS.** Manuel Maliqueo y Bárbara Echiburú
- **REGULACIÓN NEURONAL DE LA FUNCIÓN OVÁRICA DURANTE EL ENVEJECIMIENTO REPRODUCTIVO.** Daniela Fernandois y cols.


### ARTÍCULO ORIGINAL EN FARMACOLOGÍA CARDIOVASCULAR


- **FÁRMACO-EPIDEMIOLOGÍA DEL INFARTO AGUDO AL MIOCARDIO EN EL HOSPITAL CLÍNICO DE LA UNIVERSIDAD DE CHILE: 20 AÑOS DE REGISTRO. ESTUDIO GEMI.** Constanza López y cols.

## *PANEL DE EDITORES*

La Revista de Farmacología de Chile tiene un panel de editores conformado por connotados farmacólogos nacionales que son miembros de la Sociedad de Farmacología de Chile y académicos de las principales universidades chilenas.


### Comité Editorial:

**Dr. Ramón Sotomayor-Zárate**, ***Editor en Jefe***
**(UV, Valparaíso, Chile)**
**Dr. Pablo Jara Picas**, ***Co-Editor***
**(USACH, Santiago, Chile)**
**Dr. Hernán E. Lara**
**(UCH, Santiago, Chile)**
**Dra. Viviana Noriega**
**(UCH, Santiago, Chile)**
**Dr. Juan Carlos Prieto**
**(UCH, Santiago, Chile)**
**Dra. Jacqueline Sepúlveda**
**(UDEC, Concepción, Chile)**
**Dr. Juan Pablo G. Huidobro-Toro**
**(USACH, Santiago, Chile)**
**Dra. Katia Gysling**
**(PUCCH, Santiago, Chile)**
**Dra. Inés Ruiz**
**(UCH, Santiago, Chile)**
**Dra. Carolina Gómez Gaete**
**(UDEC, Concepción, Chile)**
**Dr. Alfonso Paredes V.**
**(UCH, Santiago, Chile)**
**Dr. Rodrigo Castillo P.**
**(UCH, Santiago, Chile)**
**Dra. Gabriela Díaz-Véliz**
**(UCH, Santiago, Chile)**
**Dr. Patricio Iturriaga-Vásquez**
**(UCH, Santiago, Chile)**

### Evaluadores Asociados:

Dr. Hugo F. Miranda
Dra. María Eugenia Letelier
Dr. Sergio Mora
Dr. Jorge Farías Avendaño
Dr. Raúl Corrales V.
Dr. Guillermo Díaz-Araya
Dra. Verónica Donoso
Dr. Mario Faúndez
Dra. Jenny Fiedler
Dr. Miguel Reyes-Parada
Dr. Yedy Israel
Dr. Ricardo Maccioni
Dra. Verónica Kramer
Dr. Sergio Lavandero
Dr. Juan Diego Maya
Dr. Antonio Morello
Dra. Myriam Orellana
Dra. María Elena Quintanilla
Dra. Teresa Pelissier S.
Dr. Javier Puente
Dr. Luis Quiñones
Dr. Patricio Saéz-Briones
Dra. Coralia Rivas
Dr. Leonel Rojo
Dra. Georgina M. Renard
Dra. Gladys Tapia
Dra. M. Antonieta Valenzuela
Dra. M. Araceli Valle
Dr. Luis Videla
Dr. Raúl Vinet
Dr. Bruce K. Cassels
Dr. Iván Saavedra S.

**UV** (Universidad de Valparaíso), **UCH** (Universidad de Chile), **PUCCH** (Pontificia Universidad Católica de Chile), **USACH** (Universidad de Santiago de Chile), **UDEC** (Universidad de Concepción)



**Revista de Farmacología de Chile es publicada por la Sociedad de Farmacología de Chile**


Derechos Reservados a la Sociedad de Farmacología de Chile.


ISSN 0718-8811 versión impresa
ISSN 0718-882X versión digital


Todos los derechos reservados. Ninguna parte de esta publicación puede ser reproducida, almacenada en sistema alguno de tarjetas perforadas o transmitida por otro medio -electrónico, mecánico, fotocopiador, registrador, etcétera- sin permiso previo por escrito del comité editorial.

## *MISIÓN*

La Revista de Farmacología de Chile es considerada el órgano oficial de difusión científica y de opinión de la Sociedad de Farmacología de Chile. En un principio esta revista nació como un remozado libro de resúmenes del XVIII Congreso Latinoamericano de la Asociación de Farmacología realizado en Chile el año 2008. Desde 2009 y hasta ahora la Revista de Farmacología de Chile ha recibido varios trabajos originales de investigación y diversas revisiones de temas farmacológicos relevantes.
La Revista de Farmacología de Chile aborda temas relacionados con la farmacología básica y experimental, así como investigaciones clínicas. Las áreas temáticas principales son: farmacocinética, farmacodinamia, farmacología cardiovascular, farmacología pulmonar, farmacología endocrina, neurofarmacología, farmacología clínica, estudios preclínicos, estrés oxidativo, fitofarmacología, ciencias farmacéuticas, química-médica y toxicología. También la revista actualmente permite divulgar opiniones sobre los principales temas de salud relacionados con medicamentos en Chile, la presentación de líneas de investigación de laboratorios nacionales en donde se realizan investigaciones farmacológicas, información de curso y programas de postgrados nacionales en farmacología y la publicación de resúmenes científicos del Congreso Anual SOFARCHI.

## Audiencia:

La Revista de Farmacología de Chile esta dirigida a farmacólogos nacionales e internacionales interesados en la divulgación de la farmacología. También está dirigida a estudiantes de pregrado de carreras universitarias del área de la salud y ciencias biomédicas, y a estudiantes de postgrado que cursen maestrías y doctorados en farmacología.

## Periodicidad:

Se editaran 3 volumenes anuales (Abril, Julio-Agosto y Noviembre) en formato digital e impreso y un suplemento en el tercer volumen que incluirá los resúmenes del Congreso Anual de la Sociedad de Farmacología de Chile.

## Temas a Publicar:

- Artículos originales en Farmacología Básica, Farmacología Clínica, Farmacoterapia y Toxicología.
- Artículos originales de investigación nacional e internacional en Farmacocinética y Farmacogenética.
- Artículos de revisión de temas farmacológicos importantes sobre las diversas temáticas de la disciplina.
- Artículos de Información de nuevos fármacos incorporados al arsenal terapéutico nacional.
- Opiniones oficiales de la sociedad sobre los aspectos regulatorios y nuevas políticas de medicamentos.
- Artículos sobre nuevas metodologías docentes, aplicadas en Farmacología.
- Información detallada de nuevos reportes de reacciones adversas reportadas a nivel internacional y nacional.
- Libros y revistas de los temas.
- Promoción de actividades académicas, congresos y cursos nacionales e internacionales en farmacología.
- Publicitar las ofertas de trabajo de inserción académica en Universidades Chilenas y extranjeras, así como las oportunidades de inserción laboral en la industria privada ligada al desarrollo de fármacos.

**Revista de Farmacología de Chile es publicada por la Sociedad de Farmacología de Chile**
Contacto: Avenida Independencia 1007, Independencia, Santiago, Chile. Teléfono: 56-2-29786050; Correo Electrónico: consultas.sofarchi@gmail.com; farmacología@med.uchile.cl
Editor: Dr. Ramón Sotomayor-Zárate, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso. Avenida Gran Bretaña 1111, Playa-Ancha, Valparaíso, Chile. Teléfono: 56-32-2508050; Correo Electrónico: ramón.sotomayor@uv.cl

## *EDITORIAL*

**Ramón Sotomayor-Zárate**, Pharm.D., Ph.D.
Editor en Jefe
Vice-Presidente de la Sociedad de Farmacología de Chile

Este es el primer número del año 2014 de nuestra Revista de Farmacología de Chile y esta focalizado en revisiones sobre el tema de Farmacología Endocrina.
En este número encontraremos excelentes trabajos sobre la programación fetal y neonatal con hormonas, y sus efectos en enfermedades metabólicas y a nivel del Sistema Nervioso Central. También encontraremos trabajos que nos muestran como la exposición temprana al estrés produce alteraciones neuroendocrinas a largo plazo sobre el funcionamiento del eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal, y como el Sistema Endocanabinoide regula el control del apetito y las nuevas evidencias científicas que permiten establecer su potencial como blanco terapéutico para el tratamiento de la obesidad. También encontraremos una excelente revisión de la regulación nerviosa de la gónada femenina durante el envejecimiento y como modificaciones farmacológicas pueden retrasar el desarrollo del periodo de infertilidad. Finalmente, hemos publicado un estudio clínico desarrollado en nuestro país por más de 20 años y que da cuenta de la farmacoepidemiología del infarto agudo al miocardio.

Sin duda, todos los trabajos aceptados para publicación en este número de la Revista de Farmacología de Chile, nos ha permitido generar un excelente volumen temático que servirá a académicos y estudiantes de universidades chilenas. Aprovecho esta editorial para agradecer a cada uno de los autores que colaboraron con el desarrollo de este número y los dejamos invitados para seguir enviándonos manuscritos originales.

Finalmente, solo me queda anunciar que nuestro próximo número de Agosto de 2014 estará focalizado en la unidad temática de micro y nanofarmacología, actuando como co-editor la Dra. Carolina Gómez Gaete de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Concepción.

Un cordial saludo y un gran abrazo

**Dr. Ramón Sotomayor-Zárate**

SO FAR CHI Sociedad de Farmacología de Chile

# *EDITORIAL: FARMACOLOGÍA ENDOCRINA*

**Víctor Domingo Ramírez**, M.D.
Profesor Emerito en University of Illinois at Urbana-Champaign, Illinois, USA

En la presente edición de la Revista de Farmacología de Chile dedicada a la Farmacología Endocrina se presentan trabajos de revisión que cubren importantes tópicos relacionados con el efecto de las hormonas y las funciones cerebrales.
En el primer trabajo de Roxana Silva y cols. se revisa en forma resumida pero actualizada el rol de las hormonas sexuales sobre circuitos dopaminérgicos cerebrales. La revisión cita una serie de datos de actualidad con énfasis en la acción programática del valerato de estradiol suministrado a ratas neonatales y sus consecuencias en los niveles de dopamina de los circuitos dopaminérgicos cerebrales de la rata adulta. Estas consecuencias a largo plazo están relacionadas con la función motora y con el comportamiento de recompensa. La revisión presenta figuras relevantes que facilitan la discusión de los datos.

En la segunda revisión los autores Angélica Rivarola y Georgina M. Renard discuten como el estrés de separación de las crías de sus madres durante el periodo postnatal de las ratas (estrés por separación materna: un modelo para estudiar el funcionamiento del eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal durante la edad adulta). La fase llamada de hipo-respuesta del eje H-P-A durante el periodo postnatal y probablemente debido a la interacción materno-infantil, tiene gran relevancia clínica y los autores revisan adecuadamente los datos experimentales presentados en la literatura. Los autores revisan como la separación materno-infantil de corto-tiempo es un evento fisiológico y con beneficio en el desarrollo normal de las crías, y como la separación materno-infantil de largo-tiempo lleva a variadas alteraciones patológicas en el desarrollo. Los autores revisan también el rol del sexo en la respuesta a la separación materno-infantil que explicarían las diferencias en las conductas de machos y hembras en la edad adulta.

El trabajo de Carina Valenzuela y Gonzalo Cruz revisa la acción del Sistema Endocanabinoide (SEC) sobre el control de alimentos a nivel central y su relación con el metabolismo energético, con énfasis en el desarrollo de la Obesidad, el cual es un problema de salud de importancia universal. La revisión se enfoca en el posible uso farmacológico de antagonistas/agonistas inversos de los receptores $CB_1$ y $CB_2$, debido a los efectos orexigénicos que estos producen. Los autores hacen una excelente revisión del efecto de varias manipulaciones experimentales que llevan a la obesidad o que suprimen el consumo de alimentos en relación al rol de los antagonistas/agonistas inversos de los receptores de endocanabinoides. Se concluye en esta revisión que el SEC juega un rol importante en el síndrome metabólico y la importancia de desarrollar nuevos agentes farmacológicos selectivos para los receptores de endocanabinoides, como una posible terapia farmacológica de la obesidad.

La revisión sobre programación fetal y sus efectos en la vida postnatal de Manuel Maliqueo y Bárbara Echiburú, cubre factores maternos, placentarios y fetales, los cuales juegan un rol crucial durante la gestación y que pueden desencadenar desordenes endocrino-metabólicos en la edad adulta. Este artículo discute en detalle los tres elementos mencionados antes lo que hace fácil seleccionar aquellos de interés particular para investigaciones futuras. La sección sobre mecanismos epigenéticos en la programación fetal y las diferencias sexuales en su respuesta, es excelente junto con la presentación de figuras para resumir los datos discutidos que son de gran utilidad.

El último trabajo de Paredes y cols. revisan un tema de reciente investigación en el área reproductiva que es el cese de la función ovárica o envejecimiento reproductivo. El énfasis en esta revisión es el rol del Sistema Nervioso Simpático y la presencia de varios de los componentes del Sistema Parasimpático en el ovario murino, que ha sido empleado con bastante éxito experimental por este grupo de investigadores para entender la función ovárica. Los resultados básicos presentados en esta revisión son de importancia en la etiología de los problemas reproductivos observados en la clínica.

En conclusión uno no deja de entusiasmarse por la calidad de las revisiones de este número de la Revista de Farmacología de Chile, del uso de figuras y tablas que ayudan a la rápida comprensión de los problemas neuroendocrinos de actualidad, que han sido revisados críticamente en esta excelente edición que los editores han preparado para este número.

## *CONTENIDO*

# Revista de Farmacología de Chile

**AÑO 2014 VOLUMEN 7 NÚMERO 1**

## ARTÍCULOS DE REVISIÓN EN FARMACOLOGÍA ENDOCRINA

**ROL DE LAS HORMONAS SEXUALES SOBRE CIRCUITOS DOPAMINÉRGICOS CEREBRALES** (Role of Sex hormones on brain dopaminergic circuits). Roxana Silva, Pedro Espinosa, Raúl Riquelme, Nicole Sanguinetti, Luis González, Gonzalo Cruz, Georgina M. Renard y Ramón Sotomayor-Zárate

**QUÉ SABEMOS SOBRE LAS CONSECUENCIAS A LARGO PLAZO DE LA SEPARACIÓN MATERNA TEMPRANA Y LA RESPUESTA NEUROENDOCRINA AL ESTRÉS** (What we know about the long-term consequences of early maternal separation and neuroendocrine response to stress). Mª Angélica Rivarola y Georgina M. Renard

**SISTEMA ENDOCANABINOIDE Y TRATAMIENTO DE LA OBESIDAD: PERSPECTIVAS FARMACOLÓGICAS** (Endocannabinoid system and obesity: Pharmacological perspectives). Carina Valenzuela y Gonzalo Cruz

**PROGRAMACIÓN FETAL DE LAS ENFERMEDADES METABÓLICAS** (Fetal Programming of Metabolic Diseases). Manuel Maliqueo y Bárbara Echiburú

**REGULACIÓN NEURONAL DE LA FUNCIÓN OVÁRICA DURANTE EL ENVEJECIMIENTO REPRODUCTIVO** (Neuronal regulation of ovarian function during reproductive aging). Daniela Fernandois, Maritza Garrido, Hernán E. Lara y Alfonso H. Paredes

## ARTÍCULO ORIGINAL EN FARMACOLOGÍA CARDIOVASCULAR

**FÁRMACO-EPIDEMIOLOGÍA DEL INFARTO AGUDO AL MIOCARDIO EN EL HOSPITAL CLÍNICO DE LA UNIVERSIDAD DE CHILE: 20 AÑOS DE REGISTRO. ESTUDIO GEMI** (Pharmaco-epidemiology of Acute Myocardial Infarction at the Hospital Clínico Universidad de Chile: 20 years of registry. GEMI study)**.** Constanza López, Andrea Madariaga, Rodrigo Maldonado, Pedro Torres, Consuelo Sanhueza, Nicolás Martínez, Juan Carlos Prieto-Rayo, Marcelo Llancaqueo, Sebastián García, Rubén Aguayo, Felipe Ashwell, Mario Zapata, Carolina Nazzal y Juan Carlos Prieto

SO FAR CHI Sociedad de Farmacología de Chile

*ARTÍCULO DE REVISIÓN*

# ROL DE LAS HORMONAS SEXUALES SOBRE CIRCUITOS DOPAMINÉRGICOS CEREBRALES

(Role of Sex hormones on brain dopaminergic circuits)

**Roxana Silva*[,1], Pedro Espinosa*[,1], Raúl Riquelme*[,1], Nicole Sanguinetti[1], Luis González[1], Gonzalo Cruz[1], Georgina M. Renard[1] y Ramón Sotomayor-Zárate[1,2]**

*[1]Laboratorio de Neuroquímica y Neurofarmacología, Centro de Neurobiología y Plasticidad Cerebral, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso. [2]Núcleo Milenio Estrés y Adicción (NEDA), Pontificia Universidad Católica de Chile.*

**RESUMEN**

*La investigación en reprogramación se ha centrado en el estudio de estímulos que afectan períodos sensibles del desarrollo, como la etapa prenatal y neonatal. En este sentido, se ha demostrado que la exposición neonatal a un estrógeno exógeno (estradiol valerato) produce cambios en el contenido de catecolaminas en el área tuberoinfundibular y en la vía nigroestriatal de la rata adulta. Esto ha sido un importante foco de atención para nuestro laboratorio, ya que durante el último tiempo nos hemos centrado en la búsqueda de cómo la administración de hormonas sexuales durante la etapa neonatal pudiesen actuar como factores de vulnerabilidad para conductas patológicas, como la adicción a drogas de abuso.*

*El propósito de esta revisión es presentar el estado del arte en los efectos de las hormonas sexuales sobre la regulación neuroquímica en áreas dopaminérgicas cerebrales involucradas en recompensa y locomoción. Por otro lado, presentaremos antecedentes que nos demuestran como el cerebro es susceptible a la reprogramación por hormonas sexuales durante etapas tempranas del desarrollo.*

***Palabras Claves:*** *Dopamina, recompensa, tirosina hidroxilasa, transportador de dopamina, estradiol y testosterona*

***Publicado por la Sociedad de Farmacología de Chile***

## INTRODUCCIÓN

Recientemente en nuestro país, el Servicio Nacional para la prevención de Drogas y Alcohol (SENDA) publicó el año 2010 el 8° estudio nacional de uso de drogas en población escolar de Chile que incluyo una muestra representativa de 48.980 alumnos de 8° básico a 4to medio. En este estudio se demostró que durante el último año un 15,1%, un 3,4% y un 2,6% de los encuestados consumieron marihuana, cocaína y pasta base, respectivamente. Mientras que en el último mes un 35,5% y un 14,6% de los encuestados consumió alcohol y fumó 20 cigarros de tabaco o más por día, respectivamente. En este sentido en Chile y en el resto del mundo el consumo de drogas de abuso ha aumentado notablemente, en especial en poblaciones susceptibles, como los jóvenes.

Durante el último tiempo una importante pregunta de investigación en el campo de la neurobiología de la adicción ha sido determinar factores de vulnerabilidad que predisponen a la adicción a drogas de abuso. En este sentido, en los últimos años se ha demostrado que contaminantes ambientales con actividad hormonal que son administrados en etapas tempranas del desarrollo son capaces de producir efectos a largo plazo en el cerebro. Por ejemplo se ha observado, que algunos bifenilos policlorados administrados en el periodo neonatal a través de la lactancia produce déficit cognitivo y cambios en tareas de orientación espacial en monos y ratas adultas.

A nivel conductual, los disruptores endocrino (compuestos derivados de la industria de plástico y farmacéutica) producen a largo plazo un aumento de la actividad locomotora espontánea, así como alteraciones en la actividad locomotora inducida por drogas de abuso.

**Correspondencia a:** Dr. Ramón Sotomayor-Zárate, Laboratorio de Neuroquímica y Neurofarmacología, CNPC, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso. Av. Gran Bretaña N° 1111 Playa-Ancha, Valparaíso. Teléfono: +56-32-2508050. Correo Electrónico: ramon.sotomayor@uv.cl

*Los tres autores colaboraron igualmente.

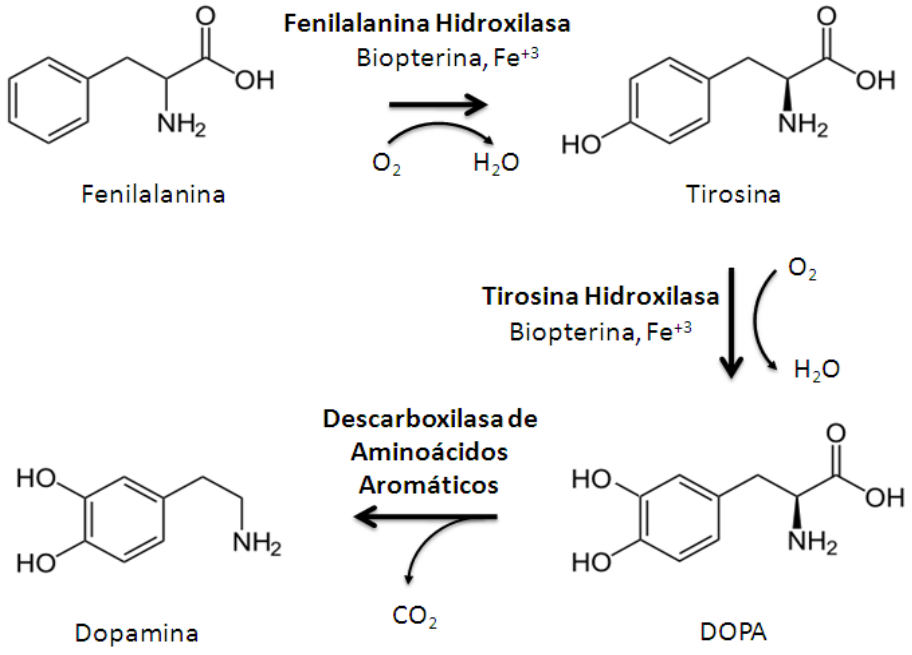
A nivel neuroquímico la administración neonatal de estradiol en ratas hembras ha demostrado incrementar el contenido catecolaminérgico en el sistema tuberoinfundibular de la rata adulta (Sotomayor-Zarate et al. 2011). Mientras que la administración neonatal y postnatal de Bisfenol-A en ratas produce un aumento en la actividad locomotora espontanea, asociada a una disminución de la inmunoreactividad para tirosina hidroxilasa (TH) en Sustancia Nigra pars compacta (SNpc) y a una disminución mesencefálica de la expresión génica del transportador de dopamina (DAT) (Ishido et al. 2007).
Sin duda la evidencia en la literatura demuestra que el periodo neonatal es una ventana de sensibilidad, para la acción de hormonas que puedan generar efectos a largo plazo sobre el funcionamiento de circuitos neuronales.

**1) DOPAMINA Y CIRCUITO MESOCORTICOLÍMBICO**

1.1) Síntesis de DA:
La dopamina (DA) es un neurotransmisor del tipo catecolaminérgico sintetizado en el citoplasma de terminales nerviosos de las neuronas dopaminérgicas, a través de un aminoácido precursor que es la tirosina, la cual proviene principalmente de la dieta o de la hidroxilación de la fenilalanina. La tirosina es transportada al cerebro y concentrada en neuronas catecolaminérgicas, donde es hidroxilada en la posición 3 del anillo bencílico por la TH, para formar dihidroxifenilalanina (L-Dopa) (Elsworth & Roth 1997). Finalmente, en neuronas dopaminérgicas la enzima descarboxilasa de aminoácidos aromáticos, descarboxila la L-Dopa para formar DA (ver figura 1). Cabe señalar que en neuronas noradrenérgicas la DA se transforma en noradrenalina (NA) por acción de la DA-β-hidroxilasa y en células cromafines de la glándula adrenal, la DA es precursor de la síntesis de NA y adrenalina.

La DA se almacena en vesículas especializadas que se fusionan con la membrana del terminal y liberan su contenido una vez llegado el potencial de acción. La DA liberada y que no es degradada enzimáticamente por la monoamino oxidasa (MAO) o por la catecol o-metil transferasa (COMT), puede activar receptores específicos para DA (ver figura 2) o ser reincorporada al terminal dopaminérgico por el DAT (Elsworth & Roth 1997).

**Figura 1: Biosíntesis de Dopamina**



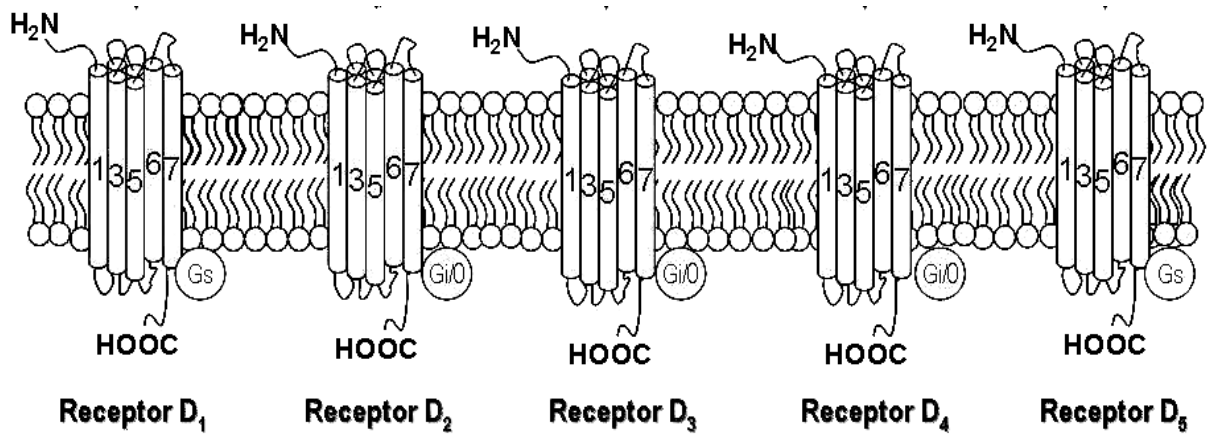
1.2) Tirosina Hidroxilasa:

En neuronas catecolaminérgicas, la enzima limitante en la síntesis de monoaminas es la TH. En este sentido, la regulación de TH y los genes involucrados en codificar esta enzima ha sido un foco de investigación de los últimos años. Así por ejemplo, una regulación rápida de actividad de TH ocurre a través de fosforilaciones y desfosforilaciones post-traduccionales en al menos cuatros distintos residuos de Serina en el extremo N-terminal de la proteína (Kumer & Vrana 1996, Haycock 1990, Dunkley et al. 2004). Estos sitios pueden fosforilarse por al menos nueve distintas proteínas quinasas, incluyendo proteína quinasa A (PKA), proteína quinasa II dependiente de $Ca^{+2}$-Calmodulina y la proteína quinasa C (PKC) (Zhang et al. 2007, Ahn et al. 2011). Estas fosforilaciones en la TH inducen un cambio conformacional en la proteína que resulta en un aumento de su actividad catalítica, generando un incremento en la síntesis de DA (Zhang et al. 2007). Otro tipo de regulación en la actividad de la TH es debido a cambios a largo plazo que pueden ocurrir a través de una regulación transcripcional (activación o represión) del gen de la TH, por numerosos estímulos extracelulares incluyendo neurotransmisores, hormonas sexuales y drogas de abuso. Algunos estímulos que generan una regulación a la alta (up-regulation) de la expresión de TH son el estrés crónico (Watanabe et al. 1995), los glucocorticoides (Radcliffe et al. 2009) y las drogas de abuso, como cafeína (Datta et al. 1996), nicotina (Radcliffe et al. 2009) y morfina (Molnar et al. 1994). Mientras que algunos fármacos, como los antidepresivos produce una regulación a la baja (down-regulation) en la expresión de la TH (Nestler et al. 1990). Respecto a la regulación de la expresión de la TH por hormonas sexuales, esta será revisada en esta la sección 3 de este manuscrito.

1.3) Circuito Mesocorticolímbico:

El circuito de mesocorticolímbico o de la recompensa está formado por estructuras neuroanatómicas, como el Área Tegmental Ventral (VTA), Núcleo Accumbens (NAc) y regiones de la Corteza Prefrontal (CPF) (Hearing et al. 2012), que generan la percepción del placer y el reforzamiento positivo, ya sea por recompensantes naturales (comida, sexo e interacción social, entre otros) o por drogas de abuso. A nivel neuroquímico, el NAc y la CPF reciben inervaciones dopaminérgicas provenientes del VTA, las cuales se activan y liberan dopamina (DA) en respuesta al estimulo de los recompensantes naturales (Bassareo & Di Chiara 1997, Pfaus et al. 1990) o por drogas de abuso (Di Chiara & Imperato 1988) (ver figura 3)

**Figura 2: Transducción de señal de receptores dopaminérgicos**

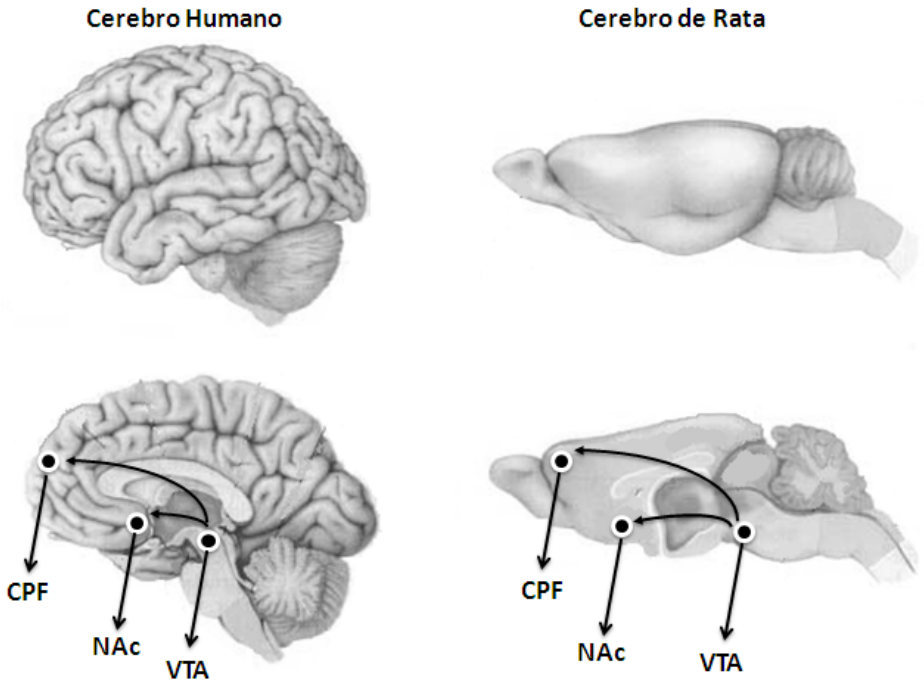


En este último caso, a pesar que la mayoría de las drogas adictivas como la cocaína, la anfetamina, los opioides, la nicotina y el etanol tienen distintos mecanismos de acción, todas estas producen efectos placenteros a través del aumento de los niveles extracelulares de DA en NAc (Di Chiara & Imperato 1988). A nivel cortical, la exposición repetida a estas drogas de abuso, genera cambios neuroplásticos en la CPF que afectan la conducta de los individuos (toma de decisiones y la motivación dirigida al cumplimiento de objetivos) y llevan a favorecer la conducta de consumo compulsivo que es característica de la adicción.

**2) FUNCIÓN REPRODUCTIVA Y HORMONAS SEXUALES**

2.1) Regulación del eje Hipotálamo-Hipófisis-Gónada:
Las funciones reproductivas se encuentran controladas por el eje Hipotálamo-Hipófisis-Gónada (HHG), el cual comienza con la activación de neuronas hipotalámicas que expresan el factor liberador de gonadotrofinas (GnRH). Estas neuronas liberan GnRH frente a estímulos depolarizantes, como glutamato y noradrenalina (Maffucci & Gore 2009) al sistema portal hipofisiario, que comunica el Hipotálamo con la Hipófisis anterior. A nivel de la hipófisis la GnRH estimula a su receptor metabotrópico acoplado a proteína Gq en las células gonadotropas, favoreciendo la síntesis y liberación de las hormonas Folículo Estimulante (FSH) y Luteinizante (LH). Una vez que las gonadotrofinas son liberadas a la circulación general, en la hembra LH estimula la ovulación y las síntesis de andrógenos en las células de la teca, mientras que FSH estimula a su receptor en las células de la granulosa para producir la activación de la aromatasa que lleva a la síntesis de estradiol. Ambos receptores de gonadotrofinas, son receptores metabotrópicos acoplados a proteína Gs, lo que lleva a un aumento del AMPc y a la subsecuente activación de la proteína quinasa A. Por otro lado, la síntesis de progesterona en la hembra se produce fundamentalmente en el cuerpo Lúteo, que es el remanente del folículo que ha ovulado.

**Figura 3: Circuito Mesocorticolímbico o de la Recompensa**



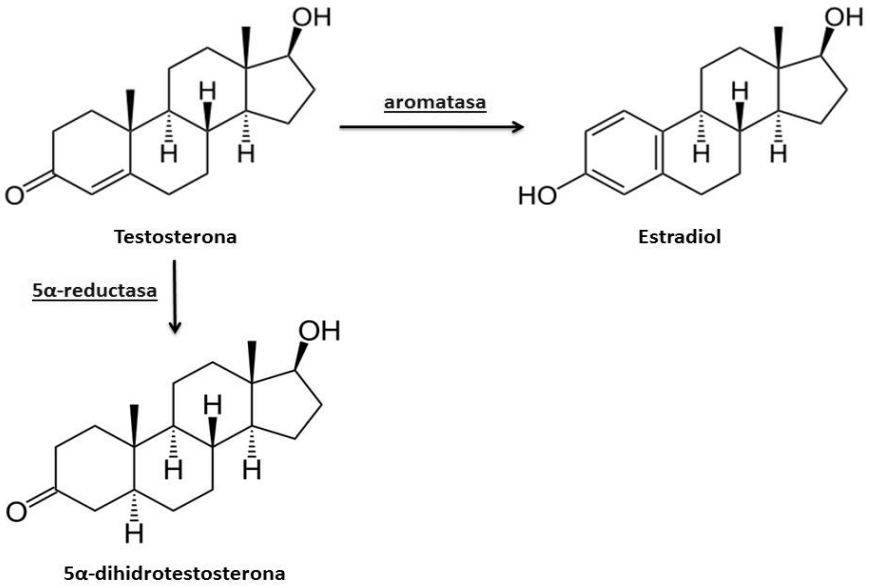
En los machos, la LH estimula la biosíntesis de testosterona en células Leydig y la FSH la espermatogénesis en las células de Sertoli. La testosterona es metabolizada a través de la citocromo P450 aromatasa a estradiol en las gónadas (células de sertoli en machos y células de la granulosa en la hembra) y en tejidos no reproductivos como el adiposo, vasos sanguíneos, placenta y entre otros el cerebro. En machos se produce otro metabolito activo de la testosterona por acción de la citocromo P450 5α-reductasa (Randall 1994) (ver figura 4). Este metabolito es la dihidrotestosterona (DHT: andrógeno no aromatizable), la cual tiene una afinidad tres veces mayor por los receptores de andrógenos y en la periferia es producida principalmente en la próstata, testículos, folículos pilosos y glándula adrenal (Amory et al. 2008). Cabe señalar, que en hembras y machos la retroalimentación negativa del eje HHG es producida por el estradiol y la testosterona, respectivamente.

2.2) Hormonas Sexuales y sus receptores:

Las hormonas sexuales producidas por las gónadas tienen efectos en diversos tejidos que son sensibles a su acción, a través de la expresión de receptores específicos. Las hormonas sexuales se caracterizan desde el punto de vista fisicoquímico por su lipofilia que les permite cruzar por difusión simple la membrana celular. Por este motivo, la localización celular de sus receptores es principalmente citoplasmática, produciendo diversos efectos fisiológicos, como crecimiento, diferenciación y regulación de órganos del sistema reproductor. Sin embargo, otros tejidos no reproductivos como hígado, hueso, músculo y cerebro son sensibles a la acción de las hormonas sexuales.

En la hembra, el estrógeno más abundante y potente es el 17β-estradiol (E2) y sus acciones biológicas principales son mediadas por receptores específicos del tipo alfa (ERα) y beta (ERβ) (Enmark & Gustafsson 1999). Ambos receptores presentan una expresión diferencial en tejidos específicos (Pfaffl et al. 2001) y una variable distribución en órganos reproductivos y no reproductivos (Kuiper et al. 1997, Carley et al. 2003). Ambos ERs pertenecen a la superfamilia de receptores nucleares esteroideos, que comparten una arquitectura estructural común. Estos muestran un alto grado de homología en la secuencia primaria de aminoácidos y una muy similar arquitectura terciaria. Sin embargo, estos dos ERs difieren considerablemente en los dominios de transactivación que contienen los motivos de función de activación que pueden mostrar acciones biológicas diferentes en tejidos específicos a través de interacciones funcionales con diferentes reguladores transcripcionales, incluyendo coactivadores, corepresores y cointegradores (Enmark & Gustafsson 1999, McKenna et al. 1999).

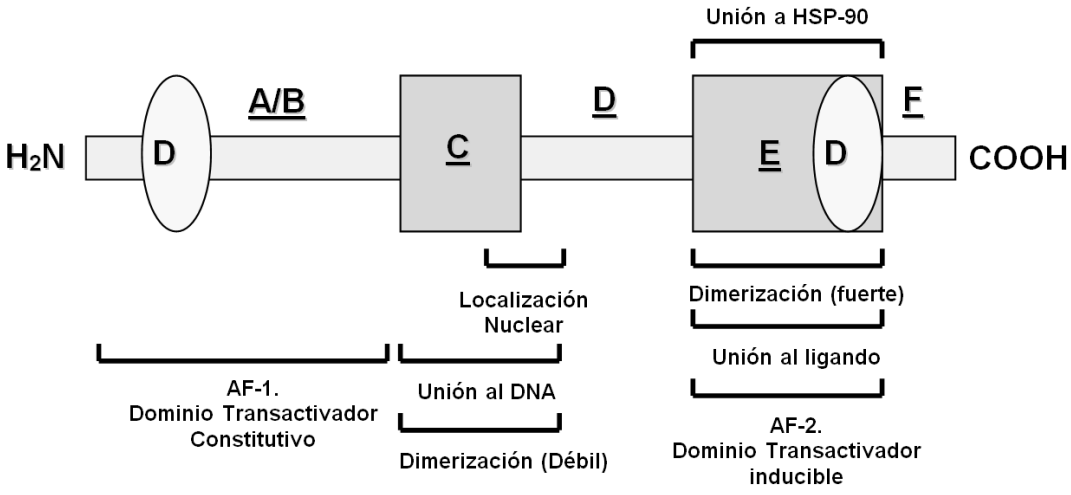
**Figura 4: Metabolitos activos de la Testosterona**



Brevemente y como se puede observar en la figura 5, estos receptores se han dividido en módulos denominados con las letras A a la F y que se conservan en diferentes familias de receptores nucleares. Los dominios C y E, son los dominios más conservados y comparten en el ERα y ERβ, un 95% y un 55% de homología, respectivamente. Por otro lado los dominios A/B son los más variables y el dominio C es el responsable de la unión del complejo estrógeno-receptor al DNA. El dominio E es muy importante para el correcto funcionamiento de los ER, favoreciendo la dimerización del receptor. En el Dominio E están presentes diversos sitios de unión, por ejemplo los ligandos con actividad estrogénica se unen a este sitio facilitando la activación del receptor por medio del sitio AF-2 (transactivación inducible, dependiente de ligando). Por otro lado, en este mismo sitio se une la proteína chaperona Hsp90, manteniendo al receptor de estrógenos secuestrado en el espacio citoplasmático.

Ambos subtipos se han encontrado no solo en tejidos reproductivos o periféricos, sino también a nivel cerebral (Laflamme et al. 1998). En la ausencia de ligando, los ERs existe como monómeros (estado inactivado) y forman un complejo multiproteico que comprende inmunofilinas y la proteína de shock-térmico (Hsp90) (Pratt & Toft 1997, Ratajczak et al. 1993). La activación de los ERs por E2 produce la fosforilación de varios residuos distintos de serina/treonina que inducen la disociación de la Hsp90. Una vez activados los ERs por E2 pueden homo o heterodimerizar y traslocar al núcleo e interactúar con una secuencia específica del DNA (ERE: elemento de respuesta a estrógeno) cercana al promotor de genes blancos (Kumar & Chambon 1988, Sanchez et al. 2002). También se ha observado que E2 al unirse a los ERs, puede inducir un cambio conformacional que genera un espacio hidrofóbico que es reconocido por coactivadores transcripcionales, como p160 y la proteína de unión a elemento de respuesta de adenosín monofosfato cíclico (CREB). El complejo E2-ER-coactivador facilita la transcripción de genes de respuesta a estrógeno por inducción de un cambio en la estructura de la cromatina de promotores blancos y por el reclutamiento de componentes de la maquinaria transcripcional del DNA (Kamei et al. 1996). Alternativamente E2 puede regular la expresión de genes vía interacciones proteína-proteína, donde los ERs activados por ligando actúan como factores de transcripción que puede modular la expresión de genes blancos sin estar directamente en contacto con el DNA. Esto es mediado por interacciones funcionales con otros factores transcripcionales que se unen a sus elementos en el DNA (ERE) y que son afines con el promotor de genes blancos (Hall et al. 2001). Por último, se ha descrito que E2 puede interactuar con receptores específicos en la superficie celular que a través de la generación de segundos mensajeros que regulan indirectamente la expresión de genes (Maharjan et al. 2005, Maharjan et al. 2010).

**Figura 5: Organización estructural y funcional de los receptores de estrógenos**




Representación esquemática de la organización estructural de los ER. Adaptado de "Farmacología Molecular. Receptores, transducción de señales y activación de genes. Marcelo G. Kazanietz. Cap. 18, pág. 309".

Otro esteroide sexual que activa receptores nucleares ligando dependiente, corresponde a la testosterona (T). La T induce la expresión de genes vía activación directa de su receptor de andrógenos (AR) o interactuando con ERs después de su aromatización a E2. En este sentido, T puede convertirse en E2 por acción de la enzima citocromo p450 aromatasa (Cyp19A1). Por otro lado, T puede convertirse por acción de la 5α-reductasa en Dihidrotestosterona (DHT), la cual es un andrógeno no-aromatizable y con mayor potencia que la T sobre el AR (Celotti et al. 1992). Cabe señalar, que tanto los ERs (ERα y ERβ), como el AR se encuentran presentes en el cerebro de mamíferos (Ravizza et al. 2003).

**3) HORMONAS SEXUALES Y EFECTOS CEREBRALES**

La lipofilia de las hormonas sexuales es una característica que les permiten cruzar por difusión simple las membranas celulares y acceder a través de la barrera hematoencefálica al nivel del sistema nervioso central. Varios estudios han demostrado que hormonas esteroidales, como la T contribuyen en regular el número de neuronas dopaminérgicas en cerebro, a través de la regulación de la sobrevivencia celular o a través de la expresión de fenotipos dopaminérgicos en SNpc y VTA (Johnson et al. 2010a). Por otro lado, en neuronas dopaminérgicas mesencefálicas, se ha demostrado que la ovariectomización (OVX) de ratas y ratones hembras adultas produce una disminución de neuronas TH positivas en SNpc y VTA (Johnson et al. 2010b). Los autores de este estudio demostraron que el reemplazo con agentes estrogénicos, como E2 (agonista no selectivo de ERα y ERβ), diarilpropionitrilo (DPN: agonista selectivo de ERβ) y propil-pirazol-triol (PPT: agonista selectivo de ERα) después de la OVX, restablece los niveles normales la expresión de TH en SNpc y VTA (Johnson et al. 2010b). Interesantemente, los mismos autores usando un protocolo similar al anterior observaron que en ratas y ratones machos la castración produce un aumento en el número de neuronas TH positivas en SNpc y VTA (Johnson et al. 2010a). Estos experimentos demostraron un efecto modulador negativo de los andrógenos sobre la expresión de TH en neuronas dopaminérgicas. Por otro lado, a nivel periférico se ha demostrado que disruptores endocrinos con actividad estrogénica, como p-nonilfenol y bisfenol-A (BPA) aumentan la actividad de la TH, produciendo una mayor síntesis de catecolaminas en células de médula adrenal bovina (Yanagihara et al. 2006, Yanagihara et al. 2005).

A nivel conductual, se ha demostrado la influencia de los estrógenos de la hembra sobre conductas asociadas a drogas de abuso. Así por ejemplo la administración de cocaína en ratas OVX no produce la conducta de actividad locomotora inducida por cocaína que se observa en ratas hembras control (Segarra et al. 2010). Otro test conductual ampliamente utilizado en la neurobiología de la adicción es la preferencia de lugar condicionado. Este test asocia los efectos reforzantes de las drogas de abuso al contexto de administración de la misma. En este sentido, se ha demostrado que la administración de anfetamina en ratas OVX no produce la preferencia de lugar condicionado que se observa en ratas hembras control (Silverman & Koenig 2007). Sin embargo, el reemplazo hormonal con E2 o DPN en las ratas OVX, produce la preferencia de lugar condicionado a la administración de la anfetamina (Silverman & Koenig 2007).

No solo se ha observado que los estrógenos son capaces de modular la expresión de TH, sino también se ha demostrado que los estrógenos son importantes moduladores de otras importantes proteínas que regulan el sistema dopaminérgico. En este sentido, la OVX de ratas de 3 meses de edad demostró por la técnica de autoradiografía una reducción significativamente de los niveles de DAT en el NAc (Chavez et al. 2010), mientras el reemplazo con E2 en ratas OVX restituye a nivel normal la expresión del transportador (Chavez et al. 2010).

El ratas machos el rol de T en neuronas dopaminérgicas y en conductas inducidas por drogas de abuso ha sido menos estudiado. Recientemente se ha demostrado a nivel conductual que la administración de cocaína en machos castrados produce un incremento significativo en la actividad locomotora inducida por cocaína al compararlo con ratas machos control (Menendez-Delmestre & Segarra 2011).

**4) REPROGRAMACIÓN NEONATAL CON HORMONAS SEXUALES**

El concepto de programming o reprogramación fue acuñado por Lucas (Lucas 1991) y corresponde a la redirección fisiológica de un órgano o tejido por efecto de un estimulo o daño en un periodo sensible del desarrollo fetal o neonatal y que provoca cambios funcionales adversos a largo plazo. Esta definición involucra la existencia de periodos críticos de vulnerabilidad (también llamado como “ventanas específicas de sensibilidad”) para condiciones adversas o insultos que lleven a la instauración de efectos deletéreos en la vida adulta de los individuos. Así por ejemplo, se ha evidenciado efectos de la reprogramación neonatal con hormonas sexuales sobre neurotransmisores monoaminérgicos de ratas hembras (Sotomayor-Zarate et al. 2011, Sundblad & Eriksson 1997) y machos adultos (Dominguez et al. 2003). La evidencia antes descrita demostró que la administración neonatal de estradiol valerato (EV) produce un incremento de neurotransmisores monoaminérgicos, como DA, noradrenalina (NA) y serotonina (5-HT) en áreas hipotalámicas tuberales, como Hipotálamo Ventromedial y Núcleo Arcuato (Sotomayor-Zarate et al. 2011). En este

sentido, recientemente nuestro laboratorio demostró que la administración neonatal de EV en ratas hembras produce también un aumento en el contenido de NA y DA en SNpc-VTA y Cuerpo Estriado (CE) al día post-natal 60 (Cruz et al. Accepted). Interesantemente, en este trabajo se observó que a pesar de existir un mayor contenido de DA, la administración de una dosis aguda de anfetamina no produce un aumento en la actividad locomotora de las ratas estrogenizadas (Cruz et al. Accepted). Posiblemente otras proteínas claves en la regulación dopaminérgica estén en este modelo desreguladas.

Respecto a los efectos de los andrógenos durante las etapas del desarrollo, se ha observado que la máxima sensibilidad al efecto de estas hormonas es el periodo gestacional, la niñez y la pubertad (Lenz et al. 2012). La razón de esta alta sensibilidad se debe a que el cerebro expresa receptores de andrógenos en diversas áreas (Sheridan 1984) que son capaces de regular la expresión de diversas proteínas y afectar la conducta (Matsuda et al. 2008). Considerando que la etapa neonatal es muy sensible a la acción de andrógenos, Sundblad y Eriksson (Sundblad & Eriksson 1997) demostraron que la androgenización neonatal en ratas hembras produce la disminución de los niveles extracelulares de serotonina (5-HT) en la amígdala. Mientras que a nivel conductual, la exposición neonatal a testosterona produce una disminución de la memoria espacial y de neuronas TH positivas en CPF, en un modelo animal de déficit atencional con hiperactividad (King et al. 2000).

Del punto de vista de la reprogramación, se ha visto que la exposición prenatal a glucocorticoides produce una disminución sérica de los niveles de testosterona, un incremento del mRNA del AR en hipotálamo (Oliveira et al. 2011). Respecto, a la relación entre andrógenos y conductas adictivas, se ha establecido que un exceso de andrógenos (testosterona) en la adolescencia, podrían tener un rol en el desarrollo y la mantención de la dependencia al alcohol (Lenz et al. 2012).

**CONCLUSIONES**

Tras lo expuesto anteriormente, existe evidencia en la literatura sobre los efectos producidos por las hormonas sexuales en diversas estructuras cerebrales, sin embargo las implicancias de la administración neonatal de estas hormonas sobre estructuras cerebrales relacionadas con recompensa (áreas mesolímbicas) y movimiento (vía nigroestriatal) han sido muy poco estudiadas. Se ha demostrado que la exposición a hormonas sexuales en periodos específicos de vulnerabilidad tiene un rol en el desarrollo del sistema nervioso central y otros órganos, produciendo alteraciones a largo plazo. Referente a las alteraciones cerebrales, nuestro laboratorio, ha propuesto que el sistema mesocorticolímbico es sensible a estos efectos, específicamente las neuronas dopaminérgicas, las cuales sintetizan mayores niveles de DA en núcleos como SN-VTA y el CE frente a la exposición de Estradiol Valerato (EV) y Testosterona Propionato (TP), lo que se podría traducir en una mayor susceptibilidad al desarrollo de una conducta adictiva, ya que una mayor liberación de DA repercute en la activación de núcleos cerebrales relacionados con el placer, la motivación y la recompensa. Sin embargo los efectos conductuales que observamos son contradictorios por lo que se plantea que existen otros mecanismos involucrados que son regulados por la exposición neonatal a hormonas sexuales. Nuestro equipo se encuentra actualmente trabajando sobre las implicancias de la administración neonatal de hormonas sexuales como EV y TP, además de la Dihidrotestosterona (DHT) y disruptores endocrinos como BPA en los cambios en los niveles de expresión de mRNA de TH y DAT en estructuras cerebrales como VTA y NAc (circuito mesolímbico) en ratas adultas. De esta manera pretendemos dilucidar el rol de la exposición temprana a hormonas sexuales sobre los efectos de las drogas de abuso en la vida adulta y comprender si estas son un factor de vulnerabilidad para el desarrollo de la adicción.

**AGRADECIMIENTOS:**

Los resultados presentados en esta revisión y que corresponden al contenido de catecolaminas en SN-VTA y la actividad locomotora inducida por anfetamina en ratas control y estrogenizadas, han sido financiados a través de los Proyectos FONDECYT Nº 111-21205 e Iniciativa Científica Milenio Nº P10/063-F. Los autores de este trabajo declaran no tener conflicos de interes.

**BIBLIOGRAFÍA:**

Ahn, J. H., Kim, Y., Kim, H. S., Greengard, P. and Nairn, A. C. (2011) Protein kinase C-dependent dephosphorylation of tyrosine hydroxylase requires the B56delta heterotrimeric form of protein phosphatase 2A. PLoS One, 6, e26292.

Amory, J. K., Anawalt, B. D., Matsumoto, A. M., Page, S. T., Bremner, W. J., Wang, C., Swerdloff, R. S. and Clark, R. V. (2008) The effect of 5alpha-reductase inhibition with dutasteride and finasteride on bone mineral density, serum lipoproteins, hemoglobin, prostate specific antigen and sexual function in healthy young men. The Journal of urology, 179, 2333-2338.

Bassareo, V. and Di Chiara, G. (1997) Differential influence of associative and nonassociative learning mechanisms on the responsiveness of prefrontal and accumbal dopamine transmission to food stimuli in rats fed ad libitum. J Neurosci, 17, 851-861.

Carley, M. E., Rickard, D. J., Gebhart, J. B., Webb, M. J., Podratz, K. C. and Spelsberg, T. C. (2003) Distribution of estrogen receptors alpha and beta mRNA in mouse urogenital tissues and their expression after oophorectomy and estrogen replacement. Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct, 14, 141-145.

Celotti, F., Melcangi, R. C. and Martini, L. (1992) The 5 alpha-reductase in the brain: molecular aspects and relation to brain function. Front Neuroendocrinol, 13, 163-215.

Cruz, G., Riquelme, R., Espinosa, P., Jara, P., Dagnino-Subiabre, A., Renard, G. M. and Sotomayor-Zarate, R. (Accepted) Neonatal exposure to estradiol valerate increases dopamine content in nigrostriatal pathway during adulthood in the rat. Horm Metab Res.

Chavez, C., Hollaus, M., Scarr, E., Pavey, G., Gogos, A. and van den Buuse, M. (2010) The effect of estrogen on dopamine and serotonin receptor and transporter levels in the brain: an autoradiography study. Brain Res, 1321, 51-59.

Datta, U., Noailles, P. A., Rodriguez, M., Kraft, M., Zhang, Y. and Angulo, J. A. (1996) Accumulation of tyrosine hydroxylase messenger RNA molecules in the rat mesencephalon by chronic caffeine treatment. Neurosci Lett, 220, 77-80.

Di Chiara, G. and Imperato, A. (1988) Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. Proc Natl Acad Sci U S A, 85, 5274-5278.

Dominguez, R., Cruz-Morales, S. E., Carvalho, M. C., Xavier, M. and Brandao, M. L. (2003) Effect of steroid injection to newborn rats on serotonin activity in frontal cortex and raphe. Neuroreport, 14, 597-599.

Dunkley, P. R., Bobrovskaya, L., Graham, M. E., von Nagy-Felsobuki, E. I. and Dickson, P. W. (2004) Tyrosine hydroxylase phosphorylation: regulation and consequences. J Neurochem, 91, 1025-1043.

Elsworth, J. D. and Roth, R. H. (1997) Dopamine synthesis, uptake, metabolism, and receptors: relevance to gene therapy of Parkinson's disease. Exp Neurol, 144, 4-9.

Enmark, E. and Gustafsson, J. A. (1999) Oestrogen receptors - an overview. J Intern Med, 246, 133-138.

Hall, J. M., Couse, J. F. and Korach, K. S. (2001) The multifaceted mechanisms of estradiol and estrogen receptor signaling. J Biol Chem, 276, 36869-36872.

Haycock, J. W. (1990) Phosphorylation of tyrosine hydroxylase in situ at serine 8, 19, 31, and 40. J Biol Chem, 265, 11682-11691.

Hearing, M. C., Zink, A. N. and Wickman, K. (2012) Cocaine-induced adaptations in metabotropic inhibitory signaling in the mesocorticolimbic system. Rev Neurosci, 23, 325-351.

Ishido, M., Yonemoto, J. and Morita, M. (2007) Mesencephalic neurodegeneration in the orally administered bisphenol A-caused hyperactive rats. Toxicol Lett, 173, 66-72.

Johnson, M. L., Day, A. E., Ho, C. C., Walker, Q. D., Francis, R. and Kuhn, C. M. (2010a) Androgen decreases dopamine neurone survival in rat midbrain. J Neuroendocrinol, 22, 238-247.

Johnson, M. L., Ho, C. C., Day, A. E., Walker, Q. D., Francis, R. and Kuhn, C. M. (2010b) Oestrogen receptors enhance dopamine neurone survival in rat midbrain. J Neuroendocrinol, 22, 226-237.

Kamei, Y., Xu, L., Heinzel, T. et al. (1996) A CBP integrator complex mediates transcriptional activation and AP-1 inhibition by nuclear receptors. Cell, 85, 403-414.

King, J. A., Barkley, R. A., Delville, Y. and Ferris, C. F. (2000) Early androgen treatment decreases cognitive function and catecholamine innervation in an animal model of ADHD. Behavioural brain research, 107, 35-43.

Kuiper, G. G., Carlsson, B., Grandien, K., Enmark, E., Haggblad, J., Nilsson, S. and Gustafsson, J. A. (1997) Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors alpha and beta. Endocrinology, 138, 863-870.

Kumar, V. and Chambon, P. (1988) The estrogen receptor binds tightly to its responsive element as a ligand-induced homodimer. Cell, 55, 145-156.

Kumer, S. C. and Vrana, K. E. (1996) Intricate regulation of tyrosine hydroxylase activity and gene expression. J Neurochem, 67, 443-462.

Laflamme, N., Nappi, R. E., Drolet, G., Labrie, C. and Rivest, S. (1998) Expression and neuropeptidergic characterization of estrogen receptors (ERalpha and ERbeta) throughout the rat brain: anatomical evidence of distinct roles of each subtype. J Neurobiol, 36, 357-378.

Lenz, B., Muller, C. P., Stoessel, C., Sperling, W., Biermann, T., Hillemacher, T., Bleich, S. and Kornhuber, J. (2012) Sex hormone activity in alcohol addiction: integrating organizational and activational effects. Progress in neurobiology, 96, 136-163.

Lucas, A. (1991) Programming by early nutrition in man. Ciba Found Symp, 156, 38-50; discussion 50-35.

Maffucci, J. A. and Gore, A. C. (2009) Chapter 2: hypothalamic neural systems controlling the female reproductive life cycle gonadotropin-releasing hormone, glutamate, and GABA. Int Rev Cell Mol Biol, 274, 69-127.

Maharjan, S., Serova, L. and Sabban, E. L. (2005) Transcriptional regulation of tyrosine hydroxylase by estrogen: opposite effects with estrogen receptors alpha and beta and interactions with cyclic AMP. J Neurochem, 93, 1502-1514.

Maharjan, S., Serova, L. I. and Sabban, E. L. (2010) Membrane-initiated estradiol signaling increases tyrosine hydroxylase promoter activity with ER alpha in PC12 cells. J Neurochem, 112, 42-55.

Matsuda, K., Sakamoto, H. and Kawata, M. (2008) Androgen action in the brain and spinal cord for the regulation of male sexual behaviors. Current opinion in pharmacology, 8, 747-751.

McKenna, N. J., Xu, J., Nawaz, Z., Tsai, S. Y., Tsai, M. J. and O'Malley, B. W. (1999) Nuclear receptor coactivators: multiple enzymes, multiple complexes, multiple functions. J Steroid Biochem Mol Biol, 69, 3-12.

Menendez-Delmestre, R. and Segarra, A. C. (2011) Testosterone is essential for cocaine sensitization in male rats. Physiol Behav, 102, 96-104.

Molnar, J., He, J. R. and Barraclough, C. A. (1994) Effect of morphine on hypothalamic tyrosine hydroxylase mRNA levels in dopaminergic neurons and on preoptic DOPAC levels measured by microdialysis. Brain Res Mol Brain Res, 22, 97-106.

Nestler, E. J., McMahon, A., Sabban, E. L., Tallman, J. F. and Duman, R. S. (1990) Chronic antidepressant administration decreases the expression of tyrosine hydroxylase in the rat locus coeruleus. Proc Natl Acad Sci U S A, 87, 7522-7526.

Oliveira, M., Leao, P., Rodrigues, A. J., Pego, J. M., Cerqueira, J. J. and Sousa, N. (2011) Programming effects of antenatal corticosteroids exposure in male sexual behavior. The journal of sexual medicine, 8, 1965-1974.

Pfaffl, M. W., Lange, I. G., Daxenberger, A. and Meyer, H. H. (2001) Tissue-specific expression pattern of estrogen receptors (ER): quantification of ER alpha and ER beta mRNA with real-time RT-PCR. APMIS, 109, 345-355.

Pfaus, J. G., Damsma, G., Nomikos, G. G., Wenkstern, D. G., Blaha, C. D., Phillips, A. G. and Fibiger, H. C. (1990) Sexual behavior enhances central dopamine transmission in the male rat. Brain Res, 530, 345-348.

Pratt, W. B. and Toft, D. O. (1997) Steroid receptor interactions with heat shock protein and immunophilin chaperones. Endocr Rev, 18, 306-360.

Radcliffe, P. M., Sterling, C. R. and Tank, A. W. (2009) Induction of tyrosine hydroxylase mRNA by nicotine in rat midbrain is inhibited by mifepristone. J Neurochem, 109, 1272-1284.

Randall, V. A. (1994) Role of 5 alpha-reductase in health and disease. Bailliere's clinical endocrinology and metabolism, 8, 405-431.

Ratajczak, T., Carrello, A., Mark, P. J., Warner, B. J., Simpson, R. J., Moritz, R. L. and House, A. K. (1993) The cyclophilin component of the unactivated estrogen receptor contains a tetratricopeptide repeat domain and shares identity with p59 (FKBP59). J Biol Chem, 268, 13187-13192.

Ravizza, T., Veliskova, J. and Moshe, S. L. (2003) Testosterone regulates androgen and estrogen receptor immunoreactivity in rat substantia nigra pars reticulata. Neurosci Lett, 338, 57-61.

Sanchez, R., Nguyen, D., Rocha, W., White, J. H. and Mader, S. (2002) Diversity in the mechanisms of gene regulation by estrogen receptors. Bioessays, 24, 244-254.

Segarra, A. C., Agosto-Rivera, J. L., Febo, M., Lugo-Escobar, N., Menendez-Delmestre, R., Puig-Ramos, A. and Torres-Diaz, Y. M. (2010) Estradiol: a key biological substrate mediating the response to cocaine in female rats. Horm Behav, 58, 33-43.

Sheridan, P. J. (1984) Autoradiographic localization of steroid receptors in the brain. Clinical neuropharmacology, 7, 281-295.

Silverman, J. L. and Koenig, J. I. (2007) Evidence for the involvement of ERbeta and RGS9-2 in 17-beta estradiol enhancement of amphetamine-induced place preference behavior. Horm Behav, 52, 146-155.

Sotomayor-Zarate, R., Tiszavari, M., Cruz, G. and Lara, H. E. (2011) Neonatal exposure to single doses of estradiol or testosterone programs ovarian follicular development-modified hypothalamic neurotransmitters and causes polycystic ovary during adulthood in the rat. Fertil Steril, 96, 1490-1496.

Sundblad, C. and Eriksson, E. (1997) Reduced extracellular levels of serotonin in the amygdala of androgenized female rats. Eur Neuropsychopharmacol, 7, 253-259.

Watanabe, Y., McKittrick, C. R., Blanchard, D. C., Blanchard, R. J., McEwen, B. S. and Sakai, R. R. (1995) Effects of chronic social stress on tyrosine hydroxylase mRNA and protein levels. Brain Res Mol Brain Res, 32, 176-180.

Yanagihara, N., Liu, M., Toyohira, Y., Tsutsui, M., Ueno, S., Shinohara, Y., Takahashi, K. and Tanaka, K. (2006) Stimulation of catecholamine synthesis through unique estrogen receptors in the bovine adrenomedullary plasma membrane by 17beta-estradiol. Biochem Biophys Res Commun, 339, 548-553.

Yanagihara, N., Toyohira, Y., Ueno, S., Tsutsui, M., Utsunomiya, K., Liu, M. and Tanaka, K. (2005) Stimulation of catecholamine synthesis by environmental estrogenic pollutants. Endocrinology, 146, 265-272.

Zhang, D., Kanthasamy, A., Yang, Y. and Anantharam, V. (2007) Protein kinase C delta negatively regulates tyrosine hydroxylase activity and dopamine synthesis by enhancing protein phosphatase-2A activity in dopaminergic neurons. J Neurosci, 27, 5349-5362.

SO FAR CHI Sociedad de Farmacología de Chile

*ARTÍCULO DE REVISIÓN*

# WHAT WE KNOW ABOUT THE LONG-TERM CONSEQUENCES OF EARLY MATERNAL SEPARATION AND NEUROENDOCRINE RESPONSE TO STRESS

(Qué sabemos sobre las consecuencias a largo plazo de la separación materna temprana y la respuesta neuroendocrina al estrés)

**M. Angélica Rivarola[1] and Georgina M. Renard[2]**

*[1] Cátedra de Fisiología Animal- CONICET - Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina. [2] Laboratorio de Neuroquímica y Neurofarmacología, Centro de Neurobiología y Plasticidad Cerebral, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile.*

**ABSTRACT**

*Adverse conditions during early life are a risk factor for stress-related diseases. How this early adversity induce long-term effects is not well understood, however there are several evidence that the stress hormones play a determining role. Here we will focus on evidence obtained from the long-term consequences of prolonged maternal separation procedures.*

*The purpose of this article is to review the literature about the influence of early experiences on the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis function and endocrine stress responses in rodents. Early experiences have long-term influences on the behavioral and endocrine responses to stress and the alterations depend mostly on environment conditions and the interaction between mother and offspring. In the rodent, brief periods of separation result in an attenuated adrenal response to stress (reduced secretion of corticosterone). In contrast, longer periods of separation result in an exaggerated response. Besides, it is known that the prevalence of affective and anxiety disorders are significantly higher in women than in men. Emotional reactivity to stress and abnormalities in HPA axis activity have been implicated in the etiology of both depression and anxiety disorders. Therefore sexually dimorphic effects of maternal separation on the HPA axis function are discussed since gender is an important factor influencing the response to stress.*

*The literature clearly demonstrates that early experiences trigger long-term changes in the stress system that may permanently alter brain and behaviour.*

***Keywords:*** *maternal separation, stress, hypothalamic-pituitary-adrenal axis, corticosterone, sex differences.*

***Published by the Chilean Society of Pharmacology***

## INTRODUCTION

The accumulation of stressful life events has been reported to be a particularly efficient factor to precipite pathological outcomes. Separation from parents and maltreatment during childhood is associated with increased prevalence of adult psychiatric illness, including depression and anxiety disorders (De Bellis 2005, Nemeroff 2004) and alterations in neuroendocrine response to stress (McEwen 2003).

Maternal separation in rodents is an animal model used to study different childhood experiences that could induce psychiatric illness during life. Neonatal rats and mice go through a period of time during which the absence of stress is crucial for the normal development of the nervous and endocrine system. This period has been termed the "Stress hyporesponsive period" (SHRP) and the characteristics are discussed below. A substantial part of brain development happens after birth, and consequently is subject to environmental influences, such as maternal separation (MS), hypothermia or food deprivation, some of which may negatively affect brain maturation (Kuhn and Schanberg, 1998; Zhang et al., 2002).

**Correspondence to:** Dr. Georgina M. Renard, Laboratorio de Neuroquímica y Neurofarmacología, CNPC, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso. Av. Gran Bretaña N°1111, Playa-Ancha, Valparaíso, Chile. Phone: 56-32-2508050; Fax: 56-32-2508089; Email: georgina.renard@uv.cl

The present article focuses on rodent models of prolonged MS during postnatal period that induced changes in neuroendocrine parameters. Several lines of evidence from rodent MS studies support the notion that the early-life rearing conditions have long-term consequences for stress response as adults. The emphasis is on the alterations in the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis and neuropeptides as CRF and AVP and alterations in extra hypothalamic areas of the brain that regulate the HPA axis. The article provides a mini review that is focused on data from experimental studies that investigated the impact of early-life conditions on neuroendocrine parameters. The neuroendocrine parameters are known to be crucial for normal social, emotional, and neurobiological development.

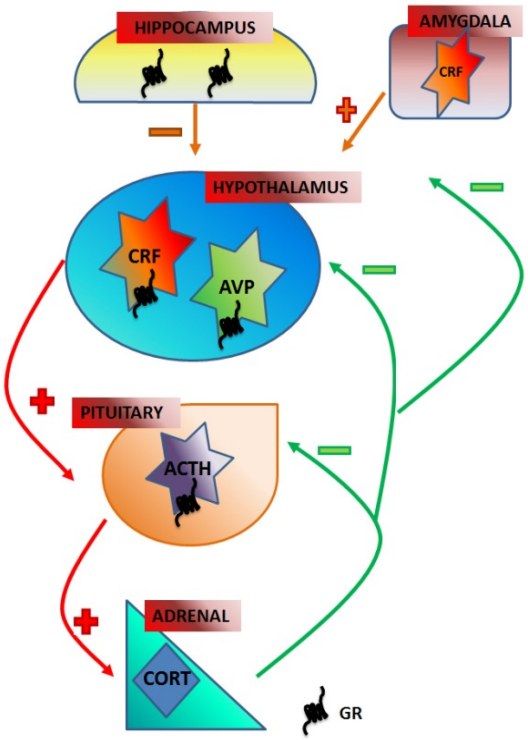
**HYPOTHALAMIC-PITUITARY-ADRENAL AXIS**

The major neuroendocrine axis mediating the hormonal stress response is the HPA axis. The HPA axis activation is triggered by a cascade of signals beginning with the release into the hypophyseal-portal system of the neuropeptides corticotropin-releasing factor (CRF) along with a second secretagogue, arginine vasopressin (AVP), from the paraventricular nucleus of the hypothalamus (PVN). During stress response CRF and AVP bring about the release of adrenocorticotropic hormone (ACTH) from the anterior pituitary. Circulating ACTH is the key regulator of glucocorticoid secretion by the adrenal gland (cortisol in primates and corticosterone (CORT) in rodent). The hormones secreted by the HPA axis control their own secretion through a neuroendocrine negative feedback loop by acting not only at the hypothalamus and the pituitary gland but also at extrahypothalamic centers (i.e. hippocampus, amygdala and prefrontal cortex), to inhibit the further release of hypothalamic CRF and AVP (Fig. 1) (Herman et al. 2003, Tsigos & Chrousos 2002, Romeo 2010, De Kloet et al. 1998).

**GLUCOCORTICOID RECEPTORS**

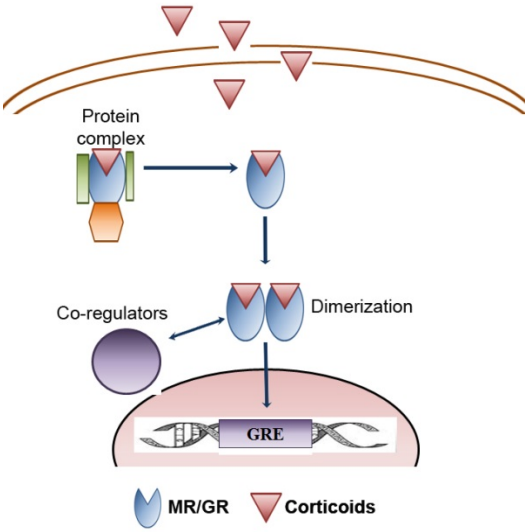
The actions of glucocorticoids in the central nervous system are mediated by two receptors: the mineralocorticoid receptor (MR) and the glucocorticoid receptor (GR) which are abundantly expressed and colocalized in neurons from several areas of the brain. These steroid receptors are found in relatively high concentrations throughout the neural–pituitary network that controls both negative feedback and activation of the HPA axis (Sapolsky 2000, Romero & Buttler 2007). Corticoids receptors act as transcription factors activated by ligand, altering, by various mechanisms, the expression of genes. Inactivated receptors reside in the cytosol as multimeric protein complexes. After ligand binding, the receptors dissociate from the rest of the complex, dimerize and translocate to the nucleus. In nucleus, they exert their action on DNA by binding to specific sequences of bases called glucocorticoids response element (GRE) and recruite co-repressors or co-activators. Activated receptors activate or inhibit the transcriptional activity of certain genes (Fig. 2) (Chrousos 1998; de Kloet et al. 2005). The affinity of MR for corticosteroids is high and is typically saturated under basal glucocorticoid levels, while the low-affinity GR are activated with high plasma corticosteroid levels (de Kloet et al. 1998). Therefore, when glucocorticoid levels rise during the peak ultradian pulses and in response to stressors, the negative feedback on the HPA axis is primarily mediated by the GR (Fig.1) (de Kloet et al. 1998), having an established function in the response to and recovery from stress. However, the MR also appears to play a role in glucocorticoid-mediated negative feedback under mildly stressful conditions (Pace & Spencer, 2005). The balance between MR and GR mediated actions is thought to determine the stress responsiveness of an individual. Disturbance of this balance can dysregulate the stress system and enhance vulnerability to stress-related disorders (de Kloet et al. 2005, Oitzl et al. 2010, Harris et al. 2013).

**Figure 1**




Simplified representation of the integrated stress response emphasizing in HPA axis activation and glucocorticoid-mediated feedback. **CRF:** corticotrophin realising factor; **AVP:** arginine-vasopressin; **ACTH:** adrenocorticotrophin; **CORT:** corticosterone; **GR:** glucocorticoid receptor.

**Figure 2**




Representation of the mechanism of action of corticoids receptors. **GRE**: glucocorticoid responsive element, **GR**: glucocorticoid receptor; **MR**: mineralocorticoid receptor.

**THE STRESS HYPORESPONSIVE PERIOD**

As alluded above, the HPA axis during the early development is remarkably different from the adult, both in structure and function. A large body of evidence has accumulating supporting that during the first 2 weeks of the early postnatal development in rats and mice, the pituitary-adrenal axis of the pups is hyporesponsive to most stimuli. This period has been termed the stress hyporesponsive period (SHRP) and extends from postnatal day 4 to 14 approximately. The main characteristics of this period are very low basal CORT levels and an inability of many stressors to elicit a CORT response (Levine et al. 2007, Sapolsky & Meaney 1986, Walker et al. 2001). Data indicate that maternal factors are responsible for actively inhibiting the endocrine responses to stress postnatally. Thus, during development, most of the peripheral and central stress-responsive systems are capable of being activated. However, under conditions of normal dam-pup interactions, these responses are mostly suppressed by the dam's behavioral interaction with the pups. It has been suggested that this is an important mechanism in protecting the neonatal rat from prolonged episodes of glucocorticoid secretion during this critical period of brain development (Faturi et al. 2010). High levels of glucocorticoids in this period can have damaging effects on the brain, since it is a period of major axonal growth, synaptogenesis and myelinitation of the main brain circuit (Lehmann & Feldon 2000). The mother influences as diverse physiological responses such as heart rate, the sleep-wake cycle and the production of growth hormone (Levine 1994).

**MATERNAL SEPARATION**

Adverse events in early life affect wide physiologic and behavioral responses and contribute to the development of different kinds of disease in adult life.

In laboratory rats, the chronic effects of postnatal manipulation of the infant-mother relationship have been studied experimentally for more than 50 years. The alterations depend mostly on environment conditions and the interaction between mother and offspring. In order to study the effects and possible alterations by adverse experiences in early life was developed an animal model of early life stress called maternal separation (MS). There is a large number of MS procedures, however is well known that, either 24h or repeated shorter periods of neonatal MS, is considered one of the most potent stressors during development.

In the literature, there are major the inconsistencies and contradictory findings for almost all parameters investigated. Even subtle variations in methodological procedures such as differences in frequency, duration, age, gender could account for these discrepancies (Lehman & Feldom 2000).

Although results are not consistent within the MS paradigm, it has been shown that the MS manipulation affects a large number of behavioral and neurobiological variables in the offspring that persist into adulthood.
It has been shown that generally short-term MS (usually 15 min or less) appeared to reduce anxiety-like behaviors, decreased HPA-axis tone and reduced the response to stress (Plotsky et al. 2005, Ladd et al. 2005, Levine 2005) in adulthood. These short-term separation periods, called early-handled (EH), could emulate the natural period of time in which the mother leaves her pups for short periods of time to collect food. Thus, short-term MS might be considered as a more natural environment (Nishi et al. 2013). Whereas the effects of EH have been well documented and replicated, the long-term effects of prolonged MS are more controversial. This could be due in part to the different procedures of maternal separation that the laboratories used. However, several works have demonstrated that separation of pups from their mother during prolonged periods could lead hyper reactivity of the HPA axis to stress at the adult stage (Aisa et al. 2008, Lippmann et al. 2007, Milde et al. 2004, Ladd et al. 2004).

In the next section we discussed more in detail the different responses of the HPA axis among the different protocols of prolonged MS used between laboratories.

**MATERNAL SEPARATION AND THE HPA AXIS**

The response of an organism to stress involves various systems such as the nervous, endocrine and immune. Indeed, the connections between brain circuits and peripheral systems form the basis of adaptive or maladaptive responses of an organism to stressful stimuli. One of the major pathways that are activated against stress is the HPA axis.

Usually, different protocols of maternal separation did not produce any change in the basal plasma levels of CORT or ACTH. Following daily 4.5 and 3 h MS in the first 3 weeks of life, no significant differences in basal plasma CORT and ACTH levels were observed (Ogawa et al. 1994, Ladd et al. 2005). However, it has been shown in female rats that MS from postnatal day (PND) 1 to 21 during 4,5 h decreased ACTH levels and increased CORT plasma levels in adulthood (Suárez et al. 2001).

As stated above, MS increase the risk to develop different disease as adult. It has been demostrated that MS increase adulthood vulnerability to stress and produce a heightened HPA axis hormonal response (Plotsky & Meaney 1993, Suchecki et al. 1995, Ladd et al. 2004, Milde et al. 2004). However, different results it has been shown.

MS during 180 min from PND 2 to 14 produced an augmented plasma ACTH and CORT concentrations following an acute stressor, compared to EH animals that were maternally separated during 15 min from PND 2 to 14 (Lippmann et al. 2007). Also, MS during 180 min from PND 1 to 14 produced enhanced stress reactivity responses as shown by elevated CORT levels following the exposure to shock stress. But this response was not observed in rats EH that was maternally separated during 10 min (Milde et al. 2004). MS from PND 2 to 14 during 3 h produced an increase in ACTH levels after different stressors (Liu et al. 2000, Ladd et al., 2004) and produced an increase in CORT levels after exposure to a brief mild handling stress compared to EH (15 min) rats (Kalinichev et al. 2002).
However, contrary response was found, Roman et al. (2006) have been shown that a separation from PND 1 to 21 during 15 minutes increase CORT release after immobilization, but a separation during 6 h did not produce alteration in CORT release induced by stress.

With regards the neuropeptides that regulate the HPA axis it has been found that MS, 3 h daily on PND 1 to 14 showed higher AVP mRNA expression in the PVN and the bed nucleus of the stria terminalis compared with control rats (Veenema & Neumann 2009). Aisa et al 2008 found that MS (180 min/day from PND 2-21) in females produce an increase in CRF mRNA expression in the PVN. Besides, following chronic homotipyc stress, CRF mRNA expression was significantly increased in maternally separated rats (180 min/day during PND 2-14), compared to controls (Babygirija et al. 2012).

The stress peptide CRF by binding to CRF1 and 2 receptors (CRFR1 and CRFR2) is key to persistent changes in central stress circuits induced by MS. In this sense, O'Malley et al (2011) showed that MS during 3 h from PND 2 to 12 produced an increase in the CRFR1 in the hypothalamus.

These studies illustrate that early life perturbations induce persistent changes in the HPA axis function and increased sensitivity to stress, which may contribute to different disease and behavioral changes in adulthood. Most of the data found suggests that the maladaptation in stress response in neonatal maternally separated rats could be due to alterations in the central nervous system, like an upregulated CRF system. In the next section, the discussion is focused in the alterations induced by MS in other brain structures that regulate the HPA axis.

**MATERNAL SEPARATION EFFECTS ON EXTRA HYPOTHALAMIC ÁREAS**

**Hippocampus:** The activity of the HPA axis is controlled by different limbic and cortical areas. The hippocampus is a brain region that has an inhibitory influence over the HPA response (Fig. 1) (Jacobson & Sapolsky 1991). This structure is particularly vulnerable to early life adverse experiences for different reasons, in the first place it continues to develop after birth, secondly it shows a remarkable degree of structural and functional plasticity and finally, it contains a high number of GR which makes it susceptible to changes in glucocorticod levels. MS affect a number of structural, molecular and physiological aspects of the hippocampus. For instance, prolonged MS (360 min/day, PND 1-21) alters glutamate receptor expression in the hippocampus (Pickering et al. 2006). Decrease neurogenesis has also been found in adult hippocampus of maternally separated rats, specifically a decrease in cell proliferation and immature neuron production in the dentate gyrus (Mirescu et al. 2004, Huot et al. 2002). Concentrations of neurotrophin also decrease in the hippocampus of the maternally separated rats (Marais et al. 2008). MS leads to a deregulated HPA activity with down-regulation of GR in the hippocampus. This reduced capacity to detect glucocorticoids leads to inefficient negative feedback on the HPA axis and an extended stress response (Meaney 2001).

**Extended Amygdala:** Various stressors activate different sources of CRF, such as the central nucleus of the amygdala (CeA) and the paraventricular nucleus of the hypothalamus (PVN). Amygdalar CRF may stimulate the hypothalamic CRF release through a feed-forward effect; this represents the limbic activation of the HPA axis (Fig. 1) (Herman et al. 2005, Jankord & Herman 2008).

Maternally separated rats for 180 min daily from PND 2 to 14 showed significantly elevated levels of CRF expression and CRF mRNA in the CeA, in bed nucleus of the stria terminalis and locus coeruleus, compared with EH animals (15 min). Therefore, early rearing conditions can permanently alter the developmental set-point of central CRF systems (Plotsky et al. 2005). Besides, Troakes and Ingram (2009) showed that MS from PND 5 to 21 for 6 h induced a significantly increase in c-fos mRNA expression, after the exposure to the elevated plus maze, in specific brain areas, including medial amygdala. The MS rats displayed greater anxiety behaviour compared to controls undisturbed rats. The region-specific increase in c-fos mRNA reflects activation of neural circuits associated with anxiogenic stress response (Troakes & Ingram 2009). Also, rats that were separated from the dams for 3 h per day from PND 1 to 14 had significantly more restraint stress-induced Fos positive cells, an estimate of neuronal activation, in the central nucleus of the amygdala (CeA), paraventricular nucleus of the hypothalamus (PVN), and the bed nucleus of the stria terminalis (BNST), each of which plays an important role in organizing the biobehavioral response to stress (Sanders & Anticevic 2007).

The CRF receptors (CRFR) 1 and 2 are distributed in a region-specific and species-typical pattern, including various cortical laminae, subcortical, limbic, and brainstem structures such as amygdala, bed nucleus of the stria terminalis, raphe nuclei, and locus ceruleus (Chalmers et al. 1996, Wong et al. 1994). CRF mRNA expression has been studied in the PVN in context of maternal separation paradigm, and it has been revealed that there is a rapid induction of heteronuclear and mature mRNA for CRF in both deprived and nondeprived animals within 15 min of an isotonic saline injection (Dent et al. 2000). These findings indicate that during the SHRP, central brain elements are clearly responsive to environmental events, even though adrenal responses may be limited. The expression and distribution of brain CRF receptors changes across animal development (Avishai-Eliner et al. 1996, Eghbal-Ahmadi et al. 1998). Eghbal-Ahmadi et al. (1997) demonstrated that 24-h of MS induced a downregulation of CRFR2 in ventromedial hypothalamus and the basomedial amygdala. On the other hand, MS during 3 h from PND 2 to 12 produced an increase in CRFR2 in the amygdala following acute psycological stressor (O'Malley et al 2011). However little is known about the impact of maternal separation on CRF receptor expression in the brain.

This indicates that the alterations induced by maternal separation in structures that regulate the behavioral response to stress and the HPA axis could be part of the cause of emotional disorders in adulthood.

**GENDER DEPENDENT EFFECTS IN MATERNAL SEPARATION MODELS**

Sexually dimorphic responses in mammals can be considered as the final outcome of the mutual influences between genes, sex hormones, organizers and activators effects of hormones on the brain, learning, social influences and other environmental influences (Kelly et al. 1999, Palanza 2001). Sex differences have referred, for a long time, only to mating behaviors, sex hormones and the hypothalamus. However, this view has changed because a lot of findings highlight the influence of sex on several brain areas, on different types of behavior, memory, emotions, vision, face processing, perception of fear levels of neurotransmitters and the brain's response to stress hormones (Cahill 2006).

While stress is a common experience to all organisms, many stress responses are sexually dimorphic. It is known that the prevalence of affective and anxiety disorders are significantly higher in women than in men. Emotional reactivity to stress and abnormalities in HPA axis activity have been implicated in the etiology of both depression and anxiety disorders (Gold & Chrousos 2002). Besides, there is a wide body of evidence indicating that sex hormones are involved in the control of the HPA axis. In general, estrogen has excitatory effects, and androgen has inhibitory effects on HPA function (McCormick et al. 2002, Lund et al. 2006).

On the other hand, as stated earlier, the behavior of the mother plays a critical role in the development of the stress response. There is evidence that maternal care is different in males and females (Moore et al., 1997), therefore the offspring of the opposite sex would be exposed to different patterns of maternal care, which could also contribute to sex differences in the development of behavior and stress response.

Wigger and Neumann (1999) found that periodic maternal separation (180 min/day on postnatal day 3-10; PND) induced higher plasma ACTH and CORT concentrations in female than in male rats. This difference might be due in part to a direct stimulatory effect of estrogen on CRH gene expression by interaction with estrogen responsive elements in the promotor area of the gene coding for CRH. Slotten et al. (2006) reported decreased CORT levels for daily 3 h (PND 3-15) maternally separated females compared with non-handled rats. They showed that females had higher corticosterone and ACTH basal levels than males (Slotten et al. 2006). On the other hand, it has been shown that 4.5 h maternal separation during the first 3 weeks of life (PND1-21) did not produce alterations in basal CORT or in basal ACTH levels neither in males nor in females (Renard et al. 2007). However, in front of a stress situation (variable chronic stress) the pituitary-adrenal axis is less active in maternally separated males showing a

decrease in ACTH and CORT levels (Renard et al 2007). This trait is not observed in female rats. The diminutions in plasma ACTH and CORT only in males might be due to a lower sensitivity of the HPA axis to stress in animals subjected to maternal separation. In accordance, Ladd et al. (2005) demonstrated that chronic variable stress decreased the neuroendocrine stress response in prolonged maternally separated (180 min/day, PND 2-14) male rats. Chronic stress may dampen the pituitary-adrenal response in maternally separated rats by enhancing transcription of glucocorticoid receptor in the cortex. Alternatively, they proposed that variable chronic stress may increase regional GABAergic tone, thereby dampening stress responsiveness in maternally separated animals. In contrast, neonatal handling (15 min/day, 1h) during the first 3 weeks of life increase CORT response to stress in male but not in female rats (Papaioannou et al. 2002).
Furthermore, it has been found that the medial parvocellular portion of the paraventricular hypothalamic nucleus has a vasopressinergic activity that is dependent on the animal's sex. Female rats showed higher activity in the AVP neurons than males (Renard et al 2010). Furthermore, the combination of early-life stress and variable chronic stress as adults produced a neuronal activity pattern in vasopressinergic neurons that is opposite in males and females. In males, the activity of AVP neurons turned back to baseline, whereas in females the exposure to both protocols caused a marked increase in such activity (Renard et al. 2010). Since AVP is a hypothalamic hormone that, together with the CRF, stimulates ACTH release from the pituitary gland, a higher activity in AVP neurons in females is in accordance with results showing that female rats exhibited elevated ACTH levels compared to males, evidencing a sexual dimorphism (Renard et al. 2007).

Regarding GR, Xu et al. (2011) found that GRs in the hippocampus were more abundant in females than in males and maternal separation from PND 2 to PND 14 during 3 h increase GR levels only in males. On the other hand, it has been shown that there were no gender-dependent effects in the PVN or in the dorsal hippocampus in animals subjected to maternal separation (4.5 h/day from PND1-21) and males and females showed an increase in GR expression in the CA1, CA2 and CA3 subfields of the hippocampus, when they were subjected to early maternal separation and variable chronic stress as adults (Renard et al 2010). Other investigators have found an increase in GR mRNA density in the frontal cortex of maternally separated male rats subjected to variable chronic stress, but they have not found changes in the hippocampus of males with the same treatment (Ladd et al. 2005). Desbonnet et al. (2008) showed that neonatal maternal separation (3 h/day from PND 2-14) increase CRF expression and the activity of CRF neurons in the PVN after an acute swim stress only in female rats. They did not found differences in CRF in the hypothalamus of maternally separated males, however, maternal separation produce a decrease in AVP expression in the PVN of males. It has also been shown that early postnatal environment affects the differentiation of hippocampal neurons; this effect involves alterations in GR expression in the rat brain, resulting in changes in the sensitivity of the system to the inhibitory effects of glucocorticoids on the synthesis of CRF and AVP in hypothalamic neurons (Meaney et al., 1996). Moreover, these effects of maternal separation have also been shown to be gender-dependent, with greater decreases in GR levels in the PVN of males compared to females, following 24 h of maternal separation (Avishai- Eliner et al. 1999). Aisa et al. 2008 found that maternal separation (180 min/day from PND2 - 21) in females produce an increase in CORT levels and CRF mRNA expression in the PVN. They also showed a decrease in GR expression in the hippocampus and suggest that the altered HPA axis function may be associated to behavioral and cognitive deficits in maternally separated females (Aisa et al. 2007, 2008).

The sexually dimorphic effects of maternal separation on the HPA axis function indicate that gender is an important factor influencing the response to stress. In general, the enhanced response to stress in maternally separated female rats relative to males suggests that maternal separation results in a more reactive neuroendocrinological stress system in females, than in males. The mechanism of this differential gender-specific vulnerability to the same perinatal environment may be related to the perinatal sex steroid milieu (Yoshimura et al. 2003).

**CONCLUSIONS**

Traumatic experiences in early life or in adulthood alter the ability of an individual to adapt. If coping mechanisms fail a state of distress appear, which is reflected in an altered HPA axis and limbic system function. Evidence shows that stressful events, particularly those occurring during the postnatal period, may cause changes in the development of the nervous system and behavior of animals. These studies all support the notion that prolonged periods of MS are associated with risk to develop different disease associated with alterations in the neuroendocrine response to stress. However, there are several models of MS and they generate different results and the experimental conditions have to be chosen accordingly.
Besides existing sex differences in neuroendocrine responses to stressful situations in early postnatal life and in adulthood could underlie the predisposition of either sex for various disorders such as depression and anxiety. However, still much remains unknown about the different neural mechanisms and functional brain processes that operate in different sexes in situations of stress.

## REFERENCES:


Aisa B., Tordera R., Lasheras B., Del Río J. and Ramírez, M. J. (2008) Effects of maternal separation on hypothalamic–pituitary–adrenal responses, cognition and vulnerability to stress in adult female rats. Neuroscience. 154, 1218-1226.

Aisa B., Tordera R., Lasheras B., Del Río J. and Ramírez, M. J. (2007) Cognitive impairment associated to HPA axis hyperactivity after maternal separation in rats. Psychoneuroendocrinology, 32(3), 256–66.

Avishai-Eliner S., Yi S.J. and Baram T.Z. (1996) Developmental profile of messenger RNA for the corticotropin-releasing hormone receptor in the rat limbic system. Brain Res. Dev. Brain Res. 91, 159–163.

Babygirija R., Yoshimoto S., Gribovskaja-Rupp I., Bülbül M., Ludwig K. and Takahashi T. (2012) Social interaction attenuates stress responses following chronic stress in maternally separated rats. Brain Res. 1469, 54–62.

Cahill L. (2006) Why sex matters for neuroscience. Nat. Rev. Neurosci. 7(6), 477–84.

Chalmers D.T., Lovenberg T.W., Grigoriadis D.E., Behan D.P. and De Souza E.B. (1996) Corticotropin-releasing factor receptors: from molecular biology to drug design. Trends Pharmacol Sci 17, 166–172.

Chrousos, G.P. (1998). Stressors, stress, and neuroendocrine integration of the adaptive response. The 1997 Hans Selye Memorial Lecture. Ann N Y Acad Sci 851, 311-335.

De Bellis M.D. (2005) The psychobiology of neglect .Child Maltreat. 10, 150–172.

Dent G.W., Okimoto D.K., Smith M.A. and Levine S (2000) Stress-induced alterations in corticotropin-releasing hormone and vasopressin gene expression in the paraventricular nucleus during ontogeny. Neuroendocrinology 71, 333–342.

De Kloet E. R., Joëls M. and Holsboer F. (2005) Stress and the Brain: from adaptation to disease. Nat. Rev. Neurosc. 6, 463–475.

De Kloet E. R., Vreugdenhil E. and Oitzl M. S. (1998) Brain Corticosteroid Receptor Balance in Health and Disease. Endocrine Rev. 19(3), 269–301.

Desbonnet L., Garrett L., Daly E., McDermott K.W. and Dinan T.G. (2008) Sexually dimorphic effects of maternal separation stress on corticotrophin-releasing factor and vasopressin systems in the adult rat brain. Int. J. Devl Neuroscience 26, 259–268.

Faturi C.B., Tiba P., Kawakami S.E., Catallani B., Kerstens M. and Suchecki D. (2010) Disruptions of the mother-infant relationship and stress-related behaviours: altered corticosterone secretion does not explain everything. Neurosci. Biobehav. Rev. 34(6), 821–34.

Gold P. and Chrousos G. (2001) Organization of the stress system and its dysregulation in melancholic and atypical depression: high vs low CRH/NE states. Mol. Psychiatr. 7(3),254–75.

Harris A.P., Holmes M.C., de Kloet E.R., Chapman K.E. and Seckl J.R. (2013) Mineralocorticoid and glucocorticoid receptor balance in control of HPA axis and behaviour. Psychoneuroendocrinology 38, 648-658.

Herman J. and Figueiredo H. (2003) Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo–pituitary–adrenocortical responsiveness. Frontiers Neuroendocrinol. 24(3), 151–180.

Herman J., Ostrander M., Mueller N. and Figueiredo H. (2005) Limbic system mechanisms of stress regulation: hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. Prog. Neuro-psychoph. 29(8), 1201–1213.

Huot R.L., Plotsky P.M., Lenox R.H. and McNamara R.K. (2002) Neonatal maternal separation reduces hippocampal mossy fiber density in adult Long Evans rats. Brain Res. 950, 52–63.

Jacobson L. and Sapolsky R. (1991) The role of the hippocampus in feedback regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. Endocr. Rev. 12(2), 118–34.

Jankord R. and Herman J. (2008) Limbic regulation of hypothalamo-pituitary-adrenocortical function during acute and chronic stress. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1148,64–73.

Kalinichev M., Easterling K., Plotsky P. and Holtzman S. (2002) Long-lasting changes in stress-induced corticosterone response and anxiety-like behaviors as a consequence of neonatal maternal separation in Long-Evans rats. Pharmacol. Biochem. Behav. 73(1), 131–40.

Kelly S.J., Ostrowski N.J. and Wilson M.A. (1999) Gender differences in brain and behavior: Hormonal and neural Bases. Pharmacol. Biochem. Behav. 64(4), 655-664.

Kuhn C.M. and Schanberg S.M. (1998) Responses to maternal separation: mechanisms and mediators. Int. J. Dev. Neurosci. 16 (3-4), 261-270.

Ladd C.O., Huot R., Thrivikraman K.V., Nemeroff C. and Plotsky P.M. (2004) Long-term adaptations in glucocorticoid receptor and mineralocorticoid receptor mRNA and negative feedback on the hypothalamo-pituitary-adrenal axis following neonatal maternal separation. Biol Psychiat. 55(4), 367–75

Ladd C.O., Thrivikraman K.V, Huot R.L. and Plotsky, P.M. (2005) Differential neuroendocrine responses to chronic variable stress in adult Long Evans rats exposed to handling-maternal separation as neonates. Psychoneuroendocrinology, 30(6), 520–33.

Lehmann J. and Feldon J. (2000) Long-term biobehavioral effects of maternal separation in the rat: Consistent or confusing? Rev. Neurosci. 11, 383–408.

Levine S. (1994) The ontogeny of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: the influence of maternal factors. Ann. N. Y. Acad. Sci. 746, 275-288.

Levine S. (2005) Developmental determinants of sensitivity and resistance to stress. Psychoneuroendocrinology, 30(10), 939–46.

Levine S., De Kloet E.R., Dent G. and Schmidt M. (2007) Stress Hyporesponsive Period. In: Encyclopedia of Stress (Second Edition).

Lippmann M., Bress A., NemeroffC.B., Plotsky P.M. and Monteggia L.M. (2007) Long-term behavioural and molecular alterations associated with maternal separation in rats. Eur. J. Neurosci., 25 , 3091–3098.

Liu D., Caldji C., Sharma S., Plotsky P. and Meaney M. (2000) Influence of neonatal rearing conditions on stress-induced adrenocorticotropin responses and norepinepherine release in the hypothalamic paraventricular nucleus. J. Neuroendocrinol. 12(1),5–12.

Lund T., Hinds L. and Handa R. (2006) The androgen 5alpha-dihydrotestosterone and its metabolite 5alpha-androstan-3beta, 17beta-diol inhibit the hypothalamo-pituitary-adrenal response to stress by acting through estrogen receptor beta-expressing neurons in the hypothalamus. J. Neurosci. 26(5),1448–56.

Marais L., van Rensburg S., van Zyl J., Stein D. and Daniels W. (2008) Maternal separation of rat pups increases the risk of developing depressive-like behavior after subsequent chronic stress by altering corticosterone and neurotrophin levels in the hippocampus. Neurosc. Res. 61(1):106–12.

McCormick C., Linkroum W., Sallinen B. and Miller N. (2002) Peripheral and central sex steroids have differential effects on the HPA axis of male and female rats. Stress 5(4),235–47.

McEwen B.S. (2003) Early life influences on life-long patterns of behavior and health. Ment Retard Dev Disabil Res Rev. 9(3), 149-154.

Meaney M.J. (2001) Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generations. Ann. Rev. Neurosci. 24, 1161–1192.

Milde A.M., Enger O. and Murison R. (2004) The effects of postnatal maternal separation on stress responsivity and experimentally induced colitis in adult rats. Physiol. Behav. 81, 71-84.

Moore C.L., Wong L., Daum M.C. and Leclair O.U. (1997) Mother-infant interactions in two strains of rats: implications for dissociating mechanism and function of a maternal pattern. Dev. Psychobiol. 30(4), 301-312.

Nemeroff C.B. (2004) Neurobiological consequences of childhood trauma. J. Clin. Psychiatry, 65 (1), 18–28.

Nishi M., Horii-Hayashi N., Sasagawa T. and Matsunaga, W. (2013) Effects of early life stress on brain activity: implications from maternal separation model in rodents. Gen. Comp Endocr. 181, 306–9.

Ogawa T., Mikuni M., Kuroda Y., Muneoka K., Mori K. and Takahashi K. (1994) Periodic maternal deprivation alters stress response in adult offspring: potentiates the negative feedback regulation of restraint stress-induced adrenocortical response and reduces the frequencies of open field-induced behaviors. Pharmacol. Biochem. Behav. 49, 961–7.

Oitzl M.S., Champagne D.L., van der Veen R. and de Kloet E.R. (2010) Brain development under stress: hypotheses of glucocorticoid actions revisited. Neurosci. Biobehav. Rev. 34(6), 853–66.

O'Malley D., Dinan T. and Cryan J. (2011) Neonatal maternal separation in the rat impacts on the stress responsivity of central corticotropin-releasing factor receptors in adulthood. Psychopharmacology 214(1), 221–229.

Pace T.W.W., Spencer R. L.(2005) Disruption of mineralocorticoid receptor function increases corticosterone responding to a mild , but not moderate , psychological stressor. Am. J. Physiol. Endocrinol. Matab. 1082–1088.

Palanza, P. (2001) Animal models of anxiety and depression: how are females different?. Neurosci. Biobehav. Rev. 25(3), 219-233.

Papaioannou A., Gerozissis K., Prokopiou A., Bolaris S. and Stylianopoulou F (2002) Sex differences in the effects of neonatal handling on the animal's response to stress and the vulnerability for depressive behaviour. Behav. Brain Res. 129(1-2), 131–139.

Pickering C., Gustafsson L., Cebere A., Nylander I. and Liljequist S. (2006) Repeated maternal separation of male Wistar rats alters glutamate receptor expression in the hippocampus but not the prefrontal cortex. Brain Res. 1099(1), 101–108.

Plotsky P. and Meaney M. (1993) Early, postnatal experience alters hypothalamic corticotropin-releasing factor (CRF) mRNA, median eminence CRF content and stress-induced release in adult rats. Brain Res. Mol. Brain Res. 18, 195–200.

Plotsky P.M., Thrivikraman K.V., Nemeroff C.B, Caldji C., Sharma S. and Meaney M.J. (2005) Long-term consequences of neonatal rearing on central corticotropin-releasing factor systems in adult male rat offspring. Neuropsychopharmacology. 30(12), 2192-2204.

Renard G.M., Rivarola M.A. and Suárez M.M. (2010) Gender-dependent effects of early maternal separation and variable chronic stress on vasopressinergic activity and glucocorticoid receptor expression in adult rats. Dev. Neurosci. 32(1), 71–80.

Renard G.M., Rivarola M.A. and Suárez M.M. (2007) Sexual dimorphism in rats: effects of early maternal separation and variable chronic stress on pituitary-adrenal axis and behavior. Int.J. Dev. Neurosci. 25(6), 373–9.

Roman E., Gustafsson L., Berg M. and Nylander I. (2006) Behavioral profiles and stress-induced corticosteroid secretion in male Wistar rats subjected to short and prolonged periods of maternal separation. Horm. Behav. 50(5),736–47.

Romeo R. D. (2010) Stress and Brain Morphology. In: Encyclopedia of Behavioral Neuroscience. Elsevier, Oxford, United Kingdom.

Romero L. M., and Butler L. K. (2007) Endocrinology of Stress. Int. J. Comp. Psychol. 20, 89–95.

Sanders B.J. and Anticevic A. (2007) Maternal separation enhances neuronal activation and cardiovascular responses to acute stress in borderline hypertensive rats. Behav. Brain Res. 183, 25–30.

Sapolsky R.M., Romero L.M. and Munk A.U. (2000) How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses? Integrating Permissive, Suppressive, Stimulatory, and Preparative Actions. Endocrine Rev. 21(1), 55–89.

Sapolsky R. and Meaney M. (1986) Maturation of the adrenocortical stress response: neuroendocrine control mechanisms and the stress hyporesponsive period. Brain Res. 396(1), 64–76.

Slotten H., Kalinichev M., Hagan J., Marsden C. and Fone K. (2006) Long-lasting changes in behavioural and neuroendocrine indices in the rat following neonatal maternal separation: gender-dependent effects. Brain Res. 1097(1), 123–32.

Suárez M., Rivarola M., Molina S., Perassi N., Levin G. and Cabrera R. (2001) Periodic maternal deprivation and lesion of anterodorsal thalami nuclei induce alteration on hypophyso adrenal system activity in adult rats. Life Sci. 69, 803–13.

Suchecki D., Nelson D., Van Oers H. and Levine S. (1994) Activation and inhibition of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis of the neonatal rat: effects of maternal deprivation. Psychoneuroendocrinology 20, 169–82.

Troakes C. and Ingram C.D. (2009) Anxiety behaviour of the male rat on the elevated plus maze: associated regional increase in c-fos mRNA expression and modulation by early maternal separation. Stress. 12(4), 362-369.

Tsigos C., and Chrousos G.P. (2002) Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. J Psychosom. Res. 53(4), 865–871.

Veenema A. and Neumann I. (2009) Maternal separation enhances offensive play-fighting, basal corticosterone and hypothalamic vasopressin mRNA expression in juvenile male rats. Psychoneuroendocrinology 34(3), 463–467.

Walker C.D., Anand K.J.S. and Plotsky P.M. (2001). Development of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis and the stress response. In: McEwen BS (ed). Handbook of Physiology: Coping with the Environment. Oxford University Press: New York. pp 237–270.

Wigger A. and Neumann I.D. (1999) Periodic maternal deprivation induces gender-dependent alterations in behavioral and neuroendocrine responses to emotional stress in adult rats. Physiol & Behav. 66(2), 293–302.

Wong M-L., Licinio J., Pasternak K.I. and Gold P.W. (1994) Localization of corticotropin-releasing hormone (CRH) receptor mRNA in adult rat brain by in situ hybridization histochemistry. Endocrinology 135, 2275–2278.

Xu H., Hu W., Zhang X., Gao W., Liang M., Chen T., He X. and Hua Z. (2011) The effect of different maternal deprivation paradigms on the expression of hippocampal glucocorticoid receptors, calretinin and calbindin-D28k in male and female adolescent rats. Neurochem International 59, 847–852.

Yoshimura S., Sakamoto S., Kudo H., Sassa S., Kumai A. and Okamoto R. (2003) Sex- differences in adrenocortical responsiveness during development in rats. Steroids. 68(5), 439-445.

Zhang L.X., Levine S., Dent G., Zhan Y., Xing G., Okimoto D., Gordon M.K., Post M. and Smith M.A. (2002) Maternal deprivation increases cell death in the infant rat brain. Dev Brain. Res. 133, 1–11.

SO FAR CHI Sociedad de Farmacología de Chile

*ARTÍCULO DE REVISIÓN*

# SISTEMA ENDOCANABINOIDE Y TRATAMIENTO DE LA OBESIDAD: PERSPECTIVAS FARMACOLÓGICAS

(Endocannabinoid system and obesity: Pharmacological perspectives)

**Carina Valenzuela[1] y Gonzalo Cruz [2]**

*[1]Escuela de Nutrición y Dietética, Facultad de Farmacia, Universidad de Valparaíso, Chile. [2] Centro de Neurobiología y Plasticidad Cerebral, Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso, Chile.*

**RESUMEN**

*El sistema endocannabinoide ha sido implicado en diversas funciones del organismo y tradicionalmente se ha estudiado como el responsable de los efectos psicotrópicos de la marihuana en su utilización como droga de abuso. Sin embargo, existen variadas evidencias que colocan a los endocanabinoides como reguladores del apetito y del metabolismo energético. Inicialmente se utilizó un antagonista de los RCB1 de canabinoides (Rimonabant) para el tratamiento de la obesidad, debido a su efecto de disminución de la ingesta de alimentos y control metabólico, con buenos resultados. Lamentablemente, los efectos adversos de este fármaco a nivel central, entre ellos depresión e intentos suicidas, fueron causantes de su retiro del mercado. Intensa investigación ha seguido aconteciendo en el área de los canabinoides y su relación con la obesidad, buscando una mayor especificidad de fármacos antagonistas o agonistas inversos que actúen sobretodo en tejidos periféricos como el hígado o el tejido adiposo, con el fin de mejorar los parámetros metabólicos de individuos con obesidad o síndrome metabólico. En este artículo hacemos una breve revisión de los principales efectos de los endocanabinoides sobre el control de la ingesta de alimentos a nivel central y además su rol en el metabolismo energético en tejidos periféricos.*

***Palabras Claves:*** *Obesidad, Sistema endocanabinoide, anandamida, 2AG, ácido linoleico, hipotálamo, ingesta de alimentos*

***Publicado por la Sociedad de Farmacología de Chile***

## INTRODUCCIÓN

### OBESIDAD Y SISTEMA ENDOCANABINOIDE

La obesidad es un problema de salud pública a nivel mundial, con una prevalencia en aumento tanto en países desarrollados como en aquellos en vías de desarrollo (Malik et al. 2013). En Chile el 67% de la población adulta presenta algún grado de malnutrición por exceso (ENS 2010), mientras que este año es primera vez que la prevalencia de obesidad en menores de 6 años tiene 2 dígitos, con un 10.3% (MINSAL 2013). Se ha demostrado que la obesidad tiene un profundo impacto en la morbi-mortalidad de la población, en los costos de salud y en la calidad de vida personal y profesional (Kopelman 2000).

Actualmente, la modificación de los estilos de vida, la farmacoterapia complementaria y las intervenciones quirúrgicas son parte del tratamiento contra la obesidad y sus secuelas (Padwal et al. 2011). Aunque la modificación de los estilos de vida sigue siendo la piedra angular de la intervención contra la obesidad, sólo produce una pérdida de peso a corto plazo dada su baja adherencia, observándose un significativo aumento de peso después de sólo dos años (Rossner et al. 2000).

En consecuencia, se recomienda el uso de farmacoterapia complementaria para ayudar y mantener la pérdida de peso, sobretodo en presencia de comorbilidades de la obesidad (hipertensión, dislipidemia, enfermedad coronaria, diabetes tipo 2, apnea del sueño, hígado graso) (NICE 2006).

Los medicamentos antiobesidad en uso actual o reciente pueden ser categorizados de acuerdo con uno de los tres mecanismos de acción: a) inhibidores de la absorción de grasa, b) inhibidores del sistema endocanabinoide c) modificadores de la neurotransmisión en sistema nervioso central de norepinefrina, dopamina y serotonina (Padwal et al. 2004).

**Correspondencia a:** Dr. Gonzalo Cruz, Centro de Neurobiología y Plasticidad Cerebral (CNPC), Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso. Av gran Bretaña 1111, Playa Ancha, Valparaíso, Chile. Teléfono: +56-32-2508015 ; +56-32-2508098. Correo Electrónico: gonzalo.cruz@uv.cl

El sistema endocanabinoide (SEC) está constituido dos receptores para canabinoides, RCB1 y RCB2 (Devane et al. 1988), sus ligandos endógenos denominados endocanabinoides, siendo la anandamida (ADA) y el 2-araquidonilglicerol (2-AG) (Devane et al. 1992) los más estudiados, y las enzimas responsables de su formación y degradación. Los endocanabinoides, ADA y 2-AG, son biosintetizados a partir de fosfolípidos de membrana. Luego de ejercer su acción, ADA es degradada específicamente por la acción de la enzima ácido graso amido hidrolasa (AGAH), mientras que el 2-AG es inactivado por la enzima monoacilglicerol lipasa (MAGL) (Muccioli 2010).

Los RCB1 y RCB2 son receptores de membrana acoplados a proteína G que al ser activados producen una serie de respuestas bioquímicas célula-específica, como la inhibición de diversos canales de $Ca^{2+}$ dependientes de voltaje y de la actividad adenilato ciclasa, resultando en una disminución de los niveles de AMPc, la activación de canales de $K^{+}$, fosfolipasas, de la vía de las proteínas quinasa activadas por mitógeno (MAPK) y aumento de la señalización de óxido nítrico (Mackie & Hille 1992). El RCB1 se expresa tanto a nivel central como periférico (tracto gastrointestinal, hígado, páncreas, músculo esquelético, tejido adiposo, etc.) (Matias et al. 2008), mientras que el RCB2 se expresa principalmente en las células del sistema hematopoyético e inmune (Graham et al. 2010) y en menor medida en cerebro (Callen et al. 2012)y en otros tejidos periféricos tales como páncreas e hígado (Batkai et al. 2007, Juan-Pico et al. 2006). Actualmente, el SEC es reconocido como un sistema clave en aspectos relacionados con la homeostasis de energía ya que tiene un rol en la ingesta alimentaria, la lipogénesis hepática, la adipogénesis y lipogénesis del tejido adiposo, así como en el metabolismo de la glucosa (Valenzuela et al. 2010).

La asociación entre las alteraciones metabólicas de la obesidad con el SEC se demostró con la administración del antagonista RCB1, Rimonabant (SR141716A) a ratas Zucker (fa/fa), resultando en la reducción del peso y un aumento de los niveles de adiponectina(Bensaid et al. 2003). Los ratones knock-out para RCB1 son resistentes a la obesidad inducida por dieta y presentan niveles plasmáticos reducidos de insulina y leptina y, más aún, presentan una regulación normal del apetito al compararlos con ratones nativos obesos (Alvheim et al. 2013b). Los efectos positivos del bloqueo de RCB1 han sido replicados en humanos con ensayos clínicos a larga escala, demostrando una disminución de los depósitos viscerales de grasa y de otros parámetros metabólicos (Despres et al. 2005, Pi-Sunyer et al. 2006, Scheen et al. 2006, Van Gaal et al. 2005). En conjunto, estos estudios demuestran que el SEC, y particularmente el RCB1, está involucrado en la modulación del fenotipo de obesidad, lo que explica el interés existente en el desarrollo de fármacos para bloquear la activación de este sistema.

**EFECTO DE LA DIETA SOBRE EL SISTEMA ENDOCANABINOIDE**

Tradicionalmente se ha considerado a los cannabinoides exógenos como estimuladores del apetito, entre ellos el más conocido, el tetrahidrocanabinol (THC) proveniente de la marihuana. Sin embargo, una conducta de ingesta alimentaria excesiva puede deberse a un incremento de la señal endógena de los endocanabinoides, entre ellos ADA o 2AG. Recientes estudios han demostrado que dietas ricas en el ácido graso ácido linoléico (ω-6), el precursor del ácido araquidónico, puede llevar a un incremento de la síntesis de endocanabinoides(Alvheim et al. 2012, Alvheim et al. 2013a, Alvheim et al. 2013b) lo que conduce al desarrollo de obesidad. Estas evidencias claramente muestran que nuestra conducta alimentaria puede modificar la síntesis de endocanabinoides endógenos y llevar a un exceso de peso debido al conocido efecto orexígeno de los canabinoides. De forma interesante, la administración de los endocanabinoides ADA o 2-AG incrementa la actividad eléctrica de células receptoras del gusto y nervios gustatorios, incrementando la percepción de los sabores dulces (Yoshida et al. 2010). Esto puede desencadenar un círculo vicioso en que ciertos alimentos generan un incremento en la concentración de endocanabinoides en el sistema nervioso central y estos endocanabinoides incrementan tanto la ingesta alimentaria como también la preferencia por alimentos poco saludables (Higuchi et al. 2011).

Estos hechos colocan al SEC como un posible blanco de la terapia nutricional o farmacológica. Recientemente se ha planteado que si se privilegia el consumo de ácidos grasos ω-3 por sobre el consumo de ácidos grasos ω-6 disminuye la síntesis de endocanabinoides (Alvheim et al. 2012, Alvheim et al. 2013a, Watkins et al. 2010), lo que terminaría con este círculo vicioso, y favorecería una menor ingesta de alimentos. Más interesante aún son los efectos de una dieta rica en ácidos grasos ω-3 sobre el desbalance de endocanabinoides a nivel periférico, en que esta disminución de los endocanabinoides produce una mayor sensibilidad a la insulina y menor acumulación grasa en los adipocitos y reducción de la inflamación (Kim et al. 2011, Banni & Di Marzo 2010). Lamentablemente, las terapias nutricionales han demostrado una baja adherencia debido probablemente a la inmensa oferta de alimentos poco saludables y a su vez más sabrosos que existe en el mercado de los alimentos. Estos alimentos intervienen en el componente hedónico de la conducta alimentaria. Este hecho, muestra la importancia de la búsqueda de fármacos que actúen en el SEC con selectividad, eficacia y seguridad, para contribuir al tratamiento de la obesidad.

**SISTEMA ENDOCANABINOIDE Y CONTROL DE LA INGESTA DE ALIMENTOS**

El control de la ingesta de alimentos involucra múltiples mecanismos que son finalmente integrados en el sistema nervioso central y dan origen a la conducta alimentaria. El apetito está sujeto en general a 2 tipos de control: 1) el homeostático o referido al hambre o saciedad en respuesta al balance energético del organismo en un momento dado y 2) el hedónico, en el cual se activa el circuito del placer y la recompensa ante el consumo de un alimento (Harrold et al. 2012). La alteración en alguno de estos mecanismos de control puede llevar a un consumo excesivo de alimentos y conducir al desarrollo de obesidad. Existen diversas evidencias que colocan al SEC como partícipe de estas 2 vías de control del apetito (Cota et al. 2006, Harrold & Williams 2003, De Luca et al. 2012), por lo que la modulación farmacológica de este sistema a nivel central se considera uno de los blancos terapéuticos promisorios del tratamiento de la obesidad.

Dentro de las áreas del sistema nervioso central que ejercen un control homeostático de la ingesta de alimentos y el gasto energético, el hipotálamo juega un rol fundamental. El núcleo arqueado (ARC) del hipotálamo contiene poblaciones neuronales que coliberan el péptido relacionado con la proteína agouti (AgRP) y el Neuropéptido Y (NPY) siendo ambos neuropéptidos orexígenos. Por otra parte, un grupo de neuronas del ARC que coexpresan pro-opiomelanocortina (POMC), precursor del neurotransmisor α-MSH, y también el transcrito inducido por cocaína y anfetamina (CART), generan un efecto anorexígeno (Harrold et al. 2012). Los 2 tipos de neuronas proyectan sus terminales nerviosas a diversas áreas cerebrales, incluidas neuronas CRH-érgicas, de características anorexígenas, ubicadas en el núcleo paraventricular del hipotálamo (PVN). Estas neuronas, consideradas de segundo orden, integran diversas señales y finalmente proyectan sus terminales nerviosas hacia el núcleo del tracto solitario (NTS). El NTS recibe información tanto periférica como central y comienza la respuesta efectora del consumo de alimento, funcionando como un centro de la saciedad (Harrold et al. 2012). Por otra parte, proyecciones del hipotálamo lateral (LH) que liberan péptidos llamados orexinas poseen un potente rol orexígeno al estimular tanto neuronas NPY/AgRP como inhibir las neuronas POMC/CART del ARC. El rol de los endocanabinoides sobre el control hipotalámico de la ingesta de alimentos ha sido extensamente estudiado. Ratones knock-out para el receptor RCB1 de endocannabinoides tienen una ingesta menor de alimento que ratones wild-type (Di Marzo et al. 2001) después de ser sometidos a deprivación de alimento. De igual forma, el bloqueo farmacológico del receptor RCB1 previene la hiperfagia inducida por anandamida (Jamshidi & Taylor 2001, Williams & Kirkham 1999). Es claro entonces que los endocanabinoides son sustancias orexígenas, de hecho, los niveles de 2-AG incrementan en hipotálamo durante el ayuno y disminuyen rápidamente en respuesta a la ingesta de alimentos (Kirkham et al. 2002). Los RCB1 de cannabinoides, son receptores de membrana acoplados a proteína Gi/o y por lo tanto poseen características inhibitorias como disminución del AMPc, disminución de la apertura de canales de calcio y apertura de canales de potasio, que llevan finalmente a la disminución de la liberación de neurotransmisores (Piomelli 2003). Los RCB1 pueden encontrarse en las terminales presinápticas que arriban al ARC y más aún, los endocanabinoides anandamida y 2AG pueden ser sintetizados por neuronas postsinápticas de este núcleo hipotalámico funcionando como neuromoduladores retrógrados, que disminuyen la liberación de neurotransmisores anorexígenos en el ARC. Un ejemplo de esto es la presencia del RCB1 en terminales nerviosas serotoninérgicas que arriban al ARC, inhibiendo la liberación de serotonina. La serotonina tiene un efecto anorexígeno al activar las neuronas POMC/CART a través de receptores 5HT2c (Berglund et al. 2013, Nonogaki et al. 2003), de ahí el efecto farmacológico obtenido por inhibidores de la recaptura de serotonina y noradrenalina como la Sibutramina (Nisoli & Carruba 2000) o el efecto más leve obtenido por inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina como la Fluoxetina. También terminales serotoninérgicas arriban al PVN donde dicho neurotransmisor produce activación de neuronas CRH-ergicas con un efecto orexígeno (Currie & Coscina 1996, Arevalo et al. 2001). De esta forma, los endocanabinoides podrían disminuir la liberación de serotonina en PVN y ARC, como se ha observado en otras áreas (Nakazi et al. 2000), siendo el efecto final una disminución de la ingesta de alimentos.

Otro neurotransmisor blanco de inhibición por medio de los endocanabinoides es el neuropéptido anorexígeno CART. En efecto, ratones que carecen de la enzima FAAH muestran niveles disminuidos de CART que son revertidos con la administración del antagonista RCB1 Rimonabant (Osei-Hyiaman et al. 2005a). Esta Disminución de CART lleva a una hiporactividad de las neuronas CRH-érgicas del PVN conduciendo a un incremento del consumo de alimentos. Por otra parte, neuronas orexinérgicas del LH que estimulan a las neuronas NPY/AgRP e inhiben a las neuronas POMC/CART (Tsujino & Sakurai 2009), poseen la maquinaria completa para sintetizar y degradar endocanabinoides. De esta forma, estas neuronas orexinérgicas regulan de forma retrógrada a terminales presinápticas que contienen RCB1 y facilitan la activación de ellas mismas. Es muy interesante que en ratones obesos ob/ob o en ratones que consumen una dieta alta en grasa, exista una remodelación de la acción del SEC que lleve a un incremento de la inhibición de terminales GABA-érgicas que controlan a las neuronas orexinérgicas del LH (Cristino et al. 2013).

El control hedónico de la ingesta de alimentos está dado principalmente por el sistema mesocorticolímbico, en que neuronas dopaminérgicas ubicadas en el área tegmental ventral (VTA) proyectan hacia el Nucleous accumbens (NAc) o la corteza prefrontal (PFC), de forma que el consumo de algún alimento sabroso y apetecible producirá la sensación de placer y al mismo tiempo que incrementará la liberación de dopamina en el NAc (Vucetic & Reyes 2010). La administración de THC en ratones incrementa el gusto por una comida sabrosa y a su vez incrementa la liberación de dopamina, lo que sitúa a los endocanabinoides como moduladores de la respuesta hedónica ante un alimento sabroso (De Luca et al. 2012). Los canabinoides parecen incrementar la preferencia por una comida sabrosa (Cota et al. 2006, De Luca et al. 2012, Harrold & Williams 2003) y además muestran un efecto sinérgico con los agonistas opioides sobre la liberación de dopamina en el NAc (Cota et al. 2006).

**ACCIONES PERIFÉRICAS DE LOS ENDOCANABINOIDES**

Estudios en modelos animales de alimentación pareada y obesidad inducida por dieta en ratones demostraron que el efecto de los bloqueadores CB1 sobre la disminución de la ingesta de alimentos era transitorio, mientras que la disminución de peso se mantenía en el tiempo (Vickers et al. 2003). Se observó además que el tratamiento crónico con un bloqueador del RCB1 producía una reducción significativa de la masa grasa en relación a la magra, y una mejora de diversos parámetros metabólicos, como niveles de insulina, leptina y colesterol, entre otros (Ravinet Trillou et al. 2003, Hildebrandt et al. 2003, Poirier et al. 2005). Por otro lado, los ratones knockout para CB1, presentan un fenotipo magro al compararlos a ratones nativos con alimentación pareada (Cota et al. 2003). Más aun, con una dieta alta en grasas, los ratones $CB1^{-/-}$ no desarrollan obesidad ni resistencia a la insulina, aunque consumen cantidades similares de alimento que sus pares nativos (Ravinet Trillou et al. 2004). En conjunto, estas evidencias demuestran que la reducción de peso y masa grasa producto del tratamiento con antagonistas CB1, se deben a su acción anoréxica inicial y posteriormente a un efecto periférico sobre la lipogénesis y/o gasto energético.

El exceso de peso se asocia a un aumento de los depósitos de triglicéridos en hígado, derivando en la alteración de la función hepática y finalmente en esteatosis hepática (Gary-Bobo et al. 2007). Se ha observado que la exposición a una dieta alta en grasa estimula la expresión del RCB1 tanto en hígado como en tejido adiposo en ratones, mientras que el tratamiento posterior con Rimonabant logra normalizar la expresión del receptor y revertir sustancialmente la esteatosis hepática (Jourdan et al. 2010). La activación de RCB1 en hepatocitos estimula la expresión de la proteína de unión del elemento regulatorio de esteroles 1c (SREBP-1c), un factor de transcripción lipogénico, y de sus genes blanco, las enzimas acetil-CoA-carboxilasa-1 (ACC1) y la sintetasa de ácidos grasos (FAS)4. Esto explicaría los efectos de agonistas para RCB1 en la estimulación de la síntesis de ácidos grasos "de novo" y lipogénesis en células hepáticas (Osei-Hyiaman et al. 2005b). La ausencia de respuesta lipogénica hepática en ratones $RCB1^{-/-}$ y la inhibición de esta en ratones nativos al bloquear el RCB1 con SR141716A, dan mayor respaldo a la función lipogénica de RCB1 hepáticos. El estudio de un modelo de ratones "knockout" hígado-específico para el RCB1 alimentados con una dieta alta en grasa, demuestra que estos animales presentan menos esteatosis, hiperglicemia, dislipidemia y resistencia a insulina y leptina, al compararlos con los ratones nativos alimentados con la misma dieta hipergrasa. Estos resultados indican que la activación de RCB1 hepáticos contribuye al desarrollo de esteatosis inducida por la dieta y a las alteraciones hormonales y metabólicas asociadas (Osei-Hyiaman et al. 2008).

El tejido adiposo en un órgano endocrino con un importante rol en el desarrollo de la obesidad y sus comorbilidades (Fain et al. 2004). Se ha sugerido que el SEC contribuye a la acumulación de triglicéridos, independiente de la cantidad de alimento consumido y actuando directamente en tejido adiposo. En este sentido, la activación de los RCB1, en tejido adiposo blanco, está acoplada a la estimulación de la actividad lipasa lipoproteica de superficie (Cota et al. 2003). Por otro lado, tanto en estudios en animales como en humanos se ha demostrado que el tejido adiposo expresa RCB1 (Bluher et al. 2006, Cota et al. 2003). De forma concordante, la obesidad se asocia a mayores niveles de ADA y 2-AG en tejido adiposo visceral en humanos (Matias et al. 2008). Por otra parte, ratas obesas Zucker (fa/fa) presentan una mayor expresión de RCB1 al compararlas con ratas control (Bensaid et al. 2003) y el tratamiento con Rimonabant estimula la expresión de adiponectina, hormona sintetizada en tejido adiposo que promueve la oxidación muscular de ácidos grasos y la reducción de peso (Fruebis et al. 2001). Otros estudios demuestran además que Rimonabant disminuye la hiperglicemia, la hiperinsulinemia y la acumulación de grasa visceral en modelos animales de estrés, diabetes y obesidad (Matias et al. 2006, Valenzuela et al. 2011, Yamauchi et al. 2001).

También hay antecedentes que indican que el SEC participa en la regulación de la secreción de insulina en el páncreas, y por tanto, en el metabolismo de hidratos de carbono. En este sentido, se ha demostrado la expresión de RCB1 y RCB2 en páncreas endocrino (Juan-Pico et al. 2006). El mismo estudio sugiere que la hiperactivación del SEC durante periodos de hiperglicemia podría contribuir a la hiperinsulinemia característica de la obesidad, mientras que en otro trabajo se demostró que la producción de endocanabinoides está regulada negativamente por

insulina en células pancreáticas (Matias et al. 2006).Por otra parte, se ha observado que el músculo esquelético humano y de ratones expresa RCB1 y que esta expresión aumenta al exponerlos a una dieta obesogénica (Cavuoto et al. 2007, Pagotto et al. 2006). Al respecto, ratones "knockout" para RCB1 tienden a presentar un mayor gasto energético (Cota et al. 2003) al compararlos con sus pares nativos, mientras que el bloqueo de los RCB1 con Rimonabant por una semana aumenta el consumo de oxígeno en un 37% en ratones genéticamente obesos, produciendo además un incremento significativo de la captación de glucosa en el músculo (Liu et al. 2005).

**CONCLUSIONES Y PROYECCIONES**

El SEC es uno de los principales blancos de estudio para el tratamiento de la obesidad y el síndrome metabólico, debido a la participación de sus componentes tanto en la ingesta de alimentos como en el control del almacenamiento y gasto energético a nivel central y periférico. La posibilidad de encontrar antagonistas/agonistas inversos de canabinoides o de modular su síntesis es una alternativa real para el tratamiento de la obesidad. Sin embargo, debido a la amplia distribución y funciones del receptor RCB1 de endocanabinoides, la probabilidad de efectos adversos es elevada, lo que dificulta la obtención de un fármaco clínicamente relevante. Un ejemplo de esto fue el retiro del mercado europeo del primer antagonista/agonista inverso del receptor RCB1 utilizado en ensayos clínicos, Rimonabant. En estudios de Fase III demostró un gran efecto en la baja de peso, y mejoramiento de parámetros cardiometabólicos, sin embargo, se pesquisó que conjuntamente, incrementaba la probabilidad de transtornos psiquiátricos incluidos depresión e intentos suicidas (Jones 2008).

El diseño de fármacos antagonistas del receptor RCB1de endocanabinoides que no atraviesen la barrera hematoencéfalica parece ser un buen punto de partida para la obtención de nuevos fármacos avocados al SEC, debido a las acciones que presentan los antagonistas de endocanabinoides sobre el mejoramiento en la sensibilidad a la insulina, disminución de la acumulación grasa y otros efectos metabólicos positivos a nivel periférico, evidencia prometedora para apoyar el antagonismo del RCB1 periférico como un objetivo viable para el tratamiento de la obesidad y sus comorbilidades asociadas.

**BIBLIOGRAFÍA:**


Alvheim, A. R., Malde, M. K., Osei-Hyiaman, D., Lin, Y. H., Pawlosky, R. J., Madsen, L., Kristiansen, K., Froyland, L. and Hibbeln, J. R. (2012) Dietary linoleic acid elevates endogenous 2-AG and anandamide and induces obesity. Obesity, 20, 1984-1994.

Alvheim, A. R., Torstensen, B. E., Lin, Y. H., Lillefosse, H. H., Lock, E. J., Madsen, L., Froyland, L., Hibbeln, J. R. and Malde, M. K. (2013a) Dietary Linoleic Acid Elevates the Endocannabinoids 2-AG and Anandamide and Promotes Weight Gain in Mice Fed a Low Fat Diet. Lipids.

Alvheim, A. R., Torstensen, B. E., Lin, Y. H., Lillefosse, H. H., Lock, E. J., Madsen, L., Hibbeln, J. R. and Malde, M. K. (2013b) Dietary linoleic acid elevates endogenous 2-arachidonoylglycerol and anandamide in Atlantic salmon (Salmo salar L.) and mice, and induces weight gain and inflammation in mice. The British journal of nutrition, 109, 1508-1517.

Arevalo, C., de Miguel, R. and Hernandez-Tristan, R. (2001) Cannabinoid effects on anxiety-related behaviours and hypothalamic neurotransmitters. Pharmacology, biochemistry, and behavior, 70, 123-131.

Banni, S. and Di Marzo, V. (2010) Effect of dietary fat on endocannabinoids and related mediators: consequences on energy homeostasis, inflammation and mood. Molecular nutrition & food research, 54, 82-92.

Batkai, S., Osei-Hyiaman, D., Pan, H. et al. (2007) Cannabinoid-2 receptor mediates protection against hepatic ischemia/reperfusion injury. FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology, 21, 1788-1800.

Bensaid, M., Gary-Bobo, M., Esclangon, A., Maffrand, J. P., Le Fur, G., Oury-Donat, F. and Soubrie, P. (2003) The cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716 increases Acrp30 mRNA expression in adipose tissue of obese fa/fa rats and in cultured adipocyte cells. Molecular pharmacology, 63, 908-914.

Berglund, E. D., Liu, C., Sohn, J. W. et al. (2013) Serotonin 2C receptors in pro-opiomelanocortin neurons regulate energy and glucose homeostasis. The Journal of clinical investigation, 123, 5061-5070.

Bluher, M., Engeli, S., Kloting, N. et al. (2006) Dysregulation of the peripheral and adipose tissue endocannabinoid system in human abdominal obesity. Diabetes, 55, 3053-3060.

Callen, L., Moreno, E., Barroso-Chinea, P. et al. (2012) Cannabinoid receptors CB1 and CB2 form functional heteromers in brain. The Journal of biological chemistry, 287, 20851-20865.

Cavuoto, P., McAinch, A. J., Hatzinikolas, G., Janovska, A., Game, P. and Wittert, G. A. (2007) The expression of receptors for endocannabinoids in human and rodent skeletal muscle. Biochemical and biophysical research communications, 364, 105-110.

Cota, D., Marsicano, G., Tschop, M. et al. (2003) The endogenous cannabinoid system affects energy balance via central orexigenic drive and peripheral lipogenesis. The Journal of clinical investigation, 112, 423-431.

Cota, D., Tschop, M. H., Horvath, T. L. and Levine, A. S. (2006) Cannabinoids, opioids and eating behavior: the molecular face of hedonism? Brain research reviews, 51, 85-107.

Cristino, L., Busetto, G., Imperatore, R. et al. (2013) Obesity-driven synaptic remodeling affects endocannabinoid control of orexinergic neurons. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 110, E2229-2238.

Currie, P. J. and Coscina, D. V. (1996) Metergoline potentiates natural feeding and antagonizes the anorectic action of medical hypothalamic 5-hydroxytryptamine. Pharmacology, biochemistry, and behavior, 53, 1023-1028.

De Luca, M. A., Solinas, M., Bimpisidis, Z., Goldberg, S. R. and Di Chiara, G. (2012) Cannabinoid facilitation of behavioral and biochemical hedonic taste responses. Neuropharmacology, 63, 161-168.

Despres, J. P., Golay, A., Sjostrom, L. and Rimonabant in Obesity-Lipids Study, G. (2005) Effects of rimonabant on metabolic risk factors in overweight patients with dyslipidemia. The New England journal of medicine, 353, 2121-2134.

Devane, W. A., Dysarz, F. A., 3rd, Johnson, M. R., Melvin, L. S. and Howlett, A. C. (1988) Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. Molecular pharmacology, 34, 605-613.

Devane, W. A., Hanus, L., Breuer, A. et al. (1992) Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. Science, 258, 1946-1949.

Di Marzo, V., Goparaju, S. K., Wang, L. et al. (2001) Leptin-regulated endocannabinoids are involved in maintaining food intake. Nature, 410, 822-825.

ENS (2010) Encuesta nacional de Salud. Ministerio de Salud, Gobierno de Chile.

Fain, J. N., Madan, A. K., Hiler, M. L., Cheema, P. and Bahouth, S. W. (2004) Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. Endocrinology, 145, 2273-2282.

Fruebis, J., Tsao, T. S., Javorschi, S., Ebbets-Reed, D., Erickson, M. R., Yen, F. T., Bihain, B. E. and Lodish, H. F. (2001) Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 98, 2005-2010.

Gary-Bobo, M., Elachouri, G., Gallas, J. F. et al. (2007) Rimonabant reduces obesity-associated hepatic steatosis and features of metabolic syndrome in obese Zucker fa/fa rats. Hepatology, 46, 122-129.

Graham, E. S., Angel, C. E., Schwarcz, L. E., Dunbar, P. R. and Glass, M. (2010) Detailed characterisation of CB2 receptor protein expression in peripheral blood immune cells from healthy human volunteers using flow cytometry. International journal of immunopathology and pharmacology, 23, 25-34.

Harrold, J. A., Dovey, T. M., Blundell, J. E. and Halford, J. C. (2012) CNS regulation of appetite. Neuropharmacology, 63, 3-17.

Harrold, J. A. and Williams, G. (2003) The cannabinoid system: a role in both the homeostatic and hedonic control of eating? The British journal of nutrition, 90, 729-734.

Higuchi, S., Ohji, M., Araki, M. et al. (2011) Increment of hypothalamic 2-arachidonoylglycerol induces the preference for a high-fat diet via activation of cannabinoid 1 receptors. Behavioural brain research, 216, 477-480.

Hildebrandt, A. L., Kelly-Sullivan, D. M. and Black, S. C. (2003) Antiobesity effects of chronic cannabinoid CB1 receptor antagonist treatment in diet-induced obese mice. European journal of pharmacology, 462, 125-132.

Jamshidi, N. and Taylor, D. A. (2001) Anandamide administration into the ventromedial hypothalamus stimulates appetite in rats. British journal of pharmacology, 134, 1151-1154.

Jones, D. (2008) End of the line for cannabinoid receptor 1 as an anti-obesity target? Nature reviews. Drug discovery, 7, 961-962.

Jourdan, T., Djaouti, L., Demizieux, L., Gresti, J., Verges, B. and Degrace, P. (2010) CB1 antagonism exerts specific molecular effects on visceral and subcutaneous fat and reverses liver steatosis in diet-induced obese mice. Diabetes, 59, 926-934.

Juan-Pico, P., Fuentes, E., Bermudez-Silva, F. J., Javier Diaz-Molina, F., Ripoll, C., Rodriguez de Fonseca, F. and Nadal, A. (2006) Cannabinoid receptors regulate Ca(2+) signals and insulin secretion in pancreatic beta-cell. Cell calcium, 39, 155-162.

Kim, J., Li, Y. and Watkins, B. A. (2011) Endocannabinoid signaling and energy metabolism: a target for dietary intervention. Nutrition, 27, 624-632.

Kirkham, T. C., Williams, C. M., Fezza, F. and Di Marzo, V. (2002) Endocannabinoid levels in rat limbic forebrain and hypothalamus in relation to fasting, feeding and satiation: stimulation of eating by 2-arachidonoyl glycerol. British journal of pharmacology, 136, 550-557.

Kopelman, P. G. (2000) Obesity as a medical problem. Nature, 404, 635-643.

Liu, Y. L., Connoley, I. P., Wilson, C. A. and Stock, M. J. (2005) Effects of the cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716 on oxygen consumption and soleus muscle glucose uptake in Lep(ob)/Lep(ob) mice. International journal of obesity, 29, 183-187.

Mackie, K. and Hille, B. (1992) Cannabinoids inhibit N-type calcium channels in neuroblastoma-glioma cells. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 89, 3825-3829.

Malik, V. S., Willett, W. C. and Hu, F. B. (2013) Global obesity: trends, risk factors and policy implications. Nature reviews. Endocrinology, 9, 13-27.

Matias, I., Gonthier, M. P., Orlando, P. et al. (2006) Regulation, function, and dysregulation of endocannabinoids in models of adipose and beta-pancreatic cells and in obesity and hyperglycemia. The Journal of clinical endocrinology and metabolism, 91, 3171-3180.

Matias, I., Petrosino, S., Racioppi, A., Capasso, R., Izzo, A. A. and Di Marzo, V. (2008) Dysregulation of peripheral endocannabinoid levels in hyperglycemia and obesity: Effect of high fat diets. Molecular and cellular endocrinology, 286, S66-78.

Muccioli, G. G. (2010) Endocannabinoid biosynthesis and inactivation, from simple to complex. Drug discovery today, 15, 474-483.

Nakazi, M., Bauer, U., Nickel, T., Kathmann, M. and Schlicker, E. (2000) Inhibition of serotonin release in the mouse brain via presynaptic cannabinoid CB1 receptors. Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology, 361, 19-24.

NICE (2006) Guidance on the prevention, identification, assessment and management of overweight and obesity in adults and children., (NICE ed.). London.

Nisoli, E. and Carruba, M. O. (2000) An assessment of the safety and efficacy of sibutramine, an anti-obesity drug with a novel mechanism of action. Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity, 1, 127-139.

Nonogaki, K., Abdallah, L., Goulding, E. H., Bonasera, S. J. and Tecott, L. H. (2003) Hyperactivity and reduced energy cost of physical activity in serotonin 5-HT(2C) receptor mutant mice. Diabetes, 52, 315-320.

Osei-Hyiaman, D., Depetrillo, M., Harvey-White, J., Bannon, A. W., Cravatt, B. F., Kuhar, M. J., Mackie, K., Palkovits, M. and Kunos, G. (2005a) Cocaine- and amphetamine-related transcript is involved in the orexigenic effect of endogenous anandamide. Neuroendocrinology, 81, 273-282.

Osei-Hyiaman, D., DePetrillo, M., Pacher, P. et al. (2005b) Endocannabinoid activation at hepatic CB1 receptors stimulates fatty acid synthesis and contributes to diet-induced obesity. The Journal of clinical investigation, 115, 1298-1305.

Osei-Hyiaman, D., Liu, J., Zhou, L. et al. (2008) Hepatic CB1 receptor is required for development of diet-induced steatosis, dyslipidemia, and insulin and leptin resistance in mice. The Journal of clinical investigation, 118, 3160-3169.

Padwal, R., Klarenbach, S., Wiebe, N., Birch, D., Karmali, S., Manns, B., Hazel, M., Sharma, A. M. and Tonelli, M. (2011) Bariatric surgery: a systematic review and network meta-analysis of randomized trials. Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity, 12, 602-621.

Padwal, R., Li, S. K. and Lau, D. C. (2004) Long-term pharmacotherapy for obesity and overweight. The Cochrane database of systematic reviews, CD004094.

Pagotto, U., Marsicano, G., Cota, D., Lutz, B. and Pasquali, R. (2006) The emerging role of the endocannabinoid system in endocrine regulation and energy balance. Endocrine reviews, 27, 73-100.

Pi-Sunyer, F. X., Aronne, L. J., Heshmati, H. M., Devin, J., Rosenstock, J. and Group, R. I.-N. A. S. (2006) Effect of rimonabant, a cannabinoid-1 receptor blocker, on weight and cardiometabolic risk factors in overweight or obese patients: RIO-North America: a randomized controlled trial. JAMA : the journal of the American Medical Association, 295, 761-775.

Piomelli, D. (2003) The molecular logic of endocannabinoid signalling. Nature reviews. Neuroscience, 4, 873-884.

Poirier, B., Bidouard, J. P., Cadrouvele, C., Marniquet, X., Staels, B., O'Connor, S. E., Janiak, P. and Herbert, J. M. (2005) The anti-obesity effect of rimonabant is associated with an improved serum lipid profile. Diabetes, obesity & metabolism, 7, 65-72.

Ravinet Trillou, C., Arnone, M., Delgorge, C., Gonalons, N., Keane, P., Maffrand, J. P. and Soubrie, P. (2003) Anti-obesity effect of SR141716, a CB1 receptor antagonist, in diet-induced obese mice. American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology, 284, R345-353.

Ravinet Trillou, C., Delgorge, C., Menet, C., Arnone, M. and Soubrie, P. (2004) CB1 cannabinoid receptor knockout in mice leads to leanness, resistance to diet-induced obesity and enhanced leptin sensitivity. International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity, 28, 640-648.

Rossner, S., Sjostrom, L., Noack, R., Meinders, A. E. and Noseda, G. (2000) Weight loss, weight maintenance, and improved cardiovascular risk factors after 2 years treatment with orlistat for obesity. European Orlistat Obesity Study Group. Obesity research, 8, 49-61.

Scheen, A. J., Finer, N., Hollander, P., Jensen, M. D., Van Gaal, L. F. and Group, R. I.-D. S. (2006) Efficacy and tolerability of rimonabant in overweight or obese patients with type 2 diabetes: a randomised controlled study. Lancet, 368, 1660-1672.

Tsujino, N. and Sakurai, T. (2009) Orexin/hypocretin: a neuropeptide at the interface of sleep, energy homeostasis, and reward system. Pharmacological reviews, 61, 162-176.

Valenzuela, C., Aguirre, C., Castillo, V., Ronco, A. M. and Llanos, M. (2010) [A role for the endocannabinoid system in obesity]. Revista medica de Chile, 138, 621-629.

Valenzuela, C. A., Castillo, V. A., Aguirre, C. A., Ronco, A. M. and Llanos, M. N. (2011) The CB(1) receptor antagonist SR141716A reverses adult male mice overweight and metabolic alterations induced by early stress. Obesity, 19, 29-35.

Van Gaal, L. F., Rissanen, A. M., Scheen, A. J., Ziegler, O., Rossner, S. and Group, R. I.-E. S. (2005) Effects of the cannabinoid-1 receptor blocker rimonabant on weight reduction and cardiovascular risk factors in overweight patients: 1-year experience from the RIO-Europe study. Lancet, 365, 1389-1397.

Vickers, S. P., Webster, L. J., Wyatt, A., Dourish, C. T. and Kennett, G. A. (2003) Preferential effects of the cannabinoid CB1 receptor antagonist, SR 141716, on food intake and body weight gain of obese (fa/fa) compared to lean Zucker rats. Psychopharmacology, 167, 103-111.

Vucetic, Z. and Reyes, T. M. (2010) Central dopaminergic circuitry controlling food intake and reward: implications for the regulation of obesity. Wiley interdisciplinary reviews. Systems biology and medicine, 2, 577-593.

Watkins, B. A., Hutchins, H., Li, Y. and Seifert, M. F. (2010) The endocannabinoid signaling system: a marriage of PUFA and musculoskeletal health. The Journal of nutritional biochemistry, 21, 1141-1152.

Williams, C. M. and Kirkham, T. C. (1999) Anandamide induces overeating: mediation by central cannabinoid (CB1) receptors. Psychopharmacology, 143, 315-317.

Yamauchi, T., Kamon, J., Waki, H. et al. (2001) The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. Nature medicine, 7, 941-946.

Yoshida, R., Ohkuri, T., Jyotaki, M. et al. (2010) Endocannabinoids selectively enhance sweet taste. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 107, 935-939.

SO FAR CHI Sociedad de Farmacología de Chile

*ARTÍCULO DE REVISIÓN*

# PROGRAMACIÓN FETAL DE LAS ENFERMEDADES METABÓLICAS

(Fetal Programming of Metabolic Diseases)

**Manuel Maliqueo y Bárbara Echiburú**

*Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo, Facultad de Medicina Sede Occidente, Universidad de Chile. Santiago, Chile.*

**RESUMEN**

*En la mayoría de los mamíferos, incluyendo el ser humano, los órganos y los sistemas homeostáticos se desarrollan durante la vida prenatal. Esta es una etapa de gran plasticidad, y por ende de alta susceptibilidad a los cambios ambientales. Por lo tanto, eventos adversos durante la gestación pueden traer consecuencias a largo plazo en un fenómeno que se conoce como "programación fetal". Alteraciones durante el gestación, tales como la desnutrición, obesidad, hipoxia o bien la presencia de patologías del embarazo pueden conducir a cambios en los perfiles metabólicos y hormonales de la madre y el feto, modificando el ambiente intrauterino. En este proceso la función de la placenta es fundamental, debido a que ella se encarga de la transferencia de nutrientes, oxígeno y de la metabolización de hormonas y drogas que afectan el desarrollo fetal. Los efectos a largo plazo de la programación están determinados por múltiples factores que involucran el medio ambiente postnatal y las características propias de los individuos. El dimorfismo sexual es de gran relevancia dado que los fetos masculinos y femeninos tienen diferentes grados de susceptibilidad a los cambios en el ambiente prenatal y postnatal temprano. Los mecanismos intrínsecos por medio de los cuales la programación fetal se hace evidente en la vida postnatal involucran modificaciones en los patrones de la expresión de genes en ciertos órganos y tejidos, lo que sumado a ambientes y estilos de vida desfavorables en la vida postnatal, se podría traducir en la aparición de desórdenes endocrino-metabólicos.*

***Palabras Claves:*** *Programación fetal, enfermedad metabólica, placenta, dimorfismo sexual.*

***Publicado por la Sociedad de Farmacología de Chile***

## INTRODUCCIÓN

En biología el término "programación" postula que estímulos o insultos durante períodos críticos del desarrollo pueden tener un impacto a lo largo de la vida de los individuos (Lucas 1991). En este sentido, la vida fetal es una de las etapas de mayor plasticidad, ya que en esta se forman y maduran la mayoría de los órganos y tejidos. Las evidencias experimentales y epidemiológicas han demostrado que las modificaciones del ambiente intrauterino pueden acarrear consecuencias deletéreas para los individuos, expresadas como un mayor riesgo de padecer patologías no transmisibles en la vida adulta, lo que se conoce como hipótesis del origen temprano de las enfermedades o programación fetal (Bateson et al. 2004).

Estudios observacionales y de cohorte en Inglaterra, Escandinavia e India fueron los primeros que mostraron la estrecha asociación entre el bajo peso al nacer y el desarrollo posterior de enfermedades crónicas (Koupilova et al. 1999, Stein et al. 1996, Barker & Osmond 1986). Barker et al., describieron, en 16.000 sujetos en Inglaterra, que las tasas de muerte por enfermedad cardiovascular disminuían a la mitad en aquellos que habían nacido con un peso normal en comparación con aquellos que habían nacidos pequeños para la edad gestacional (Osmond et al. 1993).

Además, está asociación se mantuvo después de ajustar por múltiples variables como, nivel socioeconómico, historia familiar y el peso al momento del estudio. Interesantemente, un mayor índice de masa corporal en la vida adulta aumentó la fuerza de esta asociación (Barker 2006). Otros indicadores antropométricos de un alterado crecimiento fetal, por ejemplo, peso, talla, baja circunferencia abdominal y una elevada relación feto-placenta han sido asociados con el desarrollo de enfermedad crónica en la vida adulta (Barker et al. 1993, Campbell et al. 1996).

**Correspondencia a:** Dr. Manuel Maliqueo. Calle Carlos Schachtebeck 299, Interior Quinta Normal, Casilla 33052, Correo 33, Santiago, Chile. Teléfono: +56-2-681 46 76 ; Fax: +56-2-681 66 93 ; Correo Electrónico: mmaliqueo@med.uchile.cl

En general, son múltiples los factores que pueden alterar el peso al nacer, los que incluyen factores maternos, placentarios y fetales (Tabla 1).

Es importante indicar que esta asociación se extiende, también, a aquellos niños nacidos por sobre el percentil 90 de la curva de crecimiento o niños grandes para la edad gestacional, produciéndose una distribución "tipo U" en el riesgo de desarrollar patologías en la vida adulta (Rogers & Group 2003, Gluckman & Hanson 2004). Las principales causas de macrosomía fetal incluyen diabetes gestacional, obesidad y una sobrenutrición materna (Ju et al. 2009).
La placenta es un órgano fundamental durante la gestación, pues participa en el transporte de nutrientes, en la respuesta inmunológica, en la síntesis de hormonas esteroidales y peptídicas, y en la detoxificación de sustancias nocivas para el feto. Por lo tanto, una alterada o deficiente función placentaria podría constituir un elemento central en el establecimiento de un patrón alterado de desarrollo fetal (Fowden et al. 2008).

**Tabla 1. Factores maternos que modifican el peso de los recién nacidos.**

| |
|---|
| *Factores maternos* |
| • Desnutrición |
| • Obesidad |
| • Deficiencia de nutrientes |
| • Hipertensión arterial y Preeclampsia |
| • Diabetes Gestacional |
| • Síndrome de ovario poliquístico |
| • Asma |
| • Enfermedad periodontal |
| • Tabaquismo |
| • Consumo de alcohol |
| • Consumo de drogas |
| *Factores placentarios* |
| • Alteraciones de la circulación utero-placentario |
| • Alteraciones en la transferencia de nutrientes |
| • Infarto o anormal desarrollo placentario |
| *Factores fetales* |
| • Anomalías cromosómicas. |

El concepto de programación fetal involucra una serie de modificaciones en la estructura y función de diferentes tejidos y órganos, entre los que se encuentran una reducción o redistribución de diferentes poblaciones celulares o bien una anormal sensibilidad de los tejidos a la regulación hormonal (Vo & Hardy 2012). Por otro lado, cambios en los patrones de expresión génica a través de modificaciones epigenéticas, como metilaciones en el ADN, modificaciones post traduccionales en las histonas y micro ARN, pueden ser la base del mantenimiento a largo plazo de los efectos de la programación fetal (Burdge et al. 2007a, O'Sullivan et al. 2012). Dada la complejidad de estos procesos, es muy probable que existan múltiples variables que afecten el resultado final de la programación fetal. El dimorfismo sexual podría ser uno de sus principales modificadores debido a que los fetos masculinos se adaptan de manera diferente a los fetos femeninos frente a condiciones desfavorables durante la gestación.

Por lo tanto, en la presente revisión nos focalizaremos en las evidencias que sustentan la hipótesis de que un ambiente intrauterino alterado conduce a programación fetal, debido a una alterada función placentaria y a una respuesta fetal individual determinada principalmente por el dimorfismo sexual. Estas modificaciones llevarían a modificaciones epigenéticas, las cuales mantienen los efectos a largo plazo de la programación fetal (Figura 1).

**Figura 1:** Factores que intervienen en la programación fetal.

**PROGRAMACION FETAL**

Los factores que inducen programación fetal son variados y aún no completamente conocidos. La nutrición materna, la exposición a hormonas esteroidales, el estrés o la presencia de patologías durante el embarazo, como diabetes gestacional y pre-eclampsia han demostrado tener efectos a largo plazo en la función metabólica, cardiovascular, reproductiva y neurológica en la vida postnatal.

**Factores nutricionales**

***Desnutrición:*** Desde los estudios de R.A. McCance en Cambridge durante la década de los 60 hasta nuestros días la evidencia experimental basada en modelos animales, indica que modificaciones nutricionales en las hembras

preñadas afectan el peso fetal y el crecimiento de las crías en el largo plazo (Mccance & Widdowson 1962).

Los primeros antecedentes en humanos de la asociación de una pobre nutrición materna y sus efectos en la vida postnatal provienen de estudios clínicos en sujetos que padecieron la hambruna holandesa de finales de la segunda guerra mundial, entre los inviernos de 1944 a 1945 (Roseboom et al. 2006). Lo relevante de esta población es que corresponde a un grupo con una nutrición normal que repentinamente fue afectado por una restricción calórica extrema. En esta cohorte se demostró que hombres jóvenes que estuvieron sometidos a la hambruna en su vida prenatal o postnatal temprana presentaron una menor tasa de obesidad en la vida adulta en comparación con aquellos expuestos durante la primera mitad del embarazo. De lo anterior se infirió que existían periodos críticos durante la gestación que afectan el desarrollo del tejido adiposo y de los centros hipotalámicos que regulan la ingesta calórica y el crecimiento (Ravelli et al. 1976). Estas observaciones han sido corroboradas en modelos experimentales en ratas, los cuales han demostrado que la restricción calórica durante la gestación induce el desarrollo de obesidad, diabetes e hipertensión arterial en las crías (Vickers et al. 2000, Garofano et al. 1998, Ozaki et al. 2001). Este efecto es potenciado por una dieta rica en grasas en la vida postnatal y se encuentra asociado con una mayor resistencia a la leptina y a una anormal expresión hipotalámica de moléculas que regulan la ingesta de alimentos, tales como proopiomelanocortina, neuropéptido Y, proteína r-Agouti y receptor de leptina (Krechowec et al. 2006, Ikenasio-Thorpe et al. 2007). Además, estos animales presentan un menor número de células β-pancreáticas lo que conduce al desarrollo de diabetes tipo 2 (Garofano et al. 1998). Interesantemente, aquellos animales que son sometidos a restricción calórica en etapas tardías de la gestación presentan alteraciones cardiovasculares pero no desarrollan hipertensión, lo que pone de manifiesto el concepto de etapas críticas en el establecimiento de la programación fetal (Holemans et al. 1999).

Es muy probable que el efecto de la pobre nutrición materna sea mediado por la disminución de nutrientes específicos. Los modelos animales de deficiencia proteica durante la gestación han mostrado alteraciones en la función β-pancreática (Desai et al. 1996) y resistencia a la insulina debido a una menor expresión de PKC-ζ, en el músculo esquelético (Fernandez-Twinn et al. 2005). Además, se produce una mayor expresión hepática de acetil-coA carboxilasa y ácido graso sintasa, enzimas que favorecen la acumulación de tejido graso (Maloney et al. 2003). Por otro lado, deficiencia de micronutrientes y minerales en roedores han mostrado efectos similares a los observados en la restricción calórica. Una baja ingesta de vitamina A durante la gestación conduce a hipertensión arterial debido a una reducción en el número de nefronas (Lelievre-Pegorier et al. 1998) y a intolerancia a la glucosa por disminución de células β-pancreáticas en las crías (Matthews et al. 2004); mientras que la deficiencia de calcio y zinc afectan la presión arterial debido a una reducción del área glomerular, además de una posible alteración del transporte del calcio lo que podría afectar la regulación hormonal de la presión sanguínea (Bergel & Belizan 2002, Tomat et al. 2008).

***Sobrealimentación:*** La exposición materna a dietas ricas en carbohidratos o grasas, también conducen a hipertensión y síndrome metabólico en las crías. Modelos en roedores alimentados con dietas ricas en sacarosa han mostrado que las crías desarrollan obesidad, hígado graso y un aumento en los niveles de lipoproteínas de baja densidad, paradójicamente estos animales presentaron una mayor sensibilidad a la insulina a nivel muscular, con una tolerancia a la glucosa normal (Sedova et al. 2007). Por otro lado, dietas ricas en fructosa durante la gestación inducen obesidad, aumentando los niveles circulantes de glucosa, insulina y leptina (Rawana et al. 1993, Vickers et al. 2011).

Por su parte, dietas de alto contenido en grasa durante la gestación inducen una reducción del peso fetal (Hartil et al. 2009). A largo plazo, estos animales desarrollan obesidad, hipercolesterolemia, resistencia a la insulina e hipertensión (Chechi & Cheema 2006, Samuelsson et al. 2008, Bruce et al. 2009). Se ha sugerido que un mayor estrés oxidativo podría explicar los efectos deletéreos de las dietas ricas en grasas durante la gestación en modelos de primates no humanos (McCurdy et al. 2009). Por otro lado, a nivel hepático se produce una disminución de la actividad transcripcional del coactivador 1 del receptor gamma activado por la proliferación de peroxisoma (PPARgc1) mitocondrial el cual se asocia a insulina resistencia (Burgueno et al. 2013).

***Hipoxia prenatal:*** La disminución en el suministro de oxígeno al feto, también, puede conducir a programación fetal. En este sentido, el ligamiento de las arterias uterinas conduce a hipoxia y restringe el crecimiento fetal (Gilbert & Leturque 1982). Interesantemente, en seres humanos los embarazos en zonas de elevada altitud se asocian con un menor peso al nacer (Giussani et al. 2001).

La hipoxia materna conduce a aterosclerosis a edades tempranas en las crías (Wang et al. 2009). Además, produce una disminución de la densidad glomerular asociados con una mayor reactividad β2-adrenérgica en las arterias renales (Sanders et al. 2004). Otras alteraciones observadas en estos modelos incluyen, una hipoxia permanente, hiperglicemia y un alterado desarrollo cerebral (Lafeber et al. 1984, Jones et al. 1984, Rehn et al. 2004). En condiciones de hipoxia se produce un aumento

de la expresión y actividad de la isoforma endotelial de la óxido nítrico sintasa (NOS) en la vena umbilical de los fetos restringidos in utero probablemente con el fin de contrarrestar el efecto de la hipoxia (Pisaneschi et al. 2012). No está claro si la mayor producción de óxido nítrico pueda tener consecuencias postnatales en los niños pequeños para la edad gestacional. Sin embargo, esto podría regular negativamente la actividad de NOS en los neonatos, llevando a una mayor producción de radicales libres (Pisaneschi et al. 2013).

***Crecimiento compensatorio:*** En la mayoría de los casos la programación actúa favoreciendo los mecanismos adaptativos en la vida postnatal, sólo en situaciones de *mistmatch* esto llevaría a la generación de enfermedad en la vida adulta (Bateson et al. 2004). Por ejemplo, es bien sabido que los fetos restringidos recuperan rápidamente el peso normal en la vida postnatal, lo que se conoce como crecimiento compensatorio. Numerosas evidencias muestran que estos niños acumulan rápidamente grasa y este excesivo y rápido crecimiento se ha asociado a obesidad, resistencia a la insulina, síndrome metabólico y diabetes tipo 2 (Ong et al. 2000, Cianfarani et al. 1999). Los niños con restricción de crecimiento intrauterino presentan bajas concentraciones de insulina y de factores de crecimiento; los que se normalizan rápidamente en la vida postnatal, este fenómeno podría llevar a que los tejidos periféricos desarrollen resistencia a la insulina con el fin de evitar la hipoglicemia debido al repentino cambio en los niveles de insulina lo que llevaría, finalmente, al resto de las alteraciones metabólicas observadas en la vida adulta (Cianfarani et al. 1999). Interesantemente, si la restricción de crecimiento in utero no es seguida por crecimiento compensatorio, algunas de las condiciones deletéreas observadas en la vida adulta son prevenidas, como ha sido demostrado en ratas (Howie et al. 2012).

**Patologías del embarazo**

***Preeclampsia:*** Una placentación anormal puede conducir a defectos en la remodelación de las arterias uterinas, lo que reduce el flujo utero-placentario, llevando al desarrollo de preeclampsia. Esta patología se caracteriza por hipertensión arterial materna, albuminuria y puede o no estar asociada a restricción del crecimiento fetal (Khong & Brosens 2011). Al igual que en los modelos animales de restricción del suministro de oxígenos, los hijos de mujeres con preeclampsia desarrollan hipertensión arterial y tienen el doble del riesgo de sufrir infartos en la vida adulta (Kajantie et al. 2010, Kajantie et al. 2009). Más aún, el incremento en la presión sanguínea está presente desde la adolescencia y es independiente del peso al nacer (Davis et al. 2012).

***Obesidad:*** En los humanos la obesidad materna durante la gestación incrementa el riesgo de obesidad, diabetes tipo 2, enfermedad cardiovascular y cáncer en su descendencia (Thangaratinam & Jolly 2010, Gunderson et al. 2000). Es interesante notar que los hijos de madres obesas acumulan una mayor cantidad de tejido adiposo, desarrollan insulino resistencia y presentan elevadas concentraciones plasmáticas de citoquinas proinflamatorias desde el nacimiento (Catalano et al. 2009). Además, un reciente estudio realizado en 3074 madres obesas durante la gestación demostró que sus hijos presentaban obesidad e hipertensión arterial desde la niñez (Gademan et al. 2013). Estas alteraciones observadas en las primera generación de hijos nacidos de madres obesas, también puede tener repercusiones en las siguientes generaciones dado que estudios animales han mostrados una mayor propensión a obesidad y síndrome metabólico en la segunda generación de animales expuestos a obesidad materna (King et al. 2013).

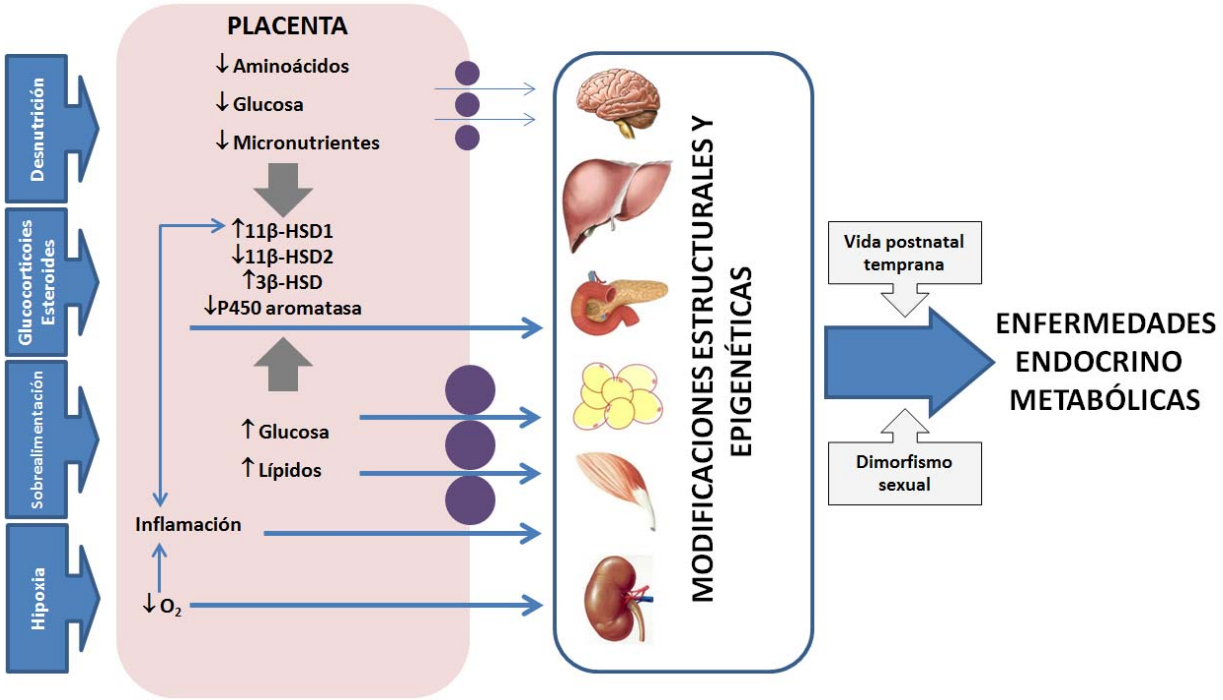
***Diabetes gestacional:*** En la diabetes gestacional la hiperglicemia materna, principalmente en el tercer trimestre de embarazo, conduce a hiperglicemia e hiperinsulinemia fetal lo que propicia un mayor crecimiento debido a acumulación de tejido adiposo (Gilmartin et al. 2008). La hiperglicemia aumenta los niveles de marcadores de estrés oxidativo y disminuye los niveles circulantes de vitamina A y D en las embarazadas (Peuchant et al. 2004). En un estudio realizado en mujeres entre 18 a 27 años nacidas de madres con diabetes gestacional, mostró que ellas tenían dos a cuatro veces mayor riesgo de desarrollar obesidad y síndrome metabólico que mujeres nacidas de embarazos normales. Además este riesgo se incrementaba a medida que aumentaban los niveles de glucosa materna en ayunas y 2 horas post-carga de glucosa (Green et al. 1990).

**Exposición a hormonas**

***Glucocorticoides:*** La elevación de los niveles de cortisol al final del embarazo parece ser esencial para la maduración de diferentes órganos fetales (Challis et al. 2001). Sin embargo, la sobreexposición a glucocorticoides en etapas previas conduce a restricción del crecimiento fetal con efectos deletéreos en el sistema cardiovascular, morfología renal, alteraciones del eje renina-angiotensina y en la glicogeneogénesis por modulación de enzimas hepáticas. (Reynolds 2013).

Los niveles de glucocorticoides fetales son regulados por la enzima 11β-hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1 y tipo 2 (11β-HSD1 y 11β-HSD2). Los glucocorticoides activos (cortisol en humanos, corticosterona en roedores) son oxidados por 11β-HSD2 a esteroides inactivos (cortisona, 11-dehidrocorticosterona respectivamente), para reducir los niveles de glucocorticoides intracelulares. Por otro lado, la conversión a esteroides activos puede ocurrir mediante la acción de la enzima 11β-HSD1 (Cottrell et al. 2013).

**Figura 2:** Interacción entre factores maternos, placentarios y fetales que conducen a la programación fetal. 11β-HSD: 11β-hidroxiesteroide deshidrogenasa; 3β-HSD: 3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa; $O_2$: Oxígeno.




En ratas, la inactivación experimental de la 11β-HSD2 o la administración de glucocorticoides exógenos durante la gestación reducen el peso de las crías e inducen la aparición de anormalidades metabólicas en la vida adulta (Nyirenda et al. 1998, Tang et al. 2011). Ratones knock out para 11β-HSD2 muestran alteraciones cardiovasculares que incluyen hipertensión, hipokalemia, poliuria (Kotelevtsev et al. 1999), además de alteraciones conductuales, que incluyen mayores niveles de ansiedad y depresión (Holmes et al. 2006).

***Esteroides sexuales:*** Los esteroides sexuales producidos por la madre, por la placenta o por el feto durante la gestación son importantes para el normal desarrollo fetal. Aunque, la excesiva producción de ellos o su menor metabolización acarrea consecuencias deletéreas como se ha demostrado en modelos animales. La exposición prenatal a testosterona en ovejas conduce a restricción del crecimiento intrauterino y crecimiento compensatorio lo cual es más evidente en hembras que en machos (Manikkam et al. 2004). Además, induce alteraciones en la secreción insulínica y en la expresión génica de enzimas relacionadas con el metabolismo hepático, junto con la presencia de hígado graso a edades tempranas en las hembras (Hogg et al. 2011).

En monos Rhesus, la exposición a andrógenos durante la primera mitad del embarazo reduce la actividad β-pancreática e induce resistencia a la insulina en machos y hembras (Eisner et al. 2003, Bruns et al. 2004, Eisner et al. 2000). Además, las hembras presentan mayor cantidad de grasa abdominal y visceral en comparación a las hembras no expuestas (Bruns et al. 2007). Estas anormalidades forman parte de las características metabólicas de las mujeres con síndrome de ovario políquistico, por lo que se ha sugerido que este síndrome podría ser, en parte, mediado por una exposición temprana a andrógenos (Witchel et al. 2012).

La exposición prenatal a compuestos con actividad estrogénica podría conducir al desarrollo de obesidad en la vida adulta tal como ha sido demostrado en ratones (Newbold et al. 2005). En general, los estrógenos son importantes reguladores del metabolismo hepático y adiposo. Por lo tanto, cambios en la sensibilidad de estos tejidos frente a la acción estrogénica podrían llevar al desarrollo de síndrome metabólico (Mauvais-Jarvis et al. 2013).

**PLACENTA Y PROGRAMACIÓN FETAL**

La función placentaria es regulada principalmente por señales maternas y fetales, lo que en conjunto forman lo que se conoce como unidad feto-placentaria. A través de la placenta, el feto recibe oxígeno y nutrientes (glucosa, aminoácidos, lípidos, vitaminas, minerales y agua) desde la circulación materna y elimina los desechos producidos por su metabolismo. Además, la placenta produce hormonas que son necesarias para el mantenimiento del embarazo y el desarrollo fetal, tales como factores de crecimiento que estimulan la transferencia de nutrientes e inducen el desarrollo placentario, hormonas que regulan el metabolismo materno y fetal como citoquinas, hormonas esteroidales como progesterona que mantiene la quiescencia uterina y evita el rechazo inmunológico de la madre hacia el feto, estrógenos que favorecen la circulación sanguínea en la placenta y cumplen múltiples funciones en el crecimiento fetal y glucocorticoides que estimulan el desarrollo del pulmón, hígado, estomago, musculo esquelético y tejido adiposo fetal (John & Hemberger 2012).

En cierta forma, el feto se comunica con la madre y el medio que la rodea a través de procesos que ocurren en la placenta y que se manifiestan como cambios en la producción y respuesta del tejido placentario a las hormonas del embarazo. En este mismo sentido, la placenta puede metabolizar muchos factores maternos que afectan el desarrollo fetal, manteniendo aislado al feto de los grandes cambios que suceden en el medio ambiente. En la placenta existen una serie de enzimas que degradan sustancias nocivas tales como drogas, fármacos o bien contaminantes medioambientales, así como el exceso de hormonas maternas (Syme et al. 2004). Sin embargo, esta capacidad es limitada y si es sobrepasada afecta al desarrollo fetal.

Las células trofoblásticas son el primer linaje celular que se diferencia en el desarrollo de los mamíferos, estás células permiten la implantación y a partir de ella se generan la mayoría de los tejidos extraembrionarios. Al inicio de la implantación, las células citotrofoblásticas nutren al embrión por medio de la fagocitosis de las células endometriales. Luego invaden arterias uterinas, con lo cual asegura el suministro de oxígeno. Hacia el final de la segunda semana de gestación se inicia la circulación útero-placentaria. La fusión de los citotrofoblastos forma el sinciciotrofoblasto que delimita la circulación materna y fetal. Este epitelio es funcionalmente activo ya que a través de él se produce el transporte de nutrientes, se sintetizan hormonas y expresa múltiples grupos enzimáticos encargados de detoxificación celular.

El crecimiento fetal conlleva una mayor demanda de nutrientes, por lo tanto la superficie del sinciciotrofoblasto debe incrementarse para asegurar un suministro de nutrientes adecuados. En general, el sinciciotrofoblasto está en continua renovación, y muchos cuerpos apoptóticos son eliminados periódicamente a la circulación materna. Sin embargo, ellos poseen una baja actividad transcripcional, por lo que su mantención depende de la proliferación, diferenciación y fusión de los citotrofoblastos. Es por ello, que la tasa de proliferación del citotrofoblasto es muy alta sobre todo durante el primer trimestre del embarazo. Por lo tanto, un aumento o disminución en la tasa de recambio ha sido asociada con diferentes patologías que están ligadas a aumentado crecimiento o macrosomía o bien a restricción de crecimiento intrauterino (Jansson & Powell 2006).

Además, la actividad endocrina de la placenta es central en los mecanismos que llevan a la programación fetal (Figura 2). La ausencia de actividad 11β-HSD2 en la placenta no sólo repercute en el metabolismo de los glucocorticoides, también afecta la morfología placentaria debido a una reducción de su peso y de la angiogénesis. Interesantemente, ratones 11β-HSD2-/- presentan una disminución en el peso de la placenta, pero un mayor transporte de aminoácidos y de la expresión génica de transportadores de aminoácidos Slc38a2 and Slc38a4 en el día gestacional (DG) 15 manteniendo un peso fetal normal, a diferencia de los que sucede en DG18 cuando el transporte de glucosa disminuye asociado a una pobre vascularización del laberinto, afectando el crecimiento fetal y conduciendo a restricción de crecimiento intrauterino (Wyrwoll et al. 2009). Sin embargo, utilizando el modelo de apareamiento de ratones 11β-HSD2-/+ y dieta baja en proteínas, se ha observado que está última disminuye el peso de los fetos y la expresión del gen de IGF2 en la placenta y en el hígado fetal, independientemente de la presencia de 11β-HSD2 (Cottrell et al. 2012). Sin embargo, la dieta baja en proteínas activa el eje el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (Cottrell et al. 2012). Lo que sugiere, que la dieta podría afectar la síntesis de glucocorticoides fetales afectando el crecimiento fetal sin pasar por cambios a nivel de la placenta.

Por otro lado, embarazos patológicos de mujeres con diabetes gestacional, preeclampsia o síndrome de ovario poliquístico, presentan una alterada expresión de enzimas que metabolizan esteroides sexuales, como 3β-hidroxisteroide deshidrogenasa (3β-HSD) y P450 aromatasa, las cuales están asociada al metabolismo de andrógenos y estrógenos placentarios (Uzelac et al. 2010, Sathishkumar et al. 2012, Maliqueo et al. 2013).

Por lo tanto, es muy probable que los eventos que llevan a programación fetal sean mediados, en parte, por cambios en la actividad de enzimas que metabolizan glucocorticoides o esteroides en la placenta.

**EFECTO DEL DIMORFISMO SEXUAL**

El dimorfismo sexual es un factor central en los efectos a largo plazo de la programación fetal. Dado que los niños crecen más rápido que las niñas desde etapas tempranas de la gestación, ellos se encuentran más comprometidos frente a cambios en la nutrición materna (<biblio>). Se ha postulado que el rápido crecimiento de los fetos masculinos involucra una mayor demanda energética, lo que implica una menor inversión energética para el crecimiento placentario haciéndolos más susceptibles a ambientes intrauterinos adversos (Eriksson et al. 2010). En este sentido, en la hambruna holandesa de la segunda guerra mundial nacieron menos varones que mujeres (Ravelli et al. 1999). La evidencia clínica muestra que los fetos masculinos tienen mayor riesgo de mortalidad peri y postnatal en comparación con los fetos femeninos, las cuales se adaptan mejor a la vida extrauterina (Bracero et al. 1996, Bekedam et al. 2002, Zeitlin et al. 2004, Stark et al. 2008). Además, los recién nacidos varones provenientes de embarazos patológicos o expuestos a contaminantes ambientales tienen peor pronóstico que las niñas (Di Renzo et al. 2007, Engel et al. 2008, Sakamoto et al. 2001).

Si consideramos el dimorfismo sexual en las respuestas a largo plazo de la programación fetal, los antecedentes apuntan a que los mecanismos prenatales que median entre el ambiente materno y la sensibilidad fetal deberían ser dependientes del sexo de los fetos. En este sentido, es muy probable que los andrógenos y sus metabolitos sean, en parte, responsables de esta respuesta diferencial. Sin embargo, el dimorfismo sexual no sólo se puede explicar debido a las diferencias en los niveles de esteroides sexuales, ya que los embriones presentan patrones de expresión génica dependientes del sexo desde etapas previas a la diferenciación gonadal (Bermejo-Alvarez et al. 2010). En este sentido, pueden tener mucha importancia los cromosomas sexuales. En ratones se inactiva preferencialmente el cromosoma X paterno (Reik & Lewis 2005), sin embargo, en humanos la inactivación parece ser aleatoria (Looijenga et al. 1999, Zeng & Yankowitz 2003). Además, estudios en ratones y ratas han demostrado que al menos 150 locis escapan de este proceso lo cual podrían dar cuenta de diferencias de acuerdo al sexo (Carrel & Willard 2005).

Además, algunas hormonas peptídicas también pueden presentar diferencias entre los sexo. Los factores de crecimiento (IGFs) y sus proteínas transportadoras (IGFBPs), los cuales son centrales en la inducción del crecimiento fetal difieren entre varones y mujeres. Un estudio en 987 embarazos sanos y de fetos únicos mostró que la concentración de IGF-1 y IGFBP3 en sangre de cordón son mayores en fetos femeninos en comparación con feto masculino (Geary et al. 2003). Por otro lado, los fetos masculinos tienen mayores concentraciones de hormona de crecimiento (Geary et al. 2003). Ninguna diferencia entre los sexos fue observada para IGF-2 (Geary et al. 2003). Estas diferencias podrían dar cuenta de la respuesta diferencial dependiente del sexo en los fenómenos de programación fetal.

**PLACENTA Y DIMORFISMO SEXUAL**

Durante décadas se ha considerado a la placenta como un órgano asexuado. Sin embargo, hoy en día sabemos que en humanos como en roedores, la placenta presenta dimorfismo sexual. Sood y col. observaron una mayor expresión de genes asociados a la respuesta inmune tales como JAK1, IL2RB, clusterina, LTPB, CXCL1, IL1RL1 y receptor de TNF en placenta de fetos femeninos en comparación a la de fetos masculinos (Sood et al. 2006). Por otro lado, la placenta responde a la inflamación de una manera sexo dependiente (Scott et al. 2009). Las células endoteliales de placentas de sexo femenino presentan un mayor número de genes influenciados por el sexo fetal, a diferencia de lo observado en placentas de fetos masculinos donde el mayor número de genes regulados por el sexo se encuentran en las células del sincicio y del citotrofoblasto (Cvitic et al. 2013). Este estudio también mostró que los genes que presentan dimorfismo sexual se relacionan con migración celular, metabolismo lipídico, muerte celular y presentación de antígenos en células trofoblásticas, mientras que en células endoteliales estos genes se asocian mayormente con migración celular y tráfico intracelular (Cvitic et al. 2013).

En embarazos de mujeres con asma tratadas con glucocorticoides, la expresión génica de TNF α, IL1b, IL-6, IL-5 y IL-8 varía de acuerdo al sexo del feto y a la severidad del asma. En placentas de feto femenino, los niveles de ARN mensajero de estas citoquinas son mayores en embarazadas con asma en comparación a las sin esta patología. Sin embargo, ninguna diferencia fue observada en los fetos masculinos (Scott et al. 2009). En este mismo grupo de mujeres embarazadas, la reducción en el peso de los fetos femeninos se asoció con elevados niveles de cortisol y una baja actividad 11β-HSD2 placentaria. Contrariamente, en los fetos masculinos el peso de nacimiento no fue afectado a pesar de haber sido igualmente expuesto a altos niveles de cortisol, lo que siguiere que la respuesta de cortisol de la unidad feto-placentaria también depende del sexo fetal (Clifton & Murphy 2004). Por otro lado, las concentraciones de cortisol se correlacionaron positivamente con la expresión génica de citoquinas sólo en placentas de fetos femenino (Scott et al. 2009). En este sentido, si se considera que el sistema inmune placentario es central en la regulación de la apoptosis, síntesis de prostaglandinas, permeabilidad vascular y programación del sistema inmune fetal, es muy probable que estas funciones sean también dependientes del sexo fetal. Interesantemente, en placentas de mujeres

preeclámpticas, los fetos masculinos presentan mayores niveles de citoquinas y apoptosis en comparación con la placentas de fetos femeninos (Muralimanoharan et al. 2013). Estas diferencias pueden ser atribuidas a diferencias en los niveles de esteroides sexuales dado que mujeres con preeclampsia tienen mayores niveles de testosterona y menor expresión de P450 aromatasa cuando presentan un feto masculino en comparación a uno femenino (Sathishkumar et al. 2012).

La dieta es capaz de modificar la expresión y actividad de diferentes transportadores de aminoácidos y probablemente de enzimas que metabolizan lípidos en la placenta en diferentes modelos animales (Figura 2) (Kavitha et al. 2013, Jones et al. 2009, Lin et al. 2012, Mazzucco et al. 2013, Herrera et al. 2006). Además, en placenta de ratones, dietas de bajo y alto contenido graso modifican el transcriptoma placentario en ambos sexos (Mao et al. 2010). Sin embargo, al parecer las placentas de fetos femeninos son más sensibles a los cambios dietarios, ya que modifican un mayor número de genes en comparación con los fetos masculinos frente a ambos tipos de dieta lo que puede indicar que en hembras la placenta presentá una mayor plasticidad y por ende adaptación a los cambios en el ambiente intrauterino (Mao et al. 2010).
Algunas observaciones basadas en estudios epidemiológicos sustentan un posible efecto del dimorfismo sexual en la función placentaria en condiciones adversas durante la gestación. Por ejemplo, en varones, la hipertensión arterial producto de la hambruna holandesa de 1944 estuvo asociada con placentas de mayor tamaño debido a una expansión compensatoria de la superficie placentaria; a diferencia de lo observado para hipertensión arterial en hombres no expuestos a la hambruna la cual está más asociada con placentas pequeñas debido a una alterada implantación (van Abeelen et al. 2011). Por otro lado, en mujeres no se observó ninguna asociación entre morfología placentaria y desarrollo de hipertensión arterial, lo que sugiere que cambios en la dieta afectan la relación placenta e hipertensión sólo en hombres. Consistentemente, la restricción de la función placentaria altera el desarrollo del corazón e induce restricción de crecimiento con más componentes del síndrome metabólico en machos que en hembras en modelos ovinos (Morrison et al. 2007, Owens et al. 2007).

Los factores que determinan el dimorfismo sexual en la placenta no son conocidos, aunque los andrógenos podrían ser relevantes en este fenómeno. El receptor de andrógenos se expresa en la placenta (Hsu et al. 2009), al igual que las dos isoformas de la enzima 5α-reductasa, la cual varía de acuerdo a al sexo y a la edad gestacional (Vu et al. 2009). El exceso en los niveles de testosterona durante el embarazo disminuyen el peso fetal y de la placenta (Carlsen et al. 2006, Sun et al. 2012), lo que puede ser atribuido en parte a una disminución de la expresión y actividad de transportadores de aminoácidos como ha sido demostrado en ratas (Sathishkumar et al. 2012). Interesantemente, al final de la gestación, la placenta de fetos femeninos expresan más 5α-reductasa tipo I que la placenta de fetos masculinos (Vu et al. 2009). Lo que sugiere que al final del embarazo las placentas de fetos femeninos podrían estar más expuestas a la acción androgénica que la placenta de fetos masculinos. Por otro lado, se ha observado que la placenta tiene la capacidad de reactivar el cromosoma X inactivo (Migeon et al. 2005). Lo que apunta a la posibilidad que la placenta humana en fetos femeninos podría modificar de manera no aleatoria el estado de inactivación del cromosoma X, lo que puede contribuir al dimorfismo sexual en la placenta.

**MECANISMOS EPIGENÉTICOS EN LA PROGRAMACIÓN FETAL**

Décadas atrás, gran parte de la investigación científica en la fisiopatología de las enfermedades crónicas no transmisible estuvo enfocada en el papel de variantes génicas que estuviesen relacionadas con una alterada expresión génica. Sin embargo, los estudios de polimorfismos genéticos no fueron capaces de dar cuenta de la diversidad de fenotipos relacionados con las enfermedades complejas. Hoy es bien sabido que la regulación génica es un proceso que va más allá del genoma, lo que se conoce como regulación epigenética, la cual podría dar cuenta de la memoria génica que se establece desde etapas tempranas del desarrollo (Probst et al. 2009). A diferencia de la información genética la cual es altamente estable, los eventos epigenéticos son reversibles y responden a múltiples señales endógenas y exógenas, por lo tanto, aquellos eventos que llevan a los efectos a largo plazo de la programación fetal podrían ser mediados por cambios epigenéticos (Gluckman et al. 2009).

La metilación del ADN y modificaciones en las histonas son importantes mecanismos que participan en la regulación epigenética (Wolffe & Matzke 1999). La metilación del ADN ocurre principalmente en las citosinas de regiones ricas en citosinas o islas (CpG), la hipo o hipermetilación de múltiples genes están asociados a diferentes condiciones de salud y enfermedades (Jaenisch & Bird 2003). En mamíferos, la metilación del ADN es catalizada por ADN metiltransferasas de mantenimiento (DNMT1) y las de novo (DNMT3A y DNMT3B) (Bestor 2000). Por su parte, las modificaciones en las histonas, las proteínas encargadas de mantener el ADN compactado, son mediadas por fosforilaciones, sumoilaciones, ubiquitinaciones, metilaciones, desaminaciones y acetilaciones, que conducen a cambios conformacionales que alteran la expresión génica (Margueron & Reinberg 2010). Por otro lado, el ARN no codificante, principalmente los micro ARNs (miARN), ARN largo no codificante, ARN pequeño de interferencia y PiwiARN pueden ser inducidos por señales

ambientales y han sido asociados con regulación epigenética (Ferguson 2011).

Las enzimas involucradas en la regulación epigenética presentan dimorfismo sexual incluso desde etapas muy tempranas del desarrollo. Por ejemplo, los embriones bovinos presentan una expresión similar de Dnmt1 entre machos y hembras. Sin embargo, Dnmt3a y Dnmt3b son producidas en menor cantidad en embriones femeninos (Bermejo-Alvarez et al. 2008). Además, los niveles de metilación del cromosoma X es menor en embriones XX que en embriones XY o XO, lo cual parece estar asociado con los niveles de expresión de Dnmt3a y Dnmt3b (Zvetkova et al. 2005).

Las ratas expuestas a restricción calórica durante la gestación presentan a nivel hepático una disminución en metilación de los promotores y en la expresión génica de PPAR-α y del receptor de glucocorticoides (Burdge et al. 2007b), mientras que el promotor del receptor hepático X -α está hipermetilado y sobreexpresado en hígado de ratones restringidos in utero (van Straten et al. 2010). Interesantemente, PPAR-α y receptor hepático X -α están involucrados en el metabolismo lipídico. Las modificaciones en PPAR-α y el receptor de glucocorticoides se mantienen en la segunda generación de estos animales lo que sugiere que mecanismos epigenéticos darían cuenta de la transmisión inter-generacional de los efectos metabólicos a largo plazo de la restricción de crecimiento intrauterino (Burdge et al. 2007b).

A su vez, la insuficiencia placentaria promueve en las crías después del nacimiento, un patrón de hipometilación del ADN y una mayor acetilación de histonas H3 a nivel hepático (MacLennan et al. 2004). A nivel renal, se ha observado una disminución de la metilación en sitios CpG del promotor de p53 y una relativa hipometilación del gen de DNMT1, lo que podría conducir a una mayor apoptosis y reducción del número de nefronas (Pham et al. 2003).
Dietas ricas en grasa durante la gestación producen un incremento en los niveles de ARN para IGF-2, PPAR-α y CPT-1a junto con una expresión alterada en 5.7% de los miARN hepáticos de las crías, lo que tal como sucede con los animales restringidos in utero, podrían conducir a alteraciones en el metabolismo de lípidos a nivel hepático (Zhang et al. 2009). Además, la excesiva ingesta de grasas durante la gestación conduce a una disminución del contenido de ADN mitocondrial en células renales y aórticas, lo que podría estar relacionado con una disminución global del ADN mitocondrial y disfunción de las células β-pancreáticas (Taylor et al. 2005).
En ratones se ha demostrado que dietas altas en grasas producen una desregulación de genes improntados, que incluyen cluster para Igf2r, lo cual podría tener consecuencias en la función metabólica de la placenta (Gallou-Kabani et al. 2010). Además, cambios en los patrones de metilación del gen IGF2/H19 en el genoma de la placenta se asocia con variaciones en el peso de los recién nacidos (St-Pierre et al. 2012).

La expresión de micro-ARNs ha demostrado estar alterada en placentas de mujeres con preeclampsia y en niños nacidos pequeños para la edad gestacional (Pineles et al. 2007, Maccani & Marsit 2011). Un estudio preliminar mostró que mujeres con diabetes gestacional y preeclampsia presentaban un menor patrón de metilación global en placenta y en sangre de cordón, mientras que en mujeres obesas el patrón de metilación fue mayor en comparación con mujeres sanas (Nomura et al. 2014). Un análisis más exhaustivo, en mujeres con diabetes gestacional detectó alrededor de 3500 genes que presentan patrones de metilación diferentes a los de mujeres no diabéticas. De estos genes, 326 en placenta y 228 en sangre de cordón están asociados con el peso del recién nacidos y con vías metabólicas (Ruchat et al. 2013).
Por lo tanto, la evidencia experimental apunta a que mecanismos epigenéticos están relacionados con la expresión y mantenimiento de los efectos de la programación fetal. Aunque la información en humanos es escasa la evidencia de cambios en los patrones de metilación en la placenta y en sangre cordón sugieren que estos mecanismos también se expresan en humanos tal como sucede en los modelos animales. Aunque evaluar su efecto a largo plazo es una tarea difícil dado que los patrones de metilación se modifican por diferentes señales ambientales que podrían estar presentes en la vida postnatal.

**CONCLUSIÓN**

La evidencia epidemiológica y experimental muestra que individuos expuestos a ambientes intrauterinos adversos durante la gestación presentan un mayor riesgo de desarrollar enfermedades crónicas no transmisibles, entre ellas obesidad, dislipidemia, diabetes tipo 2 e hipertensión arterial. Los mecanismos que subyacen a este fenómeno están determinados por múltiples factores. En este sentido, la placenta es el órgano por excelencia que media entre el ambiente materno y fetal. Por lo tanto, alteraciones en su función metabólica y endocrina impactan directamente en el desarrollo fetal. A su vez, factores propios del feto como el dimorfismo sexual afectan el resultado final de la programación fetal debido a la diferencial expresión génica y respuesta a los esteroides sexuales de los fetos masculinos y femeninos que les confieren diferentes grados de susceptibilidad a los estímulos ambientales. Finalmente, la perpetuación de los efectos a largo plazo, y muy probablemente intergeneracionales, de la programación fetal parece ser mediada por modificaciones epigenéticas que modulan la expresión de genes que impactan en vías endocrinas y metabólicas en diversos órganos y tejidos.

**AGRADECIMIENTOS:**

Proyecto FONDECYT Iniciación Nº 111-30250. Los autores de este trabajo declaran no tener conflicos de interes.

**BIBLIOGRAFÍA:**

Barker, D. J. (2006) Adult consequences of fetal growth restriction. Clinical obstetrics and gynecology, 49, 270-283.

Barker, D. J. and Osmond, C. (1986) Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. Lancet, 1, 1077-1081.

Barker, D. J., Osmond, C., Simmonds, S. J. and Wield, G. A. (1993) The relation of small head circumference and thinness at birth to death from cardiovascular disease in adult life. Bmj, 306, 422-426.

Bateson, P., Barker, D., Clutton-Brock, T. et al. (2004) Developmental plasticity and human health. Nature, 430, 419-421.

Bekedam, D. J., Engelsbel, S., Mol, B. W., Buitendijk, S. E. and van der Pal-de Bruin, K. M. (2002) Male predominance in fetal distress during labor. American journal of obstetrics and gynecology, 187, 1605-1607.

Bergel, E. and Belizan, J. M. (2002) A deficient maternal calcium intake during pregnancy increases blood pressure of the offspring in adult rats. BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology, 109, 540-545.

Bermejo-Alvarez, P., Rizos, D., Rath, D., Lonergan, P. and Gutierrez-Adan, A. (2008) Epigenetic differences between male and female bovine blastocysts produced in vitro. Physiological genomics, 32, 264-272.

Bermejo-Alvarez, P., Rizos, D., Rath, D., Lonergan, P. and Gutierrez-Adan, A. (2010) Sex determines the expression level of one third of the actively expressed genes in bovine blastocysts. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 107, 3394-3399.

Bestor, T. H. (2000) The DNA methyltransferases of mammals. Human molecular genetics, 9, 2395-2402.

Bracero, L. A., Cassidy, S. and Byrne, D. W. (1996) Effect of gender on perinatal outcome in pregnancies complicated by diabetes. Gynecologic and obstetric investigation, 41, 10-14.

Bruce, K. D., Cagampang, F. R., Argenton, M. et al. (2009) Maternal high-fat feeding primes steatohepatitis in adult mice offspring, involving mitochondrial dysfunction and altered lipogenesis gene expression. Hepatology, 50, 1796-1808.

Bruns, C. M., Baum, S. T., Colman, R. J., Dumesic, D. A., Eisner, J. R., Jensen, M. D., Whigham, L. D. and Abbott, D. H. (2007) Prenatal androgen excess negatively impacts body fat distribution in a nonhuman primate model of polycystic ovary syndrome. International journal of obesity, 31, 1579-1585.

Bruns, C. M., Baum, S. T., Colman, R. J., Eisner, J. R., Kemnitz, J. W., Weindruch, R. and Abbott, D. H. (2004) Insulin resistance and impaired insulin secretion in prenatally androgenized male rhesus monkeys. The Journal of clinical endocrinology and metabolism, 89, 6218-6223.

Burdge, G. C., Hanson, M. A., Slater-Jefferies, J. L. and Lillycrop, K. A. (2007a) Epigenetic regulation of transcription: a mechanism for inducing variations in phenotype (fetal programming) by differences in nutrition during early life? The British journal of nutrition, 97, 1036-1046.

Burdge, G. C., Slater-Jefferies, J., Torrens, C., Phillips, E. S., Hanson, M. A. and Lillycrop, K. A. (2007b) Dietary protein restriction of pregnant rats in the F0 generation induces altered methylation of hepatic gene promoters in the adult male offspring in the F1 and F2 generations. The British journal of nutrition, 97, 435-439.

Burgueno, A. L., Cabrerizo, R., Gonzales Mansilla, N., Sookoian, S. and Pirola, C. J. (2013) Maternal high-fat intake during pregnancy programs metabolic-syndrome-related phenotypes through liver mitochondrial DNA copy number and transcriptional activity of liver PPARGC1A. The Journal of nutritional biochemistry, 24, 6-13.

Campbell, D. M., Hall, M. H., Barker, D. J., Cross, J., Shiell, A. W. and Godfrey, K. M. (1996) Diet in pregnancy and the offspring's blood pressure 40 years later. British journal of obstetrics and gynaecology, 103, 273-280.

Carlsen, S. M., Jacobsen, G. and Romundstad, P. (2006) Maternal testosterone levels during pregnancy are associated with offspring size at birth. European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies, 155, 365-370.

Carrel, L. and Willard, H. F. (2005) X-inactivation profile reveals extensive variability in X-linked gene expression in females. Nature, 434, 400-404.

Catalano, P. M., Presley, L., Minium, J. and Hauguel-de Mouzon, S. (2009) Fetuses of obese mothers develop insulin resistance in utero. Diabetes care, 32, 1076-1080.

Challis, J. R., Sloboda, D., Matthews, S. G. et al. (2001) The fetal placental hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis, parturition and post natal health. Molecular and cellular endocrinology, 185, 135-144.

Chechi, K. and Cheema, S. K. (2006) Maternal diet rich in saturated fats has deleterious effects on plasma lipids of mice. Experimental and clinical cardiology, 11, 129-135.

Cianfarani, S., Germani, D. and Branca, F. (1999) Low birthweight and adult insulin resistance: the "catch-up growth" hypothesis. Archives of disease in childhood. Fetal and neonatal edition, 81, F71-73.

Clifton, V. L. and Murphy, V. E. (2004) Maternal asthma as a model for examining fetal sex-specific effects on maternal physiology and placental mechanisms that regulate human fetal growth. Placenta, 25 Suppl A, S45-52.

Cottrell, E. C., Holmes, M. C., Livingstone, D. E., Kenyon, C. J. and Seckl, J. R. (2012) Reconciling the nutritional and glucocorticoid hypotheses of fetal programming. FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology, 26, 1866-1874.

Cottrell, E. C., Seckl, J. R., Holmes, M. C. and Wyrwoll, C. S. (2013) Foetal and placental 11beta-HSD2: a hub for developmental programming. Acta physiologica.

Cvitic, S., Longtine, M. S., Hackl, H., Wagner, K., Nelson, M. D., Desoye, G. and Hiden, U. (2013) The Human Placental Sexome Differs between Trophoblast Epithelium and Villous Vessel Endothelium. PloS one, 8, e79233.

Davis, E. F., Lazdam, M., Lewandowski, A. J. et al. (2012) Cardiovascular risk factors in children and young adults born to preeclamptic pregnancies: a systematic review. Pediatrics, 129, e1552-1561.

Desai, M., Crowther, N. J., Lucas, A. and Hales, C. N. (1996) Organ-selective growth in the offspring of protein-restricted mothers. The British journal of nutrition, 76, 591-603.

Di Renzo, G. C., Rosati, A., Sarti, R. D., Cruciani, L. and Cutuli, A. M. (2007) Does fetal sex affect pregnancy outcome? Gender medicine, 4, 19-30.

Eisner, J. R., Dumesic, D. A., Kemnitz, J. W. and Abbott, D. H. (2000) Timing of prenatal androgen excess determines differential impairment in insulin secretion and action in adult female rhesus monkeys. The Journal of clinical endocrinology and metabolism, 85, 1206-1210.

Eisner, J. R., Dumesic, D. A., Kemnitz, J. W., Colman, R. J. and Abbott, D. H. (2003) Increased adiposity in female rhesus monkeys exposed to androgen excess during early gestation. Obesity research, 11, 279-286.

Engel, P. J., Smith, R., Brinsmead, M. W., Bowe, S. J. and Clifton, V. L. (2008) Male sex and pre-existing diabetes are independent risk factors for stillbirth. The Australian & New Zealand journal of obstetrics & gynaecology, 48, 375-383.

Eriksson, J. G., Kajantie, E., Osmond, C., Thornburg, K. and Barker, D. J. (2010) Boys live dangerously in the womb. American journal of human biology : the official journal of the Human Biology Council, 22, 330-335.

Ferguson, L. R. (2011) RNA silencing: Mechanism, biology and responses to environmental stress. Mutation research, 714, 93-94.

Fernandez-Twinn, D. S., Wayman, A., Ekizoglou, S., Martin, M. S., Hales, C. N. and Ozanne, S. E. (2005) Maternal protein restriction leads to hyperinsulinemia and reduced insulin-signaling protein expression in 21-mo-old female rat offspring. American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology, 288, R368-373.

Fowden, A. L., Forhead, A. J., Coan, P. M. and Burton, G. J. (2008) The placenta and intrauterine programming. Journal of neuroendocrinology, 20, 439-450.

Gademan, M. G., van Eijsden, M., Roseboom, T. J., van der Post, J. A., Stronks, K. and Vrijkotte, T. G. (2013) Maternal prepregnancy body mass index and their children's blood pressure and resting cardiac autonomic balance at age 5 to 6 years. Hypertension, 62, 641-647.

Gallou-Kabani, C., Gabory, A., Tost, J. et al. (2010) Sex- and diet-specific changes of imprinted gene expression and DNA methylation in mouse placenta under a high-fat diet. PloS one, 5, e14398.

Garofano, A., Czernichow, P. and Breant, B. (1998) Beta-cell mass and proliferation following late fetal and early postnatal malnutrition in the rat. Diabetologia, 41, 1114-1120.

Geary, M. P., Pringle, P. J., Rodeck, C. H., Kingdom, J. C. and Hindmarsh, P. C. (2003) Sexual dimorphism in the growth hormone and insulin-like growth factor axis at birth. The Journal of clinical endocrinology and metabolism, 88, 3708-3714.

Gilbert, M. and Leturque, A. (1982) Fetal weight and its relationship to placental blood flow and placental weight in experimental intrauterine growth retardation in the rat. Journal of developmental physiology, 4, 237-246.

Gilmartin, A. B., Ural, S. H. and Repke, J. T. (2008) Gestational diabetes mellitus. Reviews in obstetrics and gynecology, 1, 129-134.

Giussani, D. A., Phillips, P. S., Anstee, S. and Barker, D. J. (2001) Effects of altitude versus economic status on birth weight and body shape at birth. Pediatric research, 49, 490-494.

Gluckman, P. D. and Hanson, M. A. (2004) The developmental origins of the metabolic syndrome. Trends in endocrinology and metabolism: TEM, 15, 183-187.

Gluckman, P. D., Hanson, M. A., Bateson, P. et al. (2009) Towards a new developmental synthesis: adaptive developmental plasticity and human disease. Lancet, 373, 1654-1657.

Green, J. R., Pawson, I. G., Schumacher, L. B., Perry, J. and Kretchmer, N. (1990) Glucose tolerance in pregnancy: ethnic variation and influence of body habitus. American journal of obstetrics and gynecology, 163, 86-92.

Gunderson, E. P., Abrams, B. and Selvin, S. (2000) The relative importance of gestational gain and maternal characteristics associated with the risk of becoming overweight after pregnancy. International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity, 24, 1660-1668.

Hartil, K., Vuguin, P. M., Kruse, M. et al. (2009) Maternal substrate utilization programs the development of the metabolic syndrome in male mice exposed to high fat in utero. Pediatric research, 66, 368-373.

Herrera, E., Amusquivar, E., Lopez-Soldado, I. and Ortega, H. (2006) Maternal lipid metabolism and placental lipid transfer. Horm Res, 65, 59-64.

Hogg, K., Wood, C., McNeilly, A. S. and Duncan, W. C. (2011) The in utero programming effect of increased maternal androgens and a direct fetal intervention on liver and metabolic function in adult sheep. PloS one, 6, e24877.

Holemans, K., Gerber, R., Meurrens, K., De Clerck, F., Poston, L. and Van Assche, F. A. (1999) Maternal food restriction in the second half of pregnancy affects vascular function but not blood pressure of rat female offspring. The British journal of nutrition, 81, 73-79.

Holmes, M. C., Abrahamsen, C. T., French, K. L., Paterson, J. M., Mullins, J. J. and Seckl, J. R. (2006) The mother or the fetus? 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 null mice provide evidence for direct fetal programming of behavior by endogenous glucocorticoids. The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience, 26, 3840-3844.

Howie, G. J., Sloboda, D. M. and Vickers, M. H. (2012) Maternal undernutrition during critical windows of development results in differential and sex-specific effects on postnatal adiposity and related metabolic profiles in adult rat offspring. The British journal of nutrition, 108, 298-307.

Hsu, T. Y., Lan, K. C., Tsai, C. C. et al. (2009) Expression of androgen receptor in human placentas from normal and preeclamptic pregnancies. Taiwanese journal of obstetrics & gynecology, 48, 262-267.

Ikenasio-Thorpe, B. A., Breier, B. H., Vickers, M. H. and Fraser, M. (2007) Prenatal influences on susceptibility to diet-induced obesity are mediated by altered neuroendocrine gene expression. The Journal of endocrinology, 193, 31-37.

Jaenisch, R. and Bird, A. (2003) Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. Nature genetics, 33, 245-254.

Jansson, T. and Powell, T. L. (2006) IFPA 2005 Award in Placentology Lecture. Human placental transport in altered fetal growth: does the placenta function as a nutrient sensor? -- a review. Placenta, 27 Suppl A, S91-97.

John, R. and Hemberger, M. (2012) A placenta for life. Reproductive biomedicine online, 25, 5-11.

Jones, C. T., Lafeber, H. N. and Roebuck, M. M. (1984) Studies on the growth of the fetal guinea pig. Changes in plasma hormone concentration during normal and abnormal growth. Journal of developmental physiology, 6, 461-472.

Jones, H. N., Woollett, L. A., Barbour, N., Prasad, P. D., Powell, T. L. and Jansson, T. (2009) High-fat diet before and during pregnancy causes marked up-regulation of placental nutrient transport and fetal overgrowth in C57/BL6 mice. Faseb Journal, 23, 271-278.

Ju, H., Chadha, Y., Donovan, T. and O'Rourke, P. (2009) Fetal macrosomia and pregnancy outcomes. The Australian & New Zealand journal of obstetrics & gynaecology, 49, 504-509.

Kajantie, E., Eriksson, J. G., Osmond, C., Thornburg, K. and Barker, D. J. (2009) Pre-eclampsia is associated with increased risk of stroke in the adult offspring: the Helsinki birth cohort study. Stroke; a journal of cerebral circulation, 40, 1176-1180.

Kajantie, E., Thornburg, K. L., Eriksson, J. G., Osmond, C. and Barker, D. J. (2010) In preeclampsia, the placenta grows slowly along its minor axis. The International journal of developmental biology, 54, 469-473.

Kavitha, J. V., Rosario, F. J., Nijland, M. J., McDonald, T. J., Wu, G., Kanai, Y., Powell, T. L., Nathanielsz, P. W. and Jansson, T. (2013) Down-regulation of placental mTOR, insulin/IGF-I signaling, and nutrient transporters in response to maternal nutrient restriction in the baboon. FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology.

Khong, Y. and Brosens, I. (2011) Defective deep placentation. Best practice & research. Clinical obstetrics & gynaecology, 25, 301-311.

King, V., Dakin, R. S., Liu, L., Hadoke, P. W., Walker, B. R., Seckl, J. R., Norman, J. E. and Drake, A. J. (2013) Maternal obesity has little effect on the immediate offspring but impacts on the next generation. Endocrinology, 154, 2514-2524.

Kotelevtsev, Y., Brown, R. W., Fleming, S., Kenyon, C., Edwards, C. R., Seckl, J. R. and Mullins, J. J. (1999) Hypertension in mice lacking 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2. The Journal of clinical investigation, 103, 683-689.

Koupilova, I., Leon, D. A., McKeigue, P. M. and Lithell, H. O. (1999) Is the effect of low birth weight on cardiovascular mortality mediated through high blood pressure? Journal of hypertension, 17, 19-25.

Krechowec, S. O., Vickers, M., Gertler, A. and Breier, B. H. (2006) Prenatal influences on leptin sensitivity and susceptibility to diet-induced obesity. The Journal of endocrinology, 189, 355-363.

Lafeber, H. N., Rolph, T. P. and Jones, C. T. (1984) Studies on the growth of the fetal guinea pig. The effects of ligation of the uterine artery on organ growth and development. Journal of developmental physiology, 6, 441-459.

Lelievre-Pegorier, M., Vilar, J., Ferrier, M. L., Moreau, E., Freund, N., Gilbert, T. and Merlet-Benichou, C. (1998) Mild vitamin A deficiency leads to inborn nephron deficit in the rat. Kidney international, 54, 1455-1462.

Lin, Y., Zhuo, Y., Fang, Z. F., Che, L. Q. and Wu, D. (2012) Effect of maternal dietary energy types on placenta nutrient transporter gene expressions and intrauterine fetal growth in rats. Nutrition, 28, 1037-1043.

Looijenga, L. H., Gillis, A. J., Verkerk, A. J., van Putten, W. L. and Oosterhuis, J. W. (1999) Heterogeneous X inactivation in trophoblastic cells of human full-term female placentas. American journal of human genetics, 64, 1445-1452.

Lucas, A. (1991) Programming by early nutrition in man. In: The childhood environment and adult disease, (G. R. a. W. Bock, J. ed.), pp. 38 - 55. Wiley, Chichester.

Maccani, M. A. and Marsit, C. J. (2011) Exposure and fetal growth-associated miRNA alterations in the human placenta. Clinical epigenetics, 2, 401-404.

MacLennan, N. K., James, S. J., Melnyk, S., Piroozi, A., Jernigan, S., Hsu, J. L., Janke, S. M., Pham, T. D. and Lane, R. H. (2004) Uteroplacental insufficiency alters DNA methylation, one-carbon metabolism, and histone acetylation in IUGR rats. Physiological genomics, 18, 43-50.

Maliqueo, M., Lara, H. E., Sanchez, F., Echiburu, B., Crisosto, N. and Sir-Petermann, T. (2013) Placental steroidogenesis in pregnant women with polycystic ovary syndrome. Eur J Obstet Gyn R B, 166, 151-155.

Maloney, C. A., Gosby, A. K., Phuyal, J. L., Denyer, G. S., Bryson, J. M. and Caterson, I. D. (2003) Site-specific changes in the expression of fat-partitioning genes in weanling rats exposed to a low-protein diet in utero. Obesity research, 11, 461-468.

Manikkam, M., Crespi, E. J., Doop, D. D., Herkimer, C., Lee, J. S., Yu, S., Brown, M. B., Foster, D. L. and Padmanabhan, V. (2004) Fetal programming: prenatal testosterone excess leads to fetal growth retardation and postnatal catch-up growth in sheep. Endocrinology, 145, 790-798.

Mao, J., Zhang, X., Sieli, P. T., Falduto, M. T., Torres, K. E. and Rosenfeld, C. S. (2010) Contrasting effects of different maternal diets on sexually dimorphic gene expression in the murine placenta. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 107, 5557-5562.

Margueron, R. and Reinberg, D. (2010) Chromatin structure and the inheritance of epigenetic information. Nature reviews. Genetics, 11, 285-296.

Matthews, K. A., Rhoten, W. B., Driscoll, H. K. and Chertow, B. S. (2004) Vitamin A deficiency impairs fetal islet development and causes subsequent glucose intolerance in adult rats. The Journal of nutrition, 134, 1958-1963.

Mauvais-Jarvis, F., Clegg, D. J. and Hevener, A. L. (2013) The Role of Estrogens in Control of Energy Balance and Glucose Homeostasis. Endocr Rev, 34, 309-338.

Mazzucco, M. B., Higa, R., Capobianco, E., Kurtz, M., Jawerbaum, A. and White, V. (2013) Saturated fat-rich diet increases fetal lipids and modulates LPL and leptin receptor expression in rat placentas. Journal of Endocrinology, 217, 303-315.

Mccance, R. A. and Widdowson, E. M. (1962) Nutrition and Growth. Proc R Soc Ser B-Bio, 156, 326-+.

McCurdy, C. E., Bishop, J. M., Williams, S. M., Grayson, B. E., Smith, M. S., Friedman, J. E. and Grove, K. L. (2009) Maternal high-fat diet triggers lipotoxicity in the fetal livers of nonhuman primates. The Journal of clinical investigation, 119, 323-335.

Migeon, B. R., Axelman, J. and Jeppesen, P. (2005) Differential X reactivation in human placental cells: implications for reversal of X inactivation. American journal of human genetics, 77, 355-364.

Morrison, J. L., Botting, K. J., Dyer, J. L., Williams, S. J., Thornburg, K. L. and McMillen, I. C. (2007) Restriction of placental function alters heart development in the sheep fetus. American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology, 293, R306-313.

Muralimanoharan, S., Maloyan, A. and Myatt, L. (2013) Evidence of sexual dimorphism in the placental function with severe preeclampsia. Placenta, 34, 1183-1189.

Newbold, R. R., Padilla-Banks, E., Snyder, R. J. and Jefferson, W. N. (2005) Developmental exposure to estrogenic compounds and obesity. Birth Defects Res A, 73, 478-480.

Nomura, Y., Lambertini, L., Rialdi, A. et al. (2014) Global methylation in the placenta and umbilical cord blood from pregnancies with maternal gestational diabetes, preeclampsia, and obesity. Reproductive sciences, 21, 131-137.

Nyirenda, M. J., Lindsay, R. S., Kenyon, C. J., Burchell, A. and Seckl, J. R. (1998) Glucocorticoid exposure in late gestation permanently programs rat hepatic phosphoenolpyruvate carboxykinase and glucocorticoid receptor expression and causes glucose intolerance in adult offspring. The Journal of clinical investigation, 101, 2174-2181.

O'Sullivan, L., Combes, A. N. and Moritz, K. M. (2012) Epigenetics and developmental programming of adult onset diseases. Pediatric nephrology, 27, 2175-2182.

Ong, K. K., Ahmed, M. L., Emmett, P. M., Preece, M. A. and Dunger, D. B. (2000) Association between postnatal catch-up growth and obesity in childhood: prospective cohort study. Bmj, 320, 967-971.

Osmond, C., Barker, D. J., Winter, P. D., Fall, C. H. and Simmonds, S. J. (1993) Early growth and death from cardiovascular disease in women. Bmj, 307, 1519-1524.

Owens, J. A., Thavaneswaran, P., De Blasio, M. J., McMillen, I. C., Robinson, J. S. and Gatford, K. L. (2007) Sex-specific effects of placental restriction on components of the metabolic syndrome in young adult sheep. American journal of physiology. Endocrinology and metabolism, 292, E1879-1889.

Ozaki, T., Nishina, H., Hanson, M. A. and Poston, L. (2001) Dietary restriction in pregnant rats causes gender-related hypertension and vascular dysfunction in offspring. The Journal of physiology, 530, 141-152.

Pedersen, J. F. (1980) Ultrasound evidence of sexual difference in fetal size in first trimester. British medical journal, 281, 1253.

Peuchant, E., Brun, J. L., Rigalleau, V., Dubourg, L., Thomas, M. J., Daniel, J. Y., Leng, J. J. and Gin, H. (2004) Oxidative and antioxidative status in pregnant women with either gestational or type 1 diabetes. Clinical biochemistry, 37, 293-298.

Pham, T. D., MacLennan, N. K., Chiu, C. T., Laksana, G. S., Hsu, J. L. and Lane, R. H. (2003) Uteroplacental insufficiency increases apoptosis and alters p53 gene methylation in the full-term IUGR rat kidney. American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology, 285, R962-970.

Pineles, B. L., Romero, R., Montenegro, D. et al. (2007) Distinct subsets of microRNAs are expressed differentially in the human placentas of patients with preeclampsia. American journal of obstetrics and gynecology, 196, 261-263.

Pisaneschi, S., Boldrini, A., Genazzani, A. R., Coceani, F. and Simoncini, T. (2013) Feto-placental vascular dysfunction as a prenatal determinant of adult cardiovascular disease. Internal and emergency medicine, 8 Suppl 1, S41-45.

Pisaneschi, S., Strigini, F. A., Sanchez, A. M. et al. (2012) Compensatory feto-placental upregulation of the nitric oxide system during fetal growth restriction. PloS one, 7, e45294.

Probst, A. V., Dunleavy, E. and Almouzni, G. (2009) Epigenetic inheritance during the cell cycle. Nat Rev Mol Cell Bio, 10, 192-206.

Ravelli, A. C., van Der Meulen, J. H., Osmond, C., Barker, D. J. and Bleker, O. P. (1999) Obesity at the age of 50 y in men and women exposed to famine prenatally. The American journal of clinical nutrition, 70, 811-816.

Ravelli, G. P., Stein, Z. A. and Susser, M. W. (1976) Obesity in young men after famine exposure in utero and early infancy. The New England journal of medicine, 295, 349-353.

Rawana, S., Clark, K., Zhong, S., Buison, A., Chackunkal, S. and Jen, K. L. (1993) Low dose fructose ingestion during gestation and lactation affects carbohydrate metabolism in rat dams and their offspring. The Journal of nutrition, 123, 2158-2165.

Rehn, A. E., Van Den Buuse, M., Copolov, D., Briscoe, T., Lambert, G. and Rees, S. (2004) An animal model of chronic placental insufficiency: relevance to neurodevelopmental disorders including schizophrenia. Neuroscience, 129, 381-391.

Reik, W. and Lewis, A. (2005) Co-evolution of X-chromosome inactivation and imprinting in mammals. Nature reviews. Genetics, 6, 403-410.

Reynolds, R. M. (2013) Glucocorticoid excess and the developmental origins of disease: two decades of testing the hypothesis--2012 Curt Richter Award Winner. Psychoneuroendocrinology, 38, 1-11.

Rogers, I. and Group, E.-B. S. (2003) The influence of birthweight and intrauterine environment on adiposity and fat distribution in later life. International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity, 27, 755-777.

Roseboom, T., de Rooij, S. and Painter, R. (2006) The Dutch famine and its long-term consequences for adult health. Early human development, 82, 485-491.

Ruchat, S. M., Houde, A. A., Voisin, G. et al. (2013) Gestational diabetes mellitus epigenetically affects genes predominantly involved in metabolic diseases. Epigenetics : official journal of the DNA Methylation Society, 8, 935-943.

Sakamoto, M., Nakano, A. and Akagi, H. (2001) Declining Minamata male birth ratio associated with increased male fetal death due to heavy methylmercury pollution. Environmental research, 87, 92-98.

Samuelsson, A. M., Matthews, P. A., Argenton, M. et al. (2008) Diet-induced obesity in female mice leads to offspring hyperphagia, adiposity, hypertension, and insulin resistance: a novel murine model of developmental programming. Hypertension, 51, 383-392.

Sanders, M. W., Fazzi, G. E., Janssen, G. M., de Leeuw, P. W., Blanco, C. E. and De Mey, J. G. (2004) Reduced uteroplacental blood flow alters renal arterial reactivity and glomerular properties in the rat offspring. Hypertension, 43, 1283-1289.

Sathishkumar, K., Balakrishnan, M., Chinnathambi, V., Chauhan, M., Hankins, G. D. and Yallampalli, C. (2012) Fetal sex-related dysregulation in testosterone production and their receptor expression in the human placenta with preeclampsia. Journal of perinatology : official journal of the California Perinatal Association, 32, 328-335.

Scott, N. M., Hodyl, N. A., Murphy, V. E., Osei-Kumah, A., Wyper, H., Hodgson, D. M., Smith, R. and Clifton, V. L. (2009) Placental cytokine expression covaries with maternal asthma severity and fetal sex. Journal of immunology, 182, 1411-1420.

Sedova, L., Seda, O., Kazdova, L., Chylikova, B., Hamet, P., Tremblay, J., Kren, V. and Krenova, D. (2007) Sucrose feeding during pregnancy and lactation elicits distinct metabolic response in offspring of an inbred genetic model of metabolic syndrome. American journal of physiology. Endocrinology and metabolism, 292, E1318-1324.

Sood, R., Zehnder, J. L., Druzin, M. L. and Brown, P. O. (2006) Gene expression patterns in human placenta. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 103, 5478-5483.

St-Pierre, J., Hivert, M. F., Perron, P., Poirier, P., Guay, S. P., Brisson, D. and Bouchard, L. (2012) IGF2 DNA methylation is a modulator of

newborn's fetal growth and development. Epigenetics : official journal of the DNA Methylation Society, 7, 1125-1132.

Stark, M. J., Clifton, V. L. and Wright, I. M. (2008) Sex-specific differences in peripheral microvascular blood flow in preterm infants. Pediatric research, 63, 415-419.

Stein, C. E., Fall, C. H., Kumaran, K., Osmond, C., Cox, V. and Barker, D. J. (1996) Fetal growth and coronary heart disease in south India. Lancet, 348, 1269-1273.

Sun, M., Maliqueo, M., Benrick, A., Johansson, J., Shao, R., Hou, L., Jansson, T., Wu, X. and Stener-Victorin, E. (2012) Maternal androgen excess reduces placental and fetal weights, increases placental steroidogenesis, and leads to long-term health effects in their female offspring. American journal of physiology. Endocrinology and metabolism, 303, E1373-1385.

Syme, M. R., Paxton, J. W. and Keelan, J. A. (2004) Drug transfer and metabolism by the human placenta. Clinical pharmacokinetics, 43, 487-514.

Tang, J. I., Kenyon, C. J., Seckl, J. R. and Nyirenda, M. J. (2011) Prenatal overexposure to glucocorticoids programs renal 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 expression and salt-sensitive hypertension in the rat. Journal of hypertension, 29, 282-289.

Taylor, P. D., McConnell, J., Khan, I. Y. et al. (2005) Impaired glucose homeostasis and mitochondrial abnormalities in offspring of rats fed a fat-rich diet in pregnancy. American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology, 288, R134-139.

Thangaratinam, S. and Jolly, K. (2010) Obesity in pregnancy: a review of reviews on the effectiveness of interventions. BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology, 117, 1309-1312.

Tomat, A. L., Inserra, F., Veiras, L., Vallone, M. C., Balaszczuk, A. M., Costa, M. A. and Arranz, C. (2008) Moderate zinc restriction during fetal and postnatal growth of rats: effects on adult arterial blood pressure and kidney. American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology, 295, R543-549.

Uzelac, P. S., Li, X., Lin, J., Neese, L. D., Lin, L., Nakajima, S. T., Bohler, H. and Lei, Z. (2010) Dysregulation of Leptin and Testosterone Production and Their Receptor Expression in the Human Placenta with Gestational Diabetes Mellitus. Placenta, 31, 581-588.

van Abeelen, A. F., de Rooij, S. R., Osmond, C. et al. (2011) The sex-specific effects of famine on the association between placental size and later hypertension. Placenta, 32, 694-698.

van Straten, E. M. E., Bloks, V. W., Huijkman, N. C. A., Baller, J. F. W., van Meer, H., Lutjohann, D., Kuipers, F. and Plosch, T. (2010) The liver X-receptor gene promoter is hypermethylated in a mouse model of prenatal protein restriction. Am J Physiol-Reg I, 298, R275-R282.

Vickers, M. H., Breier, B. H., Cutfield, W. S., Hofman, P. L. and Gluckman, P. D. (2000) Fetal origins of hyperphagia, obesity, and hypertension and postnatal amplification by hypercaloric nutrition. American journal of physiology. Endocrinology and metabolism, 279, E83-87.

Vickers, M. H., Clayton, Z. E., Yap, C. and Sloboda, D. M. (2011) Maternal fructose intake during pregnancy and lactation alters placental growth and leads to sex-specific changes in fetal and neonatal endocrine function. Endocrinology, 152, 1378-1387.

Vo, T. and Hardy, D. B. (2012) Molecular mechanisms underlying the fetal programming of adult disease. Journal of cell communication and signaling, 6, 139-153.

Vu, T. T., Hirst, J. J., Stark, M., Wright, I. M., Palliser, H. K., Hodyl, N. and Clifton, V. L. (2009) Changes in human placental 5alpha-reductase isoenzyme expression with advancing gestation: effects of fetal sex and glucocorticoid exposure. Reproduction, fertility, and development, 21, 599-607.

Wang, Z., Huang, Z., Lu, G., Lin, L. and Ferrari, M. (2009) Hypoxia during pregnancy in rats leads to early morphological changes of atherosclerosis in adult offspring. American journal of physiology. Heart and circulatory physiology, 296, H1321-1328.

Witchel, S. F., Recabarren, S. E., Gonzalez, F. et al. (2012) Emerging concepts about prenatal genesis, aberrant metabolism and treatment paradigms in polycystic ovary syndrome. Endocrine, 42, 526-534.

Wolffe, A. P. and Matzke, M. A. (1999) Epigenetics: Regulation through repression. Science, 286, 481-486.

Wyrwoll, C. S., Seckl, J. R. and Holmes, M. C. (2009) Altered placental function of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase 2 knockout mice. Endocrinology, 150, 1287-1293.

Zeitlin, J., Ancel, P. Y., Larroque, B., Kaminski, M. and Study, E. (2004) Fetal sex and indicated very preterm birth: results of the EPIPAGE study. American journal of obstetrics and gynecology, 190, 1322-1325.

Zeng, S. M. and Yankowitz, J. (2003) X-inactivation patterns in human embryonic and extra-embryonic tissues. Placenta, 24, 270-275.

Zhang, J., Zhang, F., Didelot, X. et al. (2009) Maternal high fat diet during pregnancy and lactation alters hepatic expression of insulin like growth factor-2 and key microRNAs in the adult offspring. BMC genomics, 10, 478.

Zvetkova, I., Apedaile, A., Ramsahoye, B., Mermoud, J. E., Crompton, L. A., John, R., Feil, R. and Brockdorff, N. (2005) Global hypomethylation of the genome in XX embryonic stem cells. Nature genetics, 37, 1274-1279.

SO FAR CHI Sociedad de Farmacología de Chile

*ARTÍCULO DE REVISIÓN*

# REGULACIÓN NEURONAL DE LA FUNCIÓN OVÁRICA DURANTE EL ENVEJECIMIENTO REPRODUCTIVO

(Neuronal regulation of ovarian function during reproductive aging)

**Daniela Fernandois[1], Maritza Garrido[2], Hernán E. Lara[1], Alfonso H. Paredes[1]**

[1]*Laboratorio de Neurobioquímica, Depto. Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.*
[2]*Laboratorio de Endocrinología Reproductiva, Hospital Clinico, Universidad de Chile.*

**RESUMEN**

*Cómo funciona el reloj biológico que establece el cese de la función ovárica o el envejecimiento reproductivo es hasta ahora desconocido, si bien hay bastante información en la literatura sobre la regulación endocrina poco o nada se sabe sobre la regulación nerviosa del ovario durante el envejecimiento. La comprensión de este proceso es muy relevante ya que por motivos económicos, sociales educacionales etc, la mujer tanto en chile como en países en desarrollo ha decidido posponer la maternidad hasta después de los 30 años de edad. El mayor nivel educacional alcanzado por la mujer ha acrecentado su participación en el campo laboral, logrando independencia económica y social, lo que lleva a la postergación de la maternidad hacia el periodo de subfertilidad, después de los 32 años de edad. Justo cuando disminuye la tasa de fertilidad y el éxito de los programas de fertilización in vitro. Por lo tanto, resulta importante no solo comprender el proceso del envejecimiento reproductivo, sino también los mecanismos que establecen el cese de la función ovárica, particularmente, la participación del sistema nervioso simpático en la regulación del desarrollo folicular. Para ello, hemos recurrido a técnicas de biología molecular, farmacológicas y estudios in vitro, análisis morfológico etc., en el modelo múrido que ha demostrado ser muy útil en el estudio de los mecanismos neuroendocrinos de la función ovárica y han permitido conocer los mecanismos de regulación que participan en el sistema reproductivo humano.*

***Palabras Claves:*** *Envejecimiento ovárico, sistema nervioso simpático, quistes foliculares, desarrollo folicular, subfertilidad.*

***Publicado por la Sociedad de Farmacología de Chile***

## INTRODUCCIÓN

### Periodo de fertilidad óptimo

La reserva de folículos primordiales en el ovario determina la duración del período fértil en la mujer. La edad óptima de fertilidad en la mujer se ha establecido entre los 18 y 31 años (te Velde 1998), período después del cual la fertilidad comienza a decrecer, hasta llegar al período crítico de subfertilidad que se establece alrededor de los 37.5 años de edad (Faddy et al. 1992, te Velde & Pearson 2002). En este período, el contenido de folículos primordiales en el ovario disminuye aproximadamente a 25.000 desde los 1,5 millones que existen en el ovario a momento del nacimiento. Cuando la reserva folicular disminuye hasta aproximadamente 1000 folículos, (alrededor de los 50,5 años de edad) el ovario es inactivo, no puede establecer el mecanismo de retroalimentación del control hipotalámico y se establece la menopausia (te Velde & Pearson 2002). Es decir, la perdida de la reserva folicular se relaciona directamente con el envejecimiento reproductivo (Ford 2013).

Estos eventos coinciden con el aumento de abortos espontáneos y anormalidades cromosómicas en los fetos (Munne et al. 1994), confirmando un cambio en la calidad de los últimos folículos de la reserva folicular, lo que va acompañado de una disminución en el reclutamiento folicular con la edad, es decir, menos folículos responden a la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) favoreciendo la atresia folicular (Gougeon & Testart 1990).

**Correspondencia a:** Dr. Alfonso Paredes Vargas, Calle Sergio Livingstone 1007, Independencia. Teléfono: +56-2-29782922; Correo Electrónico: aparedes@ciq.uchile.cl

Recientemente, se ha descrito que los ovarios de mujeres pre y posmenopáusicas presentan características del desarrollo folicular similar al del ovario poliquístico (PCO) (Birdsall & Farquhar 1996, Margolin et al. 2005). Se detiene el desarrollo folicular, el ovario presenta un menor número de folículos antrales y permanecen las estructuras quísticas típicas de la condición PCO. Esto también se da en roedores, ya que estudios realizados en ratón demuestran que, al igual que lo que ocurre en humanos, existe un aumento en la aparición de quistes de inclusión con la edad (Clow et al. 2002, Tan et al. 2005), en ratas, también se produce una aumento de quistes foliculares que perduran durante el periodo de subfertilidad hasta que el ovario se hace afuncional, haciendo que la formación y mantención de quistes, y la disminución acelerada de la reserva folicular sean una característica del envejecimiento reproductivo (Acuna et al. 2009, Fernandois et al. 2012).

**Infertilidad versus edad**

La edad de la mujer es un factor determinante en el pronóstico de infertilidad, La que comienza a aumentar a partir de los 32 años, período durante el cual se observa un acortamiento constante del ciclo menstrual (debido a una fase folicular más corta), un incremento leve pero significativo de la FSH y una disminución de los niveles de inhibina (Lenton et al. 1991b), efectos que se reflejan en un crecimiento folicular acelerado y agotamiento de la reserva folicular. Los estudios de fertilización in vitro (FIV) y de otras técnicas de reproducción asistida han permitido relacionar la infertilidad con la edad (Piette et al. 1990, Dua et al. , Romeu et al. 1987). Muchos programas de reproducción asistida han establecido una edad límite para ingresar al programa, debido a que las mujeres de 40 años o más presentan baja tasa de embarazo y un incremento en el riesgo de abortos espontáneos (Romeu et al. 1987).

**Dinámica del desarrollo folicular**

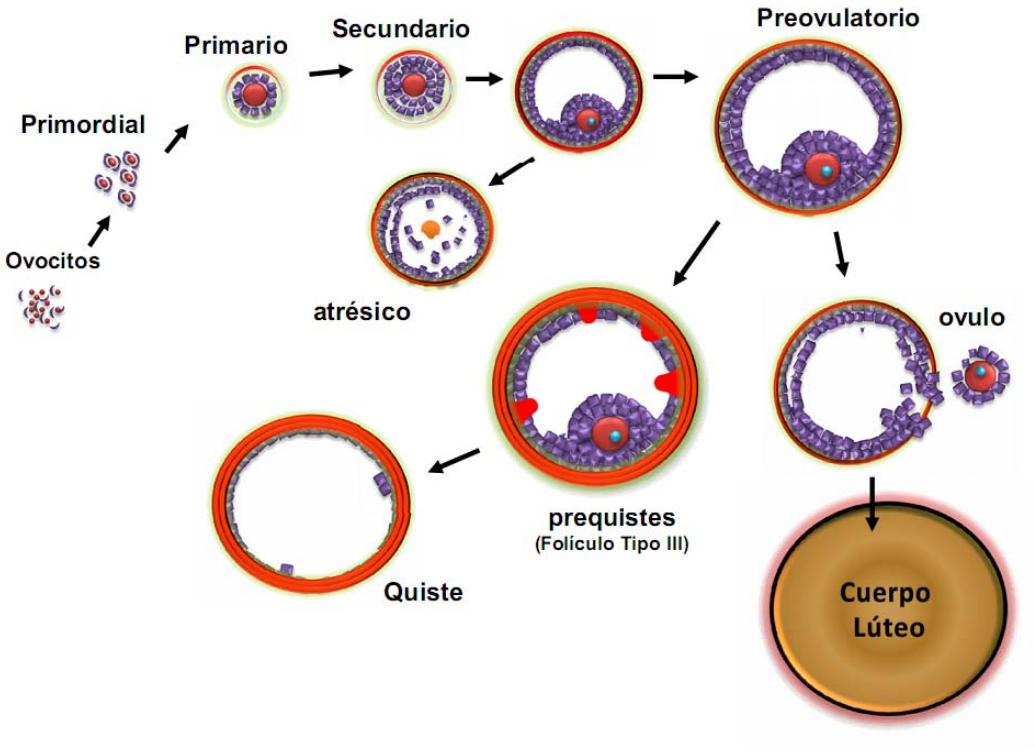
En mamíferos, tanto en rata como en humano, la proliferación de ovogonios ocurre durante el período prenatal. Los ovogonios entran en profase meiotica dando término a la proliferación de las células germinales, dando origen a los ovocitos, los cuales continúan con la meiosis I, para detenerse en el estado diploteno. Los ovocitos son rodeados de células pregranulosa de origen epitelial para formar los folículos primordiales (ver figura 1). Este evento ocurre en la etapa prenatal en humano y durante los primeros días postnatales en caso de rata y ratón (McNatty et al. 1999). Los folículos primordiales, así formados constituyen el pool de reserva folicular ovárica (Gougeon 2010).

El número de folículos que forman la reserva folicular disminuye drásticamente con la edad y en el humano comienza en la etapa fetal en donde muchos ovocitos degeneran por apoptosis (Reynaud & Driancourt 2000). Después del nacimiento sólo el 20% del total de los ovocitos iniciales forman parte de la reserva folicular. Una vez que se inicia el periodo reproductivo ocurre la selección de folículos primordiales para iniciar su crecimiento y desarrollo folicular en cada ciclo durante el período reproductivo. El folículo primordial inicia su desarrollo con un cambio morfológico de las células de la granulosa de una forma aplanada pasan a una cuboidal lo que forma el folículo primario. Este folículo se caracteriza porque las células de la granulosa proliferan y el ovocito comienza a crecer. Cuando el número de capas de células de granulosa que rodea al ovocito es mayor o igual a dos constituye folículo secundario. Estos folículos expresan el receptor a FSH, lo que permite responder a los niveles de gonadotropinas circulantes y continuar su crecimiento para formar folículos con cavidad antral (folículos antrales). La mayoría de estos folículos antrales van a experimentar atresia, evento que comienza con la muerte de las células de la granulosa mediante procesos apoptóticos (McGee & Hsueh 2000). Los folículos que permanecen sanos continúan su crecimiento hasta formar el folículo preovulatorio, el cual una vez que se produce el alza de LH liberan el ovocito para una posible fecundación. Uno de los problemas del desarrollo folicular ocurre cuando los folículos no logra romperse para liberar el óvulo durante el proceso de ovulación y permanecen en el ovario por un tiempo prolongado. Esta estructura folicular da origen a los quistes ováricos. Hay de dos tipos, los quistes ováricos funcionales (no relacionados con una enfermedad) que desaparecen espontáneamente y los quistes fisiológicos relacionados con alguna patología que requiere tratamiento, como son los tumores ováricos (Dumesic & Lobo 2013) o bien trastornos hormonales como el ovario poliquistico (Dumesic & Richards 2013, Dissen et al. 2009).

**Inervación ovárica**

***Sistema extrínseco:*** El ovario tanto de ratas como mujeres, posee regulación nerviosa simpática, para ello, el ovario está inervado extrínsecamente por las proyecciones de las vías nerviosas simpáticas y sensoriales. Las vías nerviosas simpáticas están compuestas por neuronas que contienen norepinefrina (NE) y neuropéptido-Y (NPY) y las vías sensoriales por fibras que contienen sustancia P (SP) y péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP). Ambos vías poseen fibras nerviosas que contienen, además, VIP (Lawrence & Burden 1980, Klein et al. 1989, Klein & Burden 1988).
La inervación extrínseca posee dos rutas de entrada: el plexo nervioso y el nervio ovárico superior (SON). El plexo nervioso viaja junto a los vasos sanguíneos, lleva la mayoría de las fibras sensoriales, los nervios con NPY y el grueso de la inervación noradrenérgica que controla la vasculatura (Baljet & Drukker 1979, Burden et al. 1985, Klein & Burden 1988).

**Figura 1**




**Desarrollo follicular durante el envejecimiento ovárico en rata.** El cese de la función ovárica está dado principalmente por la pérdida de folículos y aparición de quistes folicuares. El desarrollo folicular se inicia con el crecimiento de una cohorte de folículos primordiales. El primer signo visible de selección de folículos para iniciar el crecimiento es el aumento de tamaño del ovocito, seguido de la transformación de las células de pregranulosa de forma plana a una cuboidal, convirtiéndose de tal manera en folículos primarios. Cuando estos folículos comienzan a crecer y las células de la granulosa proliferan y la teca comienza a organizarse, pasan a formar los folículos secundarios. Las células foliculares producen líquido que contiene proteínas, electrolitos y hormonas, el que se acumula en los espacios intercelulares de la granulosa, formando un antro, razón por la cual, los folículos adquieren el nombre de antrales, de ellos, existirá un folículo dominante que aumenta de tamaño para denominarse folículo preovulatorio y sólo uno de todos los reclutados (en el caso humano), libera el ovocito hacia el oviducto, fenómeno conocido como ovulación. Las células de la granulosa de dicho folículo se diferencian y luteinizan, formando el cuerpo lúteo, que secreta activamente progesterona. El resto de los folículos reclutados, se degeneran en un proceso llamado atresia (fol atrésicos), que involucra apoptosis o muerte celular programada A veces este proceso no ocurre correctamente, y algunos folículos persisten, llenándose de líquido y ocupando un volumen considerable dentro del ovario, dichas estructuras son denominadas estructuras quísticas (En ratas, folículos tipo III, pre-quistes y quistes), las que impiden el funcionamiento normal del ovario).

El SON está asociado al ligamento suspensorio y compromete la mayoría de las fibras noradrenérgicas que inervan los folículos y toda la inervación VIPérgica de la glándula (Ahmed et al. 1986).

***Sistema intrínseco:*** De manera conjunta a la inervación simpática clásica, se ha descrito la presencia de células intraováricas que podrían participar paralelamente en la homeostasis catecolaminérgica del ovario, regulando así su función. En ovario de algunas especies de mamíferos como mono Rhesus (Dees et al. 1995) y rata Wistar (D'Albora et al. 2000), se ha observado la presencia de estructuras celulares con características morfológicas y moleculares similares a las que presentan los cuerpos neuronales, siendo independientes de la inervación simpática o extrínseca descrita anteriormente. Esta población de cuerpos neuronales se ha observado también en ovarios humanos fetales y de primer año de desarrollo postnatal (Anesetti et al. 2001). Otra fuente de catecolaminas intraováricas está dada por los ovocitos. En mono se ha observado que son capaces de sintetizar NE (Mayerhofer et al. 1998). Estos ovocitos no poseen ni mRNA ni proteína tirosina hidroxilasa (TH), indicando que son incapaces de sintetizar dopamina (DA, el precursor de NA), sin embargo, poseen el gen para el transportador de dopamina (DAT), el que presenta idéntica homología con el de cerebro humano. La existencia de este transportador sugiere que la

internalización de DA por esta vía es la forma en que los ovocitos obtienen sustrato para la síntesis de NE. Esto permite pensar que la existencia de células que darían cuenta de un sistema nervioso intrínseco, podría estar participando de manera activa junto con el sistema nervioso simpático extrínseco en el control de la función ovárica.

A esto se suma el sistema colinérgico (Mayerhofer & Kunz 2005). Si bien el ovario carece del sistema nervioso parasimpático, se ha descrito que el ovario contiene varios de los elementos para ejercer un efecto análogo a este sistema, acetilcolina ( ACh ), receptor de ACh (Batra et al. 1993) y las enzimas que la sintetizan (Fritz et al. 2001). En el ovario, la ACh no tiene un origen neuronal, es producida por las células de la granulosa, donde tendría un rol importante en los folículos en crecimiento, debido a que la enzima que sintetiza ACh, la colina acetiltransferasa, se expresa sólo en folículos antrales en crecimiento. Es decir folículos que están bajo el efecto de la hormona folículo estimulante (FSH ), Mayerhofer y colaboradores sugieren que la ACh y la FSH podrían estar relacionadas para permitir el crecimiento de los folículos y las esteroidogenesis (Mayerhofer & Kunz 2005). La vía de señalización de ACh es mediada por receptores mucarínicos en el ovario. La activación de estos receptores aumenta el calcio intracelular y activan un canal de potasio que resulta en la hiperpolarización de la membrana, lo que a su vez, permite la activación de otros canales iónicos dependientes de voltaje (Kunz et al. 2007). Por otro lado, estudios en granulosa humana mostraron que ACh participa en la fosforilación de conexina 43, una proteína que mantiene la unión entre las células de granulosa. La fosforilación de conexina 43 permitiría la interrupción de la comunicación intercelular, lo que facilitaría que la granulosa entre en proliferación y el folículo antral continúe su crecimiento (Mayerhofer & Kunz 2005).

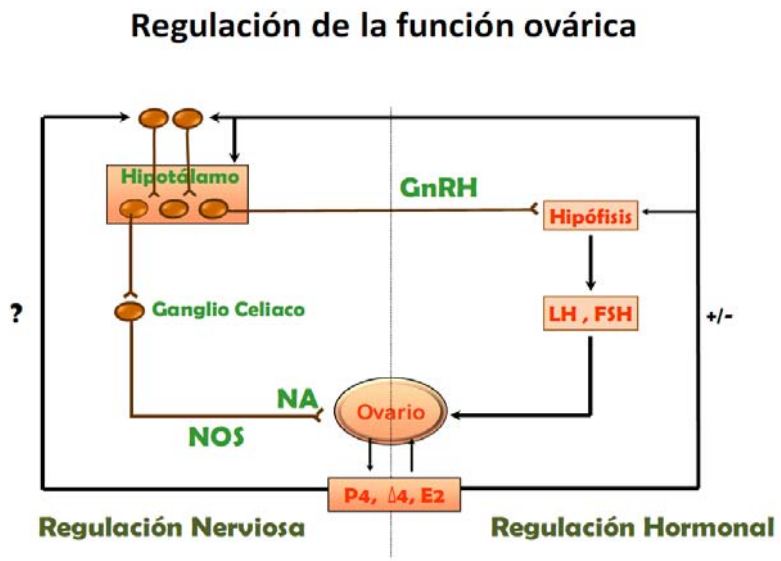
**Sistema nervioso simpático regula la función ovárica**

El ovario de los mamíferos no sólo está bajo el control hormonal hipotálamo- pituitaria, también está bajo un control autonómico neuronal (figura 2) ejercida por las neuronas que inervan los diferentes componentes celulares de ovario (McGee EA & Hsueh AJ 2000; Dumesic & Lobo 2013; Dumesic & Richards 2013; Dissen et al. 2009), tales como vasos sanguíneos, tejido conectivo, y los folículos en diferentes etapas de desarrollo. Aunque la mayor parte de la información sobre el control nervioso del ovario se ha obtenido en modelos animales, especialmente en roedores, el ovario humano también presenta una red bien desarrollada de los nervios simpáticos alrededor de los folículos ováricos (Stefenson et al. 1981) (Semenova 1969) y la actividad de estos nervios está acoplado a fisiológicamente al receptor B-adrenérgico, que media el reclutamiento folicular (Greiner et al. 2005), el proceso de ovulación y la estimulación de la secreción de progesterona y andrógenos (Hernandez et al. 1988, Ricu et al. 2008). La inervación simpática está presente desde el inicio del desarrollo folicular y están asociadas a los folículos y a la ovulación para continuar su asociación con las células de la teca de la glándula intersticial y acoplados a los andrógenos biosíntesis (Burden HW et al. 1985). El sistema simpático del ovario presenta un alto grado de plasticidad. El ovario es reinervado rápidamente después del trasplante (Lara et al. 1991) y los nervios incrementan tanto en el número de fibras como en la actividad del nervio durante la etapa peribuberal (Schultea et al. 1992). Estas y otras evidencias sugieren fuertemente que, además del efecto estimulador en la esteroidogenesis (Kawakami et al. 1981), la inervación de ovario tiene un efecto facilitador sobre el desarrollo folicular (Dumesic & Richards 2013). Esta inervación podría ser parte de un sistema de regulación más compleja aún, teniendo en cuenta las últimas evidencias que sugieren la presencia de células neuronales intrínsecas al ovario (Anesetti et al. 2001, D'Albora et al. 2000, Dees et al. 1995) y más recientemente evidencias de nuestro laboratorio, sugieren que estas células tienen la capacidad de almacenamiento y liberación de norepinefrina bajo estimulación eléctrica (Greiner et al. 2008), sugiriendo que el sistema instrinseco del ovario podría participar también en la esteroidogénesis ovárica (Adashi & Hsueh 1981).

**Actividad del sistema simpático durante el envejecimiento reproductivo**

La disminución de la reserva folicular representa el envejecimiento fisiológico del ovario, por lo tanto, un aumento en la pérdida de la reserva folicular, lleva a una disminución del período de la fertilidad óptima (Menken et al. 1986, Weeg et al. 2012). El envejecimiento reproductivo en las mujeres comienza con ciclos menstruales cortos, pequeño aumento de FSH y de inhibina (Lenton et al. 1991a), lo que resulta en el aumento acelerado de la perdida folicular y agotamiento de la reserva de folículos. Por otro lado, se ha demostrado que después de la menopausia (después de los 51 años de edad), los ovarios de mujeres tienen una mayor densidad de fibras nerviosas simpáticas en comparación con el control de las mujeres en edad fértil (Semenova 1969, Heider et al. 2001). Esto se relaciona con el estudio en roedores donde hemos demostrado que a medida que la rata envejece espontáneamente, hay un aumento progresivo de la concentración de noradrenalina en el ovario y aumenta la actividad nerviosa simpática (Acuna et al. 2009), la que alcanza su máximo cuando se establece el cese de la función ovárica y la infertilidad. Esto debido a que no hay desarrollo folicular, ni ovulación, no se observa presencia de cuerpos lúteos y aumenta el número de estructuras quísticas en el ovario de rata (Acuna et al. 2009, Chavez-Genaro et al. 2007).

**Figura 2**




**Regulación neuroendocrina del ovario.** La función ovárica es regulada a través de dos vías: a) el tradicional eje hormonal, que comienza en el hipotálamo, desde donde se secreta la hormona liberadora de gonadotrofina (GnRH), la que actúa sobre la hipófisis anterior para inducir la liberación de gonadotrofinas, hormona folículo estimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH). La otra vía reguladora es de origen nervioso. El ovario recibe inervación desde el hipotálamo, desde donde presenta varios relevos neuronales hasta llegar al ganglio celiaco, donde se encuentra las neuronas simpáticos que proyectan sus axones a través del nervio ovárico superior (SON) para inervar distintos componentes estructurales del ovario, incluyendo tejido intersticial y los folículos en desarrollo. Ambas vías estimulan las células del ovario, para regular los procesos de desarrollo folicular y esteroidogenesis. NA: noradrenalina, P4: Progesterona, A4: testosterona, E2: estradiol.

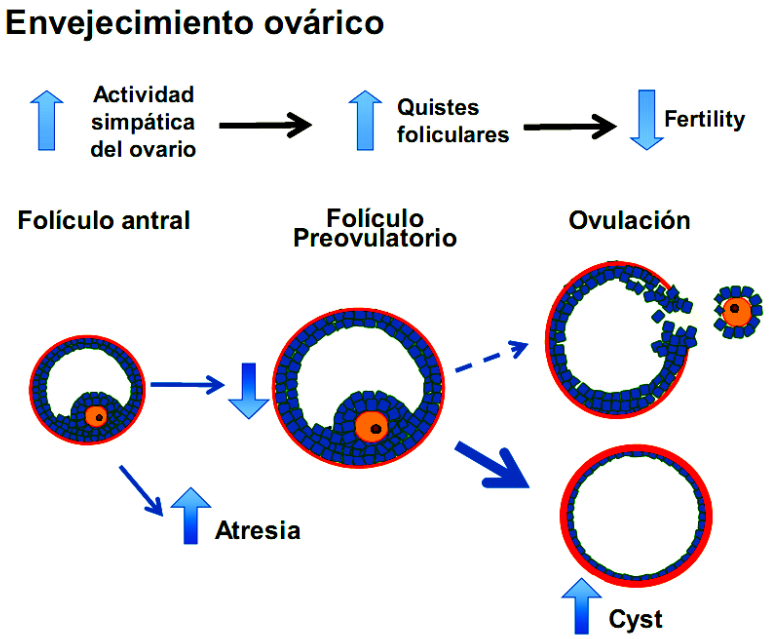
**La administración de un antagonista beta-adrenérgico recupera la función ovárica durante el envejecimiento reproductivo**

Los receptores adrenérgicos en el ovario son en su mayoría del subtipo β2 y la NA actúa sobre estos receptores, modificando el desarrollo folicular y estimulando la secreción de esteroides (Adashi & Hsueh 1981), la sobre activación de estos receptores, se podría asociar con el desarrollo y mantenimiento de estructuras quísticas, principalmente durante el envejecimiento (Acuna et al. 2009). En el laboratorio hemos demostrado que al bloquear el efecto de la actividad simpática durante el periodo de subfertilidad. a través de la administración in vivo de propanolol, un antagonista de los receptores β-adrenérgicos, durante 2 meses en ratas en periodo de subfertilidad, esta recupera la función ovárica y retrasa el envejecimiento ovárico, debido a que el bloqueo de la actividad simpática induce una disminución de la formación de quistes y mejora el desarrollo folicular, favoreciendo la ovulación y la esteroidogénesis (Fernandois et al. 2012 , Luna et al. 2012 , Nugent et al. 2012). Estos resultados nos siguieren que el bloqueo de la actividad simpática en esta etapa reproductiva podría servir de ayuda para favorecer la maternidad, ya que el fármaco permite una expansión de la ventana reproductiva. Esto abre la perspectiva del uso de este fármaco para favorecer el éxito de los programas de fertilización in vitro. Lo que necesariamente requiere ser evaluado.

La desnervación simpática recupera la función ovárica durante el envejecimiento reproductivo. La administración de guanetidina en ratas durante los primeros siete días de vida postnatal, provoca una simpatectomía mediante una respuesta inmunológica contra las fibras simpáticas, y de esta forma, permite estudiar el funcionamiento ovárico, sin la influencia del SNS (Lara et al. 1990, Chavez-Genaro et al. 2007, Riboni 2002a, Riboni 2002b).

La simpatectomía química inducida en la primera semana de vida, no afecta el crecimiento del ovario, pero si induce un retraso significativo en la llegada de la pubertad, indicando un cambio en la fisiología reproductiva de la rata. Sin embargo, la determinación del contenido de NE el ovario no mostró cambios entre el periodo óptimo de fertilidad, determinado a los 6 meses de edad y el de subfertilidad, sugiriendo la participación de un mecanismo

**Figura 3**




**Desarrollo folicular al final del periodo reproductivo.** El aumento normal de la actividad del sistema nervioso simpático de ovario durante el periodo de subfertilidad y antes de cese de las funciones ováricas participa en la formación de folículos quísticos, alterando el desarrollo folicular y la inhibición de proceso de ovulación (adaptado de Nunget y colaboradores 2012).

que permite una respuesta adaptativa a la simpatectomía, después de los 6 meses, ya que a los 4 meses de edad el contenido de NE esta disminuido solo en un 50% en ovario de rata tratadas con guanetidina (Venegas tesis Bioquímica). Si a los 6 meses de edad el contenido de NE intraovárico no cambia, puede indicar que esta recuperación en el contenido de NE puede participar la vía de inervación intrínseca del ovario, lo que requiere ser estudiado. El análisis morfológico del ovario de ratas desnervadas resultó en una alteración en el desarrollo folicular, disminuyó el tamaño de los folículos antrales, y aumentó el número de estructuras quísticas, siendo éstos últimos también, de menor tamaño en ovario de rata de 10 meses de edad., lo que podría estar relacionado con la recuperación de la inervación noradrenérgica. Por otro lado, la simpatectomía neonatal inducida al seccionar el nervio ovárico superior en ovario de rata adulta joven muestra una disminución en el tamaño y número de folículos antrales, aumenta la atresia folicular por aumento de apoptosis de la granulosa y una disminución en la proliferación de esta. (Zhang et al. 2010 , Morales-Ledesma et al. 2012), los autores no cuantificaron el contenido de NE para establecer si el ovarios recupera el contenido de NE a los 90 días de edad, lo que resulta importante de considerar ya que se ha demostrado que el ovario de una rata adulta se reinerva a los 21 días. (Lara et al. 2002).

**DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN**

El sistema nervioso autonómico regula la función ovárica, por un lado el sistema nervioso simpático regula el reclutamiento y desarrollo folicular, participa en el proceso de ovulación y en la esteroidogenesis; y por otro lado, el sistema colinérgico, de origen no neuronal podría estar relacionado con la respuesta de las células de la granulosa y la proliferación celular en los folículos antrales.

Durante el envejecimiento ovárico, caracterizado por la disminución de la población folicular, por una alteración en el desarrollo folicular y un aumento en el número de quistes foliculares, se produce también un aumento en el tono noradrenérgico del ovario, lo que nos lleva a hipotetizar que este aumento en la actividad simpática durante el periodo de subfertilidad es la causa del aumento de los quistes, como ha sido demostrado previamente en rata adulta joven (Lara et al. 2002, Paredes et al. 1998, Dorfman et al. 2003, Bernuci et al. 2008, Greiner et al. 2005, Lara et al. 1993). Esto se evidencia porque al bloquear los receptores beta-adrenérgico se recupera parcialmente la función ovárica en este periodo de subfertilidad (Fernandois et al. 2012, Nugent et al. 2012), lo que no es tan evidente al desnervar químicamente el ovario en la infancia, ya que la plasticidad del ovario permite recuperar el contenido de

noradrenalina a los 6 meses de edad. No se ha determinado aún, si esta recuperación se debe a que el ovario se reinerva (Rosa et al. 2003), como lo hace un ovario de rata joven o bien el componente intrínseco del ovario tiene un rol importante durante la simpatectomía. El mecanismo por el cual el sistema simpático participa en el envejecimiento ovárico es desconocido y requiere ser estudiado.

En conclusión, los cambios en la actividad nerviosa simpática que ocurren en el ovario de rata durante el periodo de subfertilidad altera la función ovárica. El bloqueo β-adrenérgico produce una expansión de la ventana de la subfertilidad en estos animales. Esta estrategia experimental podría promover el éxito en la fertilidad y en los programas de fertilización, principalmente ahora que la mujer está posponiendo la maternidad a una etapa donde la función ovárica esta disminuida.

**AGRADECIMIENTOS:**

Parte de este trabajo fue financiado por los proyectos FONDECYT N° 1090159 y N° 1120147. Los autores de este trabajo declaran no tener conflicos de interes.

**BIBLIOGRAFÍA:**

Acuna, E., Fornes, R., Fernandois, D., Garrido, M. P., Greiner, M., Lara, H. E. and Paredes, A. H. (2009) Increases in norepinephrine release and ovarian cyst formation during ageing in the rat. Reprod Biol Endocrinol, 7, 64.

Adashi, E. Y. and Hsueh, A. J. (1981) Stimulation of beta 2-adrenergic responsiveness by follicle-stimulating hormone in rat granulosa cells in vitro and in vivo. Endocrinology, 108, 2170-2178.

Ahmed, C. E., Dees, W. L. and Ojeda, S. R. (1986) The immature rat ovary is innervated by vasoactive intestinal peptide (VIP)-containing fibers and responds to VIP with steroid secretion. Endocrinology, 118, 1682-1689.

Anesetti, G., Lombide, P., D'Albora, H. and Ojeda, S. R. (2001) Intrinsic neurons in the human ovary. Cell Tissue Res, 306, 231-237.

Baljet, B. and Drukker, J. (1979) The extrinsic innervation of the abdominal organs in the female rat. Acta Anat (Basel), 104, 243-267.

Batra, S., Popper, L. D. and Iosif, C. S. (1993) Characterisation of muscarinic cholinergic receptors in human ovaries, ovarian tumours and tumour cell lines. Eur J Cancer, 29A, 1302-1306.

Bernuci, M. P., Szawka, R. E., Helena, C. V., Leite, C. M., Lara, H. E. and Anselmo-Franci, J. A. (2008) Locus coeruleus mediates cold stress-induced polycystic ovary in rats. Endocrinology, 149, 2907-2916.

Birdsall, M. A. and Farquhar, C. M. (1996) Polycystic ovaries in pre and post-menopausal women. Clin Endocrinol (Oxf), 44, 269-276.

Burden, H. W., Lawrence, I. E., Jr. and Louis, T. M. (1985) The adrenergic innervation of the guinea pig ovary during prenatal and postnatal periods. Acta Anat (Basel), 122, 193-196.

Clow, O. L., Hurst, P. R. and Fleming, J. S. (2002) Changes in the mouse ovarian surface epithelium with age and ovulation number. Mol Cell Endocrinol, 191, 105-111.

Chavez-Genaro, R., Lombide, P., Dominguez, R., Rosas, P. and Vazquez-Cuevas, F. (2007) Sympathetic pharmacological denervation in ageing rats: effects on ovulatory response and follicular population. Reprod Fertil Dev, 19, 954-960.

D'Albora, H., Lombide, P. and Ojeda, S. R. (2000) Intrinsic neurons in the rat ovary: an immunohistochemical study. Cell Tissue Res, 300, 47-56.

Dees, W. L., Hiney, J. K., Schultea, T. D., Mayerhofer, A., Danilchik, M., Dissen, G. A. and Ojeda, S. R. (1995) The primate ovary contains a population of catecholaminergic neuron-like cells expressing nerve growth factor receptors. Endocrinology, 136, 5760-5768.

Dissen, G. A., Garcia-Rudaz, C., Paredes, A., Mayer, C., Mayerhofer, A. and Ojeda, S. R. (2009) Excessive ovarian production of nerve growth factor facilitates development of cystic ovarian morphology in mice and is a feature of polycystic ovarian syndrome in humans. Endocrinology, 150, 2906-2914.

Dorfman, M., Arancibia, S., Fiedler, J. L. and Lara, H. E. (2003) Chronic intermittent cold stress activates ovarian sympathetic nerves and modifies ovarian follicular development in the rat. Biol Reprod, 68, 2038-2043.

Dua, M., Bhatia, V., Malik, S. and Prakash, V. ART outcome in young women with premature ovarian aging. J Midlife Health, 4, 230-232.

Dumesic, D. A. and Lobo, R. A.(2013) Cancer risk and PCOS. Steroids, 78, 782-785.

Dumesic, D. A. and Richards, J. S. (2013) Ontogeny of the ovary in polycystic ovary syndrome. Fertil Steril, 100, 23-38.

Faddy, M. J., Gosden, R. G., Gougeon, A., Richardson, S. J. and Nelson, J. F. (1992) Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause. Hum Reprod, 7, 1342-1346.

Fernandois, D., Lara, H. E. and Paredes, A. H. (2012) Blocking of beta-adrenergic receptors during the subfertile period inhibits spontaneous ovarian cyst formation in rats. Horm Metab Res, 44, 682-687.

Ford, J. H. (2013) Reduced quality and accelerated follicle loss with female reproductive aging - does decline in theca dehydroepiandrosterone (DHEA) underlie the problem? J Biomed Sci, 20, 93.

Fritz, S., Wessler, I., Breitling, R., Rossmanith, W., Ojeda, S. R., Dissen, G. A., Amsterdam, A. and Mayerhofer, A. (2001) Expression of muscarinic receptor types in the primate ovary and evidence for nonneuronal acetylcholine synthesis. J Clin Endocrinol Metab, 86, 349-354.

Gougeon, A.(2010) Human ovarian follicular development: from activation of resting follicles to preovulatory maturation. Ann Endocrinol (Paris), 71, 132-143.

Gougeon, A. and Testart, J. (1990) Influence of human menopausal gonadotropin on the recruitment of human ovarian follicles. Fertil Steril, 54, 848-852.

Greiner, M., Paredes, A., Araya, V. and Lara, H. E. (2005) Role of stress and sympathetic innervation in the development of polycystic ovary syndrome. Endocrine, 28, 319-324.

Greiner, M., Paredes, A., Rey-Ares, V., Saller, S., Mayerhofer, A. and Lara, H. E. (2008) Catecholamine uptake, storage, and regulated release by ovarian granulosa cells. Endocrinology, 149, 4988-4996.

Heider, U., Pedal, I. and Spanel-Borowski, K. (2001) Increase in nerve fibers and loss of mast cells in polycystic and postmenopausal ovaries. Fertil Steril, 75, 1141-1147.

Hernandez, E. R., Jimenez, J. L., Payne, D. W. and Adashi, E. Y. (1988) Adrenergic regulation of ovarian androgen biosynthesis is mediated via beta 2-adrenergic theca-interstitial cell recognition sites. Endocrinology, 122, 1592-1602.

Kawakami, M., Kubo, K., Uemura, T., Nagase, M. and Hayashi, R. (1981) Involvement of ovarian innervation in steroid secretion. Endocrinology, 109, 136-145.

Klein, C. M. and Burden, H. W. (1988) Substance P- and vasoactive intestinal polypeptide (VIP)-immunoreactive nerve fibers in relation to ovarian postganglionic perikarya in para- and prevertebral ganglia: evidence from combined retrograde tracing and immunocytochemistry. Cell Tissue Res, 252, 403-410.

Klein, C. M., Ray, R. H. and Burden, H. W. (1989) Direct electrical stimulation of the superior ovarian nerve in rats causes an increase in neuronal activity in the ipsilateral ovarian plexus nerve. Brain Res, 479, 194-200.

Kunz, L., Roggors, C. and Mayerhofer, A. (2007) Ovarian acetylcholine and ovarian KCNQ channels: insights into cellular regulatory systems of steroidogenic granulosa cells. Life Sci, 80, 2195-2198.

Lara, H. E., Dees, W. L., Hiney, J. K., Dissen, G. A., Rivier, C. and Ojeda, S. R. (1991) Functional recovery of the developing rat ovary after transplantation: contribution of the extrinsic innervation. Endocrinology, 129, 1849-1860.

Lara, H. E., Dorfman, M., Venegas, M., Luza, S. M., Luna, S. L., Mayerhofer, A., Guimaraes, M. A., Rosa, E. S. A. A. and Ramirez, V. D. (2002) Changes in sympathetic nerve activity of the mammalian ovary during a normal estrous cycle and in polycystic ovary syndrome: Studies on norepinephrine release. Microsc Res Tech, 59, 495-502.

Lara, H. E., Ferruz, J. L., Luza, S., Bustamante, D. A., Borges, Y. and Ojeda, S. R. (1993) Activation of ovarian sympathetic nerves in polycystic ovary syndrome. Endocrinology, 133, 2690-2695.

Lara, H. E., McDonald, J. K., Ahmed, C. E. and Ojeda, S. R. (1990) Guanethidine-mediated destruction of ovarian sympathetic nerves disrupts ovarian development and function in rats. Endocrinology, 127, 2199-2209.

Lawrence, I. E., Jr. and Burden, H. W. (1980) The origin of the extrinsic adrenergic innervation to the rat ovary. Anat Rec, 196, 51-59.

Lenton, E. A., de Kretser, D. M., Woodward, A. J. and Robertson, D. M. (1991a) Inhibin concentrations throughout the menstrual cycles of normal, infertile, and older women compared with those during spontaneous conception cycles. J Clin Endocrinol Metab, 73, 1180-1190.

Lenton, E. A., Hooper, M., King, H., Kumar, A., Monks, N., Verma, S. and Osborn, J. (1991b) Normal and abnormal implantation in spontaneous in-vivo and in-vitro human pregnancies. J Reprod Fertil, 92, 555-565.

Luna, S. L., Neuman, S., Aguilera, J., Brown, D. I. and Lara, H. E. (2012) In vivo beta-adrenergic blockade by propranolol prevents isoproterenol-induced polycystic ovary in adult rats. Horm Metab Res, 44, 676-681.

Margolin, E., Zhornitzki, T., Kopernik, G., Kogan, S., Schattner, A. and Knobler, H. (2005) Polycystic ovary syndrome in post-menopausal women--marker of the metabolic syndrome. Maturitas, 50, 331-336.

Mayerhofer, A. and Kunz, L. (2005) A non-neuronal cholinergic system of the ovarian follicle. Ann Anat, 187, 521-528.

Mayerhofer, A., Smith, G. D., Danilchik, M., Levine, J. E., Wolf, D. P., Dissen, G. A. and Ojeda, S. R. (1998) Oocytes are a source of catecholamines in the primate ovary: evidence for a cell-cell regulatory loop. Proc Natl Acad Sci U S A, 95, 10990-10995.

McGee, E. A. and Hsueh, A. J. (2000) Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. Endocr Rev, 21, 200-214.

McNatty, K. P., Heath, D. A., Lundy, T., Fidler, A. E., Quirke, L., O'Connell, A., Smith, P., Groome, N. and Tisdall, D. J. (1999) Control of early ovarian follicular development. J Reprod Fertil Suppl, 54, 3-16.

Menken, J., Trussell, J. and Larsen, U. (1986) Age and infertility. Science, 233, 1389-1394.

Morales-Ledesma, L., Vieyra, E., Ramirez, D. A., Trujillo, A., Chavira, R., Cardenas, M. and Dominguez, R.(2012) Effects on steroid hormones secretion resulting from the acute stimulation of sectioning the superior ovarian nerve to pre-pubertal rats. Reprod Biol Endocrinol, 10, 88.

Munne, S., Grifo, J., Cohen, J. and Weier, H. U. (1994) Chromosome abnormalities in human arrested preimplantation embryos: a multiple-probe FISH study. Am J Hum Genet, 55, 150-159.

Nugent, B. M., Tobet, S. A., Lara, H. E., Lucion, A. B., Wilson, M. E., Recabarren, S. E. and Paredes, A. H.(2012) Hormonal programming across the lifespan. Horm Metab Res, 44, 577-586.

Paredes, A., Galvez, A., Leyton, V., Aravena, G., Fiedler, J. L., Bustamante, D. and Lara, H. E. (1998) Stress promotes development of ovarian cysts in rats: the possible role of sympathetic nerve activation. Endocrine, 8, 309-315.

Piette, C., de Mouzon, J., Bachelot, A. and Spira, A. (1990) In-vitro fertilization: influence of women's age on pregnancy rates. Hum Reprod, 5, 56-59.

Reynaud, K. and Driancourt, M. A. (2000) Oocyte attrition. Mol Cell Endocrinol, 163, 101-108.

Riboni, L. (2002a) Effects of guanethidine administration on compensatory ovarian hypertrophy, compensatory ovulation and follicular development in the prepubertal female guinea pig. Gen Comp Endocrinol, 127, 279-284.

Riboni, L. (2002b) Effects of sympathetic denervation on follicular distribution, oestradiol and progesterone serum levels in prepubertal hemi-ovariectomized female guinea pig. Anim Reprod Sci, 73, 63-71.

Ricu, M., Paredes, A., Greiner, M., Ojeda, S. R. and Lara, H. E. (2008) Functional development of the ovarian noradrenergic innervation. Endocrinology, 149, 50-56.

Romeu, A., Muasher, S. J., Acosta, A. A., Veeck, L. L., Diaz, J., Jones, G. S., Jones, H. W., Jr. and Rosenwaks, Z. (1987) Results of in vitro fertilization attempts in women 40 years of age and older: the Norfolk experience. Fertil Steril, 47, 130-136.

Rosa, E. S. A., Guimaraes, M. A., Padmanabhan, V. and Lara, H. E. (2003) Prepubertal administration of estradiol valerate disrupts cyclicity and leads to cystic ovarian morphology during adult life in the rat: role of sympathetic innervation. Endocrinology, 144, 4289-4297.

Schultea, T. D., Dees, W. L. and Ojeda, S. R. (1992) Postnatal development of sympathetic and sensory innervation of the rhesus monkey ovary. Biol Reprod, 47, 760-767.

Semenova, II (1969) [Adrenergic innervation of ovaries in Stein-Leventhal syndrome]. Vestn Akad Med Nauk SSSR, 24, 58-62.

Stefenson, A., Owman, C., Sjoberg, N. O., Sporrong, B. and Walles, B. (1981) Comparative study of the autonomic innervation of the mammalian ovary, with particular regard to the follicular system. Cell Tissue Res, 215, 47-62.

Tan, O. L., Hurst, P. R. and Fleming, J. S. (2005) Location of inclusion cysts in mouse ovaries in relation to age, pregnancy, and total ovulation number: implications for ovarian cancer? J Pathol, 205, 483-490.

te Velde, E. R. (1998) Ovarian ageing and postponement of childbearing. Maturitas, 30, 103-104.

te Velde, E. R. and Pearson, P. L. (2002) The variability of female reproductive ageing. Hum Reprod Update, 8, 141-154.

Weeg, N., Shalom-Paz, E. and Wiser, A. (2012) Age and infertility: the clinical point of view. Minerva Ginecol, 64, 477-483.

Zhang, X., Zhang, L., Huo, S., Wang, J. and Cui, S.(2010) Neonatal superior ovarian nerve transection inhibits follicle development by enhancing follicular atresia and suppressing granulosa cell proliferation in rats. Reprod Fertil Dev, 22, 1148-1158.

SO FAR CHI Sociedad de Farmacología de Chile

*ARTÍCULO ORIGINAL*

# FÁRMACO-EPIDEMIOLOGÍA DEL INFARTO AGUDO AL MIOCARDIO EN EL HOSPITAL CLÍNICO DE LA UNIVERSIDAD DE CHILE: 20 AÑOS DE REGISTRO. ESTUDIO GEMI

(Pharmaco-epidemiology of Acute Myocardial Infarction at the Hospital Clínico Universidad de Chile: 20 years of registry. GEMI study)

**Constanza López[1], Andrea Madariaga[1], Rodrigo Maldonado[1], Pedro Torres[2], Consuelo Sanhueza[2], Nicolás Martínez[2], Juan Carlos Prieto-Rayo[2], Marcelo Llancaqueo[3], Sebastián García[3], Rubén Aguayo[3], Felipe Ashwell[2], Mario Zapata[3], Carolina Nazzal[4], Juan Carlos Prieto[3,5]**

*[1]Estudiante de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. [2]Interno de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. [3]Departamento Cardiovascular, Hospital Clínico, Universidad de Chile. [4]Escuela de Salud Pública, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. [5]Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.*

**RESUMEN**

*Las enfermedades cardiovasculares son la primera causa de muerte en Chile. En los últimos 20 años se han identificado los medicamentos que según la evidencia científica aumentan la sobrevida en el Infarto Agudo al Miocardio (IAM). En nuestro país, la Sociedad Chilena de Cardiología ha editado y difundido ampliamente pautas para el manejo del IAM.*

*El objetivo de este trabajo es analizar la variación en el tratamiento farmacológico del IAM en el lapso de 20 años de registro en el Hospital Clínico de la Universidad de Chile (HCUCh), como parte del Registro GEMI, y la comparación entre hombres y mujeres del tratamiento y evolución clínica. Se utilizó la base de datos del GEMI del HCUCh entre 1993 y 2012, que incluyó una población de 1.152 pacientes con diagnóstico de IAM. La muestra se dividió en 5 periodos y se compararon variables como edad, sexo, prevalencia de factores de riesgo, frecuencia de uso de medicamentos que mejoran la sobrevida. Además, se analizaron los procedimientos de reperfusión y mortalidad intrahospitalaria. La distribución total según sexo fue de 282 mujeres (24,5%) y de 870 hombres (75,5%). Los factores de riesgo no evidenciaron una tendencia clara de evolución. Existió un empleo elevado de aspirina durante todo el registro y un aumento sostenido de estatinas hacia el periodo final del registro, sin diferencias entre sexos. Aumentó la utilización de betabloqueadores, IECA, ARA II y clopidogrel. Disminuyó el uso de antagonistas de calcio. Existieron cambios en el uso de trombolíticos (de 30,3% a 6,8%) y angioplastia primaria (de 6,4% a 62,1%). A medida que pasa el tiempo, las diferencias en el tratamiento según género tiende a disminuir y se reduce la mortalidad intrahospitalaria.*

*Como conclusión, en el HCUCh, gracias al manejo estandarizado y el tratamiento farmacológico recomendado, se evidencia una disminución de las diferencias en los tratamientos según género, que se ha traducido en una disminución global de la mortalidad intrahospitalaria.*

***Palabras Claves:*** *Infarto del Miocardio, Epidemiología, Tratamiento, Guías de Práctica Clínica, Mortalidad Hospitalaria.*

***Publicado por la Sociedad de Farmacología de Chile***

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares son la primera causa de muerte en Chile, similar a lo que ocurre a nivel mundial (MINSAL, 2010).

Organizaciones tales como American College of Cardiology/American Heart Association y la European Society of Cardiology, han publicado guías de manejo del Infarto Agudo al Miocardio (IAM) (Anderson JL, 2007) (Van De Werf F, 2008). Asimismo, en nuestro país se han editado "Pautas para el manejo intrahospitalario del IAM" destinadas al diagnóstico y tratamiento del IAM, preparadas por la Sociedad Chilena de Cardiología y Cirugía Cardiovascular (SOCHICAR) (Guarda E, 2009). La primera versión de estas pautas fue publicada por la SOCHICAR el año 1998, la que se ha actualizado constantemente. En nuestro país se utiliza la Guía Clínica 2009, actualizada según avances científicos, estudios internacionales y aparición de nuevos medicamentos que aumentan la sobrevida.

**Correspondencia a:** Dr. Juan Carlos Prieto, Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Avenida Independencia 1027 Independencia, Santiago, Chile. Correo Electrónico: jprieto@med.uchile.cl

El Ministerio de Salud, generó sus propias guías, que detallan con rigor los tiempos en que se debe diagnosticar y tratar un IAM, dado que corresponde a una patología GES.
En los últimos años, se han identificado los medicamentos que según la evidencia científica aumentan la sobrevida en el IAM (Chen ZM, 2005) (ISIS-1, 1986) (ISIS-2, 1988) (ISIS-4, 1995) (Pedersen PR, 1994) (Sabatine MS, 2005). Estos son: aspirina, trombolíticos, clopidogrel, beta bloqueadores, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA), antagonistas del receptor de angiotensina II (ARA II), y estatinas. Otros fármacos no han demostrado aumentar la sobrevida, como es el caso de los antagonistas del calcio (Yusuf S, 1991).
El objetivo de este trabajo es describir los cambios en el tratamiento farmacológico en el IAM en un lapso de 20 años de registro (1993 – 2012) en el Hospital Clínico de la Universidad de Chile (HCUCh), como parte del Registro del Grupo de Estudios Multicéntricos del Infarto (GEMI), y la comparación de la evolución clínica y tratamiento entre hombres y mujeres.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizó la base de datos GEMI del HCUCh entre 1993 y 2012. La población estudiada fue de 1152 pacientes. Para realizar el análisis, el registro se dividió en 5 periodos (Periodo 1: 1993-1995; Periodo 2: 1997-1999; Periodo 3: 2000-2003; Periodo 4: 2005-2007; Periodo 5: 2008-2012), de manera de obtener periodos con cantidades similares de pacientes. Cabe destacar que en los años 1996 y 2004 no hubo actividad de registro en este hospital.
Los pacientes fueron incluidos si cumplían dos de los siguientes criterios: 1) síntomas compatibles con IAM por lo menos de 30 minutos de evolución, 2) cambios electrocardiográficos en dos derivadas continuas con elevación o depresión del segmento ST o cambios isquémicos en la repolarización ventricular y 3) elevación de marcadores séricos de necrosis miocárdica (troponina T o I, CK total, CK- MB).

**Variables analizadas:**
a) Antecedentes demográficos: distribución por edad y sexo.

b) Factores de riesgo coronario: hipertensión arterial, dislipidemia y diabetes. Se consideró tanto el dato aportado por el paciente como antecedentes de tratamiento con fármacos específicos para estas patologías. El tabaquismo se consideró como positivo en los pacientes que fumaban al momento del ingreso y también si el paciente era ex fumador.

c) Se analizaron los medicamentos empleados: aspirina, clopidogrel, beta bloqueadores, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA), antagonistas del receptor de angiotensina II (ARA II), estatinas y antagonistas del calcio.

d) Se analizaron los procedimientos de reperfusión: Angioplastía Primaria y Trombolisis en el contexto de un paciente con IAM con Supradesnivel del segmento ST (SDST).

e) Se analizó la mortalidad intrahospitalaria por periodo, global y según sexo.

**Estadística:**
Los análisis se efectuaron mediante el programa estadístico STATA versión 11.2. Las variables cuantitativas (edad) fueron descritas a través del promedio y su desviación estándar. Las variables categóricas (prevalencia de factores de riesgo, frecuencia de uso de los medicamentos, procedimientos de reperfusión y mortalidad intrahospitalaria) se expresaron en porcentaje y se analizaron por sexo y por periodo de registro mediante el test de chi cuadrado. Se consideró significativo un valor de $p < 0,05$.
El proyecto, una vez visado por el director del Departamento Cardiovascular, fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación del Hospital Clínico de la Universidad de Chile.

## RESULTADOS

Las características demográficas y factores de riesgo se muestran en la Tabla 1; la distribución total según sexo fue de 282 mujeres (24,5%) y de 870 hombres (75,5%). En el análisis por sexo, la edad promedio fue significativamente mayor en las mujeres con respecto a los hombres (65,5 ± 13,5 vs 59 ± 12,2; p<0,00001). Al analizar los factores de riesgo no se observó una tendencia clara de cambio a través de los periodos.

Con respecto al empleo de los medicamentos, los resultados se muestran en la Tabla 2. En relación a la aspirina, los datos muestran un empleo superior al 90% en todos los periodos, sin diferencias significativas entre hombres y mujeres, mientras que los betabloqueadores presentaron diferencias significativas en el periodo 1 (67,5% hombres vs 39,2% mujeres, p<0,0001) y en el periodo 3 (83,9% hombres vs 67,2% mujeres, p<0,006), con una propensión global al aumento en la frecuencia de uso.

El uso de inhibidores de la ECA aumentó, encontrándose diferencias significativas entre sexos en el periodo 4 (46,4% hombres vs 32,4% mujeres, p<0,04). El uso de ARA II comenzó en el periodo 4, existiendo diferencias significativas entre sexos (0% hombres vs 2,82% mujeres, p<0,018), en el periodo 5 aumentó su uso y no existieron diferencias significativas entre sexos.

**Tabla 1.**

| Período | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Años** | **1993 – 1995** | **1997 – 1999** | **2000 – 2003** | **2005 – 2007** | **2008 - 2012** | p valor |
| n | 214 | 211 | 238 | 267 | 222 | |
| Edad (años) | 62,4 ± 11,9 | 61,3 ± 12,4 | 59,6 ± 13,4 | 59,7 ± 13,2 | 60,4 ± 12,8 | ns |
| Hombres (%) | 76,6 | 75,0 | 75,4 | 73,2 | 77,6 | |
| **Factores de riesgo (%)** | | | | | | |
| Tabaquismo | 33 | 60,2 | 39,8 | 33 | 56 | <0,05 |
| Dislipidemia | 14,9 | 51,2 | 31,8 | 45,8 | 48,8 | <0,05 |
| Diabetes | 29,3 | 29,5 | 17,4 | 23,3 | 30,9 | <0,05 |
| HTA | 43,3 | 54,3 | 53,2 | 55,9 | 67,2 | <0,05 |

**Características demográficas y factores de riesgo de pacientes con IAM. Comparación entre períodos.**

El clopidogrel comenzó a registrarse desde el periodo 2, y es utilizado con menor frecuencia en mujeres en el periodo 2 (28,3% hombres vs 9,6% mujeres, p<0,006), periodo 3 (67,8% hombres vs 39,7% mujeres, p<0,0001) y periodo 4 (62,8% hombres vs 49,3% mujeres, p<0,048). En el último periodo no existieron diferencias significativas entre sexos. En relación a las estatinas, son registradas desde el periodo 3, con un incremento paulatino en su uso, llegando a un 97,8% en el periodo 5. No se observaron diferencias significativas entre géneros. En cuanto a los antagonistas del calcio, se observó una marcada tendencia a la disminución de su administración, encontrándose diferencias significativas en su uso entre géneros sólo en el periodo 3 (6,1% en hombres vs 17,2% en mujeres, p<0,009).

En relación a los procedimientos de reperfusión, los resultados se muestran en la Figura 1 donde se observa que el empleo de trombolíticos disminuyó progresivamente, y a partir del año 2000 aumenta la angioplastia coronaria percutánea transluminal como procedimiento preferente de reperfusión. Por último, el análisis de la mortalidad intrahospitalaria (Figura 2) mostró una tendencia a la disminución a lo largo de los periodos. Entre hombres y mujeres se aprecian diferencias significativas en el periodo 1 (9,2% hombres vs 27,4% mujeres; p< 0.001) y en el periodo 3 (2,8% hombres vs 12,1% mujeres; p< 0.005).

## DISCUSIÓN

El IAM, como primera causa de muerte en Chile, ha merecido especial atención en su manejo, como se refleja en su inclusión precoz como patología GES. Los datos muestran que la edad promedio de presentación del IAM no se modificó durante los 20 años de registro. En relación a los factores de riesgo, las diferencias encontradas podrían explicarse por cambios en la definición del factor de riesgo en el registro GEMI a través de los años. La definición de tabaquismo pasó desde más de 10 cigarrillos al día, a estar fumando 1 cigarro al momento del ingreso o ser ex fumador. Lo mismo ocurrió con la definición de dislipidemia, incluyéndose en los últimos periodos la presencia de HDL bajo dentro de esta categoría. Además, es posible que en los últimos años haya aumentado el número de pacientes que tienen conocimiento de la presencia de estos factores de riesgo.

El principal hallazgo de esta investigación radica en el aumento del uso de los fármacos que aumentan la sobrevida en el IAM y la reducción significativa de los antagonistas del calcio, que son los únicos, entre los medicamentos analizados, que no han mostrado beneficio (Yusuf S, 1991). Tanto hombres como mujeres, recibieron aspirina como parte del tratamiento intrahospitalario en el IAM, durante todos los periodos registrados. Esto concuerda con lo que ocurre a nivel nacional con el registro GEMI, donde se señala que la amplia utilización de este antiagregante plaquetario en nuestro país, es reflejo de una adecuada utilización de un medicamento de eficacia probada en la disminución de la mortalidad en el IAM. Su empleo era en los años 90, uno de los más altos a nivel mundial (Prieto JC, 2001).

La prescripción de betabloqueadores se incrementó progresivamente, existiendo diferencias en su utilización entre hombres y mujeres en los primeros periodos de registro, no encontrando diferencias significativas hacia los dos últimos periodos. Este hallazgo tiene importancia dado el beneficio en el aumento de la sobrevida que produce este fármaco al disminuir el consumo de oxígeno del miocardio y la incidencia de arritmias (ISIS-1, 1986).

**Tabla 2.**

| Fármaco | | Periodos | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| | Años | 1993 – 1995 | 1997 – 1999 | 2000 – 2003 | 2005 – 2007 | 2008 - 2012 |
| Aspirina | TOTAL | 93,9 | 95,7 | 98,3 | 97 | 98,7 |
| | Hombres | 95,7 | 95 | 97,8 | 98 | 98,3 |
| | Mujeres | 88,2 | 98,1 | 100 | 94,4 | 100 |
| Clopidogrel | TOTAL | - | 23,7 | 60,9 | 59,2 | 78,8 |
| | Hombres | - | 28,3* | 67,8* | 62,8* | 79,7 |
| | Mujeres | - | 9,6 | 39,7 | 49,3 | 76,0 |
| Betabloqueadores | TOTAL | 60,8 | 72 | 79,8 | 74,2 | 83,3 |
| | Hombres | 67,5* | 73 | 83,9* | 74 | 81,4 |
| | Mujeres | 39,2 | 69,2 | 67,2 | 74,7 | 90 |
| IECA | TOTAL | 28 | 53,1 | 68,9 | 42,7 | 66,2 |
| | Hombres | 30,7 | 52,8 | 69,4 | 46,4* | 68,6 |
| | Mujeres | 19,6 | 53,8 | 67,2 | 32,4 | 58 |
| ARA II | TOTAL | - | - | - | 0,8 | 13,1 |
| | Hombres | - | - | - | 0 | 12,8 |
| | Mujeres | - | - | - | 2,8* | 14 |
| Estatinas | TOTAL | - | - | 64,7 | 58,4 | 97,8 |
| | Hombres | - | - | 66,7 | 57,7 | 97,7 |
| | Mujeres | - | - | 58,3 | 60,6 | 98 |
| Antagonistas del Calcio | TOTAL | 30,4 | 26,5 | 8,8 | 1,9 | 9,5 |
| | Hombres | 32,5 | 28,3 | 6,1* | 1,5 | 9,3 |
| | Mujeres | 23,5 | 21,2 | 17,2 | 2,8 | 10 |

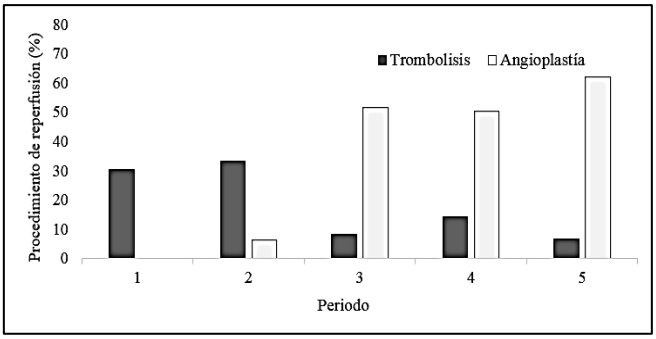
**Prevalencia de uso intrahospitalario de medicamentos en el IAM, según sexo y periodo.**
*Diferencia significativa entre hombres y mujeres p<0,05. IECA: Inhibidor Enzima Convertidora de Angiotensina. ARA II: Antagonista del receptor de Angiotensina II.

Los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina reducen la morbimortalidad postinfarto, especialmente de aquellos pacientes con disfunción ventricular izquierda (MINSAL, 2010). Los resultados muestran un aumento progresivo de su uso.

Una revisión sistemática de los estudios que han utilizado IECA de forma precoz en pacientes con IAM con supradesnivel del ST, ha indicado que este tratamiento es seguro, bien tolerado y se asocia a una reducción pequeña pero significativa de la mortalidad a 30 días, produciéndose la mayor parte del beneficio en la primera semana (ISIS-4, 1995). Las opiniones siguen siendo divergentes sobre si hay que administrar IECA a todos los pacientes o sólo a los de alto riesgo.

Los pacientes que no toleran el tratamiento con IECA utilizan un ARA II (Dickstein K, 2002) (MINSAL, 2010), los cuales aparecen registrados desde el cuarto periodo, con un aumento creciente hacia el quinto periodo, sin diferencias significativas entre hombres y mujeres. El uso de un IECA o un ARA II alcanza al 74,8% en los pacientes en el periodo 5, lo que refleja un aumento sostenido a través de los años.

**Figura 1.**




**Procedimientos de reperfusión en pacientes con IAM con elevación del segmento ST según periodo.**

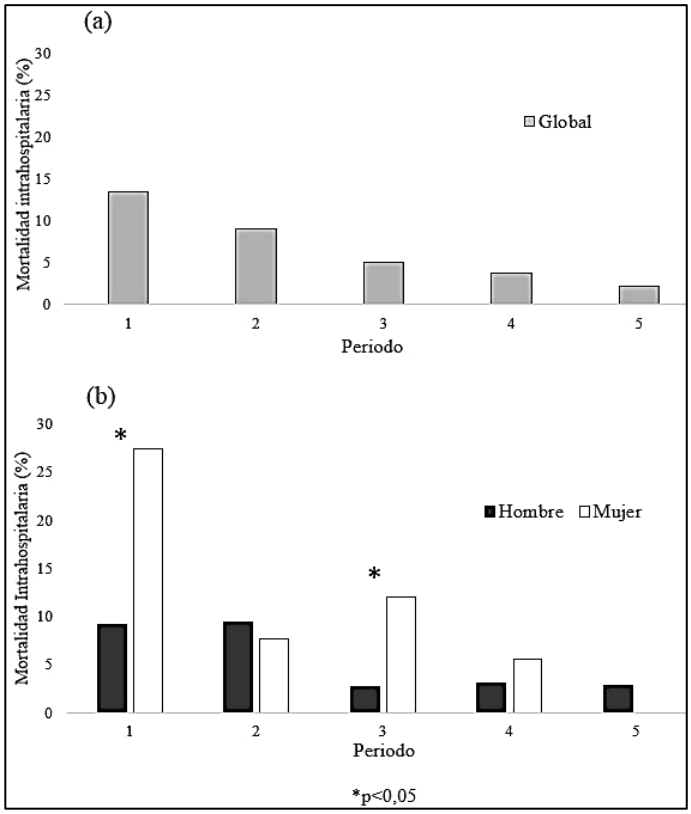
El clopidogrel ha demostrado eficacia en la disminución de la mortalidad junto a la aspirina (Chen ZM, 2005) (Sabatine MS, 2005). La asociación entre aspirina y clopidogrel se recomienda en pacientes con IAM con SDST, ya que reduce el riesgo de trombosis intra-stent, reinfarto y mortalidad en pacientes sometidos a angioplastia (Mehta SR, 2001) y la doble anti agregación plaquetaria se asocia a mayores beneficios clínicos post-IAM de cualquier tipo (James SK, 2011) (Wallentin L, 2009) (Wiviott SD, 2007). El empleo de clopidogrel, se registró desde el periodo 2, pero presentó diferencias significativas entre ambos sexos hasta el cuarto periodo, alcanzando en el periodo 5 una frecuencia de uso similar entre mujeres y hombres. Esto puede deberse a que no existe una recomendación de uso de este medicamento hasta el 2009, donde se incluye clopidogrel como parte del tratamiento intrahospitalario en las guías clínicas del MINSAL y de la SOCHICAR (Guarda E, 2009).

Las estatinas tienen como objetivo principal reducir el colesterol LDL, que junto a sus efectos pleiotrópicos son fundamentales en la prevención secundaria del IAM. Su administración comienza habitualmente en la fase intrahospitalaria (Pedersen TR, 1994), de forma precoz e intensiva, administrándose a altas dosis a todos los pacientes (Cannon CP, 2004) (Schwartz GG, 2001). Desde el año 2000 se registró su empleo en el HCUCh, en concomitancia con la recomendación en las Guías Clínicas de la SOCHICAR y MINSAL (MINSAL, 2005). Las estatinas y la aspirina fueron empleados con la misma frecuencia en hombres y mujeres para cada uno de los periodos analizados.

Con respecto a los antagonistas del calcio, no han demostrado ser de beneficio en pacientes con IAM y son de riesgo en pacientes con falla ventricular izquierda. Además, se puede argumentar que el uso de estos medicamentos se limita a casos en que coexiste hipertensión arterial (MINSAL, 2010) o alguna evidencia de espasmo coronario (Alpert JS, 1994) (Kardasz I, 2007). En el presente registro, en el periodo 1 se utilizó en el 30,2% de los pacientes, hasta llegar al 1,9% en el cuarto periodo. En el periodo 2008-2012 se observa un leve aumento de su utilización, que podría explicarse por el aumento de las angioplastias efectuadas por vía radial, donde de rutina se emplea verapamilo en dosis única, para prevención de espasmo de esta arteria durante el procedimiento.

En el caso de los trombolíticos, existió una tendencia marcada a la disminución de su uso en el HCUCh desde el tercer periodo (2000-2003), la que se explica por la implementación tecnológica y profesional de este centro, lo que permite realizar angioplastia primaria como método preferente de reperfusión desde el año 2000. Esto concuerda con la recomendación de la Guía 1998 de la SOCHICAR, donde se menciona que la angioplastía coronaria percutánea, es el método de elección en centros que cuenten con capacidad de cardiología intervencional de urgencia. De este modo, la angioplastía primaria se efectuó en el 62,1% de los pacientes con IAM y SD del ST en el último periodo de registro, dejando para casos excepcionales el uso de trombolíticos. La decisión de extender el empleo de la angioplastia, se fundamenta en la menor mortalidad reportada en la literatura en estos pacientes, comparado con los sometidos a trombolisis (Guarda E, 2009).

**Figura 2.**




**Mortalidad intrahospitalaria por periodo (a: global ; b: según sexo).**

Como mencionamos anteriormente, la prevalencia de factores de riesgo no presentó una tendencia clara de cambios a través de los años y la edad promedio fue similar en todos los periodos en estudio. Por lo tanto, es posible suponer que el cambio en el tratamiento farmacológico a través de los años de registro junto al mayor empleo de angioplastia primaria, sean los principales determinantes de la disminución de la mortalidad intrahospitalaria.

Dentro de las limitaciones para la realización de este trabajo podemos señalar que la información GEMI recolectada en el HCUCh no fue intensiva durante todos los periodos. Además, al obtener los datos a través de una encuesta, puede presentar sesgos de información.

**CONCLUSIÓN**

Podemos aceptar que el registro GEMI del HCUCh muestra a través del tiempo, una disminución de las diferencias entre hombres y mujeres en la aplicación de terapias farmacológicas que aumentan la sobrevida. Esto puede relacionarse a la aplicación de pautas de manejo intrahospitalario que existen en Chile, lo que favorece un tratamiento estandarizado del IAM.
Si existen Guías Clínicas para el manejo del IAM, un plan AUGE que estandariza el tratamiento farmacológico y los procedimientos, sumado a la mantención de las características demográficas de los pacientes, podríamos suponer que a nivel país, debería esperarse una mortalidad intrahospitalaria cada vez menor. Lo anterior puede ser difícil de lograr en el mediano plazo, ya que no sólo se requiere de un buen tratamiento farmacológico, sino también de las tecnologías y recursos necesarios para realizar esta labor en cada centro que reciba un IAM en el país.

**BIBLIOGRAFÍA:**


Alpert JS. (1994) Myocardial infarction with angiographycally normal coronary arteries. Arch Intern Med; 154: 265-9

Anderson JL et al. (2007) ACC/AHA 2007Guidelines for the Management of Patients With Unstable Angina/Non–ST-Elevation Myocardial Infarction. Circulation. 116:803-877

Cannon CP, Braunwald E, McCabe CH, Rader DJ, Rouleau JL, Belder R, Joyal SV, Hill KA, Pfeffer MA, Skene AM. (2004) Intensive versus moderate lipid lowering with statins after acute coronary syndromes. N Engl J Med;350:1495-504.

Chen ZM, Jiang LX, Chen YP, Xie JX, Pan HC, Peto R, Collins R, Liu LS.(2005) COMMIT (Clopidogrel and Metoprolol in Myocardial Infarction Trial) collaborative group. Addition of clopidogrel to aspirin in 45,852 patients with acute myocardial infarction: randomised placebo-controlled trial. Lancet. Nov 5;366(9497):1607-21.

Dickstein K, Kjekshus J. (2002) Effects of losartan captopril on mortality morbidity in high-risk patients after acute myocardial infarction: the OPTIMAAL randomized trial. Optimal Trial in Myocardial Infarction with Angiotensin II Antagonist Losartan. Lancet.;360:752-60.

Guarda E., Prieto J. C., Sanhueza P., Dauvergne C., Asenjo R., Corbalán R. (2009) Guías 2009 de la Sociedad Chilena de Cardiología para el tratamiento del Infarto Agudo del Miocardio con supradesnivel del ST. Rev Chil Cardiol; 28: 223-254.

ISIS-1: Randomised trial of intravenous atenolol among 16 027 cases of suspected acute myocardial infarction. First International Study of Infarct Survival Collaborative Group. (1986) Lancet. Jul 12;2(8498):57-66.

ISIS-2: Randomised trial of intravenous streptokinase, oral aspirin, both, or neither among 17,187 cases of suspected acute myocardial infarction. ISIS-2 (Second International Study of Infarct Survival) Collaborative Group (1988). Lancet. Aug 13;2(8607):349-60.

ISIS-4: a randomised factorial trial assessing early oral captopril, oral mononitrate, and intravenous magnesium sulphate in 58,050 patients with suspected acute myocardial infarction. ISIS-4 (Fourth International Study of Infarct Survival) Collaborative Group. (1995) Lancet. Mar 18;345(8951):669-85.

James SK, Roe MT, Cannon CP, Cornel JH, Horrow J, Husted S, Katus H, Morais J, Steg PG, Storey RF, Stevens S, Wallentin L, Harrington RA. (2011) Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes intended for noninvasive management: substudy from prospective randomised PLATelet inhibition and patient Outcomes (PLATO) trial. Br Med J.;342:d3527.

Kardasz I., De Caterina R. (2007) Myocardial infarction with normal coronary arteries: a conundrum with multiple aetiologies and variable prognosis: an update. Journal of Internal Medicine, 261; 330–348.

Mehta SR, Yusuf S, Peters RJ, Bertrand ME, Lewis BS, Natarajan MK, Malmberg K, Rupprecht H, Zhao F, Chrolavicius S, Copland I, Fox KA. (2001) Effects of pretreatment with clopidogrel and aspirin followed by long-term therapy in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the PCI-CURE study. Lancet.;358:527-33.

Ministerio de Salud de Chile (2010), Guía Clínica 2010 Infarto Agudo del Miocardio con Supradesnivel del Segmento ST, Disponible en: http://www.redsalud.gov.cl/portal/url/item/72213ed52c3323d1e0400 1011f011398.pdf

Ministerio de Salud de Chile (2005) Guía Clínica Infarto Agudo del Miocardio y Manejo del Dolor Torácico en Unidades de Emergencia. 1st Ed.

Pedersen TR, Kjekshus J, Berg K, Haghfelt T, Faergeman O, Faergeman G, Pyörälä K, Miettinen T, Wilhelmsen L, Olsson AG, Wedel H; Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. (1994) Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). Lancet. Nov 19;344(8934):1383-9.

Prieto J.C., Corbalán R., Nazzal C., Chávez E., Lanas F., Bartolucci J., Cumsille F y Grupo de Estudio Multicéntrico del Infarto (GEMI). (2001) Cambios en los patrones de prescripción de medicamentos en el infarto agudo del miocardio: Comparación de dos períodos. Rev. méd. Chile v.129 n.5

Sabatine MS, Cannon CP, Gibson CM, López-Sendón JL, Montalescot G, Theroux P, Claeys MJ, Cools F, Hill KA, Skene AM, McCabe CH, Braunwald E; (2005) CLARITY-TIMI 28 Investigators. Addition of clopidogrel to aspirin and fibrinolytic therapy for myocardial infarction with ST-segment elevation. N Engl J Med. Mar 24;352(12):1179-89. Epub 2005 Mar 9.

Schwartz GG, Olsson AG, Ezekowitz MD, Ganz P, Oliver MF, Waters D, Zeiher A, Chaitman BR. (2001) Atorvastatin for acute coronary syndromes. JAMA 286: 533-5.

Van de Werf F, Bax J, Betriu A, Blomstrom-Lundqvist C, Crea F, Falk V, Filippatos G, Fox K, Huber K, Kastrati A, Rosengren A, Steg PG, Tubaro M, Verheugt F,Weidinger F, Weis M; (2008) ESC Committee for Practice Guidelines (CPG). Management of acute myocardial infarction in patients presenting with persistent ST-segment elevation. The Task Force on the management of ST-segment elevation acute myocardial infarction of the European Society of Cardiology. European Heart Journal 29, 2909–2945.

Wallentin L, Becker RC, Budaj A, Cannon CP, Emanuelsson H, Held C, Horrow J, Husted S, James S, Katus H, Mahaffey KW, Scirica BM, Skene A, Steg

PG, Storey RF, Harrington RA, Freij A, Thorsen M. (2009) Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. N Engl J Med.;361:1045-57.

Wiviott SD, Braunwald E, McCabe CH, Montalescot G, Ruzyllo W, Gottlieb S, Neumann FJ, Ardissino D, De Servi S, Murphy SA, Riesmeyer J, Weerakkody G, Gibson CM, Antman EM. (2007) Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. N Engl J Med.;357:2001-15.

Yusuf S, Held P, Furberg C. (1991) Update of effects of calcium antagonists in myocardial infarction or angina in light of the second Danish Verapamil Infarction Trial (DAVIT-II) and other recent studies. Am J Cardiol; 67: 1295-1297.

# *INTRUCCIONES PARA LOS AUTORES*

**i) Tipos de Manuscritos:**

(a) Investigaciones Originales (*Full papers*): Trabajos que reportan investigaciones originales realizadas con procedimientos experimentales adecuados y según las guías nacionales e internacionales para el uso de sujetos de experimentación serán revisados para eventual publicación en la revista (ver preparación del manuscrito).

(b) Comunicaciones Cortas (*Short Communications*): Reportes científicos originales cuyo tamaño debe ser de 1000 a 4000 palabras como máximo de extensión, incluyendo la leyenda de la figura (no se incluyen las referencias). Estos trabajos solo pueden incluir 1 figura y 1 tabla de resultados. En situaciones especiales se consideraran 2 figuras o 2 tablas. No deben ser usadas más de 15 referencias en el manuscrito

(c) Revisiones (*Reviews*): Revisiones sobre temas relevantes de la Farmacología serán solicitados por el Editor en jefe o el comité editorial, a través de invitación escrita. Estas revisiones no requerirán una exhaustiva revisión editorial y serán publicadas en volúmenes temáticos de la Revista de Farmacología de Chile.

(d) Columnas de Opinión u otras Publicaciones: Columnas de opinión sobre temas de contingencia nacional que involucren políticas públicas de medicamentos, correcto uso de medicamentos por parte de la población o la aparición y/o retirada de medicamentos en el mercado nacional, serán solicitadas por el Editor en jefe o el comité editorial, a través de invitación escrita.

**ii) Detalles para el envío de Manuscritos:**

El envío de manuscritos a la Revista de Farmacología de Chile para revisión (*Full papers*, *Short Communications o Reviews*) o solicitudes de columnas de opinión deben ser enviados a los siguientes correos electrónicos (ramon.sotomayor@uv.cl cc: pablo.jara@uv.cl ). Se solicita colocar en el asunto del correo electrónico la siguiente frase: Manuscrito para Rev.Farmacol.Chile

**iii) Preparación del Manuscrito:**

* Se recomienda el uso del programa para procesar texto Word de Microsoft Office. Cuando guarde el manuscrito que ha elaborado se solicita que la opción de guardado sea: Guardar como: "Documento de Word 97-2003".
* El manuscrito debe ser escrito en formato "Times New Roman" tamaño 12, doble espacio y a una columna. Las páginas del manuscrito deben ser enumeradas en el borde inferior derecho con números arábigos.
* Cualquier figura inserta en el manuscrito debe ser en formato TIFF, JPEG o BMP de alta resolución (600 dpi) y en caso de usar tablas se debe usar la opción insertar tablas de Word. No se recomiendan tablas hechas con la opción de insertar líneas.
* Fotografías y gráficos a color son aceptadas para la versión digital, sin embargo en la versión impresa de la revista se utilizará la impresión en escala de grises. Además se recomienda verificar la calidad de la figura reduciéndola al tamaño de 1 columna de ancho, es decir 8 cm.
* La Revista de Farmacología de Chile acepta trabajos en español, sin embargo previa autorización del comité editorial se podrán revisar trabajos en inglés o portugués.

**iv) Estructura del Artículo:**

**iv.1) Investigaciones Originales y Comunicaciones Cortas:**

Cada una de las secciones del manuscrito debe ser enumerada con números arábigos y cada subdivisión con la nomenclatura (X.1). No se considera en la enumeración el resumen (abstract).

***Primera página:***

- Titulo: El título del trabajo debe ser conciso e informativo. No se recomiendan abreviaciones de palabras en el titulo. Se debe incluir el título del trabajo en inglés.
- Nombre de los autores y Filiación: Se solicita indicar el nombre de cada autor y su apellido. Se acepta incluir la inicial del segundo nombre, aunque no es obligatorio. Al término de cada apellido se solicita colocar un número arábigo en superíndice que relacionará al autor con su respectiva filiación.
- Autor Correspondiente: Se debe indicar claramente al autor correspondiente del trabajo, incluyendo: Nombre, Dirección Postal, Teléfono, Fax y Correo Electrónico.

***Segunda página:***

- Resumen (Abstract): La extensión máxima del resumen es de 300 palabras y debe describir claramente el propósito de la investigación, los principales resultados y principal conclusión del trabajo. El resumen debe ser escrito en español e inglés.
- Palabras Claves: Se deben incluir palabras claves que permitan identificar los aspectos más importantes del trabajo. No incluir más de 10 palabras claves.

***Tercera y más páginas:***

- Introducción: La introducción al tema a discutir en el trabajo no debe tener una extensión superior a las 750 palabras.
- Materiales y Métodos: Se debe detallar claramente todos los materiales y metodologías utilizadas en el desarrollo del trabajo. Además se debe explicitar en consentimiento bioético de la institución donde fue realizada la investigación. Los trabajos realizados en humanos deben incluir el apego experimental a la Declaración de Helsinki de la Asociación Medica Mundial, considerando consentimiendo informado y aprobación de comité de ética.
- Resultados: Se debe incluir en detalle los principales resultados obtenidos, con sus respectivos análisis estadísticos. No se aceptarán trabajos para publicar que no tengan un adecuado tratamiento estadístico. La expresión gráfica de resultados puede ser realizada a través

de gráficos de 1 columna de ancho (8 cm) o agrupaciones de gráficos con un ancho máximo de dos columnas (16 cm). También se pueden incluir tablas que detallen resultados relevantes para el trabajo, incluyendo número de casos y valor de la significancia *p.*

- Discusión de los Resultados: La discusión de resultados debe ser objetiva y se debe evitar una excesiva discusión bibliográfica que reste valor a los resultados presentados en el manuscrito. Es recomendado una conclusión final que indique las proyecciones de la investigación.
- Agradecimientos: Se pueden incluir las fuentes de financiamiento que permitieron el desarrollo del trabajo, indicando claramente a que autor corresponde la fuente de financiamiento. También se pueden incluir agradecimientos a personas que prestaron ayuda técnica o de revisión del manuscrito. En esta sección se debe declarar si existió conflicto de interés. En caso de no haber conflicto de interés se debe mencionar esta situación. Se recomienda consultar la siguiente dirección URL http://zl.elsevier.es/es/revista/neurologia-295/conflicto-intereses-publicaciones-cientificas-90101004-editorial-2012 para aclarar en concepto y situaciones de conflicto de interés.
- Referencias: En el texto se deben citar las referencias con el apellido del primer autor, sus iniciales y el año de la publicación. En la sección de referencias se deben ordenar las mismas por orden alfabético. Se recomienda utilizar algún programa de manejo de referencias como EndNote con el formato de referencias de Journal of Neurochemistry.

  **Ejemplos:**

  Semenova M. M., Maki-Hokkonen A. M., Cao J., Komarovski V., Forsberg K. M., Koistinaho M., Coffey E. T. and Courtney M. J. (2007) Rho mediates calcium-dependent activation of p38alpha and subsequent excitotoxic cell death. Nat. Neurosci. 10, 436-443.

  La abreviación de los títulos de las revistas debe de acuerdo a el listado de revistas indexadas en *Index Medicus* (Superintendent of Documents, US Government Printing Office, Washington, DC 20402, USA, DHEW Publication No. 95-267). Ejemplo: Acta Neurol. Scand. Acta Physiol. Scand. Anal. Biochem. Arch. Biochem. Biophys. Biochem. J. Biochem. Pharmacol. Biochim. Biophys. Acta Biol. Chem. Hoppe Seyler Br. J. Pharmacol. Eur. J. Pharmacol. Experientia J. Biol. Chem. J. Cell Biol. J. Mol. Biol. J. Pharmacol. Exp. Ther. J. Physiol. (Lond.) Mol. Pharmacol. Nature Proc. Natl Acad. Sci. USA Proc. Soc. Exp. Biol. Med. Science

iv.2) Revisiones:

Las revisiones de unidades temáticas serán solicitadas por el editor en jefe o por el co-editor, sin embargo para aquellas unidades temáticas específicas oficiara como co-editor algún miembro del comité editorial que sea especialista en el tema

*Primera página:*

- Titulo: El título del trabajo debe ser conciso e informativo. No se recomiendan abreviaciones de palabras en el titulo. Se debe incluir el título del trabajo en inglés.
- Nombre de los autores y Filiación: Se solicita indicar el nombre de cada autor y su apellido. Se acepta incluir la inicial del segundo nombre, aunque no es obligatorio. Al término de cada apellido se solicita colocar un número arábigo en superíndice que relacionará al autor con su respectiva filiación.
- Autor Correspondiente: Se debe indicar claramente al autor correspondiente del trabajo, incluyendo: Nombre, Dirección Postal, Teléfono, Fax y Correo Electrónico.

*Segunda página:*

- Resumen (Abstract): La extensión máxima del resumen es de 300 palabras y debe describir claramente el propósito de la investigación, los principales resultados y principal conclusión del trabajo.
- Palabras Claves: Se deben incluir palabras claves que permitan identificar los aspectos más importantes del trabajo. No incluir más de 10 palabras claves.

*Tercera y más páginas:*

- Introducción: La introducción al tema a discutir en el trabajo no debe tener una extensión superior a las 750 palabras.
- Temas a Desarrollar: Por cada tema que se pretenda desarrollar se debe entregar una visión objetiva que destaque los avances más importantes en la investigación científica. Se pueden desarrollar subtemas, destacando claramente a que unidad temática corresponde. Se recomienda si se revisa algún procedimiento experimental mencionar las ventajas y desventajas de su aplicación. Es recomendado una conclusión final que integre la información entregada en la revisión.
- Agradecimientos: Se pueden incluir las fuentes de financiamiento que permitieron el desarrollo del trabajo, indicando claramente a que autor corresponde la fuente de financiamiento. También se pueden incluir agradecimientos a personas que prestaron ayuda técnica o de revisión del manuscrito. En esta sección se debe declarar si existió conflicto de interés. En caso de no haber conflicto de interés se debe mencionar esta situación. Se recomienda consultar la siguiente dirección URL http://zl.elsevier.es/es/revista/neurologia-295/conflicto-intereses-publicaciones-cientificas-90101004-editorial-2012 para aclarar en concepto y situaciones de conflicto de interés.
- Referencias: En el texto se deben citar las referencias con el apellido del primer autor, sus iniciales y el año de la publicación. En la sección de referencias se deben ordenar las mismas por orden alfabético. Se recomienda utilizar algún programa de manejo de referencias como EndNote con el formato de referencias de Journal of Neurochemistry.

  Ejemplos:

  Semenova M. M., Maki-Hokkonen A. M., Cao J., Komarovski V., Forsberg K. M., Koistinaho M., Coffey E. T. and Courtney M. J. (2007) Rho mediates calcium-dependent activation of p38alpha and subsequent excitotoxic cell death. Nat. Neurosci. 10, 436-443.

  La abreviación de los títulos de las revistas debe de acuerdo a el listado de revistas indexadas en *Index Medicus* (Superintendent of Documents, US Government Printing Office, Washington, DC 20402, USA, DHEW Publication No. 95-267). Ejemplo: Acta Neurol. Scand. Acta Physiol. Scand. Anal. Biochem. Arch. Biochem. Biophys. Biochem. J. Biochem. Pharmacol. Biochim. Biophys. Acta Biol. Chem. Hoppe

Seyler Br. J. Pharmacol. Eur. J. Pharmacol. Experientia J. Biol. Chem. J. Cell Biol. J. Mol. Biol. J. Pharmacol. Exp. Ther. J. Physiol. (Lond.) Mol. Pharmacol. Nature Proc. Natl Acad. Sci. USA Proc. Soc. Exp. Biol. Med. Science

***Leyendas para las Figuras***

Los títulos y leyendas de las Figuras deben presentarse en forma clara y corta. Se debe identificar y explicar todo símbolo, como flecha, número o letra que haya empleado para señalar alguna parte de las ilustraciones. En la reproducción de preparaciones microscópicas, explicite la ampliación y los métodos de tinción empleados.

***Unidades de Medida y Nomenclaturas.***

Use unidades correspondientes al sistema métrico decimal. Las abreviaturas deben ser definidas la primera vez que aparecen en el texto. El listado de abreviaturas debe ser de acuerdo a la siguiente publicación Biochem. J. (1978) 169, 1-27. Al finalizar este instructivo se mencionan las abreviaturas que no deberían ser definidas (el listado esta en idioma inglés).

La nomenclatura que se refiere a drogas y sustancias químicas no terapéuticas deben nombrarse de acuerdo a la nomenclatura IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry). Mientras que para fármacos solo se acepta el nombre genérico INN (DCI). Respecto a los nombres de fantasía solo pueden ser nombrados entre paréntesis con el signo ® siempre que esté registrada la patente y que no exista un conflicto de interés evidente con el laboratorio fabricante del fármaco.

***Publicación de Artículos:***

- Los artículos originales de investigación o de revisión serán evaluados por un comité especializado. Sin embargo para aquellos trabajos de revisión agrupados por unidades temáticas específicas, el editor en jefe de la revista y el co-editor del número, antes de aceptar los manuscritos revisarán que se cumplan a cabalidad las instrucciones antes detalladas.
- Los artículos originales de investigación que no se agrupen en unidades temáticas específicas y que sean aceptados para publicación, serán publicados en el volumen y número del congreso anual de la Sociedad de Farmacología de Chile. La fecha aproximada de publicación será comunicada a los autores con suficiente antelación.
- Respecto a la revisión de artículos originales los revisores enviarán al Editor en Jefe, los cambios propuestos, sus opiniones, sus proposiciones, rechazos, etcétera, las cuales serán comunicadas a los autores con absoluta confidencia.
- Las publicaciones de artículos originales tendrán un costo de UF 0,3 por página que servirán para la manutención de la Revista.

***Abreviaciones Permitidas:***

ADP, CDP, GDP, IDP, UDP, 5(pyro)-diphosphates of adenosine, cytidine, guanosine, inosine, and uridine AMP, etc.-5-phosphates of adenosine, etc. ANOVA, analysis of variance ATP, etc.-5`(pyro)-triphosphates of adenosine, etc. ATPase, adenosine triphosphatase bp, base pair Ci, curie CoA and acyl-CoA-coenzyme A and its acyl derivatives (e.g., acetyl-CoA) cpm, counts per minute CNS, central nervous systemCSF, cerebrospinal fluid Cyclic AMP, 3,5-cyclic adenosine monophosphate Cyclic GMP-3,5-cyclic guanosine monophosphate DNA, deoxyribonucleic acid DNase, deoxyribonuclease DOPA, 3,4-dihydroxyphenylalanine dpm, dps-disintegrations per minute, disintegrations per second EDTA, ethylene-diaminetetraacetate EEG, electroencephalogramEGTA, ethyleneglycol bis(aminoethylether)tetraacetate ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay FAD, FADH2, flavin-adenine dinucleotide and its reduced form FMN, flavin mononucleotide g, average gravity GABA, gamma-aminobutyric acid (not Gaba) GLC, gas-liquid chromatography GSSG, GSH, glutathione, oxidized and reduced forms h, hour HEPES, N-2-hydroxyethylpiperazine-N-2-ethanesulfonic acid HPLC, high performance liquid chromatography Ig, immunoglobulin IR, infrared kb, kilobase kDa, kilodalton ìm, micron min, minute MPP+, 1-methyl-4-phenylpyridinium MPTP, 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine NAD+, NADH-oxidized and reduced forms of nicotin-amide-adenine dinucleotide NADP+, NADPH-oxidized and reduced forms of nicotin-amide-adenine dinucleotide phosphate NAD, NADP may be used when the oxidation state need not be indicated NMDA, N-methyl-D-aspartate NMN, nicotinamide mononucleotide NMR, nuclear magnetic resonance PCR, polymerase chain reaction Pi, orthophosphate (inorganic) PNS, peripheral nervous system PPi, pyrophosphate (inorganic) rpm, revolutions per minute RNA, ribonucleic acid RNase, ribonuclease RT, reverse transcription s, second SEM, standard error of mean SD, standard deviation TLC, thin-layer chromatography Tris, 2-amino-2-hydroxymethylpropane-1,3-diol UV, ultraviolet