



# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

---

Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias  
División de Ciencias Biológicas  
Departamento de Ciencias Ambientales  
**Instituto de Neurociencias**

EFFECTO DE LOS ESTRÓGENOS SOBRE LOS  
PATRONES DE CONSUMO DE ALCOHOL EN  
LA RATA MACHO

## TESIS

que para obtener el grado de  
**MAESTRO EN CIENCIA DEL COMPORTAMIENTO**  
(opción Neurociencias)

presenta

**Maricela Virgen Enciso**

Comité Tutorial y Sinodales

**Dr. Jorge Juárez González (Director)**  
Dra. Marisela Hernández González  
Dra. Julieta Ramos Loyo  
Mtro. Daniel Zarabozo Enriquez de Rivera  
Dr. Emilio Gumá Díaz

Guadalajara, Jalisco

Agosto de 2002

En este proceso de crecimiento quiero agradecer a las personas que me acompañaron a través de esta nueva experiencia que ha marcado mi vida, algunas veces por sus aportaciones, otras por su apoyo incondicional y otras por su tiempo en los momentos difíciles que vivimos juntos.

A mi universidad porque fue el eje central de la adquisición de mis conocimientos. A todos mis profesores que han contribuido a formarme, especialmente los maestros del Instituto de Neurociencias de la Universidad de Guadalajara que fue donde se llevó a cabo esta investigación.

A mi tutor: el Dr. Jorge Juárez González por su capacidad de transmitir sus conocimiento y su experiencia en el amplio universo de la investigación, sin las cuales no hubiera sido posible la culminación de este esfuerzo.

A mi amigas Eliana y Cristi, quienes estuvieron presentes siempre que las necesité de forma incondicional.

A la Dra. Julieta Ramos Loyo por sus certeras observaciones, su interés en el curso de este proceso y por brindarme su cálido reconocimiento .

A la Dra. Marisela Hernández porque me ha dado la oportunidad de aprender en su compañía.

A mi madre, que con su ejemplo de lucha, amor a la vida, a todo lo que hace, y principalmente a sus hijos ha forjado en mí un espíritu de trabajo y dedicación, espero que este pequeño esfuerzo sea solo una muestra de lo que ella ha sembrado.

A mi familia, mis hermanos que me han acompañado en este tiempo, especialmente a Lorena, que día a día y paso a paso, se ha convertido en una parte importante de mi estabilidad; a Edgar y a Pavel, que vienen a poner la chispa mágica para que todo siga funcionando.

A los seres que amo y que en este tiempo difícil experimenté la separación definitiva, especialmente a mi padre.

Gracias.

## INDICE

ABREVIATURAS-----	I
RESUMEN-----	II

### I.- ANTECEDENTES

1.-Sistema endocrino	página
Hormonas-----	1
Síntesis y secreción	
Esteroides sexuales	
Ruta del colesterol	
2.- Estrógenos-----	8
Esquema del estradiol	
Gonadectomía	
Estrógenos y consumo de alimento	
3.- Alcohol-----	12
Metabolismo del etanol	
Alcohol y hormonas	
Factores que influyen en la ingestión de alcohol	
Efectos del etanol en SNC	

II.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA-----	21
--------------------------------------	----

III.- EXPERIMENTO I-----	22
--------------------------	----

Objetivos	
Hipótesis	
Variables	
Independientes	
Dependientes	
Material y método	
Diseño experimental	
Habitación	
Consumo forzado en precastración	
Consumo voluntario en precastración	
Gonadectomía	
Recuperación	
Consumo voluntario y forzado en postcastración	
Consumo voluntario y forzado en tratamiento con estradiol	
Consumo voluntario y forzado en postratamiento	
Sistemas de medición y registro	
Análisis estadístico	

RESULTADOS DEL EXPERIMENTO I-----	29
-----------------------------------	----

Consumo de alcohol en exposición forzada	
Consumo de alcohol en exposición voluntaria	

Consumo de alimentos en exposición forzada	
Consumo de alimentos en exposición voluntaria	
Frecuencia de accesos en consumo forzado en el ciclo luz-oscuridad	
Análisis de intervalos	
Intervalo de frecuencia falsos castrados en consumo de alcohol, exposición forzada	
Intervalo de frecuencia castrados en consumo de alcohol, exposición forzada	
Intervalo de frecuencia falsos castrados en consumo de alcohol, exposición voluntaria	
Intervalo de frecuencia castrados en consumo de alcohol, exposición voluntaria	
Peso corporal	

#### IV.-EXPERIMENTO II----- 41

Justificación	
Objetivos	
Hipótesis	
Variables	
Independientes	
Dependientes	
Material y método	
Diseño experimental	
Consumo voluntario en precastración	
Gonadectomia	
Recuperación	
Consumo voluntario postcastración	
Tratamiento hormonal	
Consumo voluntario postratamiento	
Consumo forzado postratamiento	
Sistemas de medición y registro	
Análisis estadístico	

#### RESULTADOS EXPERIMENTO II ----- 46

Consumo de alcohol en exposición forzada	
Consumo de alcohol en exposición voluntaria	
Indice de preferencia al alcohol	
Consumo de alimentos en consumo de alcohol, exposición voluntaria	
Frecuencia de accesos en consumo de alcohol en exposición forzada en el ciclo luz-oscuridad	
Frecuencia de accesos en consumo de alcohol en exposición voluntaria en el ciclo luz-oscuridad	
Frecuencia de accesos en el consumo de agua en exposición voluntaria en el ciclo luz-oscuridad	
Intervalo de lameteos en consumo de alcohol en exposición forzada	
Intervalo de lameteos en consumo de alcohol en exposición voluntaria	
Intervalo de lameteos en consumo de agua en exposición voluntaria	
Peso corporal	

#### V.- DISCUSIÓN----- 58

#### VI.- CONCLUSIONES----- 63

#### VII.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS----- 64

## ABREVIATURAS.

ADH	Alcohol deshidrogenasa.
BE	Benzoato de estradiol.
C	Castrados, castración.
CCK	Colecistocinina.
CF	Consumo forzado.
CV	Consumo voluntario.
DNA	Ácido deoxirribonucleico.
E	Estradiol y periodo donde se aplicó estradiol.
FC	Falsos castrados.
FSH	Hormona folículoestimulante.
GnRH	Factor liberador de gonadotropinas.
LH	Hormona luteinizante.
MEOS	Sistema microsomal de oxidación del etanol.
PreC1	Periodo anterior a la castración 1.
PreC2	Periodo anterior a la castración 2.
PosC	Periodo posterior a la castración.
PosE	Periodo posterior al tratamiento con estradiol.
RNA	Ácido ribonucleico.
mRNA	Ácido ribonucleico mensajero.
SNC	Sistema nervioso central.
L-O	Fases de luz-oscuridad.

## RESUMEN

Existen evidencias de que el consumo del alcohol tiene efecto directo sobre los niveles de hormonas circulantes, pero se han efectuado pocos estudios donde se hayan controlado los niveles hormonales y se evaluado como estos niveles hormonales influyen en la ingestión de alcohol. El objetivo de la presente investigación fue estudiar la relación que existe entre el consumo de alcohol, la ingestión de alimentos y el peso corporal como variables dependientes de la aplicación de estrógenos.

El experimento se llevó a cabo en dos fases: En la primera fase se eligieron 16 machos de los cuales 8 se castraron para controlar el aporte hormonal endógeno y en los 8 restantes se dejaron las gónadas intactas. A los 16, se les aplicaron 5 µg de Benzoato de estradiol (BE) día/macho (por 8 días). Se midieron los consumos de alcohol, total de líquidos, consumos en los ciclos de luz- oscuridad, frecuencia de accesos a los bebederos, además de consumo de alimento y el peso corporal. En ambas fases del experimento los sujetos fueron expuestos al alcohol en condición forzada y voluntaria. Únicamente en la primera fase el alcohol fue adicionado con azúcar.

En la segunda fase del experimento se suprimió el azúcar de los líquidos para deslindar su responsabilidad como reforzador en el consumo de alcohol; se tomaron 10 machos, a todos se les castró y se les aplicó 5 µg de benzoato de estradiol (BE) día/macho (por 8 días). Se midieron consumos de alcohol, total de líquidos, consumos a lo largo de los ciclos de luz-oscuridad, frecuencia de accesos a los bebederos, además de consumo de alimento y aumento de peso corporal.

En ambas fases de los experimentos el efecto más evidente fue una disminución en el consumo de alcohol durante el tratamiento con BE. Este efecto presentó variaciones dependientes de la condición gonadal de los machos y del tipo de exposición (voluntario o forzado).

En cuanto a la frecuencia de accesos a los bebederos en el consumo forzado en los ciclos de luz-oscuridad encontramos que el consumo de cualquier líquido, en ambos experimentos fue significativamente mayor en la fase de oscuridad; cuando se aplicó estradiol se redujo el consumo del alcohol en esta fase siendo más evidente durante la exposición voluntaria en

el segundo experimento, sin afectar el consumo de agua, lo cual confirma el efecto inhibitorio que tiene el estradiol sobre el consumo del alcohol.

En cuanto a los intervalos de la tasa de lameteos se presentó el mismo fenómeno en ambos experimentos y para todos los machos, el intervalo de mayor presentación en todas las manipulaciones experimentales fue el de 20-150 lameteos/10 min. hasta el de menor presentación que fue el >750 en los dos tipos de consumo, voluntario y forzado.

A pesar del uso del azúcar en el primer experimento y la eliminación de ésta en el segundo, se confirma que el BE tiene un efecto inhibitorio en el consumo de alcohol.

Con lo que respecta al consumo de alimento durante todo el experimento y en cualquier exposición encontramos que el estradiol también tiene un efecto inhibitorio en el consumo de alimentos en machos, confirmando los hallazgos descritos en la literatura para las hembras.

Efectuamos un análisis del efecto del estradiol en el peso corporal de los machos, encontrando que el estradiol no solo tiene un efecto inhibitorio en el consumo de alimentos, sino también influye en el peso corporal; que los sujetos ganaron el peso esperado durante el paso del tiempo y este se detuvo al aplicar BE, recuperándose después de la aplicación de la hormona.

Por lo anterior, concluimos que el BE tiene un efecto inhibitorio en el consumo de alcohol, la ingestión de alimento y detiene el aumento del peso corporal.

## SISTEMA ENDOCRINO.

### HORMONAS.

Las hormonas son moléculas con características estructurales muy variadas, que son sintetizadas y secretadas por células especializadas en tejidos específicos; por lo general son vertidas al torrente sanguíneo y transportadas a distancia para ejercer su efecto en órganos blanco lejos de su secreción (Juárez y col., 2001); algunas hormonas funcionan como neurotransmisores o como moduladores de algunos otros neurotransmisores, como la noradrenalina y la serotonina afectando la transmisión sináptica en la membrana neuronal (Ramos, 2001), por ejemplo, se sabe que los estrógenos incrementan la proporción de degradación de la monoaminoxidasa, la enzima que cataliza a la serotonina y también desplaza al triptófano de sus sitios en la albúmina plasmática, aumentando la cantidad de triptófano libre para ser metabolizado en serotonina, además de mejorar su transporte.

### Sistema Endocrino

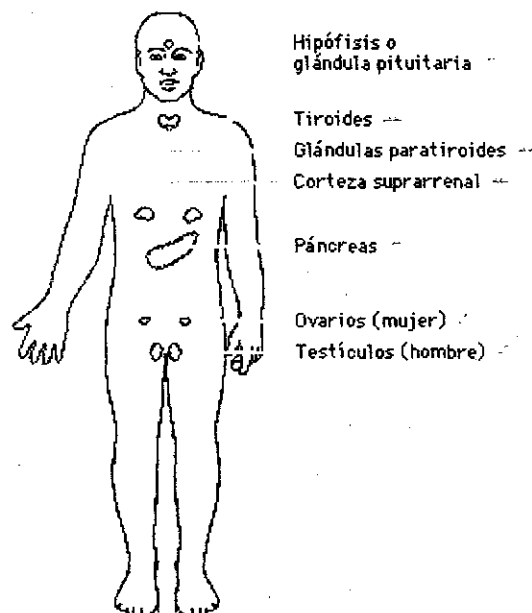


Fig. A Representación esquemática de la localización de las glándulas más importantes del sistema endocrino, tomado de Kandel, E. R., Schwartz, J. H., and Jessell, T. M. (editors) (1991) Principles of Neural Science. Appleton and Lange (third edition).



Las hormonas sexuales tienen un efecto organizador sobre el desarrollo anatómico y funcional del sistema nervioso central (durante el periodo crítico gestacional de diferenciación sexual) y otro efecto activador sobre los sistemas fisiológicos ya formados (Fig. A). La manipulación hormonal en animales ha demostrado los efectos de esteroides sexuales en conductas típicas de la especie como son las relacionadas con reproducción, juego, comportamiento materno, (Ramos, 2001) y sobre los patrones de consumo de líquidos (Juárez y Barrios de Tomásí, 1999).

Las hormonas están asociadas a la determinación sexual, la concepción, el desarrollo fetal, el nacimiento, la pubertad, la capacidad reproductiva, la lactancia, la menopausia; además integran señales hormonales y neuronales entre el sistema nervioso central, la pituitaria y los órganos blanco.

Las hormonas sexuales son las responsables del desarrollo y del mantenimiento del fenotipo, entre muchas otras funciones estudiadas; También tienen efecto en el comportamiento y las habilidades cognitivas de manera diferencial entre sexos, además del funcionamiento cerebral (Ramos, 2001).

Durante los ciclos menstruales en la mujer, se identifican con claridad cambios en los niveles hormonales; también ha sido observado que en la fase premenstrual del ciclo hormonal muchas mujeres presentan una serie de alteraciones fisiológicas y conductuales vinculadas a un aumento brusco en los valores de estrógenos y progesterona. (Ramos y col., 2001).

Las hormonas pueden ser clasificadas de varias formas:

Por su estructura molecular: a)aminas, b)esteroides, c)péptidos y proteínas.

A).- Las aminas son compuestos que se derivan de algún aminoácido y son sintetizados en citoplasma por una serie de fases enzimáticas por ejemplo la dopamina.

B). - Los esteroides son compuestos cuya estructura fundamental es el núcleo del ciclopentanoperhidrofenantreno de 17 carbonos; estas hormonas se forman a partir del colesterol vía pregnenolona, que es la hormona progenitora de todos los esteroides; la síntesis de los esteroides ocurre en el retículo endoplásmico liso y en la mitocondria, su tasa de síntesis depende de la regulación de las enzimas limitantes que intervienen en la

biosíntesis a partir de la hidroxilación y segmentación de las cadenas laterales del colesterol para producir pregnenolona. La rapidez de la secreción de los esteroides presenta una relación estrecha con su tasa de síntesis, ya que una gran cantidad de la hormona no puede ser almacenada por la célula y sale rápidamente de ella a través de la membrana. La secreción de esteroides depende principalmente de mecanismos de retroalimentación tanto a nivel central como hipofisiario.

C).- Los aminoácidos también tienen una función importante en la formación de péptidos y proteínas, solo que en este caso los aminoácidos se unen entre sí covalentemente para formar los llamados enlaces peptídicos. La secuencia de aminoácidos constituida de esta manera, determina la estructura primaria de un péptido; las proteínas son macromoléculas formadas por una o varias cadenas de polipéptidos. Las hormonas polipeptídicas se sintetizan en los ribosomas, iniciado por un gen que transfiere la información al ácido ribonucleico mensajero y se inicia la transducción hasta llegar a empacarse en forma de gránulos para su posterior secreción.

Otras clasificaciones no menos importantes dependen de la ubicación de su receptor; si pueden cruzar o no la barrera hematoencefálica; por la naturaleza de la señal o del segundo mensajero; midiendo la acción hormonal dentro de la célula, de acuerdo a su composición química y su solubilidad en agua o lípidos (Juárez, 2001).

También se ha propuesto que algunas hormonas pueden sintetizarse y liberarse en las neuronas, encontrando en el cerebro cantidades importantes y que tienen efecto sobre la actividad neuronal de diferentes estructuras cerebrales.

Entre las funciones más relevantes del sistema neuroendocrino está mantener al organismo dentro de una homeostasis o un estado de equilibrio.

El sistema hipotálamo-hipofisiario es el encargado de controlar la síntesis y secreción de hormonas secretadas por la hipófisis por medio de mecanismos reguladores; estas hormonas hipofisiarias son las que controlan la actividad de las glándulas endocrinas en los órganos blanco; cuando se alcanza un nivel elevado de hormona circulando en sangre se produce una inhibición de la glándula que las secreta por retroalimentación negativa hacia el hipotálamo cesando la producción (Fig. A).

Son varios factores los que regulan la acción hormonal sobre un órgano blanco, entre ellos se encuentran:

La capacidad del receptor para fijar de manera selectiva una hormona dada.

La tasa de síntesis y de secreción de la hormona almacenada en la glándula endocrina de origen.

Cómo es transportada esta hormona en la sangre.

Cómo el tejido en el órgano blanco tiene efecto directo sobre la hormona activándola.

El tipo de receptor específico en el citosol o en la membrana de las células, el cual es diferente de un tejido a otro.

La degradación de la hormona que se efectúa en el hígado o los riñones.

Cualquier variación en alguno de estos factores puede cambiar la actividad o la cantidad de una hormona en un tejido dado.

### SÍNTESIS Y SECRECIÓN

Cualquier molécula que se vierte en la sangre y puede ser reconocida por un receptor, en o sobre un tejido celular para llevar información puede ser usada por el cuerpo como una hormona.

Las hormonas pueden ser divididas por su liberación en dos grandes clases: Las que son guardadas en vesículas y son liberadas desde una célula endocrina por fusión de las vesículas con la membrana plasmática, como respuesta a un estímulo y que puede o no estar acoplado a un estímulo para la síntesis hormonal; y las que son secretadas inmediatamente sobre la síntesis de una forma no mediada por la fusión de la vesícula a la membrana.

Los esteroides (glucocorticoides, andrógenos, estrógenos y mineralocorticoides) son hormonas secretadas por otros mecanismos que no están mediados por vesículas membranales. Antes se pensaba que el paso de los esteroides del espacio intracelular al extracelular sucedía por simple difusión, pero en años recientes se encontró que existen mecanismos de transporte específicos implicados y se encuentran fuera de la célula.

La regulación de la cantidad de hormona circulante y su concentración está determinada por varios factores como son: los rangos de producción, la distribución en los tejidos, el proceso de degradación, la endocitosis; en muchos casos la vida media de las hormonas que

es muy corta, provoca la terminación de sus efectos y previene un excesivo aumento en sangre.

## RECEPTORES

Una vez que una hormona es secretada al torrente sanguíneo llega a los órganos blanco e interactúa con ellos a través de los receptores, los cuales son proteínas. Se ha encontrado que existen dos tipos de receptores hormonales: de membrana que se fijan a proteínas localizadas en la membrana celular, como en el caso de las hormonas peptídicas; o están localizados dentro de las células como en el caso de la familia de las hormonas esteroideas/tiroideas.

Debe de existir una gran afinidad entre el receptor y la hormona correspondiente formándose el complejo hormona-receptor.

Las hormonas sexuales se unen al receptor ya sea en el citosol o en el núcleo celular, reaccionando con la cromatina e influye en la formación de moléculas de RNA mensajero, aumentando su síntesis al igual que el RNA de transferencia. Se ha observado que se necesita de la síntesis de RNA y de proteína para que los efectos hormonales de los esteroideos se hagan evidentes.

## ESTEROIDES SEXUALES.

Las hormonas esteroideas son producidas en las glándulas suprarrenales, así como en las gónadas y la placenta. Recientes experimentos indican que los esteroideos son sintetizados en el SNC (sistema nervioso central) y en algunos otros tejidos en pequeñas cantidades. Pertenecen al grupo de lípidos derivados, que se encuentran en todos los organismos y están asociados con muchas funciones vitales (Vishwanath y col., 1994). En los seres humanos tienen diversas funciones como: hormonas sexuales, metabólicas, en el transporte de lípidos en la membrana y en los fluidos plasmáticos.

En el cerebro la expresión de las enzimas que participan en la esteroideogénesis está regulada de forma regional, asegurando esto la regulación específica por áreas de la síntesis de neuroesteroideos. Dependiendo del sitio de síntesis se sugiere que los esteroideos pueden tener diversas funciones en el encéfalo que repercuten en la coordinación del entorno, conducta, funciones sensoriales y la organización del sistema nervioso central.

Existe importante evidencia de que en mamíferos y especies de aves, los esteroides sexuales influyen directamente en las células del área preóptica y el hipotálamo a nivel molecular y también tienen un papel activo en la regulación de la expresión genética de las células cerebrales, (Hutchinson y col., 1984). Esta variación genética arroja diferencias raciales en el consumo y el metabolismo del etanol además de las diferencias de género ya descritas.

#### RUTA DEL COLESTEROL.

Los esteroides tienen una estructura básica similar constituida por anillos hidrocarburos fusionados, y entre ellos está el colesterol, que es el precursor más importante de los esteroides ( Fig. B).

Hay tres fuentes de colesterol que son usadas para sintetizar hormonas esteroideas: sintetizado desde el acetato, ésteres de colesterol en tejido esteroideogénico y de la dieta, que constituye la mayor fuente en un 80% y es transportado en plasma por lipoproteínas de baja densidad.

La testosterona secretada por los testículos tiene una acción organizadora en el cerebro en el periodo crítico de diferenciación sexual de los mamíferos, el cual ocurre en la etapa fetal o perinatal dependiendo de la especie. Posterior a la diferenciación de las gónadas los testículos comienzan a secretar cantidades importantes de testosterona que afectan el sistema neuroendocrino así como a diferentes estructuras del encéfalo a nivel anatómico y funcional. (Juárez y col., 2001).

La corteza suprarrenal sintetiza tres clases de esteroides: los glucocorticoides, importantes en el metabolismo; los mineralocorticoides que tienen influencia en el transporte de electrolitos; los andrógenos y estrógenos, que son los responsables de las características sexuales secundarias entre otras funciones.

El colesterol es el precursor inicial para la síntesis de todos los esteroides, el cual después de oxidación se convierte en pregnenolona de esta se derivan todas las hormonas esteroideas. La pregnenolona se convierte en progesterona o en 17-hidroxipregnenolona y poco a poco se van convirtiendo en hormonas activas mediante oxigenasas y deshidrogenasas específicas, hasta llegar como punto final a la testosterona y/o estradiol (Fig. B)

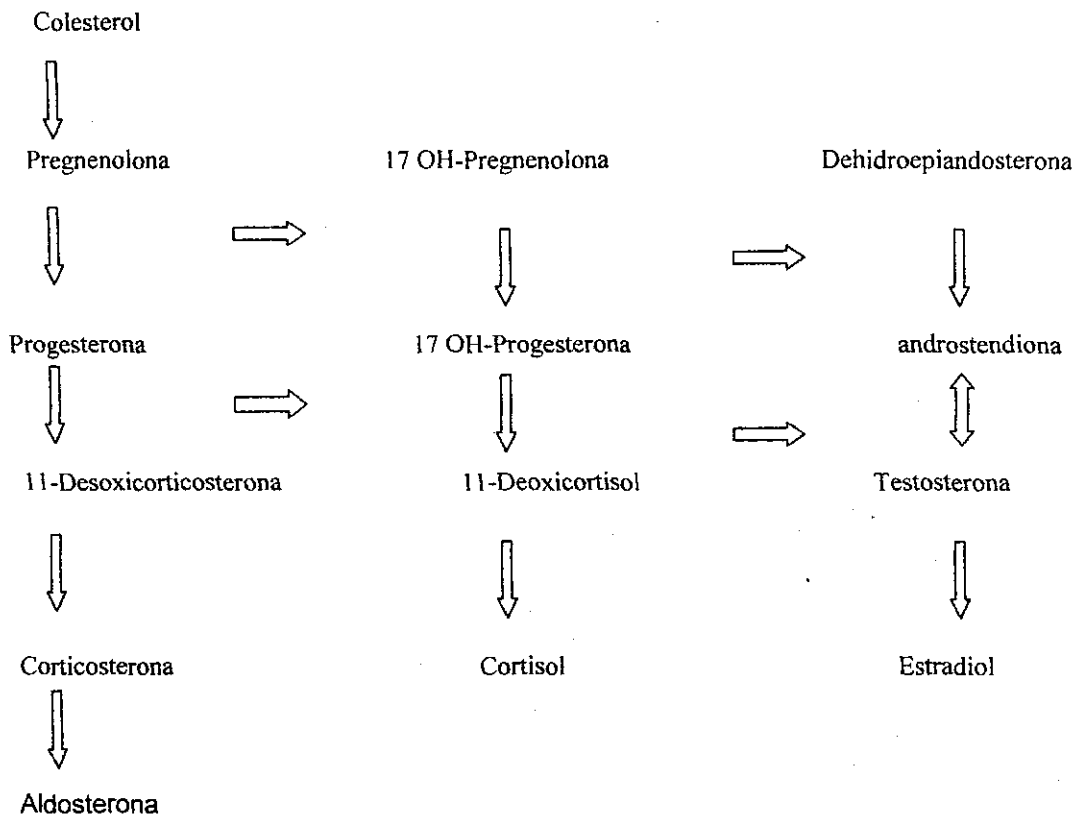


Fig. B. Biosíntesis de Neuroesteroides.

(Baulieu E, schmacher M, Cell Mol Neurobiol 1996; 16:143-43)

El primer paso de la síntesis de hormonas esteroides ocurre en la mitocondria. El colesterol es transportado del espacio extramembranal al intramembranal por una enzima P-450 o regulador esteroidogénico, su función es asistir al colesterol en su transporte al interior de la célula.

Como ya se mencionó el hipotálamo es el encargado de secretar los factores liberadores que facilitan la producción de hormonas gonadotrópicas producidas por la hipófisis.

Las hormonas gonadotrópicas: estimulante del folículo y luteinizante, estimulan la producción en las gónadas de testosterona en los machos; estrógenos y progesterona en hembras.

Los esteroides sexuales tienen influencia directa en el crecimiento, desarrollo de los órganos reproductores secundarios y el metabolismo proteico.

La testosterona puede formarse no solo en el testículo sino también en los ovarios y en la corteza suprarrenal.

### ESTROGENOS.

El principal estrógeno en el adulto femenino es el  $17\beta$ -estradiol; la progesterona, la estrona, estriol y dehidroespiandrosterona juegan un papel importante durante el embarazo (Fig C).

Los estrógenos son las hormonas responsables del desarrollo y mantenimiento del fenotipo femenino y actúan tanto a nivel periférico como en el SNC afectando la conducta (Juárez y col., 2001).

Los estrógenos tienen un efecto activador en el SNC, repercuten sobre el estado de ánimo, en el posparto, la fase premenstrual del ciclo (Ramos y col., 2001) y alrededor de la menopausia. Cuando las pacientes depresivas se les da reemplazo hormonal mejoran, disminuyendo los síntomas depresivos (Hilakivi, 1996).

Las gónadas tanto femeninas como masculinas en estado embrionario son morfológicamente idénticas, y sólo después del inicio de la diferenciación sexual (en la octava semana de vida intrauterina), como consecuencias de la expresión de la información genética presente en los cromosomas, es que las gónadas antes indiferenciadas se convierten en ovarios femeninos o testículos masculinos.

Los ovarios femeninos tienen una función dual, son los responsables de la producción y liberación de las células germinales llamadas óvulos y de la biosíntesis y secreción de las hormonas esteroideas, progesterona y estrógenos. El estradiol, al igual que la progesterona, se producen en los ovarios y tienen una influencia directa en el ciclo estral de algunos animales (Kubli, 1993).

Existe una relación importante entre el SNC y el sistema endocrino. En el primer caso el hipotálamo, que es el encargado de secretar el factor liberador de gonadotropinas (GnRH), y en el segundo la adenohipofisis en la pituitaria que es el sitio de acción del GnRH. La secreción del GnRH desde el hipotálamo está determinada por la integración de las señales visuales, olfatorias, de la glándula pineal, de estrés y factores endocrinos. El hipotálamo determina cuando debe ser liberado el GnRH y lo hace en forma pulsátil, con una corta

latencia para el inicio de la secreción de LH y FSH; la principal función de estas hormonas, es que inducen la producción de estrógenos en el ovario por las células de teca y progesterona en el cuerpo lúteo ( Fig. A).

Los ovarios sintetizan estrógenos y progesterona a partir del colesterol sanguíneo, en las mujeres los estrógenos se secretan en los folículos de Graaf en pequeñas cantidades durante la infancia, aumentando su secreción en la pubertad influida por las hormonas hipofisarias, dando lugar al desarrollo de las características sexuales secundarias. Al igual que los machos también las hembras producen pequeñas cantidades de estrógenos en las suprarrenales.

Los estrógenos más importantes son:  $17\beta$ -estradiol, estrona y estriol; en los ovarios se produce en más cantidad el  $17\beta$ -estradiol, que se forma a partir de los andrógenos que se secretan en la corteza suprarrenal, las células de teca y el estroma del ovario.

#### ESQUEMA DEL ESTRADIOL.

El estradiol es un producto oxidativo derivado tanto de la testosterona como de la estrona (Fig. C).

Se ha encontrado que en animales como la rata, el estradiol actúa principalmente en el área preóptica del hipotálamo anterior, medial y ventromedial, el tectum, el núcleo arcuato y la amígdala (Kubli, 1993). Estas estructuras del sistema límbico involucran un gran número de receptores a opiodes (Blum, 1991), especialmente el hipotálamo. Se ha comprobado que el estradiol incrementa la actividad eléctrica de forma individual en las neuronas hipotalámicas, en cuestión de segundos, con aplicación electroforética sobre la membrana celular, sugiriendo que las hormonas afectan directamente la excitabilidad de la membrana celular (Hutchinson y col., 1984).

Los estrógenos también inducen la producción de proteínas y enzimas relacionadas con la síntesis y recambio de receptores a neurotransmisores (Kubli, 1993). Tienen un efecto antidepresivo ampliamente estudiado, pero en el área clínica no es utilizado por los efectos adversos (Ramos y col., 2001), se ha encontrado que niveles bajos de estrógenos producen depresión (Hilakivi y Clarke, 1996). Otra de las áreas de investigación de la aplicación de estrógenos en la conducta es sobre la agresión; se ha encontrado que la aplicación de estrógenos aumenta la conducta agresiva (Hilakivi y Clarke, 1996). Por otro lado, los



niveles bajos de estrógenos se han relacionado con el síndrome premenstrual, caracterizado por irritabilidad, hipersensibilidad y labilidad afectiva. (Ramos, J. y col., 2001).

Se ha comprobado que los estrógenos afectan el desarrollo de la corteza cerebral, el tamaño de las neuronas, las conexiones interneuronales, el volumen del núcleo de las neuronas, modulan la liberación de neuropéptidos, neurotransmisores, y neurohormonas, además de tener un efecto antioxidante y aumentar la utilización de glucosa por el cerebro.

Aunque en los machos los niveles fisiológicos de estradiol son bajos, también son importantes, sobre todo en el periodo crítico de determinación y diferenciación sexual, ya que la formación de estructuras sexuales dimórficas en muchas especies son dependientes de estradiol y no de testosterona *per se*. Tampoco se puede descartar la importancia del estradiol en la etapa de la pubertad ya que el estradiol es una prohormona, en el que el rol preponderante es de activador de las estructuras ya formadas (Toran D., 1986).

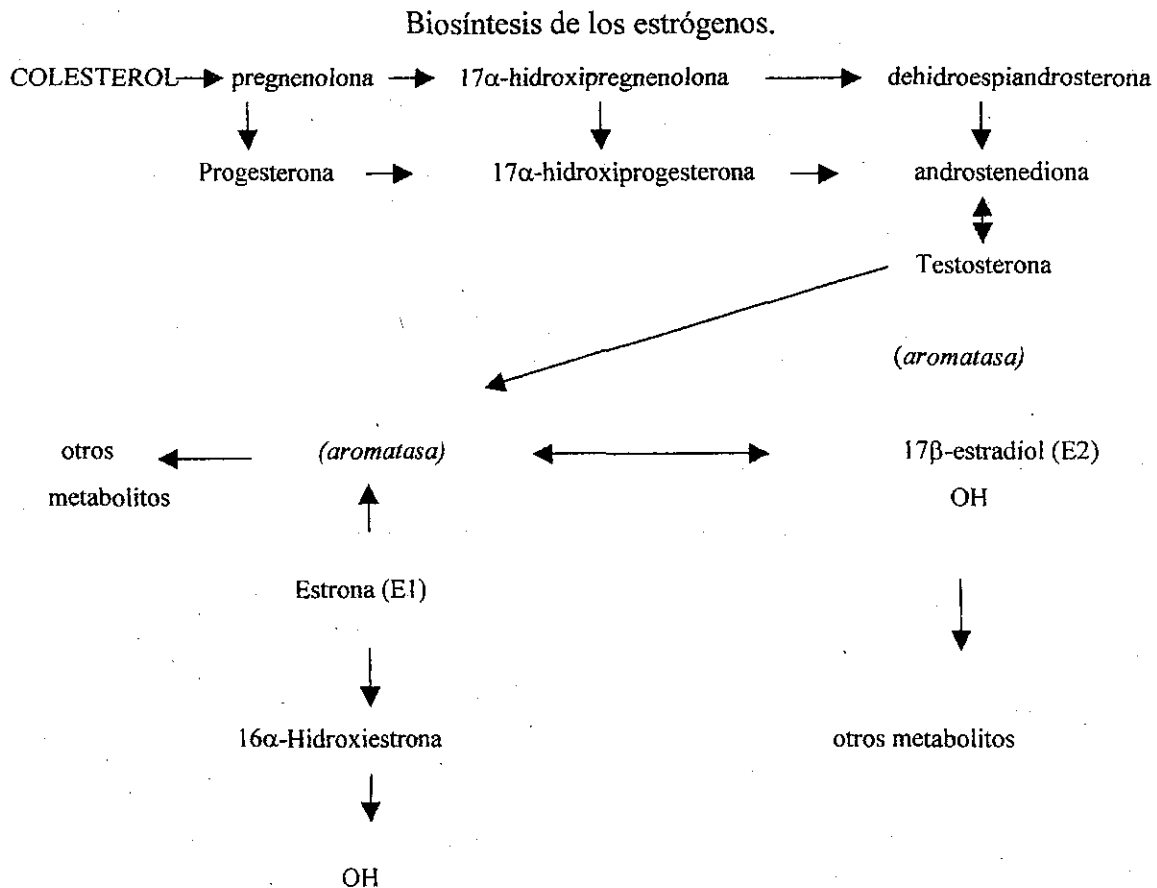


Fig. C. biosíntesis y metabolismo de los estrógenos. (Tomado de Bioquímica de Harper. 1994 publicado por editorial Manual Moderno, México)

## GONADECTOMIA.

Desde tiempos remotos se conoce que la castración en diferentes especies produce cambios conductuales y corporales; dando como resultado alteraciones de la conducta reproductora y de las características sexuales primarias y secundarias, lo cual es dependiente de la etapa en que se extraigan las gónadas. Esto condujo a la conclusión de que los testículos secretan sustancias necesarias para la conducta sexual y la formación de estructuras masculinas (Kubli, 1993).

Cuando las estructuras sexuales masculinas secundarias ya están formadas, el efecto de la gonadectomía en el adulto es diferente pues se altera la libido, la potencia sexual disminuye o desaparece; aunque las estructuras sexuales no tengan cambios, la próstata y las vesículas seminales se atrofian y el volumen del semen es menor o deja de producirse.

La administración de andrógenos a los animales castrados antes de la pubertad, como el equivalente de la restitución hormonal endógena permite que se desarrollen y realicen los cambios en el individuo en el curso esperado para alguien que no le han sido retiradas las gónadas.

Se ha llegado a la conclusión que una forma de control del nivel hormonal endógeno es la gonadectomía, utilizándose en trabajos experimentales en los que es necesario el control de los niveles hormonales circulantes y efectuando la restitución hormonal en dosis adecuada.

## LOS ESTROGENOS Y CONSUMO DE ALIMENTOS.

También se conoce que los esteroides sexuales tiene efecto sobre el consumo de alimento y el peso corporal; se sabe que el benzoato de estradiol disminuye el consumo de alimento y el peso corporal, (Sandberg y col. 1982; Simpkins y col, 1989; Varma y col., 1999). Se ha comprobado que el efecto del estradiol sobre la disminución en el consumo de alimento es independiente del consumo de líquidos (McCaffrey, 1983; Buttera y col., 1993) y cuando se ha utilizado un antagonista estrogénico como el ethamoxytriphetol (MER-25), que tiene efecto sobre otras conductas sensibles a estrógenos como la lordosis, también se encontró que repercute en el consumo de alimentos y en el peso corporal. Otros autores reportan que el estradiol disminuye el consumo de alimentos pero no tiene efecto sobre el peso corporal (Donohoe, 1984). Se ha llegado a un consenso general, que el estradiol tiene efecto

disminuyendo el consumo de alimentos, pero existe controversia en cuanto al peso corporal, la hipótesis de los mecanismos por los cuales actúa son: Los estrógenos modulan la actividad alimenticia sobre los centros de saciedad hipotálamicos a nivel central, específicamente en el núcleo paraventricular, (Butera y col., 1990) y que también la aplicación de colecistokinina junto con el estradiol en estos núcleos potencia la disminución de la ingestión de alimentos (Butera y col., 1993). Otro mecanismo es el papel del factor liberador de la corticotropina y la anorexia inducida por el estradiol, donde se ha comprobado que el factor liberador de la corticotropina está involucrada (Dagnault y col., 1993).

Es bien conocido que la rata es un animal nocturno, que presenta ritmos de actividad diferentes en la fase de luz-oscuridad, mostrando mayor actividad en la fase de oscuridad tanto en la ingestión de alimentos como de los líquidos (Juárez y Barrios de Tomásí, 1999). Se ha reportado que las hormonas afectan esta ritmicidad en ratas, mostrando cambios en el número de veces que come, en la cantidad total ingerida, así como la distribución en los ciclos de luz-oscuridad; el estradiol parece tener un efecto inhibitorio tónico en la fase de luz en la alimentación y fásico en la fase de oscuridad en la cantidad total de la comida ingerida (Varma y col., 1999).

## ALCOHOL

La ingestión de alcohol se ha convertido en un problema de salud pública a escala mundial, que afecta a individuos de todas las razas, ambos sexos y cada vez en etapas más tempranas de la vida; limitando el desempeño laboral, social y familiar de quien lo padece y su familia.

Además de la pérdida de la salud, la proporción de víctimas de actos violentos que están relacionados con el alcohol es alto; de 200 pacientes hospitalizados debido a asalto, suicidio o intento de suicidio un 26%, 38% y 23% de las víctimas respectivamente, estaban intoxicadas con alcohol (Brismar y Bergman, 1998).

Resultados similares fueron reportados por Kingma en el año de 1994 en un estudio de 2,124 pacientes tratados por intento de suicidio o accidentes de tráfico, el 25% de estos pacientes estaban intoxicados con alcohol; el sexo masculino resulta predominante en todas

las investigaciones; el rango de edad de mayor vulnerabilidad fue de 20 a 29 años (Kingma, 1994).

Se ha demostrado que el consumo elevado de alcohol tiene efectos adversos sobre la salud del individuo produciendo en las mujeres irregularidades menstruales, anovulación, disfunción de la fase lútea, amenorrea recurrente, menopausia temprana, aumenta el riesgo de abortos espontáneos, y cáncer en el pecho, todo esto originado por los cambios hormonales secundarios al uso y abuso del alcohol.

#### ALCOHOL Y HORMONAS.

Se ha encontrado que la ingestión de alcohol repercute directamente sobre los niveles de hormonas circulantes (Hilakivi, 1996). En estudios con mujeres postmenopausicas se ha reportado un incremento en los niveles de estrógenos y un decremento en la testosterona cuando son bebedoras habituales (Gavaler y col., 1992).

El alcohol administrado durante una etapa crítica del desarrollo en la lactancia, repercute en un adelanto de la pubertad y en un decremento en el peso corporal de las ratas hembras (Juárez, Barrios de Tomás y Vázquez 2000).

En los machos se inhibe la secreción de testosterona produciendo un rápido decremento en plasma de los niveles de esta hormona, por baja respuesta testicular a la gonadotropina coriónica humana, dado por una disminución en la hormona luteinizante, factor liberador de la hormona luteinizante y/o secreción de la hormona luteinizante (Adams y col., 1991; Cicero y col., 1990; Dees y col., 1988, 1988; 1990; Emanuele y col., 1993; 1999; Rivier y col., 1993).

Hombres alcohólicos muestran disfunción endocrina, especialmente atrofia testicular prostática, impotencia y falta de interés sexual (Gavaler y Van Thiel, 1992; Van Thiel y Gavaler, 1990). Estos cambios pueden reflejar una reducción inducida por el alcohol de los niveles séricos de testosterona o del número de receptores de andrógenos en los tejidos sensibles a esteroides y como respuesta a los altos niveles de estradiol en sangre (Hilakivi, 1996).

En mujeres se ha encontrado incremento de estradiol sanguíneo después de la administración de alcohol a diferencia de cuando se utilizó placebo, donde los niveles de estradiol no variaron significativamente (Mendelson y col., 1988).

Se ha propuesto que los esteroides tienen un papel preponderante en el metabolismo del alcohol (Van Thiel y col., 1988).

Existen extensos estudios sobre estos efectos del alcohol en los niveles hormonales, pero se conoce muy poco del efecto que las hormonas tienen sobre la conducta de dependencia o uso inmoderado del alcohol.

Otras variables a considerar en los patrones individuales de consumo de etanol es el género; hembras y machos tienen una respuesta diferente al alcohol, por ejemplo, se ha reportado que ratas hembras tienen rangos más rápidos de eliminación que los machos.

Además de las diferencias individuales se han descrito diferencias sexuales y de edad en la rata (Rachamin, 1980; Juárez y Barrios de Tomás, 1999) y en el mono (Juárez y col., 1993), en el consumo de alcohol a lo largo del tiempo, lo cual parece depender de las diferencias sexuales en la tasa metabólica del alcohol, ya que las hembras presentan una tasa metabólica más alta que los machos. Se ha encontrado que los andrógenos tienen una acción importante en el decremento de la tasa metabólica del alcohol, ya que después de la pubertad las diferencias sexuales se hacen evidentes y son eliminadas cuando se castra a los machos y se vuelve a decrementar esta tasa metabólica cuando los andrógenos son restituidos.

Al parecer las hormonas ováricas no tienen influencia en la distribución del alcohol en el cerebro pero sí en los tejidos periféricos, y las diferencias en estos tejidos periféricos no reflejan diferencias en los niveles cerebrales.

Otros factores son el entorno social y el genético, que también contribuyen a aumentar el riesgo de dependencia al alcohol. En general una mejor habilidad de la mujer para metabolizar el alcohol resulta en menores concentraciones en sangre y esto usualmente sirve como una explicación a las diferencias de género en el consumo del alcohol en humanos, algo similar sucede en ratas, (Mezey y col., 1992; 1998) y en monos (Juárez, y col. 1993).

Las diferencias de género también se ven reflejadas en los rangos de preferencia del alcohol, las hembras presentaron una marcada preferencia hacia al alcohol en presencia de otro líquido (Almeida y col., 1998).

## METABOLISMO DEL ETANOL

El etanol generalmente es administrado por vía oral y entra a la circulación por el tracto intestinal donde se mezcla con los alimentos y antes de llegar al hígado se lleva a cabo el metabolismo de primer paso, donde las enzimas actúan directamente sobre el etanol; se ha encontrado que en los individuos que abusan del alcohol se ha reducido el metabolismo, produciendo concentraciones en sangre más altas que en sujetos que no abusan del alcohol (Van Thiel y col., 1988; 1998).

Una vez que se ha absorbido en el tracto digestivo llega al hígado, donde existen dos sistemas enzimáticos que se encargan de metabolizarlo: la alcohol deshidrogenasa (ADH) responsable en un 85% del metabolismo del etanol y el sistema microsomal de oxidación del etanol (MEOS) en un 15%; este último se encuentra incrementado en el hígado de sujetos y animales que ingieren alcohol de manera crónica (Qulali y Crabb, 1992; Qulali, y col., 1991; Rachamin y col., 1980; Thechke y Heymman, 1982). Esto también se encontró en sujetos con amplia tolerancia a las drogas. (Van Thiel y col., 1988; 1990; 1998).

Además de conocerse que existen estos dos sistemas enzimáticos para metabolizar el alcohol, también se ha reportado que existen diferencias de género en la ingestión del alcohol, aunque las investigaciones que se han efectuado se han hecho la mayoría de las veces en machos, muestran que las mujeres son más vulnerables al daño producido por el alcohol, desarrollando cirrosis y lesión neurológica por el abuso, en etapas más tempranas, con las mismas dosis y tiempo de ingestión (Norton y col., 1987), aunque estos efectos pueden ocurrir con cantidades moderadas de este tóxico (Harper y col., 1990).

En modelos animales para el estudio del alcoholismo y los índices de preferencia al alcohol, en los consumos voluntario y forzado encontramos que existen diferencias significativas en los consumos entre machos y que estas diferencias son dependientes de la naturaleza de los esquemas de ingestión (Juárez, y col., 1999); que los roedores hembras consumen más alcohol y responden de forma diferente comparadas con machos de sus mismas características (Middaugh, y col., 1992), que las diferencias encontradas pueden estar basadas en una compleja interacción de factores sociales, genéticos, hormonales, neurobiológicos y del entorno (Mezzey y col., 1982; 1992).

En ratas macho la tasa metabólica del alcohol parece estar limitada por la actividad de la alcohol deshidrogenasa y modulada por la testosterona (Rachamin y col., 1980).

El sistema MEOS juega un papel importante en los cambios de eliminación del etanol. Se ha observado que después de la castración y la administración de dihidrotestosterona esta actividad queda alterada (Mezey y col., 1982; 1992; 1998).

Se ha descrito también que la castración tiene efectos sobre la actividad de las enzimas que metabolizan el alcohol y podría ser impedida con la administración de testosterona; comprobando esto la naturaleza dependiente del sexo y el efecto que tienen las hormonas en el sistema de oxidación microsomal y de la alcohol deshidrogenasa (Tesachke y col., 1982; Messiha, 1983), aumentándose con la castración la actividad de la alcohol deshidrogenasa en el hígado y la tasa de eliminación del alcohol.

#### FACTORES QUE INFLUYEN EN LA INGESTION DE ALCOHOL.

Uno de los factores que determinan las diferencias en el consumo del alcohol es el género del individuo; se conoce que existen diferencias significativas entre sexos en la forma de metabolizar el etanol, lo cual se debe a la acción de las hormonas y su efecto en el metabolismo del etanol.

Se ha descrito que animales prepúberes de ambos sexos muestran altos niveles de actividad de la alcohol deshidrogenasa en el hígado comparada con animales adultos, en donde los niveles son considerablemente menores. Específicamente los adultos femeninos tienen una actividad de la alcohol deshidrogenasa más alta que los adultos masculinos (Rachamin y col., 1980). La castración en sujetos masculinos previene el marcado decremento de la actividad de la alcohol deshidrogenasa y por lo tanto, el metabolismo del alcohol; la ovariectomía en cambio no tiene efecto sobre estos parámetros (Van Thiel y col., 1988; 1998).

En ratas macho la actividad de la alcohol deshidrogenasa está modulada por testosterona (Rachamin y col., 1979). La administración de testosterona en ratas macho y hembra decrementó la tasa metabólica del etanol, la administración de estradiol a sujetos masculinos produce una marcada estimulación del metabolismo del alcohol (Rachamin y col., 1980).

Además de los factores hormonales existen variables que contribuyen a mantener el consumo del alcohol; se ha comprobado que la ingestión de etanol tiene efecto directo sobre la liberación de endorfinas convirtiéndose en una conducta altamente reforzante para el individuo. Una de las ideas más difundidas en los años 70 fue la descripción de la relación entre el consumo de alcohol y los opiodes cerebrales. Existe una relación directa entre el metabolismo del alcohol y la producción de opioides cerebrales; sustancias parecidas a la morfina en su estructura molecular y sus efectos gratificantes. La explicación que le dan algunos investigadores es que el alcohol y los opiodes tienen receptores en común en el cerebro, esto es una hipótesis aunque se ha comprobado que se puede inducir la respuesta farmacológicamente, produciendo bloqueo del dolor y euforia, estos sitios pueden ser ocupados solo por moléculas de estructura específica parecida a la droga y que se acoplan con los mismos receptores (Blum y Payne., 1991).

Otros factores importantes a considerar que influyen en la ingestión del etanol son la dosis, la frecuencia de ingestión y la vía de administración; estas características influyen en la cantidad de etanol en sangre, así como su presencia en el SNC por lo que el efecto puede no dañar o causar la muerte; en algunos casos lo que varía es la vía de exposición, que puede ser oral (los esquemas voluntario o forzado) o por cánulas endogástricas implantadas de manera crónica a través de las cuales se les administra el alcohol. Además, la cantidad de alcohol circulante puede variar por la presencia de alimentos en el tracto digestivo que influyen en su absorción; (Dees y col., 1998) y aplicación endovenosa, agregando a la administración otro factor como es el estrés, sobre todo en el modelo de experimentación animal (Mello y col., 1985).

En cuanto al volumen absoluto de etanol consumido se ha reportado que no es diferente entre los sexos en cualquier condición, sin embargo, las hembras consumen significativamente más alcohol que los machos en todas las condiciones, cuando se considera el consumo por kilogramo de peso corporal. Estas diferencias son significativamente mayores durante la exposición voluntaria que la forzada.

En cuanto a la distribución de los consumos, el consumo voluntario fue distribuido durante más horas a través del día en hembras que en machos (Juárez y Barrios De Tomásí, 1999).



Durante la exposición voluntaria de alcohol y una solución azucarada, se ha encontrado que la ingestión de solución azucarada es mayor que el presentado en el consumo de líquido sin azúcar, de cualquier manera el consumo de alcohol es mantenido en los niveles similares observados en los consumos voluntarios de alcohol y agua, (Juárez y Barrios De Tomásí, 1999).

El consumo voluntario de alcohol y solución azucarada modifican el patrón de consumo de alcohol usualmente presentado durante los ciclos de luz-oscuridad, repercutiendo en la reducción del tiempo de ingestión de alcohol comparado con otras condiciones. Los cambios presentados en los patrones de ingestión en el consumo de alcohol en machos y en hembras son dependientes de la naturaleza del esquema de ingestión. (Juárez y Barrios De Tomásí, 1999).

#### EFFECTO DEL ETANOL EN EL SNC.

Las secreciones testiculares juegan un papel importante en la función prenatal de la diferenciación sexual del cerebro, esto repercute en la diferencia de género y en la preferencia de alcohol entre sujetos machos y hembras (Almeida y col., 1998).

Se han intentado sistemas de medición para establecer una correlación en aliento, sangre, saliva y orina, pero estas son medidas indirectas acerca de los niveles cerebrales; En investigaciones recientes se ha encontrado que en estructuras cerebrales como hipotálamo, estriado y núcleo accumbens las concentraciones de alcohol no muestran grandes diferencias entre sí.

El etanol es distribuido por difusión, como resultado de un aumento en la concentración en el fluido sanguíneo y llega al altamente vascularizado tejido cerebral. Aunque se debe tener cuidado en el paralelismo entre diferentes especies se ha demostrado que la estimación de los niveles de etanol en el cerebro, inferidos desde muestras sanguíneas en humanos es apropiada, estableciendo que el etanol es rápidamente distribuido en el cerebro.

El alcohol produce un rápido y profundo decremento en plasma de los niveles de testosterona como se mencionó anteriormente (Rivier y col., 1999); Además se sugiere que el alcohol actúa sobre la vía neural entre el hipotálamo y las gónadas masculinas (Rivier y col., 1999) alterando el número de receptores, impidiendo la esteroidogénesis de los andrógenos en los testículos o alterando la secreción hipotalámica o pituitaria del factor

liberador de gonadotropinas o de las gonadotropinas, (Bannister y Lowosky, 1987; Ho y col., 1992; Pohl y col., 1987).

Se sabe que la exposición prenatal al alcohol en ratas esta relacionada con una amplia variedad de cambios fisiológicos y conductuales entre los que están incluidos: Déficit en la función reproductiva (Creighton y col., 1991), así como un incremento en los niveles de  $\beta$ -endorfinas. De esta manera, el retardo en el inicio de la pubertad en animales expuestos a alcohol puede presentarse a la par de un incremento de la inhibición que los opioides ejercen en la secreción del factor liberador de la hormona luteinizante (Creighton y col., 1991; Symons y Marks, 1975; Dees y Skelly, 1990; Dees y col., 1990; Hiney y Dees, 1991). Otras investigaciones proponen que la activación del factor liberador de la hormona luteinizante adelanta el inicio de la pubertad en ratas hembras (Henry y col. 1987). Aunque esto parece ser dependiente de una periodo crítico, pues se ha descrito que el tratamiento con alcohol después del destete produce un avance en la apertura vaginal, sin repercutir en el peso corporal, ni en el inicio de la conducta sexual, (Juárez, Barrios De Tomás y Vázquez, 2000) proponiendo que durante el desarrollo hay periodos con diferente sensibilidad a las sustancias endógenas y exógenas que pueden producir efectos opuestos en los sujetos dependiendo de la etapa en que se administren, constituyendo esto un periodo crítico para el alcohol y sus efectos (Juárez, Barrios De Tomás y Vázquez, 2000).

Se ha propuesto también la hipótesis de que los opioides endógenos pueden tener el efecto de retardar la secreción de gonadotropinas en la etapa de la pubertad y esta afectar los mecanismos reguladores de la maduración del sistema nervioso central que controlan el inicio de la pubertad en las ratas hembras; alterándose todo el sistema cuando se administra alcohol; debido a que aumenta la producción de opioides endógenos ( Sirinathsinghi, Motta, y Martini, 1984).

Existe una relación bien conocida entre la ingestión de alcohol y el efecto que este tiene en los opioides. El alcohol disminuye el fluido intersticial testicular, la síntesis y secreción de testosterona, a la vez que produce un aumento de las  $\beta$ -endorfinas; entonces el alcohol al aumentar las  $\beta$ -endorfinas repercute en los niveles de testosterona disminuyéndolos (Adams y col., 1991).

Algunos autores explican la conducta de adicción al alcohol como una búsqueda de mayor secreción de los opioides endógenos como respuesta a una deficiencia de endorfinas (Blum y Payne, 1991).

Se ha propuesto que en la adicción al alcohol pueden estar involucrados los mecanismos de los receptores a opioides y a péptidos opioides y que está asociada a una marcada alteración en los contenidos de proopiomelanocortina en el fluido cerebro-espinal. Estudios realizados en ratas sugieren una posible actividad de los opiáceos endógenos aumentando su secreción con la ingestión de alcohol e inhibiendo también la secreción de testosterona (Adams y col., 1991), este efecto puede ser mediado a través de la conocida habilidad de los antagonista opioides como la naltrexona y la naloxona para estimular la secreción de la hormona luteinizante y de ese modo contrarrestar el efecto inhibitorio de la influencia del alcohol sobre el factor liberador de la hormona luteinizante (Emanuele y col. 1993; 1999; Hiney y col., 1991); Cuando los opioides son bloqueados con naltrexona una droga usada comúnmente con pacientes para disminuir su necesidad de consumir alcohol, también se previene una baja en los niveles séricos de testosterona después de una ingestión aguda de etanol en ratas jóvenes (Emmanuele y col., 1999).

Es bien conocida la función de la testosterona y los estrógenos, que son esteroides anabólicos importantes que juegan un papel significativo en muchos procesos fisiológicos, como son: La diferenciación sexual del cerebro, la función reproductiva, el crecimiento óseo, la maduración y el desarrollo muscular. Por lo tanto, atenuando la cantidad de testosterona o estradiol en cualquier etapa de la vida podrían dañar al individuo, (Emmanuele, 1999). Esta respuesta está determinada por los receptores y la aparición de estos, en el periodo prenatal esta dado posiblemente por cambios celulares evocados por estímulos hormonales que inducen la división celular, crecimiento y muerte celular programada, necesaria para la diferenciación sexual del cerebro; esto ocurre solo en la etapa crítica del desarrollo, pero repercute en la vida adulta del individuo.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Se sabe que la ingestión de alcohol en la población en general ha alcanzado niveles alarmantes, que afecta a todo tipo de individuos de todas las razas, de ambos sexos y en etapas más tempranas de la vida.

Por las implicaciones de esto es importante analizar los factores que influyen en el uso y abuso de una sustancia potencialmente dañina.

Los individuos presentan una amplia variedad de estilos en la ingestión de etanol que va desde ingesta moderada pero constante, hasta cantidades elevadas de alcohol de forma compulsiva.

También hay datos que indican que los patrones de consumo son diferentes entre ambos sexos; lo cual parece ser dependiente de la acción hormonal, produciendo diferencias significativas en el consumo, tiempo de ingestión y daño producido por enfermedades relacionadas.

Es bien conocido el efecto que tiene el etanol en los niveles de esteroides gonadales circulantes (Emmanuelle, 1999) pero el efecto de las hormonas sexuales en el consumo de alcohol ha sido estudiado poco y particularmente en las hembras. Los pocos estudios en este sentido describen que al menos al inicio del tratamiento los estrógenos decrementan el consumo voluntario de alcohol en ratas hembras ovariectomizadas (Almeida y col., 1998; Sandberg y col., 1982; Sandberg y Stewart, 1982). Por otra parte, se ha descrito que los estrógenos incrementan la actividad de la ADH y la tasa metabólica del etanol en ratas, (Almeida y col., 1998; Messiha F. S. 1981; 1983; Mezey, E., 1982; 1992; 1998) lo cual sugeriría que si el alcohol se elimina más rápido se necesitaría consumir mayor cantidad de alcohol para mantener los niveles en sangre.

Se conoce que los estrógenos juegan un papel muy importante en el macho, tanto en la conducta, como en la regulación de diversas variables fisiológicas; ya que esta hormona constituye uno de los principales metabolitos de la testosterona especialmente a nivel central. Sin embargo, hasta donde sabemos, en los únicos estudios de los efectos de los estrógenos sobre el consumo de alcohol en machos existe controversia, pues por una parte indican que los estrógenos incrementan el consumo voluntario de alcohol en ratones machos (Hilakivi, 1996) y por otra, que el estradiol decrementa el consumo voluntario de

etanol en ratas de ambos sexos seleccionadas por su alta preferencia por beber alcohol (Messiha, 1981). Es posible que la discrepancia entre estos estudios se deba a la diferencia de especie utilizada, al uso de diferentes controles o a las diferencias en los sujetos con base en su preferencia por el alcohol.

Por otra parte se tiene evidencia de la importancia de estudiar diferentes modalidades de ingestión de alcohol. Se ha descrito que las hembras consumen significativamente más alcohol que los machos y estas diferencias son mayores durante el consumo voluntario (alcohol-agua), que en el consumo forzado (solo alcohol), (Juárez, J. y Barrios de Tomásí 1999). En este estudio se demostró que los altos niveles de consumo de alcohol en hembras comparadas con los machos y los cambios en los patrones de la ingestión de alcohol fueron dependientes de la naturaleza del esquema de ingestión (Juárez, J. y Barrios de Tomásí 1999). Por lo tanto en el presente estudio se consideró importante analizar el efecto de los estrógenos sobre el consumo voluntario y forzado.

Otro aspecto importante de estudiar son los efectos de los esteroides sexuales sobre los patrones de consumo en el ciclo de luz-oscuridad, aunque se sabe que los estrógenos tienen efecto sobre el volumen total ingerido, no se conoce como se podría afectar el patrón de ingestión a lo largo del día. Por lo que consideramos de significativa importancia conocer el efecto del estradiol sobre la ingestión de alcohol y la repercusión que éste pudiese tener en los patrones de ingestión en el ciclo de luz-oscuridad.

#### OBJETIVOS DEL EXPERIMENTO I

- 1.- Estudiar el efecto del tratamiento con benzoato de estradiol sobre el consumo de alcohol en las condiciones de consumo voluntario y consumo forzado.
- 2.- Estudiar el efecto del tratamiento con benzoato de estradiol sobre los patrones de ingestión de alcohol en el ciclo luz-oscuridad en las condiciones voluntaria y forzada.
- 3.- Estudiar el efecto del Benzoato de estradiol sobre el consumo de alimento y el peso corporal en las diferentes condiciones de ingestión de alcohol forzado y voluntario.

## HIPÓTESIS

El tratamiento con benzoato de estradiol incrementará el consumo del alcohol sin modificar el patrón de ingestión durante el ciclo luz-oscuridad.

El tratamiento con benzoato de estradiol modificará de forma diferente los patrones de consumo dependiendo de las características del consumo de alcohol voluntario y forzado.

El tratamiento con benzoato de estradiol disminuirá el consumo de alimento y el peso corporal.

## VARIABLES EXPERIMENTO I

### *INDEPENDIENTES*

Tratamiento con benzoato de estradiol.

Exposición forzada y voluntaria

Ciclo luz-oscuridad.

### *DEPENDIENTES*

Consumo de alcohol en solución con azúcar en sus dos modalidades (consumo voluntario y consumo forzado).

Consumo de alimento.

Peso corporal

Patrones de ingestión de alcohol en el ciclo luz-oscuridad.

## MATERIAL Y METODOS.

Sujetos: Ratas macho de la cepa Wistar de 90 días de edad de una colonia del instituto de neurociencias de la Universidad de Guadalajara, íntegros físicamente, alimentados *ad libitum*, con un peso promedio de 345 gr. sin ningún tipo de manipulación previa y mantenidas desde el nacimiento en condiciones estándar de laboratorio. Los sujetos se tomaron de una muestra estándar y no fueron seleccionados por su preferencia al alcohol. Desde el principio mostraron bajos consumos de alcohol, característicos de estos animales de laboratorio que no han sido expuestos a este fármaco. Fueron puestos en ciclos de luz-oscuridad 12 hrs. X 12 hrs. La luz se prendió a las 8.00 de la mañana y alimentadas con

pellets, (Ralston Rations, Purina) a libre demanda. Temperatura, alimentación y los ciclos de luz-oscuridad mantenidos de forma idéntica en el curso del estudio. Dieciséis machos provenientes de diferentes camadas se pusieron en grupos de 4 individuos cada uno, desde el destete hasta los 82 días de edad y mantenidos en cajas individuales a partir de los 83 días de edad.

A los 90 días de edad, estos machos fueron individualmente expuestos a diferentes bebidas y condiciones experimentales que serán descritas a continuación.

Tabla 1. Diseño experimental y esquema de tratamiento del primer experimento.

Consumo de alcohol forzado (CF) y voluntario (CV); Benzoato de estradiol (BE); Precastración (PreC); Post-castración (PosC); Tratamiento con Estradiol (E) y periodo de post-estradiol (PosE).

Edad en días	16 machos en cajas individuales.	Periodo
83-89	Habituaación a cajas individuales	
90-111	CF (4 de esos días en dipsómetro)	PreC1 (días 90-100) PreC2 (días 101-111)
112-133	CV(4 de esos días en dipsómetro)	PreC1 (días 112-122) PreC2 (días 123-133)
134-136	Castración para 8 machos y falsa castración para 8 machos	C y FC
137-146	Periodo posquirúrgico de recuperación ( solo agua)	Recup
147-150	CV (1 día en dipsómetro)	PosC
151-154	CF (1 día en dipsómetro)	PosC
155-158	CV	PosC
159-166	5 µg de BE/día/macho (por 8 días) CV desde el día 159 al 162 (1 de esos días en dipsómetro) CF desde el día 163 al 166 (1 de esos días en dipsómetro)	E E
167-174	CV	PosE (día 171-174)
175-178	CF	PosE

#### CONSUMO FORZADO DE ALCOHOL (CF) EN EL PERIODO DE PRE-CASTRACION (PreC).

A los 90 días de edad y después de una semana de habituación en cajas individuales, los 16 machos fueron continuamente expuestos a una solución conteniendo etanol al 6% (99.8% MERCK), agua y dos gramos de azúcar/100ml de líquido durante 22 días. Esta solución fue el único líquido disponible en las jaulas, todos los sujetos fueron probados de forma individual en el sistema de dipsometria durante 24 horas cada 4-6 días durante la condición de pre-castración. El consumo de alcohol fue medido diariamente a la misma hora.

#### CONSUMO VOLUNTARIO (CV) DE ALCOHOL EN EL PERIODO DE PRE-CASTRACION (PreC).

Después de los 22 días de acceso continuo a la ingestión de alcohol forzado, un bebedero conteniendo una solución de agua mas 2 gramos de glucosa/100 ml de liquido (vehículo) fue adicionado a cada caja, por lo tanto el libre acceso al etanol y al vehículo les fue permitido de forma continua durante 22 días. Todos los machos fueron probados de forma individual en el sistema de dipsometría durante 24 horas cada 4 a 6 días, de esta manera los patrones de consumo voluntario de alcohol de cada macho fueron registrados cuatro días en la condición de PreC.

#### CASTRACIÓN Y FALSA CASTRACIÓN (gonadectomía).

Inmediatamente después de la condición previa, a los 134 días de edad todos los machos (n-16) fueron sometidos a un procedimiento quirúrgico, anestesiados con pentobarbital sódico (40mg/kg) y atropina (0.05mg/kg) en dosis única por vía intraperitoneal, se les efectuó una incisión en el escroto y se les extrajeron las gónadas a la mitad de los sujetos (n-8) que formo el grupo de castrados (C) y los restantes (n-8) fueron castrados falsamente (FC) utilizando el mismo procedimiento quirúrgico y anestésico que en el grupo de C, pero las gónadas quedaron intactas en el grupo de FC.

Un periodo de 9-10 días de recuperación fue permitido después del procedimiento quirúrgico. Durante este periodo solo se les administró agua simple.

#### CONSUMO VOLUNTARIO Y FORZADO DE ALCOHOL EN EL PERIODO DE POSCASTRACION (PosC).

Tomando en cuenta que en el periodo post-quirúrgico los sujetos fueron expuestos solamente a agua y esto podría tener influencia en el consumo subsiguiente de alcohol, el consumo voluntario de alcohol fue evaluado después del periodo post-quirúrgico y después de un periodo de consumo forzado de alcohol. Por lo tanto los machos fueron expuestos al CV durante cuatro días, mas tarde en el CF durante 4 días y finalmente el CV por cuatro días adicionales. El análisis para evaluar las posibles diferencias entre estos dos periodos de CV mostraron que no fueron diferentes en el consumo de alcohol entre ellos, por lo tanto los dos periodos de CV fueron promediados para propósito de análisis. Los líquidos disponibles en las condiciones de consumo voluntario y forzado tuvieron las mismas



características descritas en el periodo de PreC. En este periodo de PosC los machos fueron probados en el sistema de dipsometría en el tercero y cuarto día del primer periodo de CV y en el tercer o cuarto día del único periodo de CF (un día en cada condición).

#### CONSUMO VOLUNTARIO Y FORZADO DE ALCOHOL DURANTE EL TRATAMIENTO CON ESTRADIOL (E).

Inmediatamente después del periodo previo fueron administrados 5µg de benzoato de estradiol/sujeto/día durante 8 días, a ambos grupos de machos (C y FC). Ambos grupos fueron expuestos a consumo voluntario y forzado durante los primeros 4 días de este tratamiento y más tarde a CF durante los últimos cuatro días. En un estudio previo utilizando la misma dosis de E durante el mismo periodo (8 días), no se encontraron diferencias en el consumo de alcohol entre los primeros 4 días y los últimos 4 días de tratamiento. Todos los machos fueron probados en el equipo de dipsometría durante 24 horas en el tercero o cuarto día de cada condición de consumo de alcohol (CV y CF) en estos periodos de tratamiento con E.

#### CONSUMO VOLUNTARIO Y FORZADO DE ALCOHOL EN EL PERIODO DE POST-ESTRADIOL (PosE).

El mismo esquema de exposición al alcohol usado durante el tratamiento con E fue analizado después del tratamiento con E (periodo de post-estradiol), esto es 4 días de exposición voluntaria al alcohol y cuatro días de exposición forzada al alcohol. Los machos fueron expuestos a CV después de tratamiento con E, pero analizamos el periodo de posE a partir del quinto día, después de la última inyección de E para permitir la eliminación de la hormona exógena. Como en el periodo previo, los machos fueron probados en el dipsómetro durante 24 horas en cada condición de consumo de alcohol (CV y CF).

El método utilizado para medir la ingestión de alimentos y el peso corporal fue en forma manual con una báscula y el de líquidos con probetas graduadas.

#### SISTEMA DE REGISTRO DE DIPSOMETRIA.

Para evaluar el consumo de líquidos los machos fueron puestos en cajas individuales conectadas a un sistema computarizado (MED Associates, Inc., USA) durante 24 horas con el propósito de estudiar los patrones en el consumo de alcohol a lo largo del día y su posible modificación durante las diferentes condiciones experimentales. Las dimensiones

de estas cajas fueron similares a las cajas habitación estándar y el registro se inició siempre a las 14:00 P. M. el sistema de registro en dipsómetro se efectuó en tiempo real las 24 horas, registrando la frecuencia en intervalos de 10 minutos, con el objeto de estudiar los patrones de consumo de alcohol a lo largo del día, obteniéndose de esta forma 144 registros diarios de cada sujeto en cada condición experimental.

El consumo total de líquidos disponibles y de la comida fue medido cada 24 horas en todas las condiciones experimentales. El peso corporal fue registrado periódicamente. Los machos no tenían experiencia en la ingestión de cualquier otro líquido que no fuera agua simple antes de iniciar el estudio.

Considerando los cambios en los accesos al dipsómetro dependiendo del ciclo luz-oscuridad los datos de los diferentes registros fueron divididos en dos fases: La fase de luz, que abarca desde las 8.00 A. M. hasta las 7.59 P. M. y la fase de oscuridad desde las 8.00 P.M. a las 7.59 A. M. Para analizar el número de accesos al bebedero por intervalo de tiempo se consideraron diferentes tasas de lameteos/10 min. (21-150, 151-300, 301-450, 451-600, 601-750 y mayor de 750).

#### ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL PRIMER EXPERIMENTO.

El periodo de PreC en el CV así como en el CF ( de 22 días cada uno) fue elegido para permitir una suficiente familiarización con el sabor y las condiciones de los líquidos disponibles (Juárez y Barrios de Tomás 1999). Considerando la posibilidad de que los sujetos desarrollaran tolerancia al alcohol a lo largo de estos periodos, cada uno fue dividido en dos (de 11 días por periodo). Por lo tanto los dos periodos (PreC1 y PreC2) para la condición voluntaria y forzada fueron analizados separadamente.

Efectuamos un análisis de varianza (ANDEVA) de dos factores (condición fisiológica ( FC y C) por periodos experimentales (PreC1, PreC2, PosC, E y PosE) que fueron utilizados para analizar la ingestión de alimentos y la cantidad de consumo de alcohol y vehículo. ANDEVAs de dos factores (fases (luz-oscuridad) por periodos experimentales (PreC1, PreC2, PosC, E y PosE) fueron usados para analizar la frecuencia de accesos a los dipsómetros por cada líquido y por cada grupo de machos separadamente. ANDEVAs de dos factores (fase (luz-oscuridad) por intervalos en los rangos de lameteos (21-150, 151-300, 301-450, 541-600 y más de 750 lameteos/10 min.) fueron usados para analizar la

distribución y el tamaño de los accesos de los lameteos para cada periodo y cada grupo de machos separadamente.

La prueba de Tukey fue usada para comparar los pares cuando el efecto principal de alguno de los factores o sus interacciones fueron significativos. Un valor de  $P < 0.05$  fue considerado estadísticamente significativo.

## RESULTADOS DEL PRIMER EXPERIMENTO

### CONSUMO DE ALCOHOL EN EXPOSICIÓN FORZADA

Para analizar la cantidad de alcohol consumida en los diferentes periodos durante la exposición forzada utilizamos un análisis de varianza de dos factores: condición fisiológica (C y FC) por periodos experimentales (PreC1, PreC2, PosC, E y PosE). Este análisis mostró los siguientes resultados: encontramos diferencias significativas entre los periodos experimentales [ $F(4,56)=36.09$ ,  $P<0.0001$ ] independientemente de la condición gonadal de los machos, esto indicó que el consumo de alcohol en los dos periodos de precastración (PreC1 y PreC2) fue mas alto que los periodos de PosC, E y PosE, al mismo tiempo el consumo de alcohol fue menor en el periodo de PreC1 que el periodo de PreC2; no se encontraron diferencias entre los grupos de machos (C y FC) ni en la interacción entre los factores analizados, (Fig. 1).

### Consumo de alcohol en exposición forzada

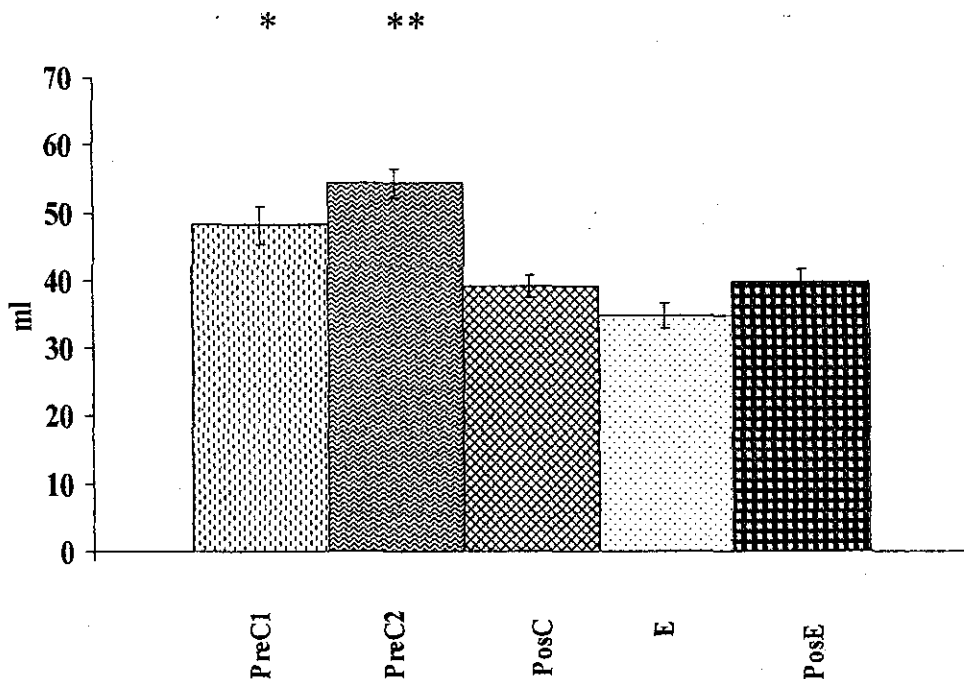


Fig. 1. Consumo de alcohol en ml en exposición forzada, en ambos grupos de machos C y FC en los diferentes periodos experimentales, PreC1, PreC2, PosC, E y PosE. Las barras representan el promedio ( $\pm$ EE). Diferencias significativas  $<0.05$ .(\*\*) significativamente mayor que PreC1, PosC, E, y PosE. (\*) significativamente mayor que PosC, E y PosE.

### CONSUMO DE ALCOHOL EN EXPOSICIÓN VOLUNTARIA.

En cuanto al consumo voluntario de alcohol (ml) efectuamos un análisis de varianza de dos factores: condición fisiológica de los machos (C y FC), por periodos experimentales (PreC1, PreC2, PosC, E y PosE); encontrando diferencias significativas entre los periodos [ $F(4,56)=17.93$ ,  $P<0.0001$ ] independientemente de la condición gonadal de los machos; estos datos indican un alto consumo de alcohol durante el periodo experimental de PreC1 con respecto a todos los otros periodos y un alto consumo de alcohol en PreC2 al compararlo con la etapa de aplicación de estradiol. No hubo diferencias significativas entre los machos C y FC independientemente de los periodos experimentales, pero la interacción entre los factores analizados fue significativa [ $F(4,56)=3.98$ ,  $P=.0065$ ]. Esta interacción mostró que el consumo de alcohol fue decrecientandose paulatinamente desde el periodo de PreC1 hasta periodo de PosE en el grupo de FC y el análisis de las diferencias entre los periodos indica un consumo significativamente mayor de alcohol en la etapa de PreC1 al compararla con los periodos de PosC y PosE y un consumo significativamente mayor en el periodo de PreC2 al compararlo con los periodos de E Y PosE (Fig. 2). Por otra parte los machos C mostraron un decremento menos pronunciado en el consumo de alcohol desde la etapa de PreC1 hasta el periodo de PosC y un decremento significativo con el tratamiento con E. Posteriormente se pudo observar una significativa recuperación en el consumo de alcohol durante el periodo de PosE, (Fig. 2). El análisis de las diferencias entre los periodos mostró que el consumo de alcohol fue significativamente menor en el tratamiento con E al compararlo con el periodo de PreC1, PreC2 y PosE y las diferencias entre los periodos de PreC1 PreC2, PosC y PosE no fueron significativas en este grupo de machos castrados.

En el análisis de consumo de vehículo durante la exposición voluntaria, cuando tenían disponible alcohol y vehículo, no mostró diferencias significativas.

### CONSUMO DE ALIMENTO EN GRAMOS EN EXPOSICION FORZADA.

Efectuamos un análisis de varianza de dos factores condición fisiológica (C y FC) por periodos experimentales (PreC1, PreC2, PosC, E y PosE); Este análisis mostró diferencias entre los periodos en la exposición forzada cuando el alcohol fue el único liquido disponible, los machos consumieron significativamente menos alimento cuando estuvieron expuestos a estradiol, [ $F(4,56)=7.77$ ,  $P=0001$ ], (Fig. 3).

## Consumo de alcohol en exposición voluntaria

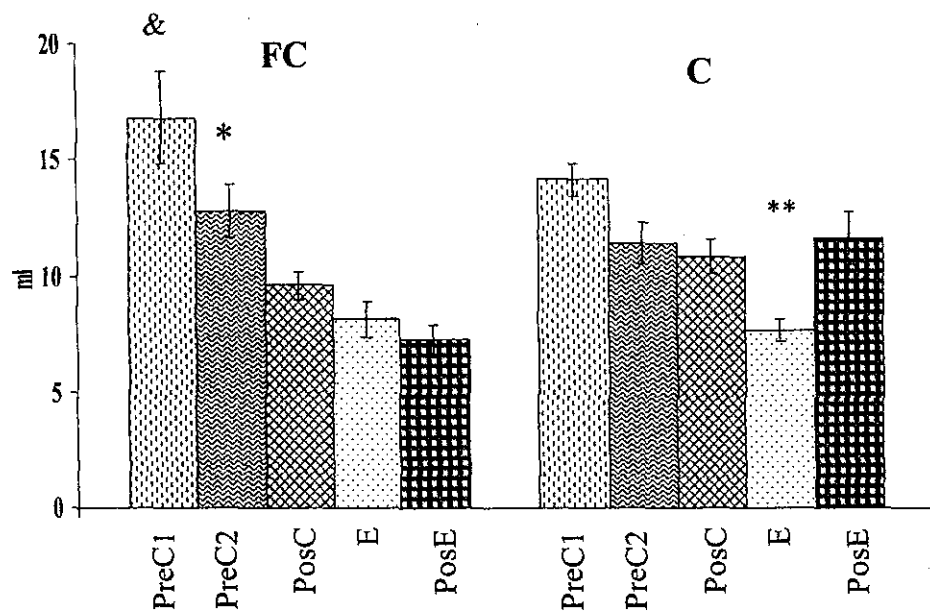


Fig. 2. Consumo de alcohol en ml en condición voluntaria (alcohol-agua) en machos FC y C en periodos de PreC1, PreC2, PosC, E y PosE. Las barras representan el promedio ( $\pm$ EE) de los sujetos. Diferencias significativas  $p < 0.05$  (&) significativamente mayor que PosC, E y PosE, (\*) significativamente mayor que E y PosE, (\*\*) significativamente menor que PreC1, PreC2 Y PosE.

## Consumo de alimento en gramos en exposicion forzada.

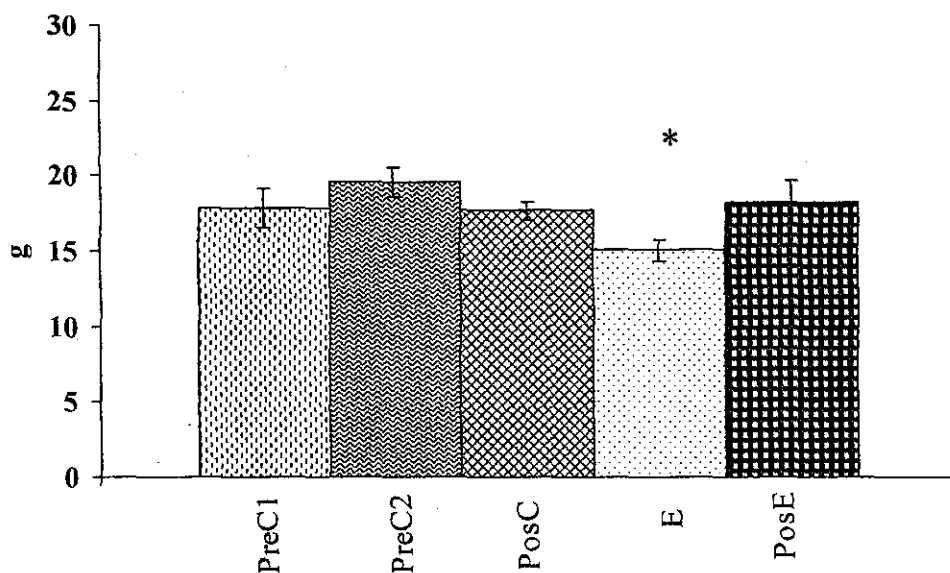


Fig. 3. Consumo de alimentos en machos C y FC en exposicion forzada, la gráfica representa las diferencias entre los promedios ( $\pm$ EE) de los diferentes periodos experimentales: PreC1, PreC2, PosC, E y PosE. Diferencias significativas,  $p < 0.05$ . (\*) Significativamente menor que PreC1, PreC2, PosC y PosE.

#### CONSUMO DE ALIMENTO EN GRAMOS, EXPOSICIÓN VOLUNTARIA.

Al igual que en el anterior analizamos dos factores, condición fisiológica (C y FC) por periodos experimentales (PreC1, PreC2, PosC, E y PosE), este análisis mostró también un menor consumo de alimento durante el tratamiento con E,  $F(4,56)=11.38$   $P<0.0001$ ], (Fig.4).

Ambos análisis en exposición voluntaria y forzada muestran un consumo significativamente menor de alimentos durante el periodo de exposición a E, al compararlos con los otros periodos, a pesar de la condición gonadal de los machos (Fig. 3 y 4) esto indica que no se observaron diferencias significativas entre los grupos C y FC.

Tomando en cuenta que los consumos de alcohol y la ingestión de alimento se disminuyeron por la aplicación del estradiol, analizamos la correlación entre el total de líquidos consumidos y el total de alimentos para cada sujeto por día y para cada periodo. Estos datos no mostraron correlación significativa entre las variables analizadas en los machos C o FC.

#### Consumo de alimento en gramos en exposicion voluntaria.

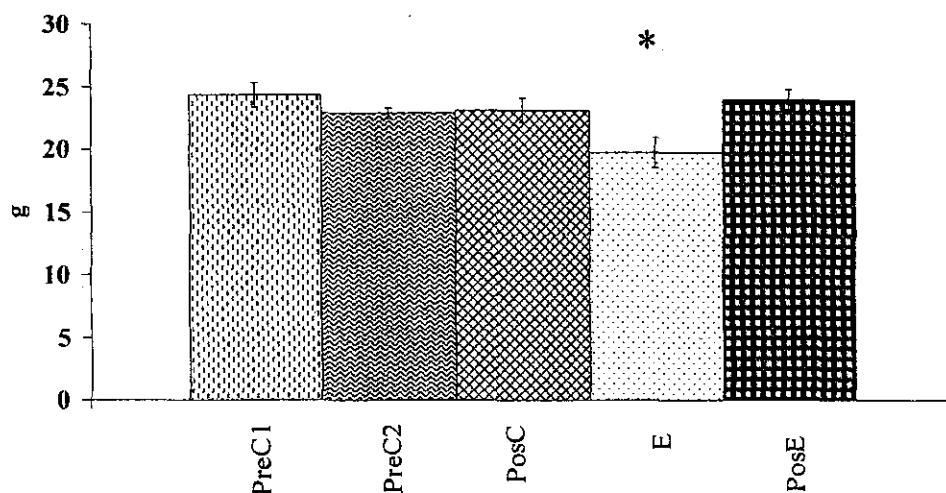


Fig. 4. Consumo de alimentos en gramos en exposición voluntaria. La gráfica representa los promedios ( $\pm$ EE) de los diferentes periodos experimentales. PreC1, PreC2, PosC, E y PosE. Diferencias significativas  $p<0.05$ . (\*) Significativamente menor que PreC1, PreC2, PosC y PosE.

Consideramos que sería importante conocer además del total de líquidos ingeridos por los sujetos durante el experimento, su distribución en el tiempo, por lo que efectuamos un análisis de los patrones de consumo durante las 24 horas del día, estos análisis arrojaron los siguientes resultados: Como se esperaba por la actividad nocturna de estos animales, durante la fase de oscuridad ingirieron mayores volúmenes de cualquiera de los líquidos, en todas las manipulaciones experimentales.

#### FRECUENCIA DE ACCESO EN EL CONSUMO VOLUNTARIO DE ALCOHOL DURANTE EL CICLO LUZ-OSCURIDAD.

Para determinar la frecuencia de accesos (lameteos) al alcohol durante la fase de luz y de oscuridad en los diferentes periodos, efectuamos un análisis de varianza de dos factores: ciclos (luz-oscuridad) por periodos experimentales (PreC1, PreC2, PosC, E Y PosE), para cada grupo por separado, mostrando diferencias significativamente mayores en la frecuencia de accesos al alcohol en la fase de oscuridad comparada con la fase de luz, en los periodos PosC, E y PosE, en los machos FC [ $F(7,63)=2.22$ ,  $P=0.044$ ]; en todos los machos C a pesar de los periodos experimentales los consumos fueron significativamente mayores en la fase de oscuridad [ $F(7,63)=2.27$ ,  $P=0.040$ ].(Fig. 5)

#### FRECUENCIA DE ACCESO EN EL CONSUMO FORZADO DE ALCOHOL DURANTE EL CICLO LUZ-OSCURIDAD.

Para determinar la frecuencia de accesos (lameteos) al alcohol durante la fase de luz y de oscuridad en los diferentes periodos, efectuamos una análisis de varianza de dos factores: ciclos (luz-oscuridad) por periodos experimentales (PreC1, PreC2, PosC, E Y PosE), para cada grupo por separado, mostrando diferencias significativamente mayores en la frecuencia de accesos al alcohol en la fase de oscuridad que en la fase de luz, a pesar de los periodos en los machos FC [ $F(1,63)=116.68$ ,  $P<0.0001$ ] y en los machos C [ $F(1,63)=45.39$ ,  $P=0.0001$ ]. Diferencias entre los periodos experimentales a pesar de la fase fueron significativas solo en machos C [ $F(4,63)=3.75$ ,  $P=0.008$ ]. Estas diferencias indican una frecuencia de accesos mayor en PreC1 al compararla con PosC y durante el tratamiento con E. (Fig.6).



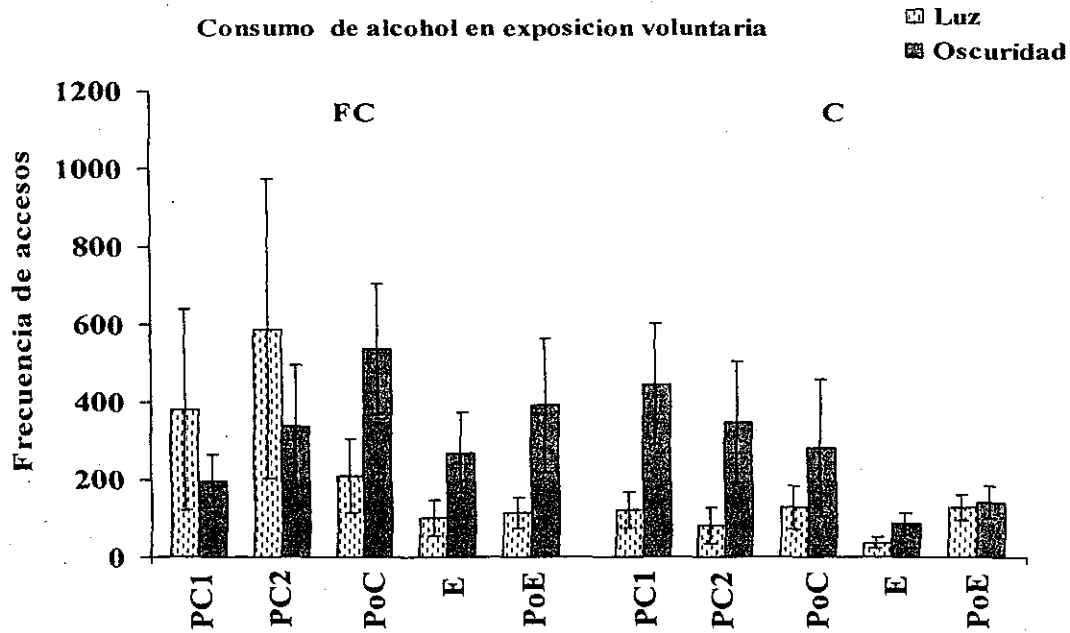


Fig. 5. Frecuencia de accesos al dipsometro en el ciclo de luz-oscuridad en condición voluntaria en machos FC y C en los periodos de PC1, PC2, PoC, E y PoE. Los machos FC y C se analizaron por separado. Las barras representan el promedio ( $\pm$ EE) de las frecuencias de acceso de los sujetos.

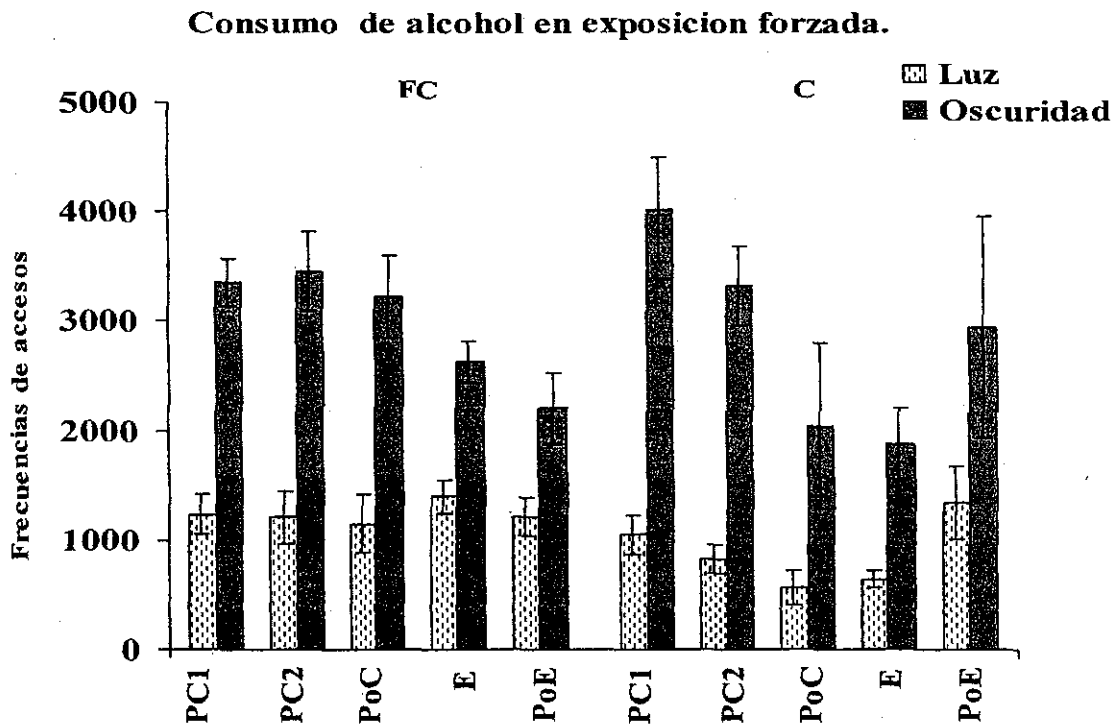


Fig. 6. Frecuencia de accesos al dipsometro en el ciclo de luz-oscuridad en condición forzada en machos FC y C en los periodos de PC1, PC2, PoC, E y PoE. Los machos FC y C se analizaron por separado. Las barras representan el promedio ( $\pm$ EE) de las frecuencias de acceso de los sujetos.

Además de lo anterior consideramos importante no solo conocer los volúmenes de agua y alcohol ingeridos durante los ciclos de luz-oscuridad, también analizamos como distribuyen esta ingestión durante las 24 horas. Para este fin efectuamos un análisis para cada grupo (C y FC) y para cada condición experimental por separado, PreC, PosC, E y PosE, estos análisis fueron de dos factores: fases (luz-oscuridad) por intervalos en la tasa de lameteos/10 min. (20-150, 151-300, 301-450, 451-600 y >750).

#### INTERVALO DE FRECUENCIA DE LAMETEOS FALSOS CASTRADOS EN ALCOHOL FORZADO.

Diferencias entre los rangos de lameteos a pesar de las fases indican que el rango de lameteo de 20-150 lameteos/10 minutos fue el rango de lameteo más frecuente en ambos grupos C y FC.

El intervalo de frecuencia de 20-150 fue el intervalo significativamente mayor en todos los intervalos estudiados en el grupo de FC, las diferencias con otros intervalos de lameteos fueron menos evidentes que las observadas en el grupo de machos C. Esto indica que el intervalo de 20-150 fue significativamente más frecuente que el intervalo de 601-750 lameteos/10 min. en el periodo de PreC [ $F(5,77)=2.89$ ,  $P=0.019$ ] y más frecuente que los rangos arriba de 451-600 lameteos/10 min. En el periodo de PosC [ $F(5,77)=6.43$ ,  $P=0.0001$ ]. Frecuentemente los accesos tienden a decrementarse en muchos rangos de lameteo durante el tratamiento con E, pero las diferencias significativas [ $F(5,55)=2.79$ ,  $P=0.026$ ] indican que el intervalo de 20-150 fue el más frecuente que los rangos arriba de 750 lameteos. Las mayores diferencias entre los intervalos de lameteos en el grupo de FC fueron observadas durante el periodo posterior a la aplicación de estradiol (PosE), donde los intervalos de 20-150 y 151-300 lameteos/10 min. fueron significativamente más frecuente que los intervalos arriba de 301-450 lameteos [ $F(5,66)=14.71$ ,  $P<0.0001$ ], (Fig. 7).

Finalmente el intervalo de lameteos de 301-450 fue mas frecuente que los rangos arriba de 600 lameteos en el periodo de PosC. Es importante puntualizar que dadas las diferencias significativas entre los rangos de lameteo en los diferentes periodos, la frecuencia de lameteos por día no presentó diferencias significativas entre los periodos ni entre machos C y FC.

## INTERVALO DE FRECUENCIA DE LAMETEOS MACHOS CASTRADOS EN ALCOHOL FORZADO.

Como se efectuó para FC, aquí hicimos un análisis de varianza de dos factores: fases (luz-oscuridad) por intervalos de lameteo (20-150, 151-300, 301-450, 451-600, 601-750 y >750).

En la etapa de PreC el intervalo de frecuencia de lameteos de 20-150 fue significativamente mayor a los intervalos de frecuencia de lameteos de 301-450 y los mayores de 601-750;  $[F(5,77)=4.8, P=0.001]$ , (Fig. 8).

En la etapa posterior a la castración (PosC), el intervalo de frecuencia de lameteos de 20-150 fue significativamente mayor con todos los otros intervalos de frecuencia de consumo.  $[F(5,66)=25.38, P<0.0001]$ , (Fig. 8).

En la etapa de la exposición al E el intervalo de frecuencia de lameteos de 20-150 fue significativamente mayor a todos las demás intervalos de frecuencia; y el intervalo de frecuencia de lameteos de 151-300 también fue significativamente mayor al intervalo de frecuencia de lameteos de 451-600, 601-750 y >750,  $[F(5,55)=14.05, P<0.0001]$ . (Fig. 8)

En la etapa posterior al tratamiento con E (PosE) el intervalo de frecuencia de lameteos de 20-150 fue significativamente mayor con todos las demás intervalos de frecuencia; el intervalo de frecuencia de 151-300 fue significativamente mayor a los intervalos de frecuencia de 451-600,  $[F(5,77)=20.50, P<0.0001]$ , (Fig. 8).

Podemos observar que la castración reduce notablemente el tamaño de los rangos de lameteo sin afectar el número de accesos al bebedero, por otra parte en el periodo de PosE observamos las mismas diferencias significativas entre los rangos que fueron observados en el periodo de E, esto indica patrones similares de consumo de alcohol, pero la frecuencia de accesos al bebedero tiende a ser mas alta en el periodo de PosE que en el periodo de E en todos los rangos de lameteo.

**Intervalo de frecuencia de lameteos, falsos castrados,  
alcohol forzado**

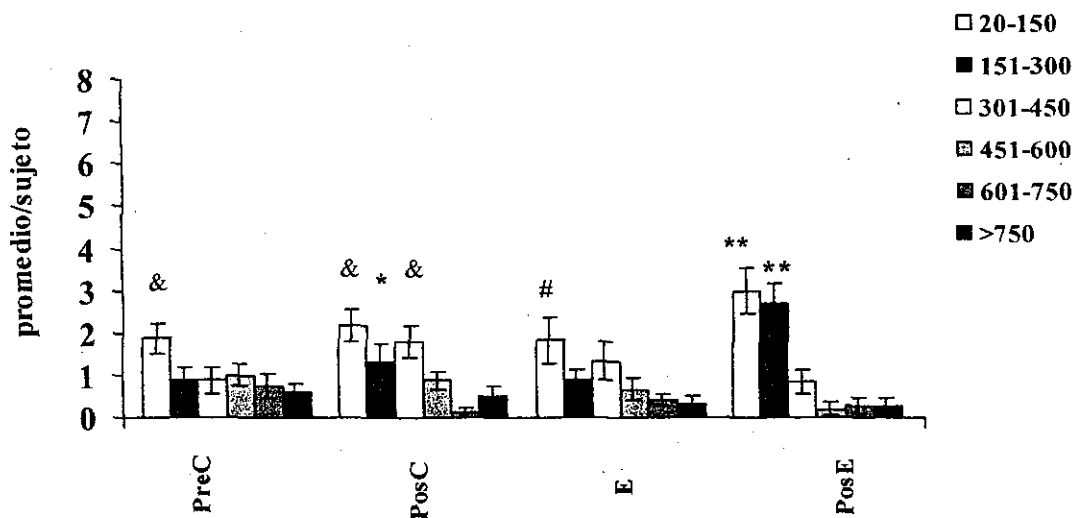


Fig. 7. Diferencias de intervalo de frecuencia de lameteos en condición forzada para machos FC en las etapas de PreC, PosC, E y PosE. Las barras indican el promedio/día/sujeto ( $\pm$ EE) de la frecuencia de cada rango lameteo/10 min entre los periodos de 20 hasta >750. Diferencias significativas  $p < 0.05$ . (\*\*). Significativamente mayor de 301-450, 451-600, 601-750 y >750; (\*) significativamente mayor que 451-600, (&); significativamente mayor a 601-750 y >750; (#) significativamente mayor que el rango de 601-750.

**Intervalo de frecuencia de lameteos, castrados, alcohol  
forzado.**

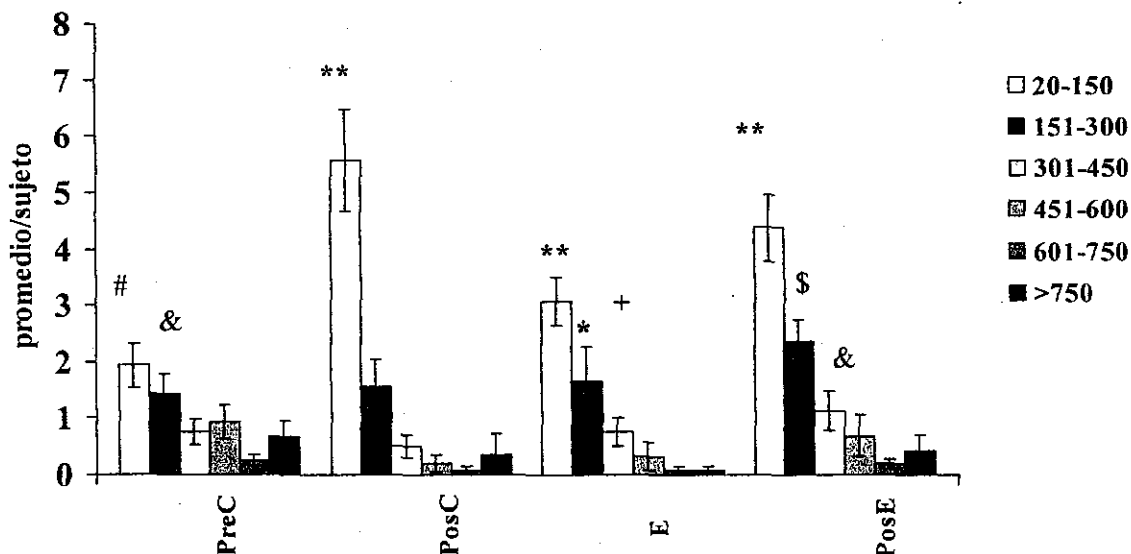


Fig. 8. Diferencias de intervalo defrecuencia de lameteos en condición forzada para machos C, en las etapas de PreC, PosC, E, y PosE. Cada tratamiento se analizó por separado. Las barras indican el promedio ( $\pm$ EE) por sujeto de la frecuencia de lameteos/10 min entre 20>750. Diferencias significativas  $p < 0.05$ . (\*\*) Significativamente mayor a 151-300, 301-450, 451-600, 601-750 y >750; (#) mayor a 451-600, y >750; (+) mayor que 601-750; (\*) mayor que 301-450, > 750; (&) mayor que >750; (\$) mayor 601-750 y >750.

## INTERVALO DE FRECUENCIA DE LAMETEOS FALSOS CASTRADOS EN ALCOHOL VOLUNTARIO.

El análisis de varianza se efectuó para C y FC de forma independiente, y se analizó por separado cada condición experimental, efectuándose una análisis de dos factores ciclos (luz-oscuridad) por intervalos (20-150, 151-300, 301-450, 451-600, 601-750 y >750). Encontramos que la frecuencia de lameteos fue significativamente más alta en la fase de oscuridad al compararla con la fase de luz, y esto se dio solo en el periodo de PosC en el intervalo de la frecuencia de 20-150 con respecto a todas las demás [ $F(1,77)=4,49$   $P<0.037$ ]. En los últimos tres diferentes rangos de lameteo ocurridos en cada periodo y los patrones de lameteo encontramos que fueron similares entre los diferentes periodos en este grupo de machos comparados con el grupo de machos C, (Fig. 9).

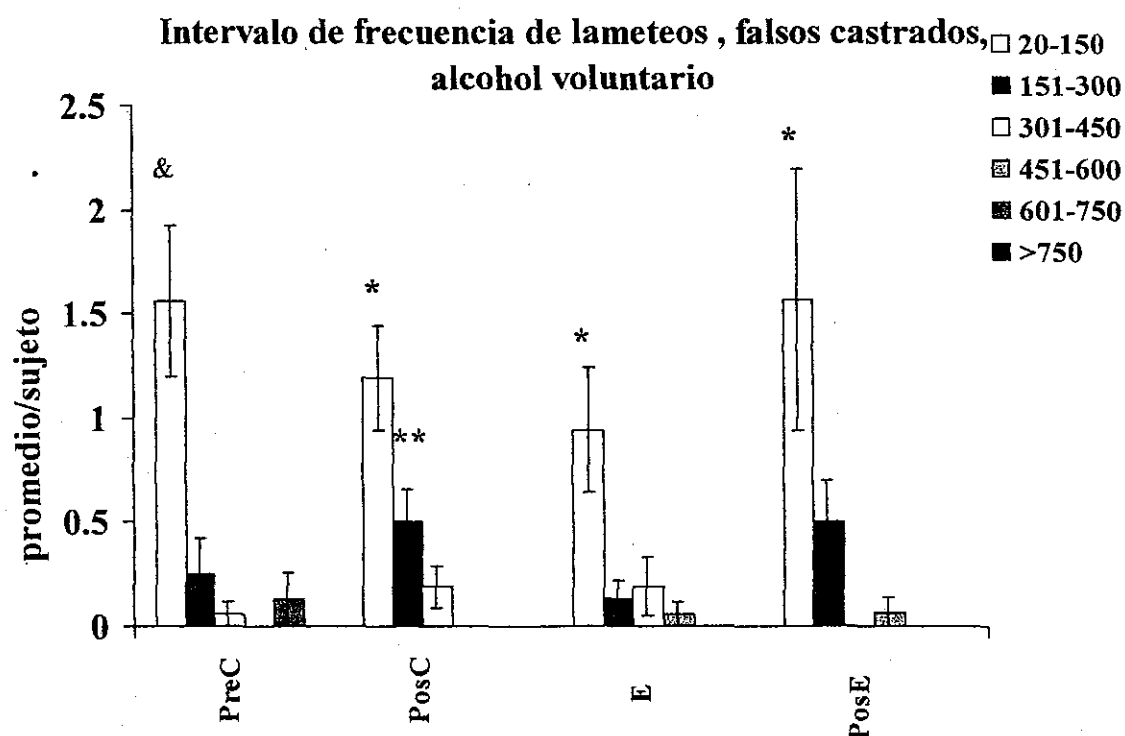


Fig. 9. Diferencias de intervalo de frecuencia de lameteos en condición voluntaria para machos FC en las etapas de PreC, PosC, E y PosE. Las barras indican el promedio ( $\pm$ EE) por sujeto de la frecuencia de lameteos/10 min entre 20>750. Diferencias significativas  $p<0.05$ . (\*) Significativamente mayor que 151-300, 301-450, 451-600, 601-750 y >750; (&) mayor que 301-450, 451-600, 601-750 y >750; (\*\*) mayor a 451-600, 601-750 y >750.

INTERVALO DE FRECUENCIA DE LAMETEOS CASTRADOS EN ALCOHOL VOLUNTRARIO.

Por ultimo continuamos analizando a ambos grupos de machos separados C y FC, y en cada condición experimental, hicimos un análisis de dos factores fases: (luz-oscuridad) por periodos (20-150, 151-300, 301-450, 451-600, 601-750 y >750) y en la etapa previa a la castración (PreC) encontramos diferencias significativamente mayores en el intervalo de la frecuencia de lameteos de 20-150 con respecto a todos los demás intervalos de las frecuencia [F(1,77)=4.37, P<0.04], (Fig. 10). El intervalo de 20-150 lameteos/10 min. fue el intervalo mas frecuente en todos los periodos experimentales, y el único rango observado en el periodo de E y PosE; el rango de 20-150 fue significativamente mas frecuente que los rangos arriba de 300 lameteos/10 min. En los periodos de PreC Y PosC. El rango de menor presentación de accesos ocurrió durante el tratamiento con E; aunque el rango de 20-150 fue el único rango observado en los periodos de E y PosE el promedio de frecuencia de accesos durante el periodo de PosE fue mayor del doble de las frecuencias observadas durante el periodo de aplicación de E. (Fig. 10).

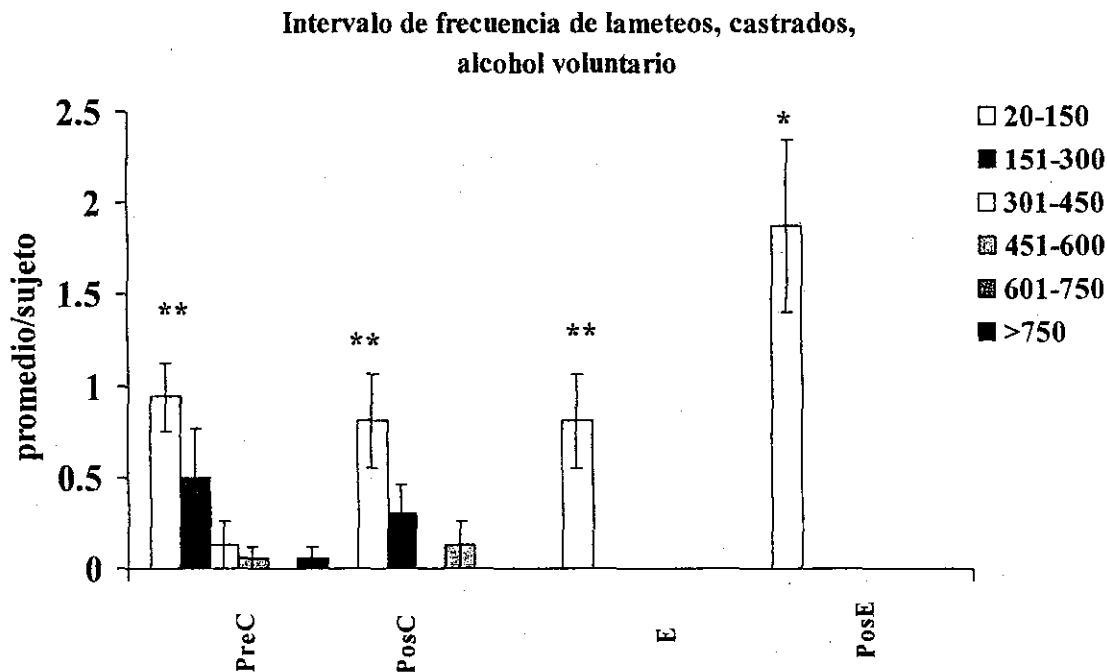


Fig. 10. Diferencias de intervalo de frecuencia de lameteos en condición voluntaria para machos C, en las etapas de PreC, PosC, E y PosE. Las barra indican el promedio ( $\pm$ EE) por sujeto de la frecuencia de lameteos/10 min entre 20-750. Diferencias significativas,  $p < 0.01$ . (\*) Significativamente mayor que 151-300, 301-450, 451-600, 601-750 y >750; (\*\*) significativamente mayor de 301-450, 451-600, 601-750 y >750.

## PESO CORPORAL

A través del registro del peso corporal a lo largo del experimento, encontramos un aumento gradual en los sujetos conforme pasaba el tiempo; hicimos un análisis de varianza de dos factores: condición fisiológica (C y FC) por edad; encontramos que las diferencias en el peso corporal fueron significativas al efectuar la comparación entre las edades,  $F(8,11)=269.31$ ,  $P<0.0001$ ], en todos los registros al aumentar la edad, también aumento el peso corporal; la única excepción fue al final del tratamiento con E, el registro fue significativamente menor que el efectuado 1 semana antes de empezar el tratamiento con E. La interacción entre la edad y la condición gonadal de los machos fue también significativa,  $[F(8,112)=22.86$ ,  $P<0.006]$  esto indica que el peso corporal se incremento de forma significativa dos semanas después del tratamiento con E en el grupo de FC, mientras en los machos C el aumento significativo se dio aproximadamente a las 4 semanas después del tratamiento con E, (Fig. 11).

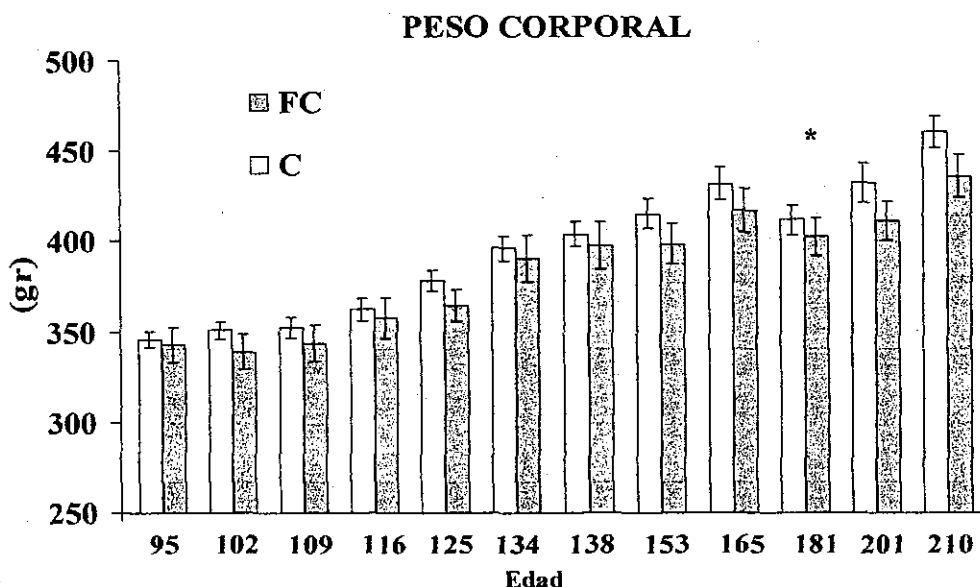


Fig. 11. Peso corporal en gramos a a diferentes edades para FC y C. Las barras representan el promedio ( $\pm$  EE) por sujeto. Diferencias significativas  $p<0.05$  (\*).

## EXPERIMENTO II

### JUSTIFICACIÓN

En el primer experimento se encontró que el estradiol parece inhibir el consumo de alcohol cuando se administra en una solución de alcohol al 6% adicionando 2 gramos de azúcar por cada 100 ml de líquido. En ratas de laboratorio los consumos basales de alcohol son reducidos por lo que es práctica común adicionar a la solución de alcohol azúcar que por sus propiedades gustativas favorece el consumo. Las propiedades gustativas reforzantes del azúcar para los sujetos ya han sido reportadas (Valenstein, E. y col. 1967; Dees, N. K. 1998), esta fue la razón por la que adicionamos azúcar a la solución de alcohol en el primer experimento.

Por otro lado se sabe que los estrógenos tienen una acción importante sobre el sistema opioide, en algunos casos facilitando su actividad, por lo cual cabría la posibilidad de que los efectos encontrados en el primer experimento se debieran a que los estrógenos modificaran la percepción de las propiedades gustativas del líquido que estaban ingiriendo y por lo tanto repercutir de alguna manera en su consumo. Con base en lo anterior consideramos importante deslindar la responsabilidad de un líquido que por sus características sápidas podría favorecer el consumo de alcohol y se planteó el segundo experimento, en el cual se suprimiría el azúcar de la solución de alcohol para eliminar dicha posibilidad.

En el primer experimento se analizaron dos grupos de machos, C y FC. Se conoce que la administración de estrógenos en sujetos intactos produce una inhibición de gonadotropinas que da por resultado un decremento en los niveles endógenos de hormonas sexuales, sin embargo, el grado de inhibición sobre estas últimas es difícil determinarlo a menos que se realicen los estudios específicos para este fin. Por otra parte, considerando que el objetivo primordial de nuestra investigación fue evaluar el efecto de los estrógenos en el consumo del alcohol y no el efecto de la castración como ocurrió de manera accesoria en el primer experimento, decidimos eliminar el grupo de FC en este segundo experimento.



## OBJETIVOS DEL EXPERIMENTO II

- 1.- Estudiar el efecto del tratamiento con benzoato de estradiol sobre el consumo de alcohol en exposición voluntaria y forzada.
- 2.- Estudiar el efecto del tratamiento con benzoato de estradiol sobre los patrones de ingestión de alcohol en el ciclo luz-oscuridad en consumo voluntario y forzado.
- 3.- Estudiar el efecto del Benzoato de estradiol sobre el consumo de alimento y el peso corporal

## HIPÓTESIS

El tratamiento con benzoato de estradiol incrementará el consumo del alcohol.

El tratamiento con benzoato de estradiol modificara cuantitativamente los patrones de consumo, pero las características cualitativas serán mantenidas.

El tratamiento con benzoato de estradiol disminuirá el consumo de alimentos y el peso corporal.

## VARIABLES DEL SEGUNDO EXPERIMENTO

### *INDEPENDIENTES*

Tratamiento con benzoato de estradiol.

Ciclo luz-oscuridad.

Exposición a consumo forzado y voluntario

### *DEPENDIENTES*

Consumo de alcohol sin azúcar en sus dos modalidades (consumo voluntario y forzado).

Consumo de alimento.

Peso corporal.

Patrones de ingestión de alcohol en el ciclo luz-oscuridad.

## METODO DEL SEGUNDO EXPERIMENTO

En este segundo experimento no se estudió a un grupo de falsos castrados ya que nuestro objetivo principal fue valorar el efecto de los estrógenos y no el de la castración. Además en los sujetos falsos castrados es difícil valorar el efecto del estradiol, ya que a pesar de que las hormonas sexuales exógenas inhiben la secreción de gonadotropinas, desconocemos el aporte hormonal endógeno de estos sujetos.

Considerando que uno de los objetivos de esta segunda fase del experimento fue deslindar la responsabilidad del azúcar por sus características gustativas y altamente reforzantes en el consumo de líquidos, suprimimos totalmente el azúcar en este experimento. De esta manera utilizamos dos tipos de consumos: forzado (CF) que consistió en la exposición a un solo bebedero con agua y alcohol al 6%, y voluntario (CV) con dos bebederos, uno con agua y alcohol al 6% y otro con agua simple.

En esta etapa del experimento trabajamos con 10 ratas macho Wistar con características iguales a las del experimento anterior, también se les dieron 8 días como periodo de adaptación a la situación experimental (caja individual) dándoles agua y alimento a libre demanda.

El diseño experimental y el tratamiento se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Diseño experimental y esquema de tratamiento segundo experimento.

Consumo de alcohol forzado (CF) y consumo voluntario (CV); Benzoato de estradiol (E);  
Precastración (PreC); Postestradiol (PosE).

Edad en días	10 machos Wistar en cajas individuales.	periodo
83-89	Habitación en cajas individuales	
90-104	Exposición a consumo forzado (CF) de alcohol al 2%, 4%, 6%, 8% y 6% tres días cada uno.	PreC
105-119	Consumo voluntario (CV) dos bebederos: etanol al 6% y agua simple.	PreC
120-121	Castración para todos los machos	C
122-131	Periodo posquirúrgico de recuperación (solo agua)	Recup
132-135	CV	PosC
136-139	CF	PosC
140-147	Machos del 1-5 fueron tratados con 5 µg de BE/día/macho	E
6 días en CF y 2 días en CV	Machos del 6-10 fueron tratados con 0.05 ml de aceite de maíz/día/macho	Aceite

148-156 6 días en CF y 2 días en CV	Machos del 1 al 5 fueron tratados con 0.05 ml de aceite de maíz/día/macho. Machos del 6 al 10 fueron tratados con 5 µg de BE/día/macho.	Aceite E
157-160	CV	PosE
161-164	CF	PosE

Después de la fase de habituación a la edad de 90 días se les expuso a consumo forzado de alcohol, en donde les dimos a los sujetos alcohol en diferentes concentraciones (2%, 4%, 6%, 8% y 6%) por tres días cada uno; esto con el objeto de que los sujetos se familiarizaran con el sabor del alcohol, este método ha sido utilizado por otros autores, por medio de aproximaciones sucesivas se aficianan a los sujetos experimentales al alcohol (Almeida y Col. 1998), la justificación es que las ratas sin ninguna experiencia en el consumo de alcohol, al inicio del experimento ingieren realmente pocos mililitros de alcohol, y con el objeto que durante la aplicación de estradiol las variaciones se pudieran apreciar, entonces a los sujetos se les aficionó al alcohol midiéndose después las variaciones, tomándose como referencia la línea basal.

A los 105 días de edad fueron expuestos por 15 días a CV de alcohol al 6%.

A todos los sujetos se les practicó la gonadectomía entre los 120 y 121 días de edad (con el procedimiento descrito para el experimento I).

De 122 a 131 días de edad se les dio un periodo de recuperación post-quirúrgico donde fueron expuesto a agua simple, por 8 días.

De los 132 a los 135 días de edad fueron expuestos a CV sin otra manipulación experimental que la gonadectomía.

De los 136 a los 139 días de edad fueron expuestos a CF sin otra manipulación experimental que la gonadectomía.

Tratamiento hormonal:

Con el fin de controlar el posible efecto de la secuencia temporal de la exposición al alcohol, el tratamiento hormonal se aplicó en forma contrabalanceada: De los 140 a los 147 días de edad los 5 machos (1 al 5) fueron tratados con 5µg. BE/día/macho; y los 5 machos restantes (6 al 10) fueron tratados con 0.05ml aceite de maíz/día/macho, ambos grupos 6 días en CF y 2 días en CV.

De los 148 a los 156 días de edad, los machos 1 al 5 fueron tratados con 0.05ml aceite de maíz/día/macho, y los machos 6 al 10 con 5µg.BE/día/macho; ambos grupos 6 días en CF y 2 días en CV.

Después de la aplicación de estradiol tomamos registros de la etapa que llamamos postestradiol (PosE), donde se les expuso a todos los machos a 4 días de consumo voluntario (157-160) y 4 días de consumo forzado (161-164).

Se efectuaron mediciones de líquidos, alimento y peso corporal de igual forma que en la primera etapa del experimento.

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Efectuamos un análisis de varianza (ANDEVA) de un factor en la que se tomaron en cuenta los diferentes periodos experimentales ( PosC, E y PosE) que fueron utilizados para analizar la ingestión de alimentos y la cantidad de consumo de alcohol y vehículo. ANDEVAs de dos factores (fases (luz-oscuridad) por periodos experimentales ( PosC, E y PosE) fueron usados para analizar la frecuencia de accesos a los dipsómetros por cada líquido, para todos los machos. ANDEVAs de dos factores (fase (luz-oscuridad) por intervalos en los rangos de lameteos (21-150, 151-300, 301-450, 541-600 y más de 750 lameteos/10 min.) fueron usados para analizar la distribución y el tamaño de los accesos de los lameteos para cada periodo.

La prueba de Tukey fue usada para comparar los pares cuando el efecto principal de alguno de los factores o sus interacciones fueron significativos. Un valor de  $P < 0.05$  fue considerado estadísticamente significativo.

## RESULTADOS DE LA SEGUNDA FASE DEL EXPERIMENTO

Con base en los resultados del primer experimento y considerando que nuestro objetivo fue evaluar la acción de los estrógenos y no el efecto de la castración, el segundo experimento tuvo un diseño diferente, que ya fue detallado previamente. Por tal motivo los resultados de este segundo experimento serán presentados de manera independiente a los del primero, pero serán discutidos conjuntamente.

### CONSUMO DE ALCOHOL EN EXPOSICIÓN FORZADA

Para evaluar el volumen total en ml de alcohol consumido aplicamos un análisis de varianza de un factor, en el cual se consideraron las diferentes etapas experimentales: (PosC, aceite, E y PosE). Encontramos diferencias significativas que indicaron un menor consumo de alcohol en la etapa de exposición a estradiol con respecto a las otras etapas: PosC, aceite y PosE,  $[F(3,27)=13.06, P<0.001]$ , (Fig. 12).

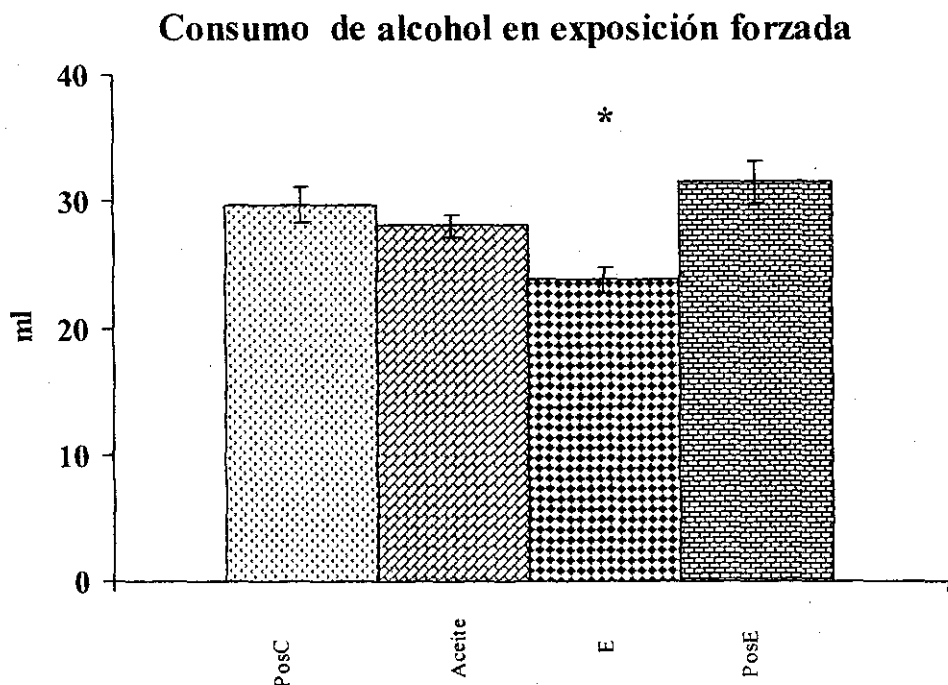


Fig. 12. Consumo de alcohol en mililitros en condición forzada, en machos en los periodos de PosC, aceite, E y PosE. Las barras representan el promedio ( $\pm$  EE) de los sujetos. Diferencias significativas  $p<0.05$  (\*). Significativamente menor que PosC, aceite, y PosE.

## Consumo alcohol y agua en exposición voluntaria

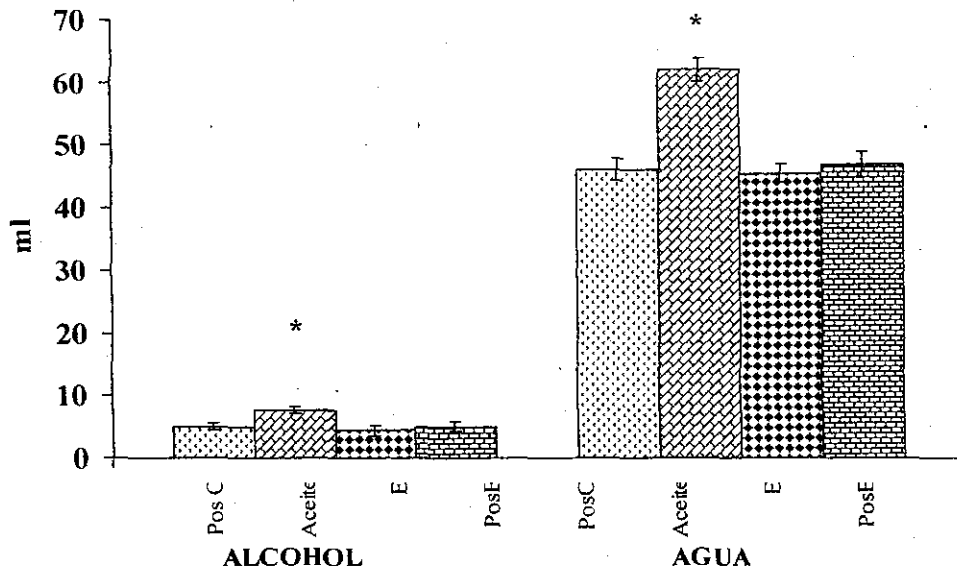


Fig. 13. Consumo de alcohol y agua en mililitros en condición voluntaria en machos castrados, en los periodos de PosC, aceite, E y PosE. Se analizaron por separado los consumos de agua y alcohol. Las barras representan el promedio ( $\pm$ EE) de los sujetos. Diferencias significativas  $p < 0.05$ . (\*) Significativamente mayor que PosC, E, y PosE.

## Índice de preferencia al alcohol

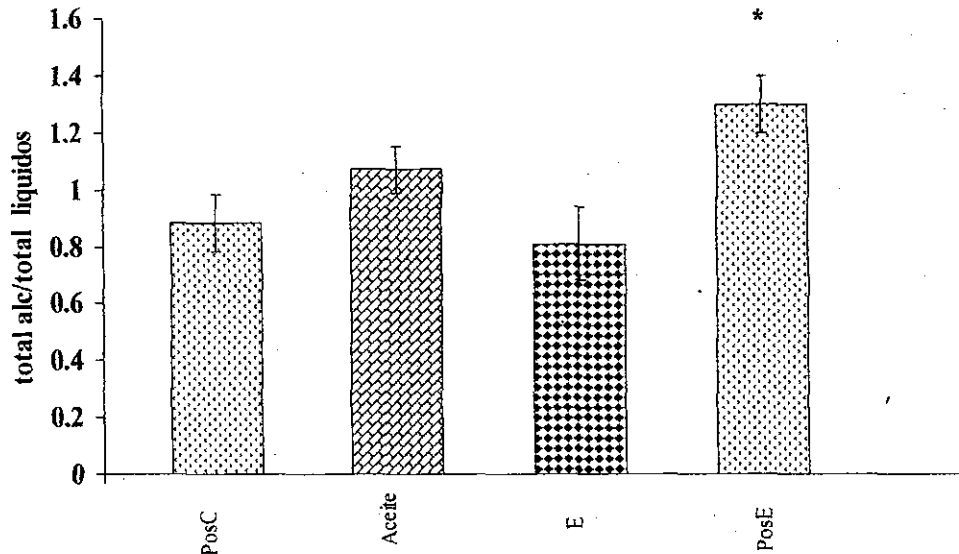


Fig. 14. Índice de preferencia al alcohol, en los periodos de PosC, aceite, E y PosE. Las barras representan los promedios ( $\pm$ EE) de los sujetos. Diferencias significativas  $p < 0.05$  (\*) Significativamente mayor que PosC y E.

#### CONSUMO ALCOHOL Y AGUA EN EXPOSICIÓN VOLUNTARIA.

Efectuamos dos análisis por separado para evaluar la exposición voluntaria, uno para el consumo de agua y otro para el consumo de alcohol; los análisis de varianza fueron de un factor en el cual se consideraron las diferentes etapas experimentales (PosC, aceite, E y PosE). Encontramos en el consumo de alcohol diferencias significativamente mayores en la etapa de aplicación de aceite al compararla con las etapas de aplicación de PosC, E, y PosE [ $F(3,27)=4.97$ ,  $P=0.007$ ], (Fig. 13). En cuanto al consumo de agua en la misma exposición de alcohol voluntario, encontramos que el consumo de agua fue significativamente mayor durante la aplicación de aceite, al compararla con las etapas de PosC, E, y PosE [ $F(3,27)=26.54$ ,  $P<0.001$ ], (Fig. 13).

#### INDICE DE PREFERENCIA AL ALCOHOL.

Al analizar el índice de preferencia al alcohol, que representa la cantidad de alcohol ingerida por los sujetos entre la cantidad total de líquidos; efectuamos un análisis de varianza de un factor, en el cual se consideraron las diferentes etapas experimentales (PosC, aceite, E y PosE). Encontramos diferencias significativamente mayores en los consumos de alcohol durante la etapa posterior al tratamiento con estradiol (PosE) al compararla con las etapas de PosC y el periodo de aplicación de estradiol (E), [ $F(3,27)=3.47$ ,  $P<0.005$ ], (Fig 14).

#### CONSUMO DE ALIMENTO EN ALCOHOL FORZADO.

Efectuamos un análisis de varianza de un factor, en el cual se consideraron las diferentes etapas experimentales (PosC, aceite, E y PosE); encontramos que en la etapa de exposición a E el consumo de alimentos fue significativamente menor al compararla con la etapa posterior al tratamiento con E (PosE), [ $F(3,27)=3.47$ ,  $P<0.005$ ], (Fig. 15).

#### CONSUMO DE ALIMENTOS EN ALCOHOL VOLUNTARIO.

También efectuamos un análisis de varianza de un factor en el que consideramos las diferentes etapas experimentales (PosC, aceite, E y PosE), en donde encontramos que el consumo de alimentos durante la exposición voluntaria (alcohol-agua), fue significativamente menor en la etapa del tratamiento hormonal con E, comparándola con las etapas de PosC, aceite y PosE [ $F(3,27)=22.49$ ,  $P<0.05$ ], (Fig. 16).

### Consumo alimento en alcohol forzado

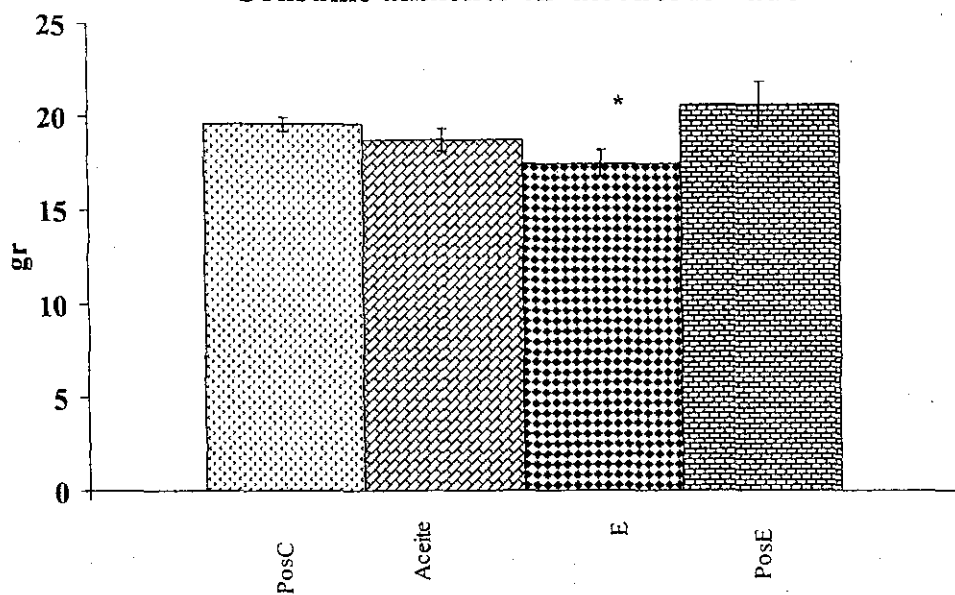


Fig. 15. Consumo de alimentos en gramos en condición forzada, en los periodos de PosC, aceite, E y PosE. Las barras representan el promedio ( $\pm$ EE) de los sujetos. Diferencias significativas  $p < 0.05$ . (\*) Significativamente menor que PosE.

### Consumo alimento en alcohol voluntario

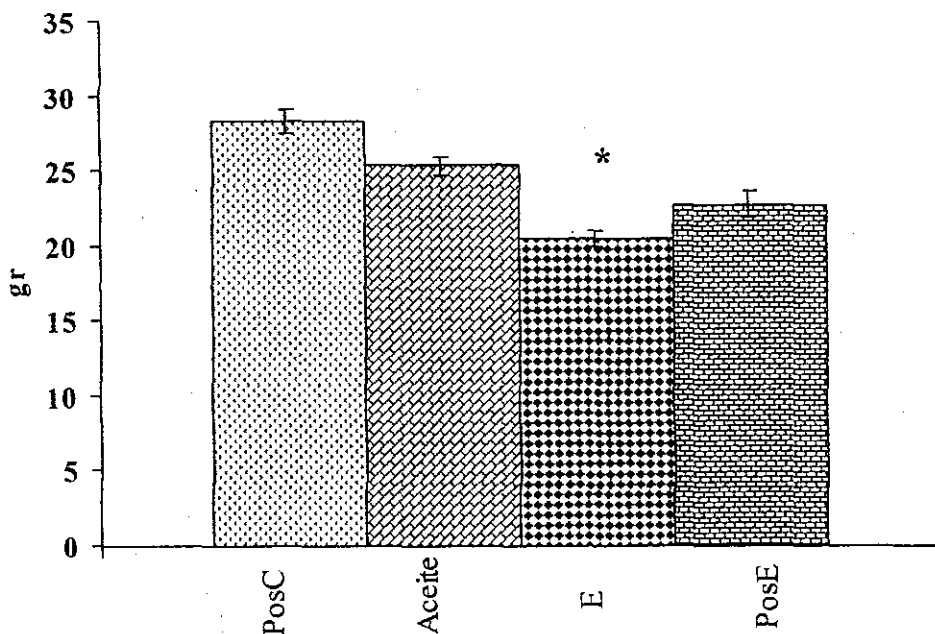


Fig. 16. Consumo de alimentos en gramos en condición voluntaria (alcohol-agua), en los periodos de PosC, aceite, E y PosE. Las barras representan el promedio ( $\pm$ EE) de los sujetos. Diferencias significativas  $p < 0.05$ . (\*) Significativamente menor que PosC, aceite y PosE.



## ANÁLISIS DE LA FRECUENCIA DE ACCESOS AL BEBEDERO CON ALCOHOL EN EL CICLO DE LUZ-OSCURIDAD DURANTE EL CONSUMO FORZADO.

En esta etapa efectuamos un análisis de varianza de dos factores: fases (luz-oscuridad) por periodos experimentales, (PosC, aceite, E, y PosE). Al igual que en el experimento anterior encontramos una mayor frecuencia de accesos a cualquier líquido siendo significativamente mayor el consumo de alcohol en la fase de oscuridad al compararla con la fase de luz en todas las etapas experimentales analizadas, PosC, Aceite, E y PosE, [F(1,63)=128.9, P<0.001], (Fig. 17).

## ANÁLISIS DE LA FRECUENCIA DE ACCESOS AL BEBEDERO CON ALCOHOL EN EL CICLO LUZ-OSCURIDAD DURANTE EL CONSUMO VOLUNTARIO.

Efectuamos un análisis de varianza de dos factores: fases (luz-oscuridad) por periodos (PosC, E, Y PosE). Se encuentran diferencias significativas entre las fases (luz-oscuridad) en la etapa de PosC y PosE, pero ninguna diferencia se encontró durante la exposición a E, [F(1,45)=8.75, P=0.005], (Fig.18).

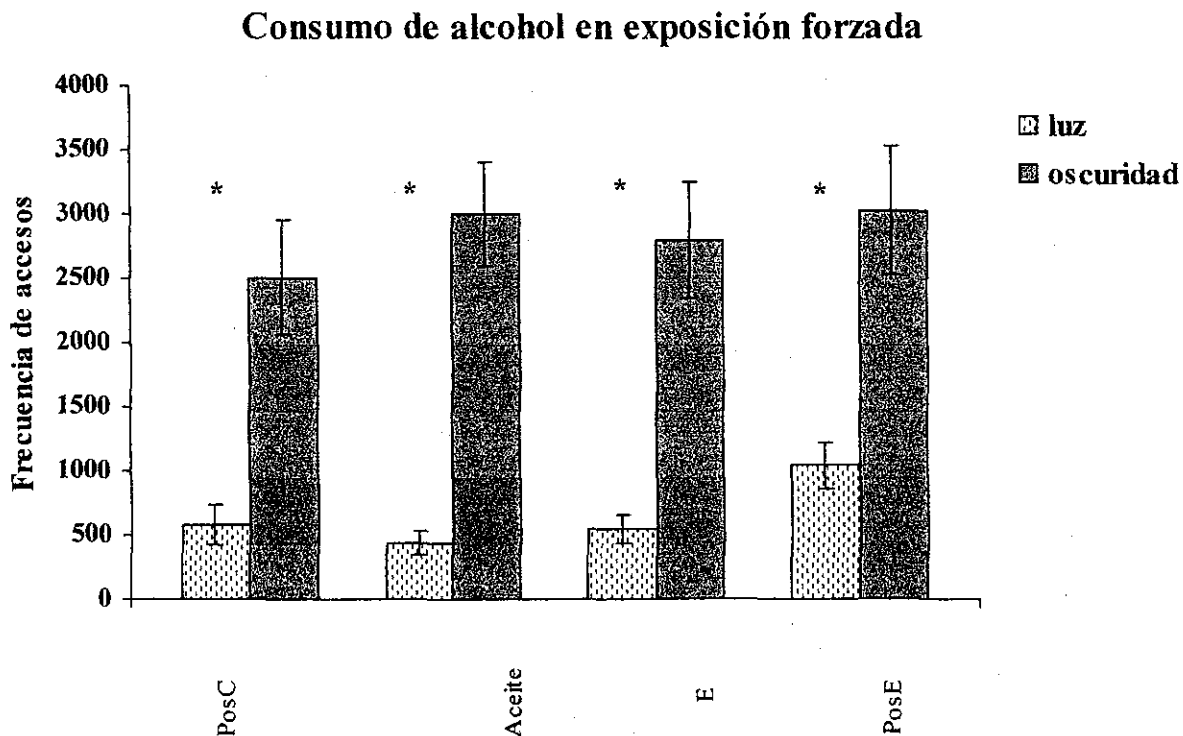


Fig. 17. Frecuencia de accesos al dipsómetro en el ciclo de luz-oscuridad en condición forzada en los periodos de PosC, aceite, E y PosE. Las barras representan el promedio ( $\pm$ EE) de las frecuencias de accesos de los sujetos. Diferencias significativas (\*),  $p < 0.05$ .

### Consumo de alcohol en exposición voluntaria

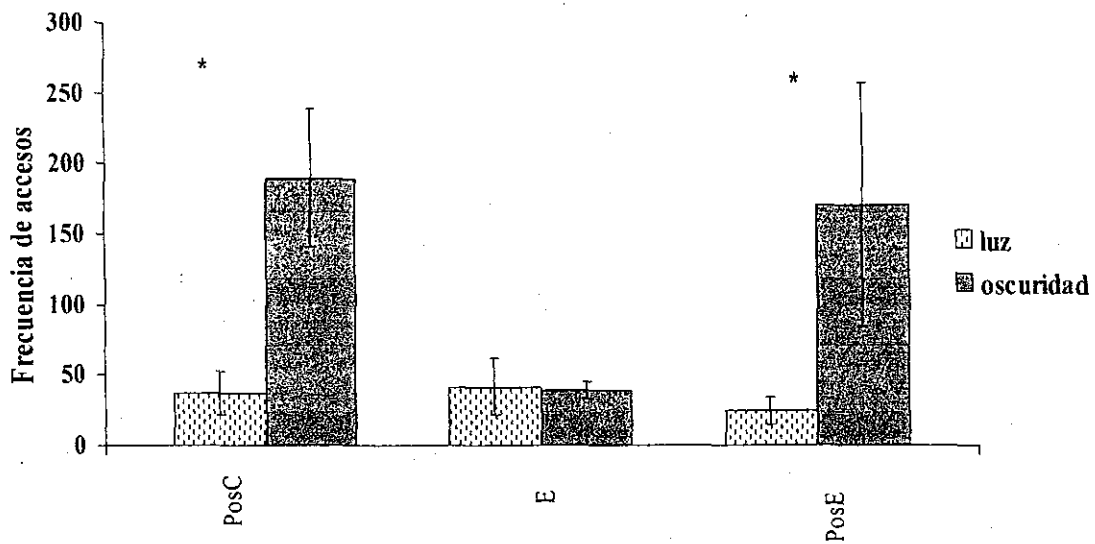


Fig. 18. Frecuencia de accesos al dipsómetro en el ciclo de luz-oscuridad en condición voluntaria en ingestión de alcohol, en los periodos de PosC, E, y PosE. Las barras representan el promedio ( $\pm$  EE) de las frecuencias de accesos de los sujetos. Diferencias significativas (\*),  $p < 0.05$ .

### Consumo de agua en exposición voluntaria

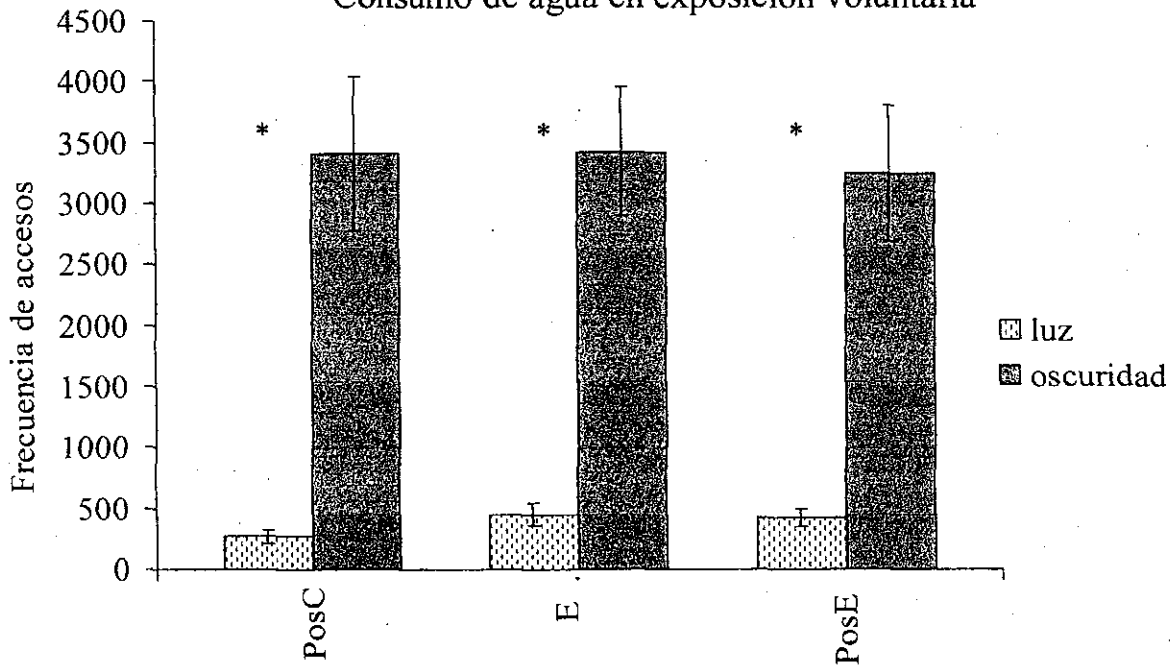


Fig. 19. Frecuencia de accesos al dipsómetro en el ciclo de luz-oscuridad en condición voluntaria en ingestión de agua en los periodos de PosC, E, y PosE. Las barras representan el promedio ( $\pm$  EE) de las frecuencias de accesos de los sujetos. Diferencias significativas (\*),  $p < 0.05$ .

#### ANÁLISIS DE LA FRECUENCIA DE ACCESOS AL BEBEDERO CON AGUA EN EL CICLO DE LUZ-OSCURIDAD DURANTE LA CONDICION DE EXPOSICIÓN VOLUNTARIA.

Efectuamos un análisis de varianza de dos factores: fases (luz-oscuridad) por periodos experimentales (PosC, E, y PosE); En todos los periodos experimentales encontramos consumos significativamente mayores en la fase oscuridad, al compararlos con la fase de luz [ $F(1,45)=126.98$ ,  $P=0.000$ ], (Fig. 19).

ANÁLISIS DE LA TASA DE LAMETEOS. Al igual que en el primer experimento en los intervalos de lameteos, se efectuaron análisis por separado para cada uno de los periodos experimentales, cada análisis se efectuó de dos factores: fases (luz-oscuridad) por el intervalo en la frecuencia de lameteos cada 10 minutos, estos intervalos fueron los siguientes: 20-150, 151-300, 301-450, 451-600, 601-750 y >750.

Como en la primera fase del experimento encontramos que el intervalo de la frecuencia de lameteos de 20-150 fue significativamente mayor que el resto de los intervalos de frecuencia y paulatinamente fue disminuyendo la frecuencia de ocurrencia conforme la tasa de lameteos fue mayor, es decir de 151-300, 301-450, 451-600, 601-750 hasta llegar a la frecuencia de lameteos de menor presentación que es la >750.

#### ANÁLISIS DE LA FRECUENCIA DE LAMETEOS EN CONSUMO DE ALCOHOL FORZADO.

Efectuamos un análisis para cada periodo experimental, cada uno de dos factores: fases (luz-oscuridad) por los intervalos (20-150, 151-300, 301-450, 451-600 601-750 y >750). Encontramos que en la etapa posterior a la castración (PosC) el intervalo de frecuencia de lameteos de mayor presentación fue el de 20-150 siendo significativo con respecto a los demás intervalos de frecuencia y el intervalo de frecuencia de 151-300 también fue significativamente mayor que los otros intervalos de frecuencia, [ $F(5,99)=42.47$ ,  $P<0.001$ ], (Fig. 20).

En la etapa de la exposición a E también el intervalo de frecuencia de lameteos de 20-150 fue significativamente mayor comparándolo con el resto de los intervalos de frecuencia, el intervalo de frecuencia de 151-300 fue también significativamente mayor con todos con

excepción del de 301-450 y este último fue significativamente mayor que el intervalo de frecuencia >750 [F(5,99)=17.20, P<0.001], (Fig. 20).

Durante la aplicación de aceite encontramos que el intervalo de frecuencia de lameteos de 20-150 fue significativamente mayor que todos los demás intervalos de frecuencia, y el intervalo de frecuencia de 301-450 fue significativamente mayor al compararlos con los intervalos de frecuencia de 601-750 y >750 [F(5,99)=17.07, P<0.001], (Fig. 20).

En la etapa posterior al tratamiento con E (PosE) al igual que en todas las etapas analizadas con anterioridad encontramos diferencias significativamente mayores en el intervalo de frecuencia de lameteos de 20-150 y en el intervalo de frecuencia de 151-300 al compararlo con la frecuencia de 601-750 y >750 [F(5,99)=15.12, P<0.001], (Fig.20).

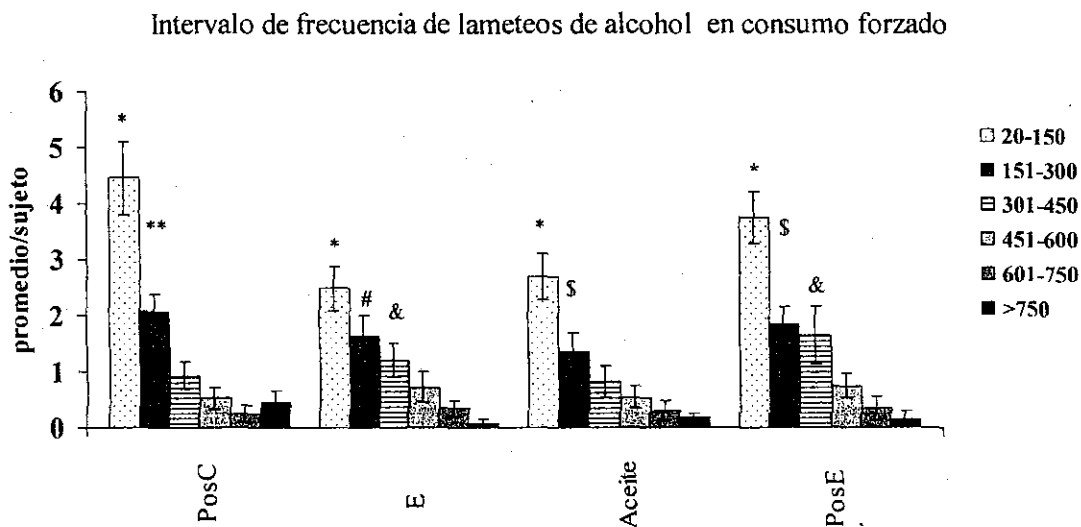


Fig. 20. Diferencias de intervalo de frecuencia de lameteos en condición forzada en las etapas de PosC, E, aceite y PosE. Cada tratamiento se analizó por separado. Las barras indican el promedio ( $\pm$ EE) por sujeto de la frecuencia de lameteos/10 min entre 20 y >750. Diferencias significativas p<0.05. (\*) significativamente mayor que 151-300, 301-450, 451-600, 601-750 y >750; (\*\*) significativamente mayor que 301-450, 451-600, 601-750 y >750; (#) significativamente mayor que 451-60 601-750 y >750; (\$) significativamente mayor a 601-750 y >750; (&) significativamente mayor que >750.

## ANÁLISIS DE LA FRECUENCIA DE LAMETEOS EN EL CONSUMO VOLUNTARIO DE ALCOHOL.

Efectuamos un análisis para cada periodo experimental por separado, y cada uno de ellos fue de dos factores: fases (luz-oscuridad) por intervalos de frecuencia de lameteos (20-150, 151-300, 301-450, 451-600, 601-750 y >750). Encontramos diferencias significativamente mayores en el intervalo de frecuencia de lameteos de 20-150 al compararlos con todos los demás intervalos de frecuencia; en el periodo de PosC,  $[F(5,99)=26.60, P<0.001]$ ; en el de E,  $[F(5,99)=17.80, P<0.001]$  y en el de PosE,  $[F(5,99)=35.54, P<0.001]$ . En la etapa de exposición a E también encontramos diferencias significativamente mayores, en el intervalo de frecuencia de lameteos de 151-300 al compararla los intervalos de frecuencia de 451-600, 601-750 y >750 y al comparar el intervalo de frecuencia de lameteos de 301-450 con el intervalo de frecuencia de 601-750 y >750, (Fig. 21).

**Intervalo de frecuencia de lameteos de alcohol en consumo voluntario**

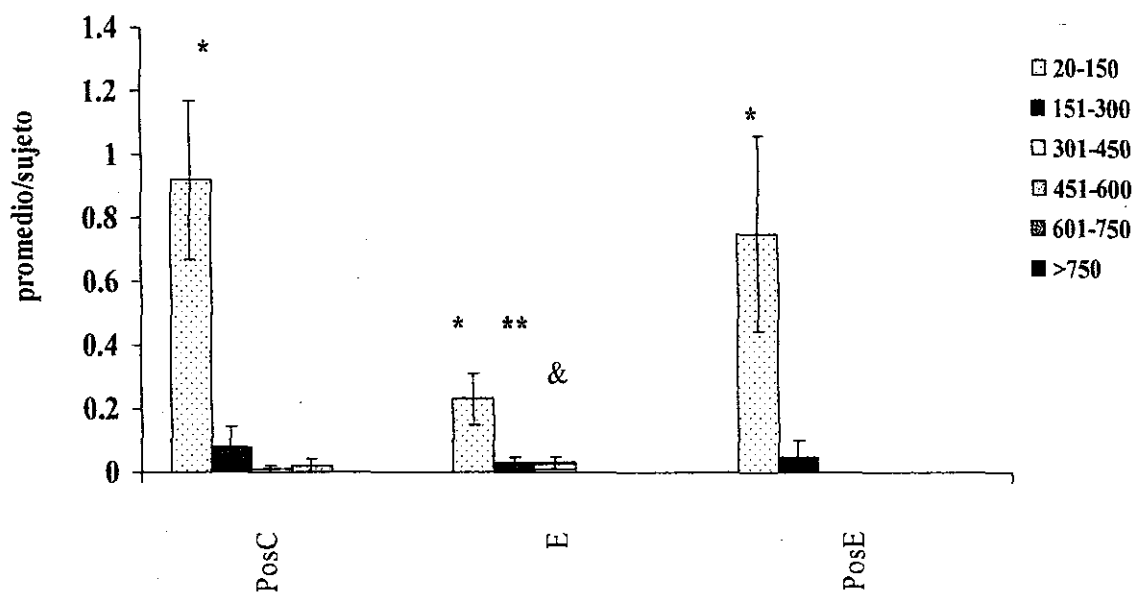


Fig. 21. Diferencias de intervalo en promedio de frecuencia/sujeto de lameteos en consumo voluntario de alcohol en las etapas de PosC, E, y PosE. Cada tratamiento se analizó por separado. Las barras indican el promedio ( $\pm EE$ ) por sujeto de la frecuencia de lameteos/10 min entre 20>750. Diferencias significativas  $P<0.05$ . (\*) Significativamente mayor que 151-300, 301-450, 451-600, 601-750 y >750; (\*\*) significativamente mayor que 451-600, 601-750 y >750; (&) significativamente mayor que 601-750 y >750.

ANÁLISIS DE LA FRECUENCIA DE LAMETEOS EN CONSUMO DE AGUA, DURANTE LA EXPOSICIÓN VOLUNTARIA AL ALCOHOL.

Los análisis de varianza uno para cada periodo experimental y de dos factores: fases (luz-oscuridad) por intervalos de frecuencia de lameteos (20-150, 151-300, 301-450, 451-600, 601-750 y >750). Al Igual que en todos los datos anteriores el consumo de agua en el intervalo de la frecuencia de 20-150 lameteos se presentó significativamente con mayor frecuencia que cualquiera de los otros intervalos de frecuencia en todas las etapas de tratamiento C, [F(5,99)=126.60, P<0.001]; E, [F(5,99)=17.81, P<0.001] y PosE, [F(5,99)=35.54, P<0.001]. Además, en la etapa posterior a la castración el intervalo de la frecuencia de lameteos de 301-450 fue significativamente mayor que los intervalos de frecuencia de 451-600, 601-750 y >750. Al mismo tiempo en la exposición a E, el intervalo de 151-300 fue significativamente mayor al compáralo con 301-450, 451-600 y >750 y en la etapa posterior al tratamiento con E (PosE), el intervalo de frecuencia de lameteos de 151-300 fue significativamente mayor que los intervalos de frecuencia de lameteos de 301-450, 451-600, 601-750 y >750, (Fig.22).

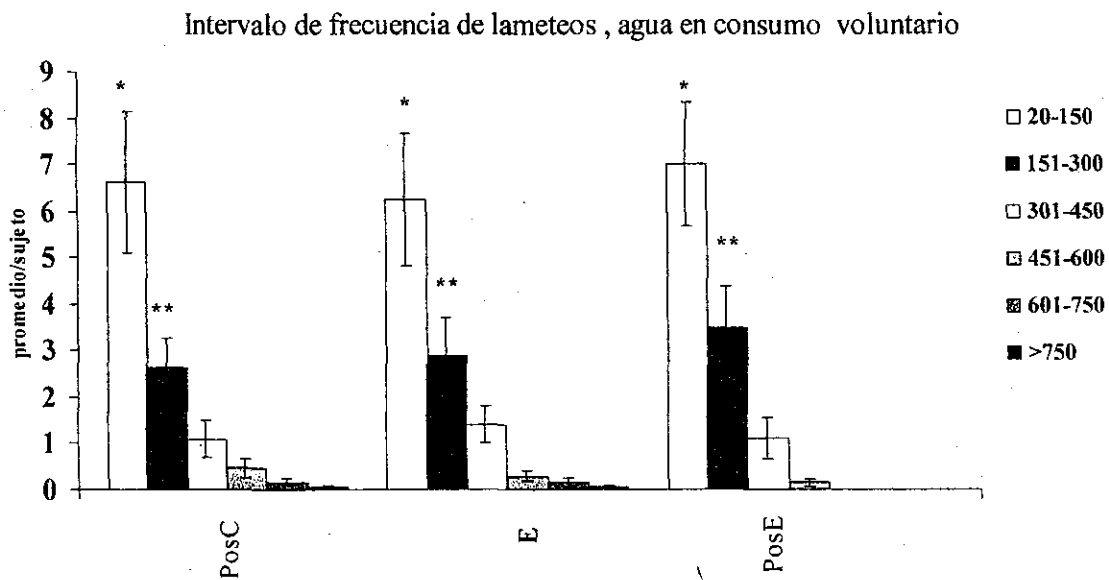


Fig. 22. Diferencias de intervalo de promedio de frecuencia/sujeto de lameteos en consumo voluntario de agua en las etapas de PosC, E y PosE. Cada tratamiento se analizó por separado. Las barras indican el promedio ( $\pm$ EE) por sujeto de la frecuencia de lameteos/10 min entre 20>750. Diferencias significativas,  $p < 0.05$ . (\*) Significativamente mayor de 151-300, 301-450, 451-600, 601-750 y >750; (\*\*) significativamente mayor que 451-600, 601-750 y >750.

## PESO CORPORAL DE LOS MACHOS.

En lo que respecta al peso de los machos hicimos dos análisis; uno para los expuestos a aceite y después a estradiol y otro para los expuestos a estradiol y aceite, estos análisis de varianza fueron de un factor en el que tomamos en cuenta el registro del peso en gramos en las diferentes edades, en cada uno de los periodos experimentales (PreC, PosC, aceite, E y PosE). Encontramos un gradual aumento en los pesos en ambos grupos de machos conforme avanzaba el experimento y una disminución en dos etapas aunque no significativas si importantes: En la postcastración, por el evento quirúrgico los sujetos bajaron de peso y en la exposición a estradiol no presentaron la curva esperada de aumento de peso corporal en ambos grupos, cuando se expusieron primero a estradiol y aceite [F(7,28)=5.64, P=0.000], (Fig. 23). Así como cuando fueron expuestos a aceite y después a estradiol [F(7,28)=15.17, P=0.000], (Fig. 24).

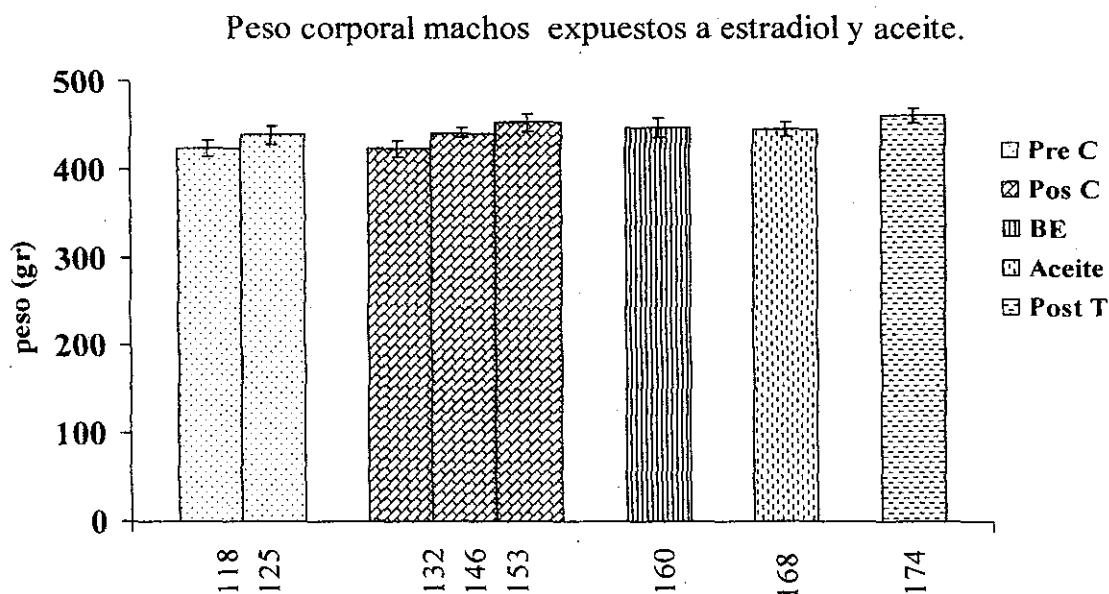


Fig. 23. Las barras representan el promedio del peso de los sujetos en gramos expuestos a estradiol y después a aceite durante diferentes edades y en cada manipulación experimental.

### Peso corporal machos expuestos a aceite y estradiol

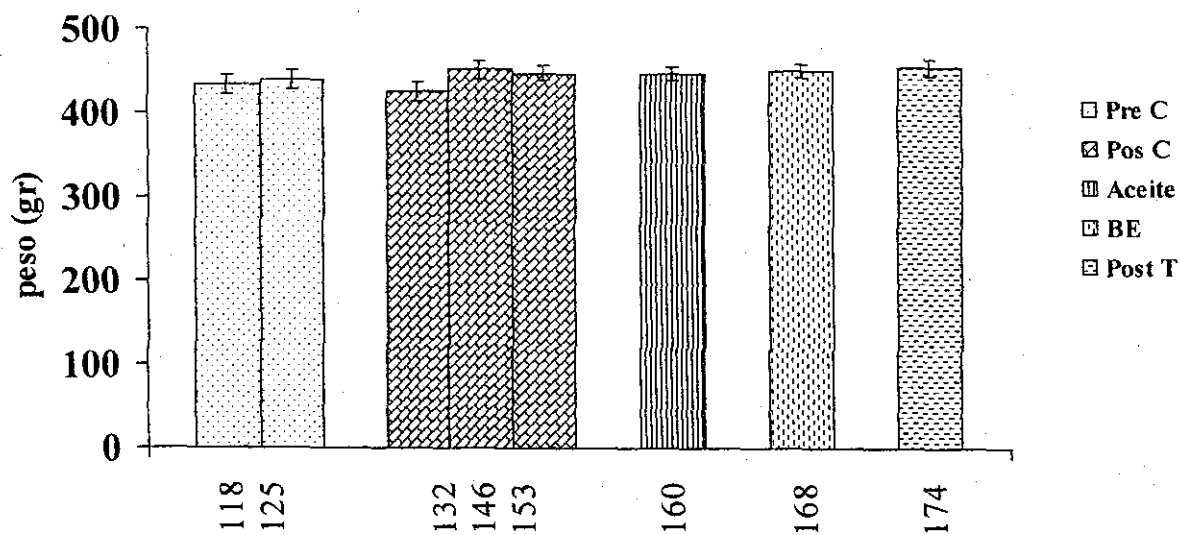


Fig. 24. Las barras representan el peso corporal en gramos de los machos a diferentes edades expuestos a aceite y después a benzoato de estradiol.



## DISCUSIÓN

Como pudimos observar a lo largo de los dos experimentos, el estradiol tuvo un efecto inhibitorio sobre el consumo de alcohol tanto en la exposición voluntaria como en la forzada, independientemente de que se utilice azúcar o no y de la condición gonadal de los machos.

En el primer experimento no se presentaron diferencias entre machos C y FC durante la exposición forzada. A pesar de que durante el tratamiento con E el consumo de alcohol solo difirió significativamente de los periodos de PreC presentó sus valores más bajos durante este tratamiento. De manera diferente a este resultado, durante el consumo forzado del segundo experimento, el consumo de alcohol durante el tratamiento con estradiol fue significativamente menor a todos los demás periodos. Aunque los resultados entre el primero y segundo experimento variaron en el nivel de significación, el resultado que fue consistente en ambos es que, durante el tratamiento con estradiol se observaron los niveles más bajos de consumo de alcohol.

Con relación a la exposición voluntaria de alcohol en el primer experimento encontramos que el efecto inhibitorio sobre el consumo de alcohol del tratamiento con estradiol fue significativamente menor con respecto a todos los demás periodos excepto con el periodo de PosC en los machos castrados. A pesar de que en los machos falsos castrados el consumo de alcohol durante el tratamiento con estradiol solo fue diferente con respecto a los periodos de PreC, los valores de este consumo durante este tratamiento tendieron a ser los más bajos en este grupo de machos. Esta diferencia entre machos C y FC posiblemente se deba a la acción endógena de las hormonas, ya que a pesar de que el benzoato de estradiol exógeno tiende a inhibir la secreción de gonadotropinas y por lo tanto la secreción de los niveles de hormonas endógenas, desconocemos el grado de inhibición de este fenómeno.

Durante la exposición voluntaria del segundo experimento, los niveles de alcohol ingeridos también presentaron los valores más bajos, sin embargo estos solo difirieron con relación al periodo de tratamiento con aceite. Como se puede apreciar la condición biológica de los sujetos castrados en el primero y segundo experimento es la misma y el tipo de exposición también lo es. Sin embargo el consumo de alcohol previo al tratamiento con estradiol difirió de manera importante de un experimento a otro: en el primero los niveles basales de ingestión de alcohol fueron notablemente mayores que en el segundo, por lo tanto los

cambios producidos con el tratamiento con estradiol tienden a ser imperceptibles cuando los niveles previos de consumo son demasiado bajos. Es importante considerar que los sujetos utilizados son ratas estándar de laboratorio, los cuales no han sido seleccionados genéticamente por su preferencia al alcohol, por lo tanto no es sorprendente encontrar niveles tan bajos de consumo de alcohol en este tipo de estudios.

A pesar de que se puede observar que el consumo de alcohol durante la aplicación de estradiol es diferente en cada uno de los experimentos, el efecto del estradiol fue una acción inhibitoria sobre el consumo de alcohol, en el primero fue más evidente durante el consumo voluntario y en el segundo durante el consumo forzado.

En cuanto al consumo de vehículo durante la exposición voluntaria, en el primer experimento no se encontraron diferencias significativas en los machos C y FC o entre los periodos experimentales; en el segundo experimento el consumo fue significativamente mayor en la etapa de aplicación de aceite al compararlo con las otras etapas. Este aumento puede estar dado porque las ratas durante la aplicación de aceite tienen la oportunidad de seleccionar el tipo de líquido que pueden ingerir, y durante la aplicación de estradiol como están consumiendo volúmenes mayores de alcohol necesitan menos cantidad de otro líquido para satisfacer sus requerimientos totales. De todas formas el consumo de vehículo mostró los patrones cíclicos en esta condición voluntaria que ha sido previamente descrita (Juárez y Barrios de Tomásí, 1999).

El decremento en la cantidad absoluta de alcohol consumido no fue tan evidente durante el consumo voluntario de alcohol en el segundo experimento sin embargo al analizar el índice de preferencia, que es la cantidad de alcohol ingerido entre la cantidad total de líquidos; encontramos que durante la exposición a estradiol los consumos de alcohol fueron significativamente menores al compararlos con las otras condiciones experimentales (PosC, aceite y PosE).

Una de las preguntas es: ¿Cómo los estrógenos decremantan el consumo de alcohol? Se ha descrito que los estrógenos incrementan la actividad de la alcohol deshidrogenasa (ADH) (Qulali and Crabb, 1992; Qulali et. al., 1991; Rachamin, et. al., 1980; Thechke and Heymman, 1982) y la tasa metabólica del etanol (Rachamin et. al., 1982) en ratas, por lo que se podría esperar un incremento en el consumo de etanol, debido a su eliminación más rápida. De esta manera sería necesario beber más para mantener un determinado nivel de

alcohol en sangre, lo que concordaría con nuestra hipótesis. Sin embargo la rápida eliminación del alcohol no necesariamente debe de incrementar su consumo, ya que el grado de afición por el alcohol puede jugar un papel importante. La adicción al alcohol podría explicarse por la liberación de opiodes, cuando se ingiere alcohol y la disminución que se presenta con la aplicación de estrógenos puede deberse a que los estrógenos tienen efecto directo en el SNC, sobre estructuras específicamente relacionadas con los sustratos neurobiológicos del reforzamiento en donde se encuentra implicado el sistema opioide. La aplicación de estrógenos decreta los opioides endógenos (Schipper y cols., 1994; Desjardin y cols., 1993; Lapchak y cols. 1991; Wardlaw y cols., 1985 y Quiñones-Jenab y cols., 1997), lo cual haría menos recompensante el consumo de alcohol, disminuyendo su ingestión. Por otra parte los estrógenos incrementan la internalización de los receptores a opioides con su ligando (Eckersell y cols., 1998), produciendo probablemente una inactivación del receptor. Se ha reportado que la función de los mecanismos de regulación en los receptores juega un papel importante en el consumo de alcohol, pues se sabe que este produce un aumento en los opioides endógenos (De Witte y cols., 1984; Hubbell y cols., 1986; Marfaing-Jallat y cols., 1983; Froehlich y cols., 1990.). De todos los receptores opioides, los  $\mu$  como muchos de los receptores que se unen a proteínas G, son rápidamente internalizados después de su unión con el agonista (Eckersell y cols, 1998) esta internalización se incrementa con el tratamiento con estrógenos y es evitada por la presencia de un antagonista opioide (naltrexona). Este resultado junto con el decremento de opioides endógenos con el tratamiento con estrógenos explicaría la disminución en el consumo del alcohol con aplicación de estradiol.

En ambos experimentos la frecuencia de accesos al alcohol fue mayor durante la fase de oscuridad al compararlo con la fase de luz durante la exposición forzada; como era de esperarse por la mayor actividad de los roedores durante la noche. No obstante el patrón cíclico de alta frecuencia de acceso de líquidos durante la fase de oscuridad estuvo ausente en todos los periodos y en ambos grupo de machos (C y FC) durante la exposición voluntaria al alcohol. Estos resultados pueden ser explicados de dos formas: la baja preferencia al alcohol en esta condición probablemente produce una indiscriminada distribución del consumo de alcohol durante el día, o que los sujetos propositivamente tienden a distribuir de forma

homogénea su ingestión de alcohol durante el día, como consecuencia de su baja preferencia al alcohol.

En el segundo experimento, en el consumo voluntario de alcohol durante el ciclo de luz-oscuridad se pudo observar claramente el efecto inhibitorio del estradiol; las ratas presentaron mayores frecuencias de acceso durante la fase de oscuridad al compararla con la fase de luz, en los periodos de PosC y PosE; Durante la aplicación estrógenos se observa que disminuye el consumo en la fase de oscuridad, bajando a niveles similares al observado durante la fase de luz. Esto se puede apreciar mejor cuando analizamos el consumo de agua en la exposición voluntaria en los ciclos de luz-oscuridad, encontramos que la aplicación de estradiol no repercute en la cantidad de líquido ingerido conservando los patrones característicos de consumo previamente descritos (Juárez y Barrios De Tomás, 1999).

Por otra parte el tratamiento con estradiol tiene efecto inhibitorio en la tasa de lameteos y la frecuencia de accesos en machos castrados en ambos experimentos, este efecto es más evidente durante el consumo voluntario; durante el consumo forzado se puede observar también una disminución durante el tratamiento con estradiol, pero esta es menos evidente, esta modificación depende del tipo de exposición (CV y CF) y sugiere que el tratamiento con estradiol puede afectar los patrones de ingestión modificando el tamaño y la frecuencia de accesos a los bebederos. Se ha descrito que el nivel de intoxicación tolerado en cada individuo puede estar influido por el tamaño, frecuencia y duración de los accesos al alcohol lo cual produce los patrones de ingestión de alcohol de cada sujeto (Gill, et. al., 1996). Por lo tanto, puede ser valioso estudiar que características específicas de los patrones de consumo son afectadas por el tratamiento farmacológico, para fundamentar los mecanismos que regulan o modifican el consumo de alcohol. No obstante los patrones de consumo de alcohol han sido escasamente estudiados en la actualidad.

En cuanto al intervalo en la frecuencia de lameteos, encontramos que el intervalo de 20-150 fue significativamente mayor en ambas exposiciones, forzada y voluntaria, en cualquier líquido ingerido agua o alcohol en ambos experimentos. A medida que se incrementó la tasa de lameteos, la frecuencia de ocurrencia tendió a decrementarse, la siguiente fue la de 151-300 hasta la de menor presentación que fue la >750. Durante la exposición forzada la aplicación de estradiol produjo una tendencia a la disminución de las tasas de lameteo más altas, sin embargo el patrón de lameteos no fue modificado. En lo que respecta a la

exposición voluntaria el efecto inhibitorio del estradiol sobre la tasa de lameteos se manifiesta mas en los machos C en ambos experimentos. En los machos FC este efecto posiblemente no es tan evidente debido a que como se mencionó anteriormente el aporte endógeno de hormonas sexuales pudo haber afectado los resultados.

Esto no ocurrió cuando se midieron los intervalos de frecuencia en los consumos de agua durante la aplicación de estradiol, lo cual confirma que el efecto inhibitorio de estradiol es específico sobre el consumo de alcohol, no afectando el consumo de agua.

El tratamiento con E en ambos experimentos también provocó un decremento significativo en la ingestión de comida en machos C y FC; en el primer experimento y en el segundo, la ingestión de comida mostró los valores mas bajos durante el tratamiento con estradiol. Este efecto ya ha sido descrito en investigaciones anteriores en ratas hembra (Buttera y col., 1990, 1996; Dagnault et. al, 1993; Donohoe, et al., 1984; Sandberg, et. al., 1982; Varma, et. al., 1999). Lo cual parece deberse a que el estradiol actúa a nivel central en hipotálamo (Buttera, et. al., 1996) y a nivel periférico potenciando el efecto de saciedad de CCK (Butera, et. al., 1996). Este efecto anoréxico del alcohol solo ha sido descrito en las hembras, por lo tanto el presente trabajo extiende estos resultados al macho.

En cuanto al peso corporal encontramos que el estradiol tiene un efecto inhibitorio en el aumento de peso esperado en los machos, durante ambas fases del experimento. Esto se debe a que el estradiol tiene efecto anoréxico actuando sobre los centros de saciedad y potenciando el efecto de la CCK, por consecuencia repercute en el aporte calórico y en el peso disminuyéndolo.

Considerando la escasez de datos relacionados con la acción hormonal sobre el consumo de alcohol en machos, son necesarias investigaciones futuras para entender los mecanismos involucrados en la interacción farmacológica y fisiológica entre hormonas sexuales y consumo de alcohol.

## CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos muestran que los estrógenos tienen un efecto inhibitorio sobre el consumo de alcohol, alimentos y el peso corporal.

La disminución en el consumo de alcohol dependió de dos factores: la condición gonadal de los machos, (FC y C), y el tipo de consumo (voluntario y forzado). Además hay otro factor que es importante analizar para estudios posteriores, la etapa de aplicación de estradiol, porque aunque se presentó una disminución en el consumo esta puede ser diferente dependiendo del tiempo de aplicación de la hormona.

Se ha comprobado que el consumo de alcohol está vinculado con el sistema opioide, que su ingestión produce liberación de opioides endógenos y que repercute en los niveles hormonales circulantes. El decremento en la ingestión de alcohol por la aplicación de estradiol se podría explicar porque aparentemente hay un efecto inhibitorio sobre la actividad opioide endógena, ya que incrementan la internalización de los receptores a opioides particularmente los  $\mu$  cuyo ligando más importante son las beta-endorfinas. Posiblemente el consumo de alcohol fue menos reforzante durante el tratamiento con E, lo que implicaría la disminución en el consumo de alcohol cuando se aplica estradiol.

El patrón de consumo de alcohol en el ciclo luz-oscuridad fue mantenido en todos los periodos experimentales durante la exposición forzada. El que este patrón de consumo haya desaparecido durante el consumo voluntario pareció deberse más a las características volitivas y de bajo consumo de esta condición que al tipo de tratamiento farmacológico. Ese resultado muestra que la cantidad y el patrón de consumo de alcohol pueden modificarse de manera independiente una del otro.

En cuanto al consumo de alimentos y el peso corporal, consideramos que el E también tiene efecto inhibiendo el consumo y repercutiendo en el peso corporal, aunque la explicación es diferente, pues el mecanismo está regulado por el centro de saciedad a nivel central en hipotálamo y a nivel periférico con el efecto de la CCK.

## BIBLIOGRAFIA

- Adams, N.**; Shihabi, Z. K.; Blizard, D. A. : Ethanol preference in the Harrington derivation of the Maudsley Reactive and non-reactive strains. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 15(2):170-174;1991.
- Almeida, O. F. X.**; Sohaib M.; Deidcke, J.; Darwish M.; Patchev, V.K.: Gender Differences in Ethanol Preference and Ingestion in Rats. *J. Clin. Invest.* 101(12):2677-2685; 1998.
- Bannister, P.**; Lowsky, M: Ethanol and hipogonadism. *Alcohol Alcsm.* 22: 213-217; 1987.
- Baulieu, E.** Schumacher M. progesterone as a neurosteroid: actions within the nervous system. *Cell. Moll. Neurobiol.*; 16:143-153; 1996.
- Blum, K.**; Payne J.: Alcohol and the Addictive Brain. The Free Press. A Division Of Macmillan, Inc. New York; 1991.
- Brismar, B.**; Bergman, B.: The significance of alcohol for violence and accidents. *Alcsm. Clin. and Exp. Res.* 22(7) 299s-306s; 1998.
- Butera, P. C.**; Beikirch, R. J.; Willard, D. M.: Changes in ingestive behaviors and body weight following intracranial application of 17-alpha-estradiol. *Physiol. Behav.* 47: 1291-1293; 1990.
- Butera, P. C.**; Bradway, D. M.; Cataldo, N. J.: Modulation of the satiety effect of cholecystokinin by estradiol. *Physiol. Behav.* 53(6):12235-8; 1993.
- Butera, P. C.**; Xiong, M.; Davis, R. J.; Platania, S. P.: Central implants of dilute estradiol enhance the satiety effect of CCK-8. *Behav. Neurosci.* 110:823-830; 1996.
- Cicero.** Influence of chronic alcohol administration on representative indices of puberty and sexual maturation in male rats and the development of their progeny. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 255:707-715; 1990.
- Creighton, J. T.**, Rudeen, P. K.: Prenatal ethanol exposure and opiate influence on puberty in the female rat. *Alcohol.* 8:187-191; 1991.
- Dagnault, A.**; Ouerghi, D.; Richard, D.; Treatment with alpha-helical-CRF(9-41) prevents the anorectic effect of 17-beta-estradiol. *Brain. Res. Bull.* 32(6):689-692; 1993.

- Dees, W. L., Skelly, C. W., Rettori, V., Kentroti, M. S., McCann S. M.:** Influence of ethanol on growth hormone secretion in adult and prepubertal female rats. *Neuroendocrinology*. 48:495-499; 1988.
- Dees, W. L., Skelley, C. W.:** Effects of ethanol during the onset of female puberty. *Neuroendocrinology*. 51:64-69; 1990.
- Dees, W. L., Skelley, C. W., Hiney J. K., Johnston, C. A.:** Action of ethanol on hypothalamic and pituitary hormones in prepubertal female rats. *Alcohol*. 7:21-25; 1990.
- Dees, N. K.:** Ethanol consumption in rats selectively bred for differentiation saccharin intake. *Alcohol an international biomedical J.* 16 (4):275-278; 1998.
- Desjardins, G. C.; Brawer, J. R.; Beaudet, A.:** Estradiol is selectively neurotoxic to hypothalamic beta-endorphin neurons. *Endocrinology*. 132:86-93; 1993.
- DeWitte, P.:** Naloxone reduces alcohol intake in a free-choice procedure even when both drinking bottles contain saccharin sodium or quinine substances. *Neuropsychobiol.* 12:73-77; 1984.
- Donohoe, T. P.;** Stevens, R.: Modulation of food intake by hypothalamic implants of estradiol benzoate, estrone, estriol and CI-628 in female rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 16(1):93-99; 1982.
- Donohoe, T .P.;** Stevens, R.; Jhonson, N. J.; Baker, S.: Effects of stereoisomes of estradiol on food intake, body weight and hoarding behavior in female rats. *Physiol. and Behav.* 32(4):589-92; 1984.
- Eckersell, Clair;** Popper, Paul; Micevych, P. Estrogen-induced alteration of  $\mu$ -opioid receptor immunoreactivity in the medial preoptic nucleus and medial amygdale. *The J. of Neuroscience.* mayo 15, 18(10):3967-3976; 1998.
- Emanuele, N.:** The effects of alcohol on the neuroendocrine control of reproduction. *In Alcohol and the Endocrine System. NIAAA Research monograph.* 23:89-166; 1993.
- Emanuelle, N.:** Reversal of chronic ethanol-induced testosterone suppression in peripubertal male rats by opiate blockade; *Alcsm. Clin. and Exp Res.* 23 (1):60-66; 1999.



- Froehlich, J. C.**; Harts, J.; Lumeng, L.; Li, T. K.: Naloxone attenuates voluntary ethanol intake in rats selectively bred for high ethanol preference. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 35:385-390; 1990.
- Gavaler, J. S.**; Van-Thiel, D.H.: The association between moderate alcoholic beverage consumption and serum estradiol and testosterone levels in normal postmenopausal women: relationship to the literature. *Alcohol Clinic. and Exp. Res.* 16 (1):87-92; 1992.
- Harper, J.** The effects of alcohol on the humans brain: A neuropathological study. *Alcohol.* 25:445-448; 1990.
- Harper, J.**: Bioquímica. Editorial Manual Moderno. México. 1994
- Hilakivi, C. L.**: Role of estradiol in alcohol intake and alcohol-related behaviors. *J. Study Alcohol.* 57 (2):162-70. 1996.
- Hiney, J. K.**; Dees, W. L.: Ethanol inhibits luteinizing hormone releasing hormone release from the median eminence of prepubertal female rats in vitro: Investigation of its actions on norepinephrine and prostaglandin-E2. *Endocrinol.* 128:1404-1408; 1991.
- Ho, C.**; Emanuele, N.; Kirsterins, L.; Lawrence, A. M.: In vivo studies of ethanol on prolactin and luteinizing hormone in rats and mice. *Int. J. Rad. Appl. Instrum, Part B: Nucl. Med. Biol.* 19:737-740. 1992.
- Hubbell, C. L.**; Czirr, S. A.; Hunter, G. A.; Beaman, C. M.; LeCann, N. C.; Reid, L.D.: Consumption of ethanol solution is potentiated by morphine and attenuated by naloxone persistently across repeated daily administrations. *Alcohol.* 3:39-54; 1986.
- Hutchinson, J.**: Androgen Metabolism in the Brain: *neural Correlates*. Unit. On development and integration of behavior, University dep. of animal behavior, Cambridge. 23:51-59; 1984.
- Jones, B. M.**, Jones, M. K.: Alcohol effects in women during the menstrual cycle. *Alcohol Problems in women and children new York.* 1976.
- Juárez, J.**; Guzman; Flores, C.; Ervi, F.R.; Palmour, R. M.: Voluntary alcohol consumption in vervet monkey: Individual, sex and age differences. *Parmacol. Bioch. Behav.* 46:985-988: 1993.

- Juarez, J.;** Barrios, E. de Tomasi,: Sex differences in alcohol drinking patterns during forced and voluntary consumption in rats. *Alcohol an international Biom. J.* 19 (1):15-22; 1999.
- Juarez, J.,** Barrios de Tomasi, E.; Vázquez, C.: Alcohol treatment during lactation produces an advance in the onset of puberty in female rats. *Alcohol an international Biom. J.* 21:181-185; 2000.
- Juárez, J.:** Cerebro y Función Endocrina tomado del Texto de *Neurociencias Cognitivas*. Alcaraz, V. y Gumá, E. Edit. Manual Moderno. cap I pp1-20. 2001.
- Juárez, J.** Barrios E. de Tomasi,: Estrogen treatment enhances the effect of naltrexone on alcohol consumption in male rats. *Instituto de Neurociencias de la Universidad de Guadalajara*. 2002. Artículo en revisión en la revista alcohol.
- Kandel, E. R.,** Schwartz, J. H., and Jessell, T. M: Principles of Neural Science. Appleton and Lange third edition . 1991.
- Kingma, J.:** Consumption in trauma patients with injuries due to suicide attempts and automutilation. *Psychol. Rep.*75:1337-1338; 1994.
- Kubli, C.:** Acción neuromoduladora de las hormonas esteroides. En Zarate T. A.; Moranva; Feria, V. C.; Kubli G.: *Fundamentos de Neuroendocrinología*. Biblioteca de la salud. Secretaria de Salud y Fondo de Cultura Económica. México.1993.
- Lapchak, P. A.:** Effect of estradiol treatment on beta-endorphin content and release in the female rat hypothalamus. *Brain. Res.* 554:198-202; 1991.
- Marfaing-Jallat, P.;** Miceli, D.; Le Magnen, J.: Decrease in ethanol consumption by naloxone in naive and dependent rats. *Pharmacol. Biochemist. Behav.* 185:537-539; 1983.
- McCaffrey T.A.:** Independent effects of estradiol on water and food intake. *Behav Neurosci.* apr; 97 (2):210-220: 1983
- Mello N. K.;** Mendelson H. J.; Bree P.M.; Ellingboe J. and Skupny S.T.A.: Alcohol effects on leutinizing hormone and testosterone in male macaque monkeys. *J. of Pharmacology And exp. Therapeutics.* 233 (3): 588-596; 1985.
- Mendelson, J. H.;** Lukas, S. E.; Nello, N. K.; Amass, L.; Ellingboe, J.; Skupny, A.: Acute alcohol effects on plasma estradiol levels in women. *Psychopharmacol.* 94: 464-467; 1988.

- Messiha, F. S.:** Steroidal actions and voluntary drinking of ethanol by male and female rats. *Biochem. Pharmacol.* 18:205-15; 1981.
- Messiha, F. S.:** The gender of alcohol and aldehyde dehydrogenases. *Neurobehavioral Toxicol. Teratol.* 5(2):205-10. 1983.
- Mezey, E., Potter J. J.:** Effect of dehidrotosterone on rat liver alcohol dehydrogenase activity. *J. Hepatology.* 2(3):359-365; 1982.
- Mezey, E., Sharma, S., Rennie, L., Potter, J. J.:** Sex differences in gastric alcohol dehydrogenase activity of Spraguey-Dawley rats. *Gastroenterology.* 103:1804-1810; 1992.
- Mezey, E., Rennie, Tankersley, L., Potter J. J.:** Effect of dehidrotosterone on turnover of alcohol dehydrogenase in rat hepatocyte culture. *Dep. Hepatology Baltimore.* 27(1):185-190; 1998.
- Middaugh, L. D.** Frackelton, W. F., Boggan, W. O., Onofrio, A., Shepherd, C. L.: gender differences in the effects of ethanol on C57BL/6 mice. *Alcohol.* 9:257-260; 1992.
- Norton, R., Dewey, T., MacMahon, S.:** Alcohol consumption and the risk of alcohol related cirrhosis in women. *Brit. Med.* 295:80-82; 1987.
- Pohl, C., Guilinger, R. A., Van Thiel, D. H.:** Inhibitory action of ethanol on luteinizing hormone secretion by rat anterior pituitary cells in culture. *Endocrinology.* 120:849-852; 1987.
- Quiñones-Jenab, Vjenab, S., Ogawa, S., Inturrisi, C., Pfaff, SW.** Estrogen regulation of mu-opoid receptor mRNA in the forebrain of female rats; *Brain Res. Mol. Brain. Res.* July 47:138-8; 1997.
- Qulali, M., Crabb, D. W.:** Estradiol regulates class I alcohol dehydrogenase gene expression in renal medulla of male rats by post-transcriptional mechanism. *Arch. Biochem. Biophys.* 297:277-284; 1992.
- Qulali, M., Ross, R. A., Crabb, D. W.:** Estradiol induces class I alcohol dehydrogenase activity and mRNA in kidney of female rats. *Arch. Biochem. Biophys.* 288:406-413; 1991.

- Rachamin, G.;** MacDonald, J. A.; Wahid, S.; Clapp J.; Khanna, J. M.; Israel, J.: Modulation of Alcohol Dehydrogenase and Ethanol Metabolism by Sex Hormones in the Spontaneously Hipertensive Rat. *Biochem. J.* 186:483-490; 1980.
- Ramos, J.:** Diferencias sexuales en el cerebro: Relación entre conducta, anatomía y función. Tomado del Texto de Neurociencias Cognitivas. Alcaraz, V. y Gumá, E. *Edit. Manual Moderno.* cap. II pp. 23-47; 2001.
- Rivier, C.:** Female rats release more corticosterone than males in response to alcohol: Influence of circulating sex steroids and possible consequences for blood alcohol levels. *Alcohol clin. Exp. Res.* 17:854-859. 1993.
- Rivier, C.:** Alcohol rapidly lowers plasma testosterone levels in the rat: evidence that a neural brain-gonadal pathway may be important for decreased testicular responsiveness to gonadotropin. *Alcohol. clin. Exp. Res.* 23 (1):38-45; 1999.
- Rush C. R.** Ali JA. Naltrexone does not attenuate the acute behavioral effects of ethanol or pentobarbital in humans. [Clinical Trial. Journal Article. Randomized Controlled Trial] *Behav. Pharmacol.* 10(4):401-13;1999.
- Rydberg, U. S.;** Allebeck, P.: State of the art-conference: Risk and protective effects of alcohol on the individual. *Alcsm. Clin. and Exp. Res.* 22 (7):269S-373S; 1998.
- Sandberg, D.;** David, S.; Steward, J.: Effects of estradiol benzoate on the pattern of eating and ethanol consumption. *Physiol. Behav.* 29(1):61-65; 1982.
- Sandberg, D.;** Steward, J.: Effects of estradiol benzoate and Mer-25 on ethanol consumption in the ovariectomized rat. *J. Comp. Psychol. Psychol.* 96 (4):635-648; 1982.
- Schipper, H. M.;** Desjardins, G. C.; Beaudet, A.; Brawer, J. R.: The 21-aminoesteroid antioxidant, U74389F, prevents estradiol-induced depletion of hypothalamic beta-endorphin in adult female rat. *Brain. Res.* 652:161.163; 1994.
- Simpkins, J.;** Anderson, W.; Dawson, R.; Seth, A.: Chronic weight loss in lean and obese rats with a brain-enhanced chemical delivery system for estradiol. *Physiol. Behav.* 44(4-5):573-80; 1988.
- Sirinathsinghi, D. J. S.;** Motta, M.; and Martini L.: Induction of precocious puberty in the female rat after chronic naloxone administration during the neonatal period: the opiate "brake" on prepubertal gonadotrophin secretion. *J. Endocr.* 104:299-307; 1985.

- Symons, M. A., Marks, V.:** The effects of alcohol on weight gain and the hipotalamic-pituitary- gonadotrophin axis in the maturing male rat. *Biochem. Pharmacol.* 24:955-958; 1975.
- Teschke, R.; Wiese, B.:** Sex-dependency of hepatic alcohol metabolizing enzymes. *J. Endocrine Invest.* 5(4):243-250; 1982.
- Teschke, R.; Heymann, K.:** Effect of sex hormones on the activities of hepatic alcohol metabolizing enzymes in male rats. *Enzyme.* 28(4):268-277; 1982.
- Valenstein, E., Kakolewski, J.W. ; Cox V. C. :** Sex differences en taste preference for glucose and saccharin solutions. *Science* 156 : 942-943 ; 1967.
- Van Thiel, D. H.; Tarter, R. E.; Rosenblum, E.; Gavalier, J. S.:** Ethanol its metabolism and gonadal effects: Does sex make a difference?. *Adv. Alcohol Subst. Abuse.* 7:131-169; 1988.
- Van-Thiel, D. H.; Gavalier, J. S.:** Endocrine consequences of alcohol abuse. *Alcohol Alxam.* 25:341-344; 1990.
- Van-Thiel, D. H.; Gavalier, J. S.:** Ethanol Metabolism and Hepatotoxicity, Does Sex Make a Difference? *Recent Dev. Alcohol.* 6:291-304; 1998.
- Vaubourdolle, M.; Guechot, J.; Chazouilleres, O.; Poupon, R. E.; Giboudeau, J.:** Effect of dihydrotestosterone on the rate of ethanol elimination in healthy men. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 15:238-240; 1991
- Varma, M.; Chai, J. K.; Meguid, M. M.; Laviano, A.; Gleason, J. R.; Yang, Z.; Blaha, V.:** Effect of estradiol and progesterone on daily rhythm in food intake and feeding patterns in Fisher rats. *Physiol. and behav.* 68(1-2):99-107; 1999.
- Vishwanath, R.; Lingappa, M.; Synthia, H.:** The Phisiology of reproduction, second edition, edited by E. Knobil and J: D: Neill, Raven press, Ltd, New York 3-1400; 1994.

## GLOSARIO DE TERMINOS

*Aceite:* se usó para aplicar vía subcutánea aceite de maíz en una dosis 0.05 ml de aceite por sujeto por día.

*Agua:* cuando se administra a los sujetos agua simple.

*Alcohol:* al 99.8% (etanol absoluto Merck) Cuando se expone a los sujetos experimentales a un bebedero con alcohol disuelto en agua en una concentración al 6%

*Benzoato de estradiol:* es la hormona que se aplica en dosis de 5 µg/macho/día.

*Castración:* se les sometió a los sujetos a un proceso quirúrgico en donde se les extrajeron las gónadas; y se refiere también al periodo posterior al evento quirúrgico.

*Castrados:* sujetos a los que se les retiraron las gónadas.

*Ciclos de luz-oscuridad* comprenden a dos periodos en las 24 horas del día de 12 horas cada uno; el de luz de 8.00a. m. a 7.59 p. m. y el de oscuridad de 8.00p. m. a 7.59 a. m.

*Consumo forzado:* cuando se expuso a los sujetos a un solo bebederos, regularmente de alcohol al 6%.

*Consumo voluntario:* cuando se les expuso a las ratas a dos bebederos uno con agua y otro con alcohol al 6% diluido en agua.

*Dipsometría:* equipo utilizado para registro de la distribución del consumo de líquidos y de la tasa de lameteos por unidad de tiempo.

*Etanol:* tipo de alcohol utilizado (etanol absoluto Merck al 99.8%).

*Exposición forzada:* cuando se les pone un solo bebedero regularmente con alcohol al 6%.

*Exposición voluntaria:* cuando se les expone a dos bebederos, a uno con alcohol al 6% y en el otro agua.

*Falsos castrados:* Sujetos experimentales a los que se les sometió a un proceso quirúrgico y se les dejaron las gónadas intactas.

*Frecuencia de accesos:* es el número de accesos al bebedero.

*Gonadectomia:* proceso quirúrgico por medio del cual se les extrajeron las gónadas a los machos.

*Índice de preferencia:* Es el consumo total de líquidos entre el consumo de alcohol de cada sujeto.

*Intervalo de frecuencia.* Se dividió en intervalos el número accesos al bebedero, de menor a mayor: 20-150, 151-300, 301-450, 451-600, 601-750 y >750.

*Lameteos* son los contactos que tienen las ratas con los bebederos.

*Naltrexona* antagonista opioide utilizado en el tratamiento de adicción a opioides.

*Patrones de consumo:* frecuencia o intensidad con que consumen las ratas durante el día.

*Periodos experimentales:* cada una de las manipulaciones de los grupos experimentales. (Precastración (PreC), castración (C), estradiol (E) aceite, y postcastración (PosC)).

*Peso corporal:* peso de los sujetos experimentales a lo largo de todo el experimento.

*Pre-castración:* (Pre-C) comprende el periodo anterior al evento quirúrgico.

*Prueba de preferencia:* Es la medición de alcohol con respecto al consumo total de líquidos total de alcohol/ total de líquidos.

*Rangos de lameteos o tasa de lameteos:* es el número de veces que una rata macho accede al bebedero en 10 minutos efectuándose un registro en rangos de 20-150, 151-300, 301-450, 451-600, 601-750 y >750.

*Total de líquidos:* es la cantidad de líquidos que consumieron cada uno de los sujetos.

*Vehículo:* liquido disponible en el consumo voluntario, que es agua simple y en el primer experimento adicionamos 2 gr. de azúcar por 100 ml de líquido.