



# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias  
División de Ciencias Biológicas  
Departamento de Ciencias Ambientales  
**INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS**

## **Efecto de la duración del tratamiento con estrógenos y su interacción con antagonistas opioides sobre el consumo de alcohol en la rata macho**

### **TESIS**

que para obtener el grado de

**MAESTRO EN CIENCIAS DEL COMPORTAMIENTO**  
(opción Neurociencias)

presenta

**Rosa Cristina Vázquez Cortés**

Comité tutelar:

**Dr. Jorge Juárez González (Director)**

Dra. Julieta Ramos Loyo

Dra. Marisela Hernández González

Guadalajara, Jalisco

Noviembre de 2003

## *MI PROFUNDO AGRADECIMIENTO:*

*A Dios:*

*Por darme la fuerza y el coraje para seguir adelante, y no permitir que me derrumbe cuando estoy cansada y siento que quiero claudicar.*

*Por rodearme de personas maravillosas e incondicionales, sobre todo cuando me siento sola y triste.*

*Por permitirme obtener la paz y la tranquilidad que necesito para estudiar y ordenar mis ideas.*

*Por enseñarme la lección aun cuando no me gusta.*

*Y por sobre todas las cosas, por permitirme seguir sana, viva y soñadora.*

*A Esteban:*

*Por ser mi maestro en el arte de tener paciencia, mi confidente cuando necesito hablar, mi guardián cuando necesito protección, mi compañero cuando me siento sola, mi pañuelo si quiero llorar y mi bufón si quiero reír, ser justo lo que necesito cada instante de mi vida.*

*Por ser leal, amoroso, bondadoso y .....en general por ser el extraordinario hombre que esta a mi lado, acompañándome a cada paso que doy.*

*Al Dr. Jorge:*

*Por creer en mi y brindarme su confianza desde el primer día que llegue.*

*Por enseñarme cosas que en los libros jamás podría encontrar.*

*Por preocuparse siempre de mi formación, no solo profesional sino también como persona.*

*Por siempre tener tiempo y ánimo para atenderme.*

*Por todo eso y muchas cosas más, se ha ganado mi respeto y admiración, pero sobre todo mi cariño.*

*A Tony:*

*Simplemente por todo, pero principalmente por su  
cariño incondicional.*

*A las Dras. Julieta y Marisela:*

*Por los aportes a este trabajo. Por sus conocimientos.  
Por regalarme horas de su tiempo. Por apresurarse a  
revisarlo aún cuando tenían mucho trabajo para que  
saliera este proyecto rápido.*

*A los profesores del Instituto de Neurociencias que  
en algún momento me asesoraron y me resolvieron  
alguna duda o me regalaron sus conocimientos en  
clase.*

*A mi familia y amigos (as):  
un beso, los quiero.*

*Cristy.*

## ÍNDICE

RESUMEN	I
I.- INTRODUCCIÓN	1
II.- MARCO TEÓRICO	5
1.-Alcohol	5
a) Farmacocinética del alcohol	5
b) Metabolismo del etanol	8
2.-Sistema Endocrino	9
a) Hormonas	10
b) Clases de acción hormonal	12
c) Internalización de receptores	13
d) Regulación del número de receptores	16
3.-Relación de alcohol y hormonas	18
a) Efectos del alcohol sobre las hormonas	19
b) Efectos de las hormonas sobre el alcohol	21
4.- Efectos de los estrógenos sobre el sistema opioide	23
5.-Participación de los opioides en el consumo del alcohol	25
6.-Efectos de los estrógenos sobre el consumo del alimento y sobre el peso corporal.	26
III.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	29
IV.- OBJETIVOS E HIPÓTESIS GENERAL	31

V.- EXPERIMENTO 1: EFECTOS PRODUCIDOS POR EL TRATAMIENTO A LARGO PLAZO CON ESTRÓGENOS SOBRE EL CONSUMO DE ALCOHOL

1.-Objetivos	32
2.-Hipótesis	33
3.-Método	34
4.-Resultados	39
5.-Discusión	45
6.-Conclusiones	48

VI.-EXPERIMENTO 2: EL EFECTO DEL TRATAMIENTO CON ESTROGENOS A CORTO Y LARGO PLAZO SOBRE EL CONSUMO DEL ALCOHOL, Y SU POSIBLE MODULACIÓN POR EL SISTEMA OPIOIDE

1.-Objetivos	49
2.-Hipótesis	50
3.-Método	51
4.-Resultados	56
5.-Discusión	68

VII.-DISCUSIÓN GENERAL 75

VIII.-CONCLUSIONES 77

IX.-REFERENCIAS 79

## RESUMEN

Se han descrito que efectos contradictorios de los estrógenos sobre el consumo del alcohol. También se ha encontrado que los estrógenos producen un incremento de la internalización de receptores a opioides, lo que podría producir un decremento en el número de receptores disponibles, provocando una sobre-regulación de los mismos después de varios días de tratamiento. Por otra parte, se conoce que el alcohol incrementa la actividad opioide. Con el fin de investigar si el consumo de alcohol se modifica dependiendo del tiempo de exposición a los estrógenos, y si el sistema opioide se encuentra involucrado en este efecto. Se realizaron 2 experimentos. Se utilizaron en ambos experimentos, ratas macho Wistar adultas gonadectomizadas, mantenidas en condiciones estándar de laboratorio. El alcohol fue voluntario al 10% y el alimento ad libitum; los tratamientos: benzoato de estradiol (E) 5 $\mu$ g/sujeto/días, aceite (A) 0.05 ml/sujeto/día, naltrexona (N) 2.5mg/sujeto/dos veces por día. Experimento I: Todos los sujetos fueron expuestos al alcohol por 24 días, durante este periodo un grupo (grupo AAA, n=8) fue tratado con A y otro grupo (grupo EEE, n=8) fue tratado con E. Ambos grupos fueron expuestos a alcohol antes (PRE) y después (POST) del tratamiento. Se dividió el periodo de tratamiento de E-E-E y A-A-A en periodos de 4,5,6,7 y 8 días. El efecto inhibitorio de E se observó en el 1er. periodo de tratamiento vs. PRE y los subsiguientes periodos (2,4y5) en análisis de 4 y 5 días, y en PRE y periodos 3 y 4 en el de 6 días. Cuando el periodo fue de 7 y 8 días ya no se encontraron diferencias significativas, al igual que con el tratamiento con A. Se concluyó que 6 días son suficientes para encontrar un decremento un posterior incremento en el consumo del alcohol. Experimento II: Un primer grupo fue tratado con A durante 6 días y posteriormente con un tratamiento con E por 6 días más [grupo AE, n=9]; un segundo grupo fue tratado con E 6 días y posteriormente con A otros 6 días [grupo EA, n=9]; un tercer grupo, se le administró la misma dosis de E durante 12 días consecutivos [grupo EE, n=9] y a un cuarto grupo, se le administró además de la misma dosis de E por 12 días, N los últimos 6 días [grupo EE+N, n=9]. Los últimos 6 días de tratamiento todos los grupos estuvieron expuestos al alcohol. También contaron con 6 días de alcohol antes (PRE) y después (POST) del tratamiento. El tratamiento con E produjo un decremento significativo en la preferencia del alc y también en la cantidad de alc consumido en el AE, contrario a esto, el E incremento significativamente ambas medidas en EE y EA, pero este efecto se vio inhibido en el grupo EE+N en ambas medidas. El tratamiento con E decremento el consumo de alimento vs. los periodos PRE y POST en todos los grupos. El decremento en el consumo de alcohol por el E puede deberse a una reducción de opioides endógenos y esto puede producir que el alcohol sea menos reforzador. Por otra parte, el incremento del alcohol después de varios días del tratamiento con E puede deberse a una sobre-regulación de receptores opioides, y podría esto hacer más reforzante el consumo de alcohol. En conclusión, el efecto diferencial de los E sobre el consumo de alcohol puede depender de su acción sobre mecanismos de sobre-regulación a receptores opioides.

## INTRODUCCIÓN

El abuso del alcohol y su dependencia (alcoholismo) es un serio problema social, de salud y económico en todo el mundo. Una gran cantidad de personas muere cada año por una variedad de factores inducidos por el consumo de etanol, incluyendo cirrosis, cáncer, enfermedades del corazón, suicidio, homicidio, accidentes automovilísticos y otros accidentes (Majchrowicz y Noble, 1979).

Los psicofarmacólogos han tenido que acercarse al problema del alcoholismo, desarrollando modelos animales con un excesivo consumo de alcohol, para analizar los factores neuroquímicos involucrados en los efectos recompensantes producidos por el alcohol, y después, examinar el bloqueo de la medicación o la disminución del efecto gratificante. La hipótesis implícita es, que si se da una medicación aceptable a los pacientes, podría ser que se descubriera un medicamento que redujera el impulso a reanudar el consumo de alcohol o disminuyera el beneficio del gratificador (Brien y col, 1995). Para poder ayudar en este sentido, es necesario conocer los mecanismos a través de los cuáles el alcohol puede provocar una adicción, y es a través de los sistemas con los cuales tiene interacción, que se persigue este objetivo.

Se conoce que el alcohol tiene efectos tanto a nivel periférico como central afectando diversos sistemas, uno de ellos es el sistema endocrino. Las dosis agudas de alcohol producen numerosas alteraciones en hormonas importantes, incluyendo prolactina, la hormona de crecimiento, la hormona adrenocorticotrópica

y cortisol (Emanuele y Emanuele, 1997). Las consecuencias de algunos de esos cambios pueden traer trastornos como irregularidades menstruales, entre otros (Gill, 1997; Gavaler y cols, 1992; Lindman y col, 1999). En los hombres puede desarrollarse un decremento en la producción y motilidad de los espermatozoides, a través de sus efectos directos sobre los testículos (Ruusa y col, 1997; Villalta y col, 1997). También el consumo moderado incrementa los niveles de estrógenos mejorando algunos síntomas post-menopáusicos (Gavaler y col, 1992).

El estudio de esta interacción del alcohol con las hormonas ha tomado dos vertientes principales: una de ellas relacionando los efectos del alcohol sobre las hormonas, y otra en la cual las hormonas tienen efectos sobre el consumo del alcohol (Juárez y col, 2002). Otro de los sistemas que se ve afectado por el consumo del alcohol, es el sistema opioide. La literatura sugiere que el alcohol induce a una activación del sistema opioide, que es parte de uno de los mecanismos neurobiológicos que están involucrados funcionalmente en el reforzamiento del alcohol, debido a que la administración de alcohol incrementa los niveles endógenos de opioides y la presencia de un antagonista opioide decrementa el consumo (Froehlich, 1996).

Debido a la relación del alcohol con estos dos sistemas, el principal objetivo de este estudio fue conocer si la duración de la administración de los estrógenos pudiese tener efectos diferentes sobre el consumo del alcohol. Y ya que se conoce que tanto el alcohol (De Witte y col, 1984; Hubbell y col, 1986; Marfaing-Jallat y col, 1983; Froehlich y col, 1990), como los estrógenos (Quiñones-Jenab y col,

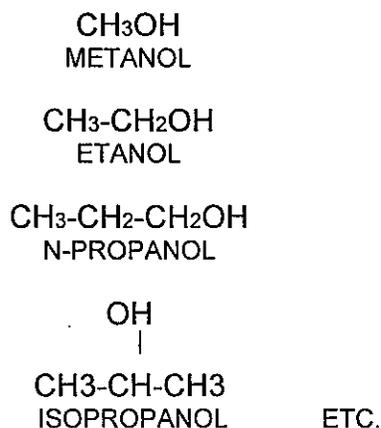
1997; Desjardins y col, 1993 y Schipper y col, 1994) actúan sobre el sistema opioide, es posible que interactúen facilitando o inhibiendo una adicción.

De esta forma, en el presente trabajo se realizaron 2 experimentos, el primero tuvo como objetivo, conocer el número de días necesario en el cual ocurre un cambio significativo en el consumo del alcohol; y en el segundo, conocer los efectos del tratamiento con estrógenos con diferente tiempo de administración sobre el consumo del alcohol.

## MARCO TEÓRICO

### 1. ALCOHOL

Los alcoholes alifáticos forman una serie homóloga que comienza con el metanol o alcohol de madera:



Los primeros tres alcoholes son totalmente hidrosolubles en todas proporciones, pero conforme se alarga la cadena de carbonos, disminuye su solubilidad en agua, y el octanol (ocho carbonos) es casi insoluble (Kalant, 1982).

#### a) Farmacocinética del alcohol

El nivel de un fármaco en cualquier tejido está en un estado constante de flujo, al pasar el producto de un compartimiento a otro por medio del plasma, y ser eliminado simultáneamente del organismo por metabolismo (proceso por el cual un fármaco administrado es modificado por el organismo) o por excreción. Las interrelaciones cuantitativas entre estos procesos, es decir, la farmacocinética de

una sustancia dada, es el factor que gobierna su dosificación y su duración de acción (Kalant, 1996).

Los parámetros farmacocinéticos son dependientes de variables fisiológicas como, la velocidad constante de absorción, la eliminación hepática, la eliminación renal y el volumen de distribución ( $V_d$ ); y también de los dependientes de los parámetros antes mencionados como, la vida media, la velocidad constante de eliminación, la fracción excretada sin alterar, el área bajo la curva (BAC), el estado gradual de concentración, el estado promedio de concentración (Laurence, 1998).

La farmacocinética, es una parte central del estudio de la biología del alcohol y el alcoholismo. Los motivos por los cuales se le presta atención son diversos, por ejemplo: El balance entre absorción y eliminación, determina el curso del tiempo de las concentraciones en sangre y tejidos, y por lo tanto, ejerce una mayor influencia sobre la intensidad y la duración de los efectos agudos de una dosis de etanol. La exposición crónica o repetida al alcohol da como resultado cambios cinéticos, reflejando alteraciones en las enzimas que metabolizan el etanol, y por lo tanto, en procesos relacionados a los mecanismos de daño en los tejidos inducidos por el alcohol, y de muchas de las interacciones entre el etanol y otras drogas (Kalant, 1996).

- Absorción, Difusión y eliminación del etanol.

El paso del etanol a través de la membrana ocurre por un proceso simple de difusión pasiva por el gradiente de concentración, conforme a la ley de Fick. Debido a su bajo peso molecular y su alta solubilidad en agua, el paso del etanol es completo ya que pasa por el mismo canal transmembranal que permite el paso del agua (Kalant, 1971; Wallgren y Barry, 1970).

Se absorbe por difusión simple a través de cualquier mucosa; ello ocurre en el estómago, pero este fenómeno es más rápido en la fina mucosa del intestino delgado, de tal forma que todo lo que retarde el vaciamiento gástrico (alimentos, ejercicios y fármacos anticolinérgicos), retardará la absorción del etanol.

La disminución de la corriente a las vísceras, la dilución excesiva del alcohol ingerido o cualquier factor que disminuya el gradiente de concentración de etanol a través de la mucosa, también lentificarán la absorción. El etanol se difunde rápidamente desde la sangre, a través de las paredes capilares y las membranas de las células al espacio intracelular, y se equilibra con el agua corporal. La presión de vapor del etanol en el aire alveolar también está en equilibrio, y es la base del análisis del alcohol en el aire espirado. Sin embargo, la cantidad de etanol que se elimina con el aire espirado, el sudor y la orina, suele ser menor de 5% de la dosis ingerida, porque el resto se metaboliza básicamente en el hígado (Kalant, 1982).

b) Metabolismo del etanol.

El acetaldehído ( $\text{CH}_3\text{CHO}$ ) y acetato ( $\text{CH}_3\text{COO}$ ) son intermediarios en el proceso metabólico del etanol ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ ). El metabolismo oxidativo del etanol a acetadehído es catalizada principalmente por NAD (Dinuclétido de Adenina y Nicotinamida) a través de la alcohol deshidrogenasa (ADH), aunque cuando existen cantidades muy grandes de etanol la oxidación también ocurre a través del MEOS (Sistema Microsomal Oxidante de Etanol) que tiene una  $K_m$  (Constante de Michaelis-Menten, cantidad/volumen) más alta, lo que produce mayor toxicidad. Después el acetaldehído es oxidado a acetato por el NAD a través de la aldehído deshidrogenasa (ALDH). La toxicidad del acetaldehído en el hígado es explicada en parte, porque el metabolito producido por la vía MEOS es degradado más lentamente que el producido por la vía de la ADH. La vía diferente a la alcohol deshidrogenasa incluye MEOS dependiente de NADPH (el fosfato del dinucleótido de adenina y nicotinamida), oxidasa dependiente de NAPH y catalasa. Además de estas enzimas existen otras involucradas en el metabolismo del alcohol como son la aldehído reductasa, la aldehído oxidasa, y la xantina oxidasa, pero se conoce poco de su contribución en el metabolismo del alcohol o en el alcoholismo.

Durante la oxidación del etanol o acetadehído por la ADH o ALDH, el hidrógeno del substrato es trasladado al cofactor NAD, el cual es, por consiguiente, reducido a NADH. Diversas observaciones indican que en la presencia de cantidades normales de las enzimas, la tasa general o velocidad del metabolismo del alcohol depende de la disponibilidad de NAD. La habilidad del sistema para disociar el complejo ADH-NADH es el factor que determina la tasa

para la actividad de ADH. En general, por lo tanto, la oxidación de etanol resulta en la generación de exceso de NADH. La alteración del estado de redox durante el metabolismo del alcohol es responsable de numerosas anomalías metabólicas, como el exceso de producción de ácido láctico, y una interferencia en el metabolismo de las catecolaminas. Algunos de los equivalentes de hidrógeno pueden ser trasladados a NADP, y el incremento de NADPH es utilizado en citosol y en microsomas por MEOS principalmente para la lipogénesis, mientras otros equivalentes reducidos ingresan en la mitocondria a través de mecanismos regulares por los cuales NAD es regenerado (Ross, 1989).

## 2. SISTEMA ENDOCRINO

El sistema endocrino y nervioso es el mayor medio por el cual el cuerpo transmite información entre las diferentes células y tejidos. Esta información resulta en la regulación de muchas funciones corporales. El término "endocrino" denota secreción interna de sustancias biológicamente activas. El sistema endocrino utiliza hormonas para transportar su información. Las hormonas son definidas como, sustancias liberadas por una glándula endocrina y transportada a través del torrente sanguíneo a otro tejido, donde actúa para regular funciones del órgano blanco. Esas acciones son mediadas por la unión de la hormona a moléculas receptoras. Los receptores, deben distinguir a las hormonas de los otros millones de moléculas a los cuales están expuestos, y transmitir la información de la unión en eventos post-receptor. Las hormonas son efectoras alostéricas, que alteran la conformación de las proteínas receptoras a las cuales se unen (Baxter, 1997).

El sistema endocrino a través de diversos mecanismos controla la síntesis, liberación, activación, transporte en la circulación, metabolismo y entrega de hormonas a la superficie o interior de las células sobre el cual ellos actúan. (Baxter, 1997).

a) Hormonas.

Las hormonas pueden ser clasificadas considerando factores como: unión a proteínas transportadoras en sangre, vida media en plasma, solubilidad en agua o lípidos, ubicación de receptores celulares, tipo de mediador intracelular y si pueden cruzar la barrera hematoencefálica o no. De acuerdo con su estructura molecular fundamental, las hormonas pueden ser divididas en: 1) aminas o derivados de aminoácidos, 2) péptidos y proteínas y 3) esteroides.

Las aminas son compuestos que se derivan de algún aminoácido, son sintetizados en el citoplasma por una serie de fases enzimáticas. Los aminoácidos, también tienen una función importante en la formación de los péptidos y las proteínas, sólo 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 y le confiere características específicas a su actividad biológica.

Las proteínas son macromoléculas formadas por una o varias cadenas de polipéptidos. Las hormonas polipeptídicas se sintetizan en los ribosomas. Inicialmente el gen que codifica a un polipéptido transfiere la información al ácido

ribonucleico mensajero (RNAm), el cual se fija a un ribosoma libre para iniciar la traducción. La secuencia inicial de aminoácidos se denomina péptido de señal, el cual, queda fijo a una ribonucleoproteína, que se conoce como partícula de reconocimiento de señal; a ésta se une una proteína de acoplamiento en la membrana del retículo endoplásmico; posteriormente el polipéptido sintetizado es expulsado al interior del mismo. La hormona recién sintetizada de esta manera, se desplaza en vesículas hacia el aparato de Golgi y ahí es "empacada" en forma de gránulos para su posterior secreción.

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 representa la hormona progenitora de todos los esteroides. La síntesis de los esteroides ocurre en el retículo endoplásmico liso y la mitocondria; su tasa 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 secreción de los esteroides presenta una relación estrecha con su tasa de síntesis, ya que, una gran cantidad de hormona no es 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. (Juárez, 2001).

b) Clases de acción hormonal.

Las hormonas y análogos hormonales se pueden clasificar por su función en dos maneras. La primera, clasifica con respecto al ligando, si se une a un receptor dado, y si lleva al receptor a eventos post-unión que resultan en la acción del receptor. Esta clasificación separa a las hormonas en agonistas, antagonistas o agonistas parciales/antagonistas parciales, mixto agonista-antagonista o componentes inactivos. La segunda, clasifica la función de la hormona de acuerdo al tipo de respuesta, mediante el tipo de receptor a través del cual actúa el ligando.

Componentes inactivos. Componentes que no se unen a receptores, que tienen actividad agonista o antagonista, y se dice que son componentes inactivos.

Agonista. Un agonista es un componente que se une a su receptor, y transmite una acción hormonal.

Antagonista. Un antagonista es un componente que se une a un receptor dado, y no transmite la acción hormonal. La unión de un antagonista también bloquea la unión de agonistas, de ese modo previene sus acciones.

Agonista parcial-antagonista parcial. Son componentes que se unen a sus receptores, producen una respuesta que es menor que los de un agonista completo con concentraciones iguales de ligando, que satura completamente los receptores.

Agonista-antagonista mixto o heterólogo. Son componentes que actúan en diferentes vías, a través del mismo tipo de receptor, en diferentes contextos. Por consiguiente, esos componentes pueden actuar con más actividades agonistas en algunos contextos, y con más actividades antagonistas en otros contextos, y se extiende a los componentes con actividades agonistas, antagonistas, agonistas-antagonistas parciales (Baxter, 1997).

### c) Internalización de receptores

Todas las células eucariotas están ingiriendo en forma continua partes de sus membranas plasmáticas. Muchos tipos de membranas celulares internalizan complejos hormona-receptor, y son movidos de la membrana celular al interior por un proceso llamado endocitosis. Este representa el opuesto a la exocitosis, en el cual, los componentes dentro de la célula son movidos al exterior de la célula (Litwack y Schmidt, 1997).

La internalización del complejo receptor-ligando, puede funcionar para permitir la liberación de la hormona intacta o derivar fragmentos de péptidos dentro de la célula. Entre las posibilidades son las siguientes: a) un medio para degradar al ligando después de promover alguna acción (o no) en la membrana celular, b) un medio para degradar el receptor, c) un medio para degradar el ligando a un producto que es activo en el interior de la célula, o para liberar un ligando no alterado dentro de la célula, para unir a receptores interiores (por ejemplo, sobre la membrana nuclear) para producir un efecto mitogénico. Un medio para degradar el receptor para un fragmento activo (ve) que operaría dentro

de la célula. Y quizás puede ser muy importante la señal de encendido para la actividad a nivel de la membrana celular (Norman y Litwack, 1997).

La endocitosis requiere: 1) energía, por lo general de la hidrólisis del ATP, 2)  $Ca^{++}$  en el líquido extracelular y 3) elementos contráctiles en la célula (probablemente de microfilamentos) (Granner, 1994).

Existen dos tipos generales de endocitosis. La fagocitosis, se efectúa sólo en células fagocíticas como los macrófagos y granulocitos. La pinocitosis es una propiedad de la totalidad de las células, está dirigida a la captación celular de líquidos y de solutos. Hay dos tipos, la pinocitosis de fase líquida, es un proceso no selectivo, en el cual, la captación de un soluto por formación de vesículas pequeñas, es simplemente proporcional a su concentración en el líquido extracelular circundante. La formación de estas vesículas es un proceso extremadamente activo (Granner, 1994).

El otro tipo de pinocitosis, la pinocitosis adsorptiva (ver figura 1), es un proceso selectivo, mediado por un receptor, fundamentalmente encargado de la captación de macromoléculas, para las que existe un número finito de sitios de fijación sobre la membrana plasmática. Estos receptores de elevada afinidad, permiten la concentración selectiva de ligandos del medio, minimizan la captación de líquido o de macromoléculas solubles no unidas, e incrementan de manera notable la velocidad a la cual, moléculas específicas entran a la célula (Granner, 1994).

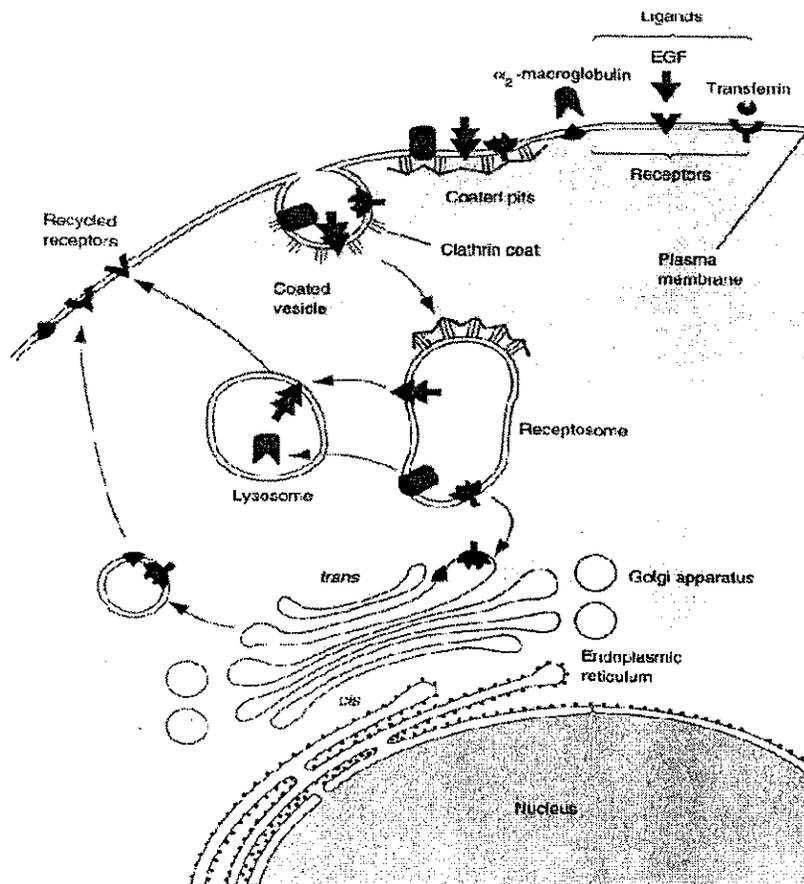


Figura 1. Diagrama de la vía de la endocitosis en la célula (Litwack y Schmidt, 1997).

Durante el proceso de internalización, las hormonas se unen a receptores en una depresión revestida, que son indentaciones en la membrana plasmática. La depresión revestida, invagina dentro del citoplasma, formando vesículas recubiertas que contiene el complejo hormona receptor (Litwack y Schmidt, 1997; Norman y Litwack, 1997). Las vesículas están recubiertas sobre el lado citoplásmico con un material filamentoso. En muchos sistemas este material lo constituye la clatrina, que probablemente es una proteína periférica de la membrana. Las depresiones revestidas pueden representar hasta 2% de la superficie de algunas células (Granner, 1994). Las vesículas se despojan de su

recubrimiento y se fusionan con otras vesículas, formando receptosomas, y los receptores son retornados a la superficie celular después de la subsiguiente fusión con el aparato de Golgi o se fusionan con lisosomas, y el contenido puede ser degradado. Por este mecanismo, los ligandos en la vesícula son entregados a los lisosomas y degradados. Algunos, especialmente activan los productos de degradación o la hormona intacta se puede salir, para promover los efectos de largo término de la hormona polipeptídica original (Norman y Litwack, 1997).

Las hormonas tienen efectos inmediatos en la membrana celular, en algunos casos tienen efectos de largo término, hasta el final de los procesos generados en la membrana o después de la internalización. En función de una hormona polipeptídica, que produce un efecto en la célula, una posibilidad es, considerar el proceso de internalización, como un medio para generar un fragmento activo mitogénicamente, o crear una forma fosforilada de la hormona o que esta hormona polipeptídica no degradada dentro de la célula, interactúe en alguna vía (receptor) con el núcleo, para incrementar la velocidad de replicación del ADN. Alternativamente, los efectos de largo término, pueden ocurrir al finalizar las actividades de moléculas segundo mensajero, generadas por la acción de la membrana celular (Norman y Litwack, 1997).

#### d) Regulación del número de receptores.

El grado de activación de un gen y su subsiguiente síntesis de proteínas, estimulado por una hormona en su célula blanco, es determinado por el número de receptores a hormona en las células blanco, al igual que, por el nivel de la

hormona circulante. El número de receptores en la célula no es fijo, puede ser alterado por el nivel de hormonas en la circulación. El número de receptores hormonales puede cambiar en la vida de un individuo. Durante el desarrollo perinatal, hay un incremento en el número de receptores para muchas hormonas (MacLusky y Naftolinm, 1981; Keefer y Holderegger, 1985) y durante el envejecimiento el número de receptores se decrementa (Roth, 1979).

Cambios en la cantidad de la hormona en circulación, pueden regular el número de receptores para esa hormona, por un proceso de retroalimentación negativa. La exposición prolongada de las células blanco a una alta concentración circulante de la hormona, resulta en una reducción en el número de receptores a la hormona. Esto se conoce como regulación a la baja de receptores (Martin, 1985). La regulación a la baja puede tomar algún tiempo para que ocurra, y se revierte lentamente cuando los niveles hormonales declinan.

Si hay un decremento en los niveles hormonales circulantes, ocurre una sobre-regulación de receptores (ver figura 2) que resulta en un mayor número de receptores, lo que permite a la célula capturar la mayor cantidad de la hormona. Sin embargo, si la hormona es eliminada del cuerpo completamente, el número de receptores declina porque es necesaria la hormona para estimular la síntesis de sus receptores. Por consiguiente, después de un periodo largo de abstinencia de estrógenos, como ocurre después de la ovariectomía, hay pocos receptores de estrógenos. Para que las células objetivo tengan receptores, son necesarias pequeñas dosis de estrógenos (a través de una inyección de estrógenos), para

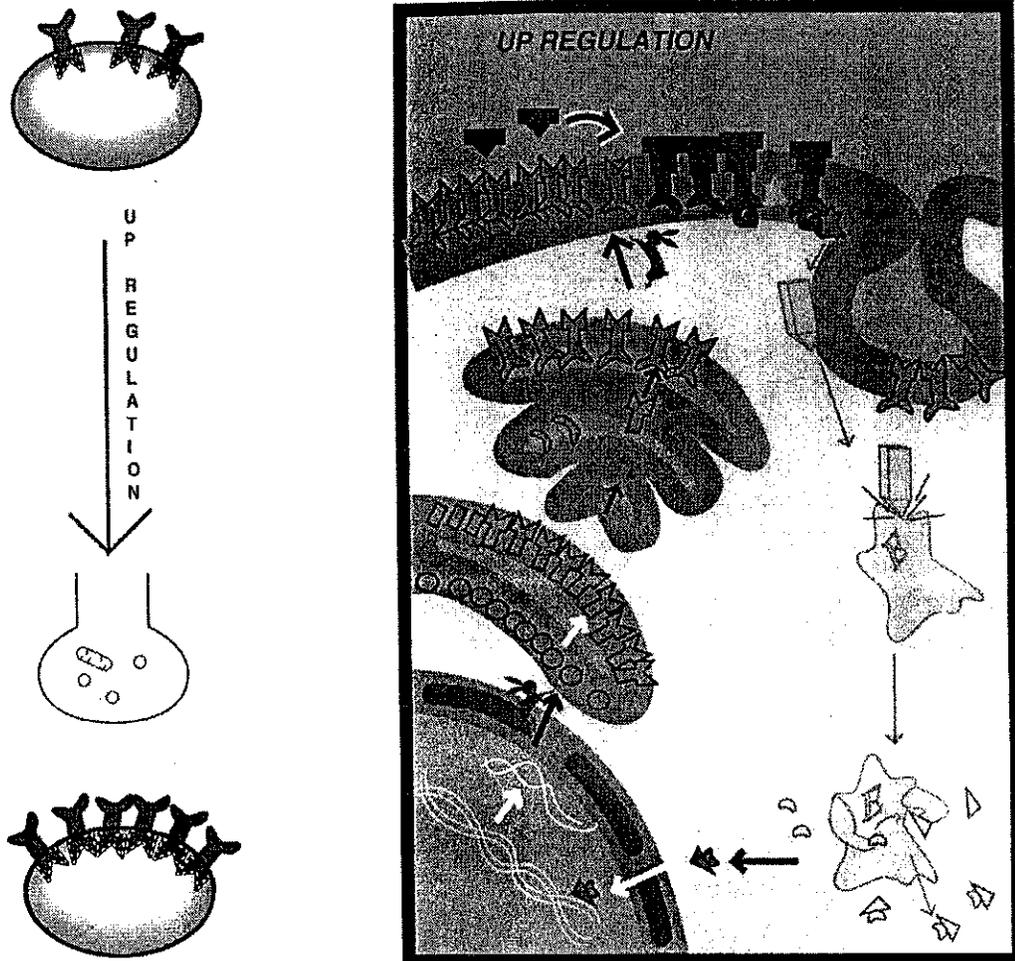


Figura 2. Diagrama de la regulación de receptores (sobre-regulación) (Stahl, 1996).

estimular la producción de receptores, antes de se inicien cambios fisiológicos o conductuales.

El que estructuralmente las hormonas esteroides sean semejantes y tengan receptores que pertenecen a la misma súper familia, hace que dos o más hormonas esteroides tengan la habilidad de unirse a un mismo receptor. Los receptores a andrógenos, por ejemplo, se unen a varias hormonas esteroides, pero tienen mayor afinidad a la testosterona y dihidrotestosterona (Sheridan,

1983). La progesterona compite con la testosterona para unirse a los receptores a andrógenos e inhibe la acción de los andrógenos (McEwen, 1981). Por consiguiente, la progesterona actúa como un antagonista de andrógenos.

Cuando se encuentran dos receptores a hormonas esteroides diferentes en la misma célula nerviosa, dos hormonas pueden actuar sinérgicamente o antagónicamente en las células blanco. Por ejemplo, los receptores a estrógenos y andrógenos en las áreas hipotalámicas preóptica medial y anterior, la eminencia media, y la amígdala cortico-medial (Sar y Stumpf, 1975; Simerly y col, 1990). Los estrógenos y andrógenos (ejemplo la dihidrotestosterona) pueden actuar sinérgicamente para estimular la conducta sexual en esos lugares (McEwen, 1981). O por otro lado, los glucocorticoides pueden inhibir las acciones de los esteroides gonadales en la célula blanco común en la amígdala, hipocampo y séptum (Sar y Stumpf, 1975), y, por consiguiente, inhibir la conducta sexual durante periodos de alto estrés (Brown, 1994).

### 3. RELACION ALCOHOL Y HORMONAS

#### a) Efectos del alcohol sobre las hormonas

La ingestión crónica de alcohol en los hombres causa atrofia testicular, daño en la espermatogénesis e impotencia sexual (Cicero, 1982; Van Thiel, 1983; Anderson y col, 1986; Willis y col, 1983; Bannister y Lowosky, 1987). La ingestión crónica de alcohol en las mujeres causa anovulación, amenorrea, disfunciones en la fase lútea y una menopausia temprana (Huges y col, 1980; Mello, 1988; Mello y col, 1983; Välimäki y col, 1984; Van Thiel y col, 1978).

Se ha encontrado que los niveles estrogénicos en hombres sanos, se encuentran elevados después de un tratamiento con alcohol, dando claridad al fenómeno de feminización, observado con el abuso del alcohol crónico (Cownbergs, 1988). El estradiol se encuentra elevado en sujetos con cirrosis inducida por alcohol; la testosterona (T), la hormona luteinizante (LH) y la hormona estimulante del folículo (FSH) son reducidas en las mujeres alcohólicas con cirrosis (Gavaler y col, 1992). Los estrógenos son incrementados en mujeres post-menopáusicas, después de consumir alcohol; por la aromatización de andrógenos a estrógenos, esto se debe a que el alcohol incrementa el grado de aromatización (Gavaler y col, 1991). El consumo de alcohol crónico, puede estar relacionado con disfunciones en el ciclo menstrual y con la función hormonal reproductiva (Mendelson y col, 1988). La administración de alcohol activa el eje hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA) de ratas hembras y machos, y con la misma dosis se secreta más adrenocorticotropina (ACTH) y corticosterona en hembras que en machos (Ogilvie y col, 1997). La administración múltiple de etanol, produce un déficit de T en suero, e incrementa las uniones específicas de estrógenos a receptores nucleares en área preóptica (PoA) en ratas (Babichev, 1989). Hay un efecto supresor directo del etanol sobre la liberación de LH en el inicio del periodo de intoxicación, y elevaciones subsecuentes de los niveles de estradiol y prolactina en plasma (Esquifino y col, 1989).

Existe una gran cantidad de investigaciones en esta línea que tratan de clarificar los efectos del alcohol en el organismo. Sin embargo, el porqué en ciertos

organismos el consumo del alcohol es tan reforzante, o a través de qué mecanismos, en un organismo se produce o facilita una adicción, o más específico, qué hace que las hormonas faciliten o inhiban una adicción, ha sido poco explorado.

#### b) Efectos de las hormonas sobre el consumo del alcohol

Se ha descrito que las diferencias de género debidas a las gónadas sexuales, parecen ejercer influencias moduladoras sobre la preferencia al etanol de machos y hembras (Almeida y col, 1998; Lancaster y col, 1996). Por ejemplo, se ha encontrado que la testosterona, estimula el desarrollo de la preferencia al etanol, mientras que los efectos de la progesterona y el estradiol, son más lentos y menos intensos en ratas macho (Lakoza y col, 1980). Sin embargo, los hallazgos en la literatura son contradictorios: Messiha en 1981, estudió los efectos de ciertos componentes esteroides con propiedades estrogénicas y antiestrogénicas sobre el consumo voluntario de etanol, en ratas de ambos sexos con preferencias al etanol, y encontró que la administración aguda de estradiol, decrementó el consumo voluntario de etanol en ratas macho y hembra. En este mismo estudio, la administración en un periodo corto de un compuesto antiestrogénico, resultó en aversión al consumo de etanol en el macho pero no en la rata hembra. Sandberg y col, realizaron 2 investigaciones (1982a,b) similares, en una estudiaron el efecto del benzoato de estradiol sobre el patrón de consumo de etanol, y en otro sobre el consumo de etanol en ratas ovariectomizadas, dando libre acceso a éste. En ambos, encontraron que el benzoato de estradiol, llevó a un inmediata pero transitoria supresión en el consumo de alcohol. En uno de estos estudios

(Sandberg y col,1982a) a las tres semanas de la primera inyección, y en otro (Sandberg y col,1982b) después de 14 días, el consumo de alcohol retornó a los niveles de los animales control, a pesar de haber continuado la administración de la hormona. Juárez y col, (2001) también investigaron el efecto del estradiol sobre el consumo de alcohol forzado y voluntario, administrando benzoato de estradiol a machos castrados y falsos castrados por 8 días, encontraron que, el tratamiento de estrógenos producía un efecto inhibitor en el consumo de alcohol, y una modificación del patrón de consumo. Cuando estos autores, administraron en machos castrados valerianato de estradiol durante 8 días, y midieron su consumo de alcohol, encontraron que este no presentaba diferencias, después a esos sujetos, se les administró benzoato de estradiol por 8 días, y se les midió el consumo de alcohol, y encontraron que el consumo de alcohol se incrementó (datos no publicados). Por otro lado, Hilakivi (1996) también investigó, si la administración crónica de los estrógenos, influía en el consumo de alcohol voluntario en machos y hembras ratones. Este autor encontró, que los ratones machos tratados con estrógenos, exhibían niveles significativamente más altos de consumo de alcohol que los machos tratados con tamoxifen (un antagonista estrogénico). En contraste, las hembras tratadas con tamoxifen ovariectomizadas, consumieron significativamente más alcohol que las hembras ovariectomizadas tratadas con estrógenos.

Se ha descrito que los estrógenos incrementan la actividad de la alcohol deshidrogenasa (ADH) en el riñón, incrementando el RNAm de ADH (Qulali y col, 1991), y parece que este incremento se debe a un mecanismo post-transcripcional

(Qulali, 1992). Además, el metabolismo se altera ante la presencia de hormonas, en ratas machos espontáneamente hipertensas, la velocidad del metabolismo del etanol parece ser limitada por la actividad de la ADH, y es modulada por testosterona. La testosterona tiene un efecto inhibitor y el estradiol tiene un efecto estimulador sobre de la actividad de la ADH y la velocidad en el metabolismo del etanol (Rachamin, 1980). También, se presentan diferencias en ratas entre los sexos, en las enzimas hepáticas que metabolizan el alcohol, contando los machos con una mayor actividad enzimática del sistema de oxidación microsomal de etanol y de la catalasa que las hembras, mientras que, para la actividad de la ADH, se encontró una acción opuesta. (Teschke, 1982).

#### 4. EFECTOS DE LOS ESTRÓGENOS SOBRE EL SISTEMA OPIOIDE

También se ha descrito que los estrógenos afectan al sistema opioide. Quiñones-Jenab y col, (1997) encontraron que, el tratamiento con estrógenos altera los niveles de RNAm de receptores opiodes  $\mu$ , en diferentes áreas del prosencéfalo, en ratas hembras ovariectomizadas. Carter y col, (1996) encontraron que, la administración de estradiol, decrementa los niveles de  $\beta$ -endorfinas y meta-enkefalinas (ME) en el hipotálamo, en ratas ovariectomizadas. Desjardins y col, (1993) y Schipper y col, (1994) encontraron que la administración crónica de valerianato de estradiol, resulta en la reducción de beta-endorfinas ( $\beta$ -endorfinas), en el núcleo arqueado hipotalámico de ratas hembras adultas. Lapchack, (1991) también encontró que el tratamiento con valerianato de estradiol, decrementa la capacidad de neuronas en el hipotálamo para sintetizar y

mantener la liberación de  $\beta$ -endorfinas. Wardlaw, (1986) también encontró que el estradiol baja los contenidos hipotalámicos de  $\beta$ -endorfinas y del péptido del lóbulo intermedio del tipo de la corticotropina (CLIP), y que además, ese efecto no parece ser mediado por dopamina. Weiland y Wise (1990) encontraron que el tratamiento con estrógenos en un periodo menor a 48 horas, decrementa la densidad de sitios de unión con la naloxona.

Contrario a lo antes descrito, existen otros trabajos donde se ha observado que el tratamiento con estrógenos produce un incremento de  $\beta$ -endorfinas. Thornton y col, (1994) encontraron que 24 hrs. después del tratamiento con estrógenos, se incrementó el número de neuronas que expresan  $\beta$ -endorfinas, en el núcleo arqueado. Priest y Roberts (2000), encontraron que el tratamiento con estrógenos incrementó el RNAm de proopiomelanocortina (POMC) después de 4 hrs., mientras que el tratamiento con un antiestrógeno, solo o la combinación con estrógenos, no presentaron cambios significativos en los niveles de RNAm de POMC.

Por otro lado, se conoce que los receptores opioides  $\mu$  ( $\mu$ -OR), como muchos de los receptores que se unen a proteínas G, son rápidamente internalizados después de su unión con el agonista, Eckersell y col, (1998) encontraron que esta internalización se incrementa con el tratamiento con estrógenos.

Parece ser que estas discrepancias son debido a la duración del tratamiento. El tratamiento agudo de estrógenos parece producir un decremento de  $\beta$ -endorfinas, mientras que el tratamiento crónico tiene el efecto contrario.

## 5. PARTICIPACION DE LOS OPIOIDES EN EL CONSUMO DEL ALCOHOL

Ha sido descrito que el consumo de alcohol es reforzante por la presencia de opioides endógenos, ya que, cuando se administra un antagonista opioide como la naloxona, el consumo de alcohol se decrementa (De Witte y col, 1984, Hubbell y col, 1986, Marfaing-Jallat y col, 1983, Froehlich y col, 1990).

El alcohol estimula la secreción de  $\beta$ -endorfinas en el fluido intersticial testicular (TIF) (Adams y col, 1991). Además, cuando Hyytiä y col, (1999) examinaron los efectos de una infusión de naloxona en el consumo de alcohol, sobre la densidad y función de receptores opioides, en ratas con altos consumos; ellos encontraron, que la naloxona suprimió el consumo de alcohol, comparado con el grupo control, sin embargo, después de que se retiró la naloxona, las ratas rápidamente incrementaron su consumo de alcohol y alcanzaron la línea base del pre-tratamiento. También encontraron, una sobre-regulación de los sitios de unión de los receptores opioides  $\mu$ ,  $\delta$ , y  $\kappa$ , en muchas áreas del cerebro de esos animales, y que esta sobre-regulación de receptores era funcional, ya que, el acoplamiento de receptores a la activación de proteínas G, fue aumentada por las ligaduras agonistas.

Esos resultados sugieren que, la utilidad de un régimen crónico de antagonistas opioides, puede ser limitado por efectos no específicos de los antagonistas, al causar una sobre-regulación de receptores opioides con altas dosis, resultando una supersensibilidad a agonistas opioides después de la discontinuación del tratamiento. Estos datos concuerdan con los presentados por otros autores (Yoburn y col, 1993 y Candido y col, 1992). Además, se ha descrito, que el tratamiento con estrógenos, aumenta el efecto de la naltrexona en el consumo del alcohol de las ratas machos. (Juárez y col, datos no publicados).

## 6.-EFECTOS DE LOS ESTRÓGENOS SOBRE EL CONSUMO DEL ALIMENTO Y SOBRE EL PESO CORPORAL

Se ha descrito que los estrógenos tienen efectos sobre el alimento y el peso corporal. Varma y col, (1999) encontraron en ratas ovariectomizadas, una vertiginosa ganancia de peso corporal; los sujetos comían cantidades mayores pero no más veces, incrementando el total del consumo de alimento durante la fase de luz. Mientras que, en la fase de oscuridad, los sujetos incrementaban el tamaño de la comida pero, reducían proporcionalmente el número de comidas, resultando sin cambios en el consumo total de alimento durante esta fase. Cuando les administraron valerato de estradiol o una combinación de progesterona y estradiol, los cambios se revertían. Donohoe y Stevens, (1982), encontraron que los implantes de benzoato de estradiol, CI-628 (componente antiestrogénico), estrona y estriol en el núcleo arqueado ventromedial del hipotálamo, producían una reducción equivalente en el consumo del alimento y el peso corporal en ratas ovariectomizadas. En 1984, ellos reportaron que el 17-alfa estradiol, reducía

significativamente el consumo de alimento, sin afectar el peso corporal de las ratas ovariectomizadas. El 17-beta estradiol, reducía más significativamente el consumo del alimento que el 17-alfa y también reducía el peso corporal.

Simpkins y col, (1988), observaron que el valerato de estradiol causó una transitoria reducción del consumo de alimento y de la ganancia del peso corporal. Y que el aumento deliberado de estradiol al cerebro con un sistema de proporción químico de estradiol (E2-CDS), causaba una reducción sostenida en la tasa de ganancia de peso corporal, en ratas delgadas, y una pérdida de peso persistente en animales obesos. Ellos mismos (1989), en otra investigación reportaron que el E2-CDS causó una supresión inicial dependiente de la dosis en el peso corporal a los 8 días, y una supresión del consumo de alimento a los 4 días. Mientras tanto, el decremento con el valerato de estradiol en el peso corporal y el consumo de alimento, fueron bajos en magnitud, cortos en duración y no dependientes de la dosis.

Sandberg y col, (1982a) encontraron que el estradiol tenía una inmediata, pero transitoria supresión del consumo de alimento hasta retornar a la línea base de forma gradual en ratas ovariectomizadas. Schwartz y col, (1981) reportaron que el tratamiento con benzoato de estradiol en ratas destetadas y ovariectomizadas, redujo la ganancia de peso y no redujo el consumo de alimento. El benzoato de estradiol junto con la progesterona incrementaron el consumo de alimento, la ganancia del peso corporal y el tejido adiposo.

Butera y col, (1990) reportaron que implantes en el núcleo paraventricular (NPV) de 17 alfa estradiol disminuyeron el consumo de alimento y el peso corporal significativamente, pero no tuvo efectos sobre el consumo de agua. En 1993, ellos describieron que la colecistocinina (CCK), suprimió el consumo de alimento en ratas hembras ovariectomizadas y los efectos fueron mayores cuando además se les administró estradiol. En 1996, ellos reportaron que los implantes de estradiol en el NPV aumentaron significativamente las acciones saciativas de la CCK y decrementaron el consumo de alimento y el peso corporal en ratas hembras.

Peng y col, (1986) encontraron que en ratas ovariectomizadas viejas, los niveles de estrógenos en suero eran mayores que en ratas jóvenes ovariectomizadas, la supresión del alimento por el benzoato de estradiol fue más largo en las viejas que en las jóvenes, debido a la alta concentración de estrógenos en suero. El estradiol también suprimió el incremento en el peso corporal, pero no hubo diferencias relacionadas a la edad cuando se ajustaron los niveles de estrógenos en suero. Juárez y col, (2002) encontraron que el tratamiento con estrógenos (benzoato de estradiol) produjo un decremento en el consumo de alimento en ratas macho gonadectomizados y falsos gonadectomizados, mientras que el peso corporal disminuyó significativamente en la última semana del tratamiento con estrógenos y una vez suspendido el tratamiento, los sujetos falsos gonadectomizados tuvieron una recuperación más rápida del peso corporal (dos semanas antes) que los sujetos gonadectomizados.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se han descrito diferentes efectos de los estrógenos sobre el consumo del alcohol en machos, por un lado se ha descrito que el consumo se incrementa cuando se administran estrógenos crónicamente, pero por otro lado, se ha encontrado que la administración aguda, o por un periodo corto, produce un decremento en el consumo de alcohol. Por otra parte, se ha encontrado que los estrógenos decrementan los niveles de opioides endógenos, lo cual podría deberse a que los estrógenos incrementan la internalización de los receptores a opioides con su ligando. También, se sabe que el consumo de alcohol produce un incremento en los niveles de opioides endógenos.

Tomando en cuenta lo anterior, es posible que este aumento en la internalización de receptores a opioides producido por los estrógenos, pueda estar provocando un decremento en el número de receptores disponibles, produciendo inicialmente un decremento en los efectos reforzantes del alcohol y, por lo tanto, un decremento en su consumo. Esta inactivación de receptores a opioides, debería producir una sobre-regulación de receptores después de varios días, similar a la que ocurre con la administración de antagonistas opioides. Esta inactivación inicial de receptores a opioides y el posterior incremento de los mismos por el mecanismo de sobre-regulación, podría explicar los cambios encontrados en el consumo de alcohol después de varios días de tratamiento con estrógenos; decrementando inicialmente el consumo, pero, incrementándolo posteriormente, debido a un aumento en las propiedades reforzantes del alcohol.

Con base en lo anterior, se realizaron 2 experimentos, el primero tuvo como objetivo el conocer el número de días necesario en el cual ocurre un cambio significativo en el consumo del alcohol y en el segundo conocer los efectos del tratamiento con estrógenos con diferente tiempo de administración sobre el consumo del alcohol.

## **OBJETIVO GENERAL**

Conocer si la duración del tratamiento con estrógenos produce efectos diferentes sobre el consumo del alcohol, el periodo óptimo en el que estos cambios son significativos y si el sistema opioide se encuentra involucrado en estos cambios.

## **HIPÓTESIS GENERAL**

Distintos tiempos de duración del tratamiento con estrógenos van a producir efectos diferentes sobre el consumo del alcohol.

La administración de un antagonista opioide es capaz de inhibir el efecto de los estrógenos sobre el consumo del alcohol.

Se realizaron dos experimentos de forma independiente con la finalidad de que contestaran diferentes preguntas, por este motivo se plantearon objetivos e hipótesis específicas para cada uno.

Debido a que en los experimentos que se han evaluado los efectos de los estrógenos sobre el consumo del alcohol la metodología empleada o la forma de analizar y/o presentar los datos, no permite observar dichos efectos día por día a través de un periodo suficientemente largo para conocer la evolución de los efectos de los estrógenos sobre el consumo del alcohol, fue necesario realizar el siguiente experimento.

#### **EXPERIMENTO I:**

#### **“EFECTOS PRODUCIDOS POR EL TRATAMIENTO A LARGO PLAZO CON ESTRÓGENOS SOBRE EL CONSUMO DEL ALCOHOL”**

#### **OBJETIVOS**

Determinar el número de días óptimo en el tratamiento con estrógenos en el cual ocurre un cambio significativo en el consumo del alcohol.

Conocer si los efectos del tratamiento con estrógenos son selectivos al consumo del alcohol o tiene efectos también sobre el consumo de alimento.

Evaluar los efectos de los estrógenos sobre el peso corporal.

## HIPÓTESIS

El consumo del alcohol se va a decrementar en los primeros días del tratamiento con estrógenos versus el periodo de pre-tratamiento.

La continuación del tratamiento con estrógenos producirá un incremento en el consumo del alcohol al compararse con el pre-tratamiento y con los primeros días del tratamiento con estrógenos.

El tratamiento con estrógenos va a decrementar el consumo de alimento versus el pre-tratamiento y el post-tratamiento.

Durante el tratamiento con estrógenos, la ganancia del peso corporal va a decrementar al compararse con el pre-tratamiento y el post-tratamiento.

El tratamiento con aceite no va a producir cambios en ninguno de los parámetros evaluados a lo largo del tratamiento.

**MÉTODO**  
**VARIABLES**

**INDEPENDIENTES:**

- Administración de estrógenos.

**DEPENDIENTES:**

- Cantidad de alcohol consumido
- Consumo de alimento
- Peso corporal

### Sujetos.

Se utilizaron 16 ratas machos Wistar de 75 días de edad, sin ningún tipo de manipulación previa. Los sujetos durante todo el estudio fueron mantenidos en aislamiento en cajas hogar individuales de 18 cm de ancho x 27 cm de largo x 15 cm de alto, en ciclos de luz-oscuridad de 12-12 hrs., con una temperatura de entre 22 y 24 °C, alimentados con croquetas (Ralston Rations, Purina) ad libitum. Los sujetos provenían de diferentes camadas.

### Gonadectomización.

Los sujetos fueron gonadectomizados entre el día 75 y 80 de edad bajo anestesia con pentobarbital (anestésal, 40mg/kg de peso corporal). Permanecieron en periodo de recuperación hasta el día 89 de edad.

### Tratamientos.

El tratamiento con benzoato de estradiol (E) consistió en la administración s.c. de 5µg/sujeto/día diluidos en 0.05 ml de aceite de maíz (dosis que se ha reportado como adecuada para restituir los niveles hormonales fisiológicos). El tratamiento con aceite (A) consistió en la administración s.c. de 0.05 ml de aceite de maíz.

### Procedimiento.

Se formaron 2 grupos. Al grupo 1 (EEE) se le administró estradiol y al grupo 2 (AAA) aceite durante 24 días. A ambos grupos se les expuso al alcohol

por 6 días antes de iniciar el tratamiento (periodo de pre-tratamiento). Durante los 24 días del tratamiento y 6 días después de terminado el tratamiento (periodo de post-tratamiento).

Las edades y la secuencia de las manipulaciones se muestran en la siguiente tabla (1):

GRUPO	PRE- Edad: 90-96	TRATAMIENTO Edad: 96-120	POST- Edad: 120-126
Grupo 1 (EEE) n=8	Consumo de alcohol por 6 días	E por 24 días Con consumo de alcohol	Consumo de alcohol por 6 días
Grupo 2 (AAA) n=8	Consumo de alcohol por 6 días	A por 24 días con consumo de alcohol	Consumo de alcohol por 6 días

Exposición al alcohol.

Se les colocó dos bebederos a cada sujeto, uno contenía agua, y el otro etanol al 10% (99.8% de Merck) v/v diluido en agua (consumo voluntario), se les cambió diariamente la posición de los bebederos para evitar la preferencia por un lugar.

Objetivo de cada grupo.

El grupo EEE permitió conocer la duración del efecto inhibitorio de los estrógenos sobre el consumo de alcohol y el día en que se presentaría el incremento en su ingestión, posiblemente como resultados de la sobre-regulación

de receptores a opioides. Esta información se utilizó para justificar los días necesarios de tratamiento en el resto de los grupos del experimento 2.

El grupo AAA fue control del primer grupo, y proporciona información de sobre el efecto de las inyecciones per se en el curso del tratamiento.

Los parámetros a medir fueron la cantidad de alcohol en ml, así como la cantidad de alimento consumido cada 24 hrs. (10:30 hrs). El consumo de alcohol se convirtió a gr/kg de peso corporal. Para ello, se cálculo: la cantidad de alcohol consumido en ml. multiplicada por 0.08 gr. (equivalencia de 1 ml de consumo de alcohol al 10% en gr.), el resultado de esta operación se dividió entre el peso corporal de los sujetos. El peso corporal de los sujetos se registró dos veces por semana a lo largo del estudio.

#### Pruebas estadísticas.

Para conocer el periodo en el cual el tratamiento con estrógenos, era capaz de producir un decremento inicial en el consumo del alcohol, y un posterior incremento por lo menos a los valores de línea base. A los grupos EEE y AAA se les aplicó por separado, un análisis de varianza de grupos relacionados de un factor (cada 4, 5, 6, 7 u 8 días de tratamiento). Se promedió el consumo de alimento en bloques de 6 días, y se comparó cada bloque del tratamiento y del post-tratamiento con el de pre-tratamiento. Las diferencias en el consumo, se evaluaron mediante un análisis de varianza de grupos relacionados de un factor (periodos) para cada grupo. Para el análisis del peso corporal, el periodo de

tratamiento de 24 días también se dividió en periodos de 6 días, de manera similar al consumo de alcohol. Se obtuvo el índice de ganancia de peso corporal de cada periodo (la diferencia entre el peso inicial menos el peso final del periodo, entre el número de días transcurridos entre esas dos medidas) y se sacó la diferencia del índice de cada periodo versus el índice del pre-tratamiento. Se realizó un análisis para cada grupo por separado a través de un análisis de varianza de grupos relacionados de un factor (periodos). Se tomó como nivel de significación  $p < 0.05$ . Las pruebas a posteriori se realizaron con la prueba de Duncan.

## RESULTADOS

Consumo de alcohol para los grupos EEE y AAA.

En la figura 3 se presenta la media del consumo de alcohol en gr/kg de peso corporal para los datos que fueron agrupados en bloques de 4, 5, 6 y 7 días de los grupos con tratamiento con estrógenos (E) y, con aceite (A). En los bloques de 4 días, presentados en la gráfica A, se encontró que el factor periodos fue significativo ( $F(7,217)=3.06$ ,  $p=0.004$ ). Las pruebas a posteriori, mostraron que el primer periodo de tratamiento con estrógenos, fue significativamente menor, cuando se comparó con el periodo de pre-tratamiento y el segundo (E2), cuarto (E4), quinto (E5) y sexto (E6) periodo de tratamiento con E, sin embargo, no fue significativo con el periodo de post-tratamiento. En el grupo con aceite no hubo diferencias significativas.

Para los datos que fueron agrupados en bloques de 5 días (gráfica B), el factor periodos fue significativo ( $F(6,238)=2.77$ ,  $p=0.013$ ). El primer periodo de consumo de alcohol (gr/kg), de tratamiento con estrógenos, fue significativamente menor cuando se comparó con el periodo de pre-tratamiento y el segundo (E2), tercero (E3), cuarto (E4) y quinto (E5) periodo de tratamiento con E, sin embargo, no fue significativo con el periodo de post-tratamiento. En el grupo tratado con aceite no hubo diferencias significativas.

En la gráfica C, donde se presentan los datos que fueron agrupados en bloques de 6 días. El factor periodos fue significativo ( $F(5,245)=2.21$ ,  $p=0.05$ ).

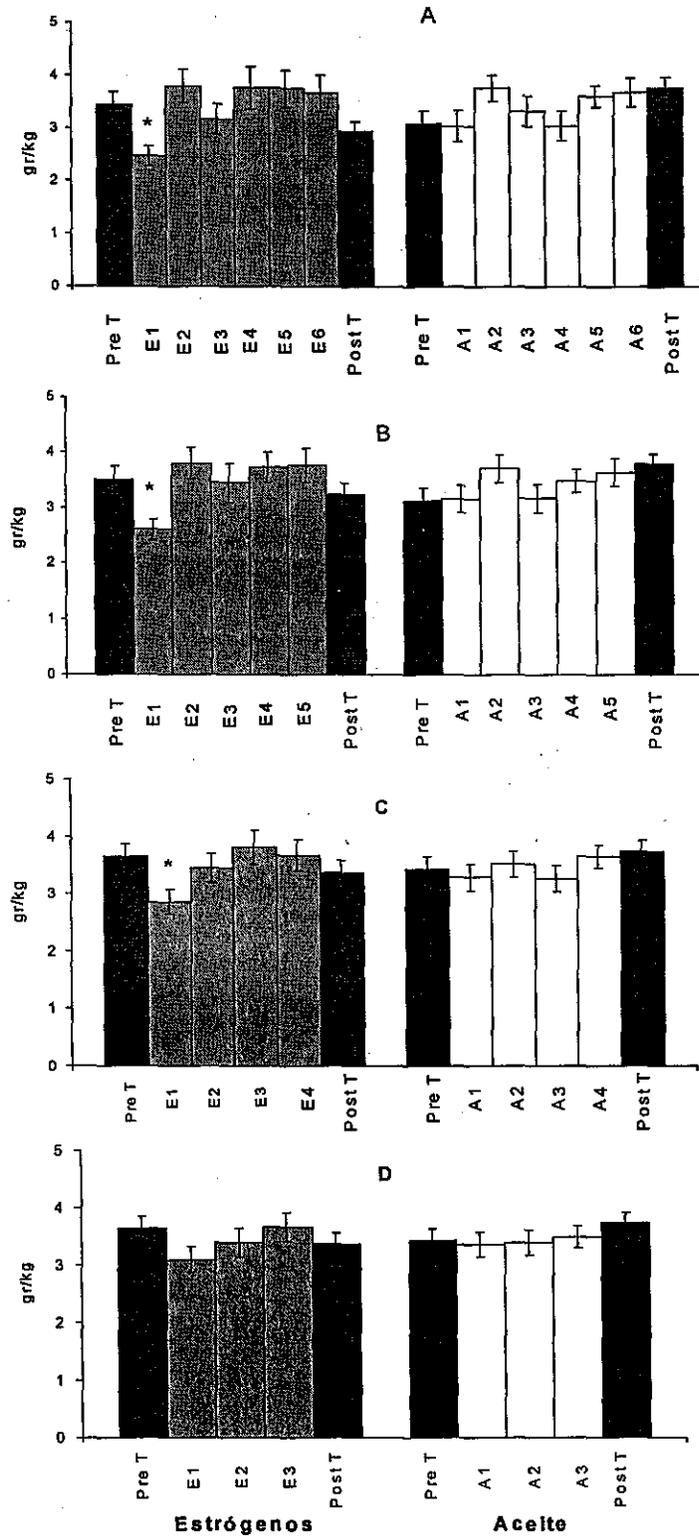


Figura 3. Consumo de alcohol en gr/kg de peso corporal. Los datos están agrupados en bloques de 4 días (gráfica A), de 5 (B), de 6 días (C) y de 7 días (D) (media  $\pm$  E.S.), para los grupos con tratamiento con estrógenos (E) y, con aceite (A). periodo de pre-tratamiento (Pre T). periodo post-tratamiento (Post T). Nivel de significación (\*)  $p < 0.05$ .

(A)\*E1 < Pre T, E2, E4, E5, E6.

(B)\*E1 < Pre T, E2, E3, E4, E5.

(C)\*E1 < Pre T, E3, E4.

También se observó que, el primer periodo de tratamiento con E fue significativamente menor cuando se comparó con el periodo de pre-tratamiento y el resto de los bloques con E (E2, E3 y E4). El grupo con tratamiento con A no presentó diferencias significativas.

A diferencia de los análisis anteriores, cuando los datos fueron agrupados en bloques de 7 (gráfica D) y 8 días (no graficado), no se encontraron diferencias significativas en ambos grupos.

Consumo de alimento para los grupos EEE y AAA.

Tanto en el grupo tratado con estrógenos como con aceite, el consumo de alimento se decrementó durante el periodo de tratamiento y el de post-tratamiento. Con la finalidad de saber, la magnitud real del decremento en cada tratamiento, y debido a que ambos grupos, partieron de líneas bases diferentes de consumo de alimento. Se obtuvo la diferencia entre el promedio de cada periodo de 6 días con el periodo de pre-tratamiento, y estas diferencias se compararon a través de un análisis de varianza de grupos relacionados de un factor (periodos) para cada grupo (figura 4).

Se encontraron diferencias significativas en las diferencias del consumo dependiendo del periodo, tanto en el grupo tratado con estrógenos ( $F(4,28)=16.57$ ,  $p=0.00001$ ) como en el grupo tratado con aceite ( $F(4,28)=3.25$ ,  $p=0.026$ ).

Las pruebas a posteriori mostraron que en el grupo con estrógenos, las diferencias con el pre-tratamiento fueron significativamente mayores durante todos los bloques del tratamiento que durante el post-tratamiento; durante el último periodo de tratamiento (E4) la diferencia también fue significativamente menor que en los otros tres periodos (E1, E2 y E3). En estos tres periodos, el decremento del consumo fue mayor con respecto a su línea base que, la misma comparación aplicada en el grupo con aceite. En el grupo con aceite la diferencia del primer bloque de seis días del tratamiento (A1) con su pre-tratamiento, fue significativamente menor que el resto de las diferencias de los otros periodos (A2,

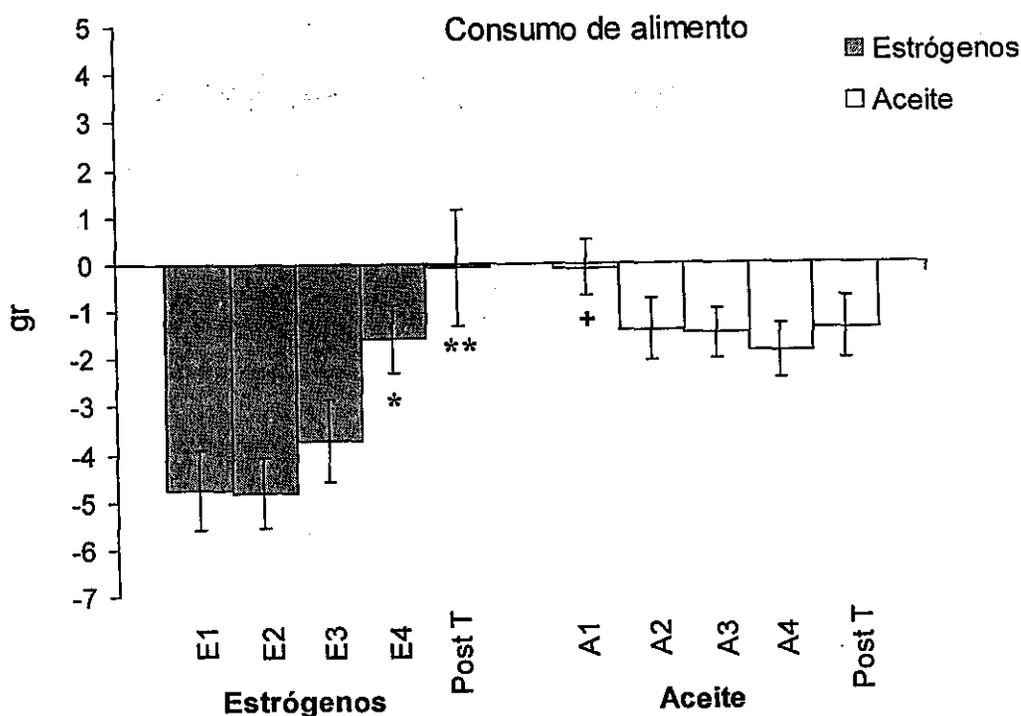


Figura. 4 Diferencias en el consumo de alimento en gramos (gr) entre el periodo de pre-tratamiento con cada bloque de 6 días del tratamiento y el post-tratamiento (media  $\pm$  E.S.), para los grupos con tratamiento con estrógenos (E) y con aceite (A). Diferencia entre el pre-tratamiento y el primer periodo de tratamiento (E1 o A1), diferencia con el segundo periodo de tratamiento (E2 o A2), con el tercer periodo de tratamiento (E3 o A3), con el cuarto periodo de tratamiento (E4 o A4) y la diferencia con el post-tratamiento (Post T). Nivel de significación (\*)  $p < 0.05$ .

\*E4 < E1, E2, E3

\*\*Post T < E1, E2, E3, E4

+A1 < A2, A3, A4 y Post T

A3, A4 y post), sin llegar a tener los valores tan grandes en las diferencias como con el tratamiento con estrógenos.

Índice de ganancia de peso corporal para los grupos EEE y AAA.

Debido a que los sujetos tienden a ir ganando peso conforme se desarrollan, se realizó un cálculo del índice de la ganancia de peso corporal (peso inicial del periodo menos el peso final del periodo entre el número de días transcurridos entre ellos). Se realizó un análisis para cada grupo por separado con un análisis de varianza de grupos relacionados de un factor (periodos). El análisis

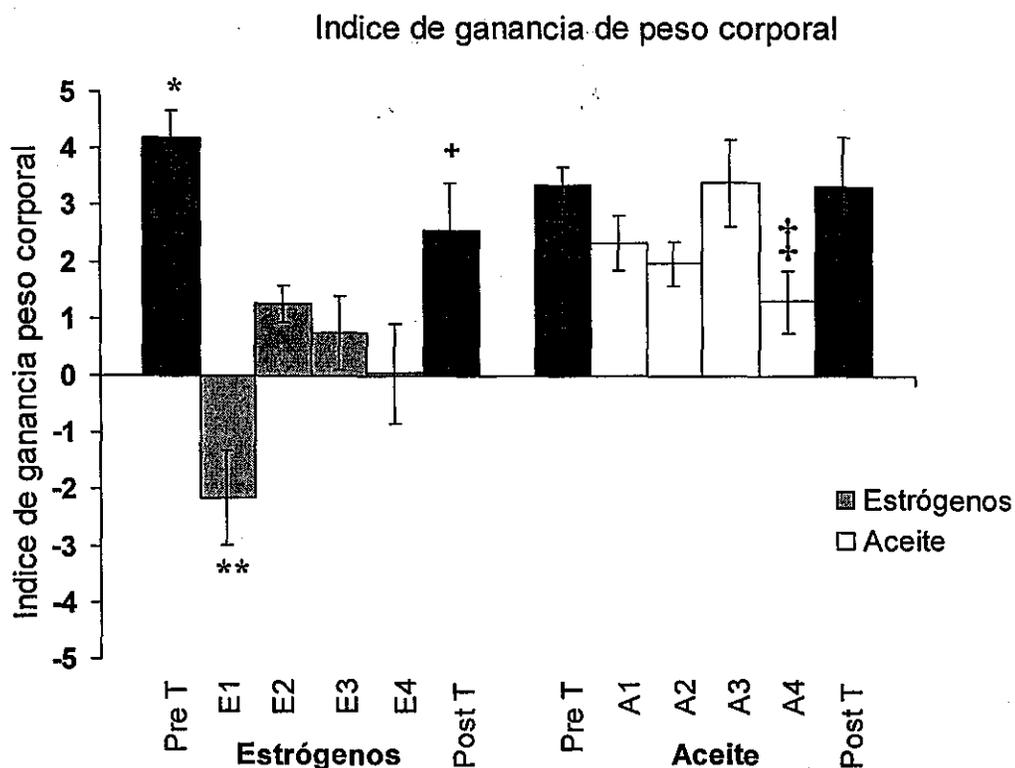


Figura 5. Índice de la ganancia de peso corporal (peso inicial del periodo - peso final del periodo/ el número de días entre ambas medidas). Los datos están agrupados en bloques de 6 días para los grupos con tratamiento con estrógenos (E) y con aceite (A). (Pret) periodo de pre-tratamiento. (Post T) periodo post-tratamiento. (1) primer periodo de tratamiento (con E1 o A1), (2) segundo periodo de tratamiento, (3) tercer periodo de tratamiento, (4) cuarto periodo de tratamiento. Nivel de significación (\*)  $p < 0.05$ .

\*Pre T > E1, E2, E3, E4    \*\*E1 < E2, E3, E4    +Post T > E2, E5    ‡A4 < Pre T, A3, Post T.

se realizó para los bloques de 6 días (figura 5). Se encontraron diferencias entre los periodos en el grupo con estrógenos ( $F(5,35)=11.37$ ,  $p=0.00001$ ) como en el grupo con aceite ( $F(5,35)=2.56$ ,  $p=0.0450$ ). Sin embargo, las pruebas a posteriori mostraron que en el tratamiento con estrógenos los sujetos tuvieron una mayor ganancia de peso durante el pre-tratamiento que durante todos los periodos del tratamiento con estrógenos (E1, E2, E3, E4), mayor también durante el post-tratamiento que en E4. El periodo de E1 no solo no hubo una ganancia de peso, sino que durante este periodo hubo una pérdida de peso y, esta diferencia fue significativamente menor que el resto de los periodos.

En cambio en el grupo con aceite los sujetos continuaron ganando peso en los diferentes periodos, solo en el periodo del tratamiento 4 (A4) la ganancia fue menor, pero estas diferencias solo fueron significativas con respecto al periodo A3, el pre y el post-tratamiento.

## DISCUSIÓN

Los resultados en el consumo de alcohol en el primer experimento, sugieren que el decremento inicial y el posterior incremento, en el grupo tratado con estrógenos por 24 días; se debió al tratamiento hormonal y no ha ningún otro efecto, ya que no se encontraron diferencias significativas, en el grupo de tratamiento con aceite, en ninguno de los bloques de días analizados.

Los estrógenos produjeron tanto una disminución como una recuperación en el consumo del alcohol, esto coincide con lo descrito en hembras, que después de algunos días de administración de la hormona el consumo retorna a los niveles de línea base (Sandberg y col, 1982a, 1982b). Este doble efecto de los estrógenos sobre el consumo, puede explicar los resultados opuestos encontrados en la literatura; ya que Messiha (1981) describe un decremento en el consumo del alcohol ante una dosis aguda de estrógenos, mientras que Hilakivi-Clarke (1995) mide el consumo a partir del día 15 de administración de la hormona, cuando los niveles de consumo del alcohol según los resultados encontrados ya se recuperaron.

El consumo de alimento se decrementó en ambos grupos durante el periodo de tratamiento. En el caso del grupo tratado con aceite, este decremento podría deberse al aporte calórico obtenido del alcohol, ya que se conoce que, se reduce el consumo de alimento casi en proporción directa al consumo de energía obtenido del alcohol (Mitchell y Curzon, 1940); sin embargo, debido a que aquí no

se observa la existencia de una posible relación entre consumo de alcohol y el consumo de alimento, no podemos afirmar que esta sea la causa del decremento. Aunque en ambos grupos disminuyó el consumo, este decremento fue mucho mayor en el grupo tratado con estrógenos que en el tratado con aceite. Este decremento en el consumo de alimento se le puede atribuir a los estrógenos, ya que se ha descrito su efecto anoréxico en otros trabajos (Varma y col, 1999; Donohoe y Stevens, 1982, 1984; Simpkins y col, 1988, 1989; Sandberg 1982a ; Schwartz y col, 1981; Butera y col, 1990, 1993; Peng y col, 1986; Juárez y col, 2002). Este efecto anoréxico parece deberse a que los estrógenos incrementan la acción saciativa de la colecistocinina (CCK), la cual se conoce activa los mecanismos de saciedad a nivel central (Butera y col, 1990, 1993).

La ganancia de peso corporal se vio afectada en ambos grupos. En el grupo con aceite, esta disminución en la ganancia del peso corporal fue mucho menor; sin embargo, este decremento en la ganancia del peso corporal, en el grupo con aceite, no se le puede atribuir, ni al consumo de alimento, ni al consumo de alcohol; debido a que no se encontró una relación entre estas variables, con la ganancia de peso corporal en cada individuo. En el grupo tratado con estrógenos, los sujetos no sólo disminuyeron su ganancia de peso corporal, sino que durante los primeros 6 días del tratamiento hubo una pérdida de peso. Este efecto se le puede atribuir directamente a los estrógenos, ya que en otras investigaciones se ha descrito que ratas ovariectomizadas incrementan rápidamente su ganancia de peso corporal (Varma y col, 1999), mientras que, la administración de estrógenos la decremента (Donohoe y Stevens, 1984; Simpkins y col, 1988, 1989; Schwartz y

col, 1981; Peng y col, 1986; Juárez y col, 2002) por su acción en el hipotálamo (Donohoe y Stevens, 1982; Butera y col, 1990, 1996).

## CONCLUSIÓN

Con base en los resultados encontrados en el experimento 1, 6 días de tratamiento con estrógenos es el tiempo límite para que se observe el cambio, de un decremento a una recuperación en el consumo del alcohol con respecto al consumo de la línea base. Por lo tanto, se tomó la decisión de que esta cantidad de días de tratamiento con estrógenos serviría como fundamento para plantear las hipótesis del experimento dos.

## **EXPERIMENTO II:**

### **“EL EFECTO DEL TRATAMIENTO CON ESTROGENOS A CORTO Y A LARGO PLAZO SOBRE EL CONSUMO DEL ALCOHOL, Y SU POSIBLE MODULACIÓN POR EL SISTEMA OPIOIDE”**

#### **OBJETIVOS**

Conocer si el tiempo de exposición a los estrógenos produce un efecto diferente en el consumo de alcohol.

Estudiar la posible participación del sistema opioide en los efectos de la exposición a los estrógenos en el consumo de alcohol.

Determinar si el tiempo de exposición de los estrógenos tiene un efecto diferente selectivo sobre el consumo de alcohol o tiene también efectos diferentes sobre el alimento y el peso corporal.

## HIPÓTESIS

En los primeros 6 días de tratamiento con E se producirá un decremento en el consumo de alcohol. Estos datos serán significativos con respecto al periodo de pre-tratamiento.

Después del día 7 de tratamiento con E el consumo de alcohol se incrementará significativamente con respecto a la etapa inicial de tratamiento (1 a 6 días) y alcanzará por lo menos los valores de consumo obtenidos en la etapa de pre-tratamiento.

La exposición al alcohol después de un periodo de 6 días con tratamiento de estrógenos producirá un incremento en el consumo del alcohol con respecto a la línea base.

El efecto de un periodo mayor a 6 días de tratamiento con estrógenos sobre el consumo de alcohol será inhibido por la administración de un antagonista opioide.

El tratamiento con estrógenos va a disminuir el consumo de alimento, y el peso corporal independientemente de la duración del tratamiento.

**METODO**  
**VARIABLES**

**INDEPENDIENTES:**

- Duración de la exposición a estrógenos.
- Administración de un antagonista opiode.

**DEPENDIENTES:**

- Cantidad de alcohol consumido
- Consumo de alimento
- Peso corporal

### Sujetos.

Se utilizaron 36 ratas machos Wistar de 75 días de edad, las condiciones de temperatura, ciclo luz-oscuridad y gonadectomía se realizaron igual que en el experimento I.

### Tratamientos.

El tratamiento con benzoato de estradiol (E) consistió en la administración s.c. de 5µg/sujeto/día diluidos en 0.05 ml de aceite de maíz (dosis que se ha reportado como adecuada para restituir los niveles hormonales fisiológicos). El tratamiento con naltrexona (N) consistió en la administración crónica s.c. de 2.5mg/sujeto/dos veces por día diluida en 0.05 ml de suero fisiológico (dosis reportada que tiene efectos inhibitorios sobre el consumo del alcohol). El tratamiento con aceite (A) consistió en la administración s.c. de 0.05 ml de aceite de maíz.

Las edades, la secuencia de las manipulaciones y los diferentes esquemas de tratamiento en los diferentes grupos se describen a continuación y se muestran en la tabla 2.

### Procedimiento.

Se expuso a los sujetos a alcohol voluntario durante 6 días (periodo de inducción al alcohol cuya función es servir como línea base), posteriormente pasaron por un período de descanso de dos días, en que los sujetos no

consumieron alcohol, ni se les administró ningún tratamiento. Este periodo de descanso de 2 días, se incluyó con el fin de que los sujetos no asociaran la ausencia del alcohol con el inicio de las inyecciones. Después de este periodo, los sujetos se sometieron a dos tratamientos continuos con aceite o estradiol, con una duración cada uno de 6 días y se les dio alcohol solo durante los últimos 6 días de tratamiento (tratamiento 2). Al grupo 3 (AE) se le inyectó aceite durante 6 días y estrógenos los siguientes 6. Al grupo 4 (EA) se le administró estradiol los primeros 6 días y aceite los 6 siguientes. Al grupo 5 (EE) se les administró estradiol durante los 12 días (ambos tratamientos). El grupo 6 (EE+N) se le inyectó estradiol en los primeros 6 días y los siguientes 6 se le administró estradiol más naltrexona.

GRUPO	PRE	TRATAMIENTO		POST
	Edad 90-96	T1 Edad 99-105	T2 Edad 106-111	Edad 112-117
Grupo 3 (AE) n=9	Consumo de alcohol por 6 días	A 6 días sin consumo de alcohol	E 6 días con consumo de alcohol	Consumo de alcohol por 6 días
Grupo 4 (EA) n=9	Consumo de alcohol por 6 días	E 6 días sin consumo de alcohol	A 6 días con consumo de alcohol	Consumo de alcohol por 6 días
Grupo 5 (EE) n=9	Consumo de alcohol por 6 días	E 6 días sin consumo de alcohol	E 6 días con consumo de alcohol	Consumo de alcohol por 6 días
Grupo 6 (EE+N) n=9	Consumo de alcohol por 6 días	E 6 días sin consumo de alcohol	E+N 6 días con consumo de alcohol	Consumo de alcohol por 6 días

### Exposición al alcohol.

Se le colocaron dos bebederos a cada sujeto, uno contenía agua, y el otro etanol al 10% (99.8% de Merck) v/v diluido en agua (consumo voluntario) se les cambió diariamente la posición de los bebederos para evitar la preferencia por un lugar.

### Objetivo de cada grupo.

El grupo AE, permitió conocer el efecto que tienen los estrógenos administrados en un periodo corto.

El grupo EA, permitió determinar si la administración de estrógenos previa al consumo de alcohol tenía un efecto diferente al obtenido cuando la exposición al alcohol se inicia junto con la exposición a los estrógenos (grupo AE) y, además, permitió conocer si el efecto observado en el grupo AE se debió a los estrógenos o a alguna otra variable (ejemplo: al estrés por las inyecciones).

La función del grupo EE, fue la de saber si es necesario continuar la administración de los estrógenos para obtener un efecto diferente y, si el estrógeno administrado crónicamente tiene efectos diferentes que el administrado en un periodo corto.

Con el grupo EE+N se obtuvo información acerca de la posible participación del sistema opioide en los efectos de los estrógenos sobre el consumo del alcohol.

Los parámetros a medir fueron: La cantidad de alcohol y de agua ingerida, así como la cantidad de alimento consumido cada 24 hrs. (10:30 hrs.). El peso corporal de los sujetos se registró dos veces por semana durante los tratamientos. El consumo de alcohol se convirtió a gr/kg de peso corporal.

#### Pruebas estadísticas.

Para saber si había diferencias significativas entre los tratamientos, a través de los días, así como diferencias significativas intragrupalas entre los periodos de tratamiento con fármaco o vehículo (aceite), en el consumo de alcohol en gr/kg de peso corporal, en el consumo de alimento y la preferencia por el alcohol. Se aplicó un análisis de varianza de parcelas divididas de tres factores (p.qr) (grupo por periodo por días), a los grupos AE, EA, EE y EE+N. Para el análisis del peso corporal, se sacó el índice de ganancia corporal (se calculó: Al peso final de cada periodo se le restó el peso inicial del periodo y se dividió entre el número de días del periodo) a esto se le aplicó un análisis de varianza de parcelas divididas de dos factores (p.q) (grupos x periodos).

Se tomó como nivel de significación una  $p < 0.05$ . Las pruebas a posteriori se realizaron con la prueba de Duncan.

## RESULTADOS

Consumo de alcohol para los grupos AE, EA, EE y EE+N.

Se analizó el consumo de alcohol en gr/kg durante el pre-tratamiento (PRE), el tratamiento y el post-tratamiento (POST). El factor grupos ( $F(3,32)=4.50$ ,  $p=0.009$ ) y el factor periodos ( $F(2,64)=12.46$ ,  $p=0.00001$ ), fueron significativos. Sin embargo, como la interacción entre ambos fue significativa ( $F(6,64)=9.45$ ,  $p=0.00001$ ), es la que será descrita.

En las pruebas a posteriori de la interacción de grupos x periodos (figura 6), se encontró que, el grupo EA, tuvo un incremento significativo en el consumo de alcohol, durante el periodo de tratamiento comparado con su periodo de PRE y POST. Este incremento en el consumo del alcohol, también fue significativo en comparación con los periodos de tratamiento de todos los otros grupos. El periodo post-tratamiento del grupo EA, solo fue significativo con el POST del grupo AE y del grupo EE+N. El periodo de tratamiento, en el grupo de estrógenos por 12 días (EE), fue significativamente mayor que su PRE y su POST, además, también fue mayor que el periodo de tratamiento del grupo AE y el grupo EE+N. A diferencia de lo anterior, el grupo AE tuvo un decremento significativo en el consumo del alcohol durante el periodo de tratamiento con estrógenos versus (vs.) su PRE, este decremento se prolongó hasta el POST, siendo este último también significativamente menor que el PRE.

El factor días, también fue significativo ( $F(5,160)=7.73$ ,  $p=0.00001$ ), pero ya que, la interacción de este factor con los periodos y los grupos fue significativa ( $F(30,320)=1.90$ ,  $p=0.003$ ), únicamente se describirá la interacción (figura 7). Se observó el primer día (D1) del pre-tratamiento, el grupo AE consumió más alcohol que el resto de los grupos, pero estas diferencias solo fueron significativas con el grupo EE; el resto de los días no presentaron diferencias significativas.

Durante el tratamiento (fig. 7), el consumo del alcohol en el D1 y el D3 el grupo EA presentó los valores significativamente más altos vs. los otros grupos, el

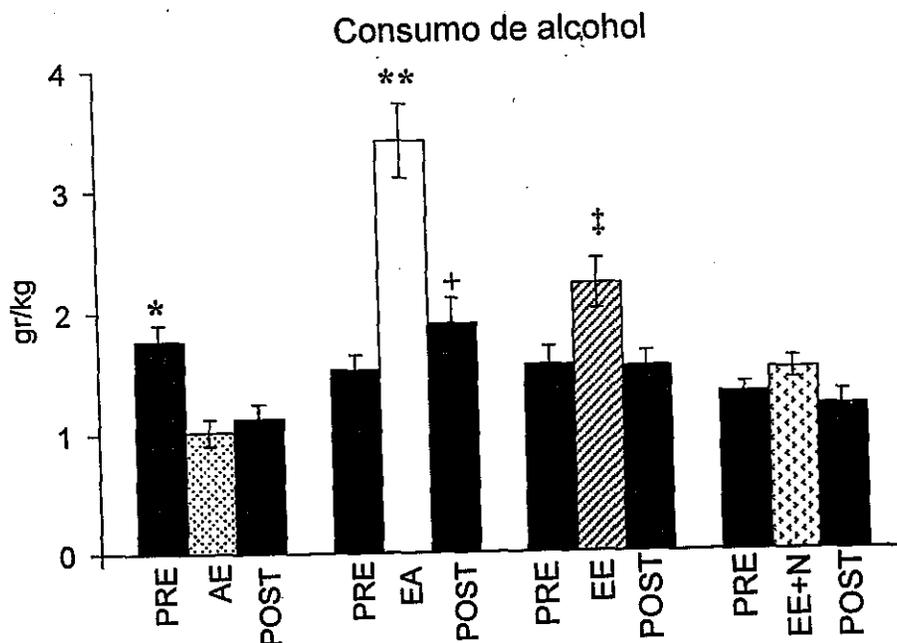


Fig. 6 Consumo de alcohol en gr/kg de peso corporal (media  $\pm$  E.S.), para los grupos con tratamiento con aceite-estrógenos (AE), estrógenos-aceite (EA), estrógenos-estrógenos (EE) y estrógenos-estrógenos + naltrexona (EE+N); durante el pre-tratamiento (PRE), el segundo tratamiento (T) y el post-tratamiento (POST). Nivel de significación  $p < 0.05$ .

\*PRE > T y POST de AE

\*\*T de EA > PRE y POST de EA, T de AE, EE y EE+N

†POST > POST de A-E y de E-E+N

‡T de EE > PRE y POST de EE, T de AE, EE+N

siguiente consumo más alto fue el del grupo EE, cuyas diferencias fueron significativas con los otros dos grupos (AE y EE+N). Durante el día 2 y 4, el EA mantuvo consumos significativamente mayores que los otros grupos; el grupo AE continuó consumiendo significativamente menos alcohol que el grupo EE, y este menor consumo, también fue significativo con el grupo EE+N durante el D4. En el día 5 las diferencias significativas del grupo EA solo se mantuvieron con el grupo AE y EE+N y, el grupo EE también mantuvo su consumo significativamente mayor que AE, pero ya el sexto día no hubo diferencias significativas entre los grupos.

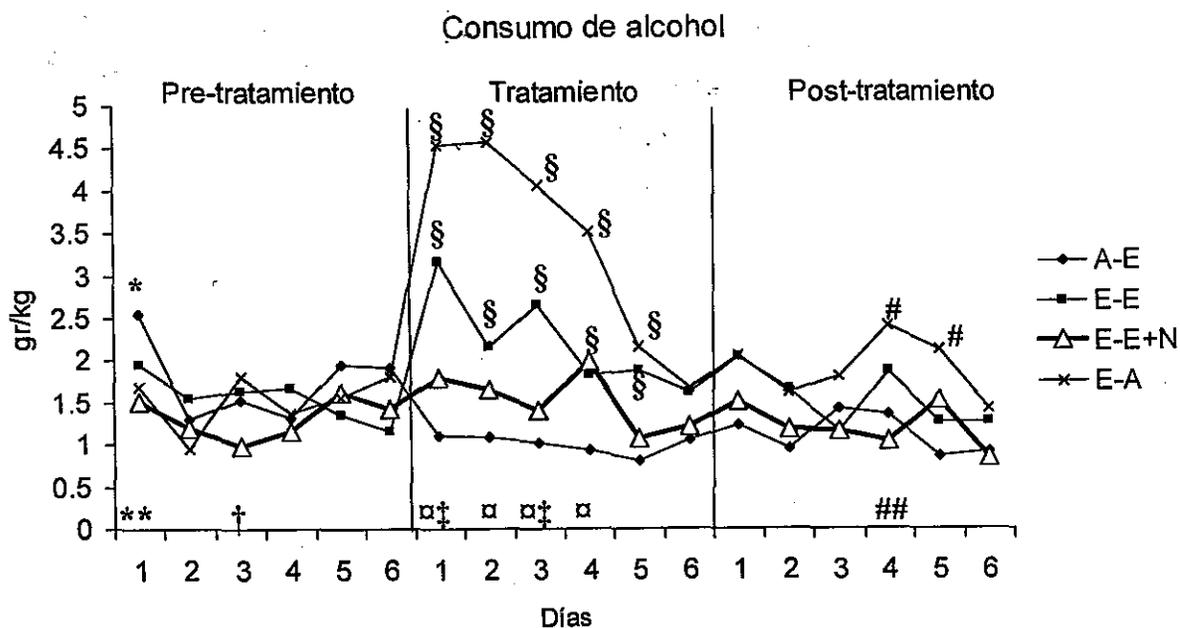


Fig. 7 Medias del consumo de alcohol en gr/kg de peso corporal, para los grupos con tratamiento con aceite-estrógenos (AE), estrógenos-aceite (EA), estrógenos-estrógenos (EE) y estrógenos-estrógenos + naltrexona (EE+N); durante los 6 días (D) del el pre-tratamiento (PRE), el segundo tratamiento (T) y el post-tratamiento (POST). Nivel de significación  $p < 0.05$ .

\*\*AE: D1> D2,D3 D4      †EA: D3>D6      \*D1:AE>EE+N      ‡EE: D1>D2,D4, D5 y D6; D3>D6  
 □EA: D1, D2 >D4, D5 y D6; D3,D4>D5,D6      §D1,D3:EA >EE, AE y EE+N; EE >AE y EE+N  
 §D2:EA >EE, AE y EE+N; EE >AE      §D4: EA >EE, AE y EE+N; EE >AE;EE+N>AE  
 §D5:EA >AE y EE+N; EE >AE      #D4:EA >EE+N, AE      #D5:EA>AE      ##EA: D4>D6

En el POST, solo se encontraron diferencias significativas en el día 4, en el cual el grupo EA mantuvo valores mayores que el AE y el EE+N y en el D5 solo con el grupo AE.

En las diferencias intragrupalas (figura 7) de cada periodo: los sujetos del grupo AE consumieron mayor cantidad de alcohol el primer día del PRE, siendo estas diferencias significativas solo con el día 2,3 y 4; mientras que en los otros grupos no hubo diferencias significativas entre los días en ese periodo. En el periodo de tratamiento, en el grupo AE y EE+N no se encontraron diferencias significativas entre los días. El consumo del alcohol del primer día del grupo EE fue mayor que el resto de los días de ese periodo, pero solo significativo con los días 2, 4, 5 y 6; además, el día 3 de este mismo grupo fue significativamente mayor que el día 6. Para el grupo EA, el día 2 del periodo de tratamiento, el consumo del etanol fue significativamente mayor que el 4, 5 y el 6.

Índice de la preferencia del consumo de alcohol para los grupos AE, EA, EE y EE+N:

La preferencia de alcohol se realizó dividiendo el total de alcohol consumido (ml) entre el total de líquidos consumidos (ml). El factor periodos ( $F(2,64)=12.34$ ,  $p=0.00001$ ), así como el factor días ( $F(5,160)=5.14$ ,  $p=0.0002$ ), fueron significativos. También la interacción de grupos x periodos fue significativa ( $F(6,64)=5.86$ ,  $p=0.0001$ ). Debido a que las diferencias encontradas en estos factores y en esta interacción se encuentran incluidas y se pueden observar en la interacción grupos x periodos x días, que también fue significativa

(F(30,320)=1.63, P=0.0339) (figura 8), y con la finalidad de no redundar en la información no se describirán estos resultados.

Las pruebas a posteriori intragrupalas mostraron que no hubo diferencias en la preferencia por el alcohol entre los días durante el pre-tratamiento de los grupos AE, EE y EE+N, el único PRE que presentó diferencia entre los días fue el grupo EA, ya que el día 2 la preferencia por el alcohol fue menor que el día 6 (D6).

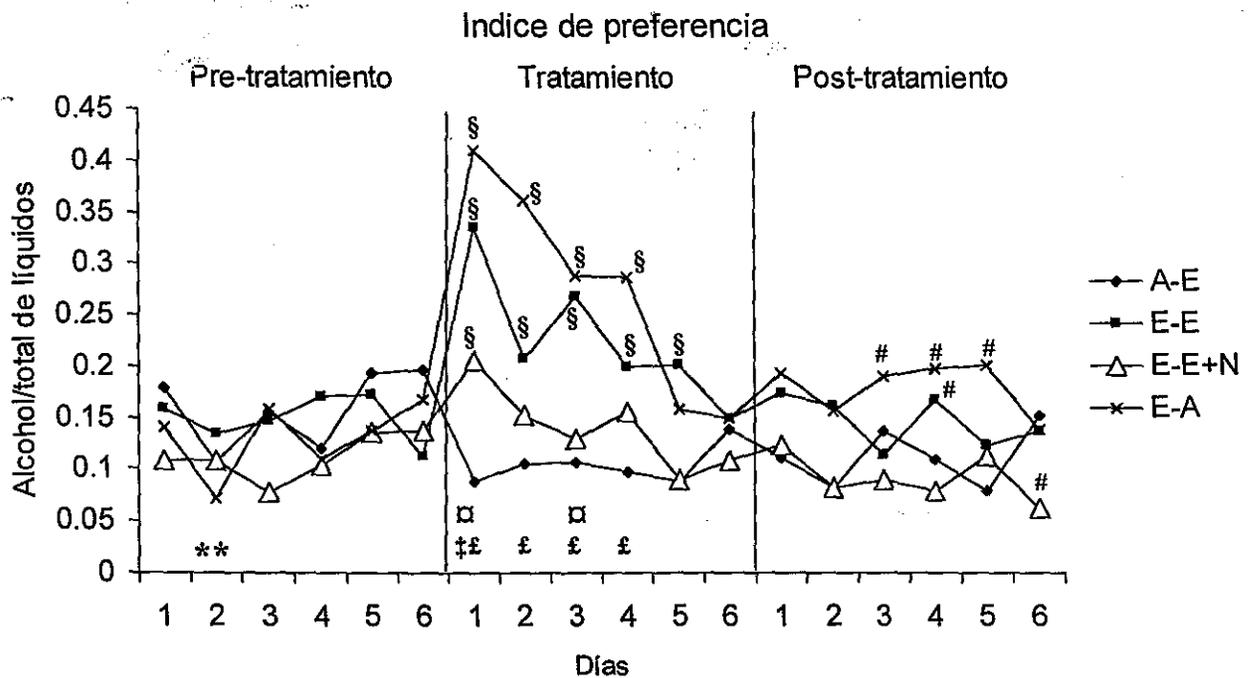


Fig. 8 Medias de la preferencia de alcohol (se calculó dividiendo el total de alcohol consumido (ml) entre el total de líquidos consumidos (ml)), para los grupos con tratamiento con aceite-estrógenos (AE), estrógenos-aceite (EA), estrógenos-estrógenos (EE) y estrógenos-estrógenos + naltrexona (EE+N); durante los 6 días (D) del pre-tratamiento (PRE), el segundo tratamiento (T) y el post-tratamiento (POST). Nivel de significación  $p < 0.05$ .

\*\*EA: D6 > D2      †EE+N: D1 > D5 y D6      ■EE: D1 > D2, D4, D5 y D6; D3 > D6  
 £EA: D1 > D3, D4, D5 y D6; D2, D3, D4 > D5, D6      §D1: EE, EA > EA, EE+N; EE+N > AE  
 §D2: EA > EE, AE y EE+N      §D3: EA y EE > AE y EE+N      §D4: EA > EE, AE y EE+N; EE > AE  
 §D5: EE > AE y EE+N      #D3: EA > EE+N      #D4: EA > EE+N, AE; EE > EE+N  
 #D5: EA > AE y EE+N      #D6: EE > EE+N

En el tratamiento (fig. 8), el grupo AE no presentó diferencias entre los días, mientras que en los otros grupos sí las hubo. El primer día fue mayor que el resto de los días, pero estas diferencias sólo fueron significativas con los días 5 y 6 para el grupo EE+N; 2, 4, 5 y 6 en el grupo EE y 3, 4, 5, 6 en el grupo EA. También hubo diferencias significativas entre otros días. En el grupo EE el día 3 fue significativamente mayor que el 6, mientras que en el grupo EA la preferencia se fue disminuyendo a través de los días, en el día 2, 3 y 4 fue mayor la preferencia por el alcohol que en los días 5 y 6.

Durante el postratamiento no se encontraron diferencias entre los días del periodo de los diferentes grupos.

No se encontraron diferencias intergrupales en la interacción de grupos x periodos x día (fig. 8) en el PRE.

Durante el tratamiento, sí se encontraron diferencias significativas: en el primer día, el grupo que tuvo una menor preferencia por el alcohol fue EA vs. los otros grupos, los grupos EE y EA también tuvieron una mayor preferencia por el alcohol que el EE+N. En el día 2 y 4, la preferencia por el alcohol fue significativamente mayor en el grupo EA, en comparación con los otros grupos. El grupo EE también tuvo una mayor preferencia que los grupos EE+N y AE, sin embargo, esta solo fue significativa con el grupo AE. En el día 3, los grupos EE y EA tuvieron una preferencia por el alcohol significativamente mayor que los grupos EE+N y AE. En el día 5, solo el grupo EE mantuvo su mayor preferencia por el

alcohol con respecto a los grupos EE+N y AE. Ya en el último día de tratamiento no se encontraron diferencias entre los grupos.

En el post-tratamiento (fig 8), los primeros dos días no se encontraron diferencias entre los grupos, después del día 3, sí se encontraron diferencias significativas. El grupo EE+N tuvo una preferencia menor que el EA; en el día 4, también el EE+N tuvo una preferencia menor que el EA y que el EE y, el AE que el EA; el día 5, el grupo EA tuvo una mayor preferencia que el AE y el EE+N; el día 6, el EE+N tuvo una menor preferencia que el AE.

**Consumo de alimento para los grupos AE, EE, EA y EE+N.**

Para cada uno de los grupos se analizó el consumo de alimento (en gr.) durante el pre-tratamiento (PRE), el primer periodo de tratamiento (T1), el segundo periodo de tratamiento (T2) y el post-tratamiento (POST).

Los factores grupos ( $F(3,32)=7.36$ ,  $p=0.0007$ ) y periodos ( $F(3,96)=38.49$ ,  $p=.00001$ ) fueron significativos, pero ya que la interacción entre estos también fue significativa solo se describirá la interacción.

La interacción de grupos x periodos ( $F(9,96)=20.81$ ,  $p=0.00001$ ) es presentada en la figura 9. Las diferencias intragrupalas en los diferentes periodos fueron: en el grupo AE el tratamiento con estrógenos (T2) decrementó el consumo de alimento significativamente vs el PRE y el T1 prolongándose este decremento significativo hasta el POST, ya que también se encontró una disminución

significativa de POST vs PRE y T1. Los estrógenos tuvieron el mismo efecto en el grupo EA, donde también el PRE fue significativamente mayor que en el resto de los periodos; pero ya en el post-tratamiento también se recuperó presentando valores mayores a T1. En el grupo EE también durante el PRE consumieron más alimento que en el resto de los periodos, mostrando nuevamente que los estrógenos decrementaron el consumo de alimento. En el grupo EE+N los estrógenos también disminuyeron el consumo de alimento comparado con el PRE, pero las diferencias significativas sólo fueron con el segundo periodo y ya en el

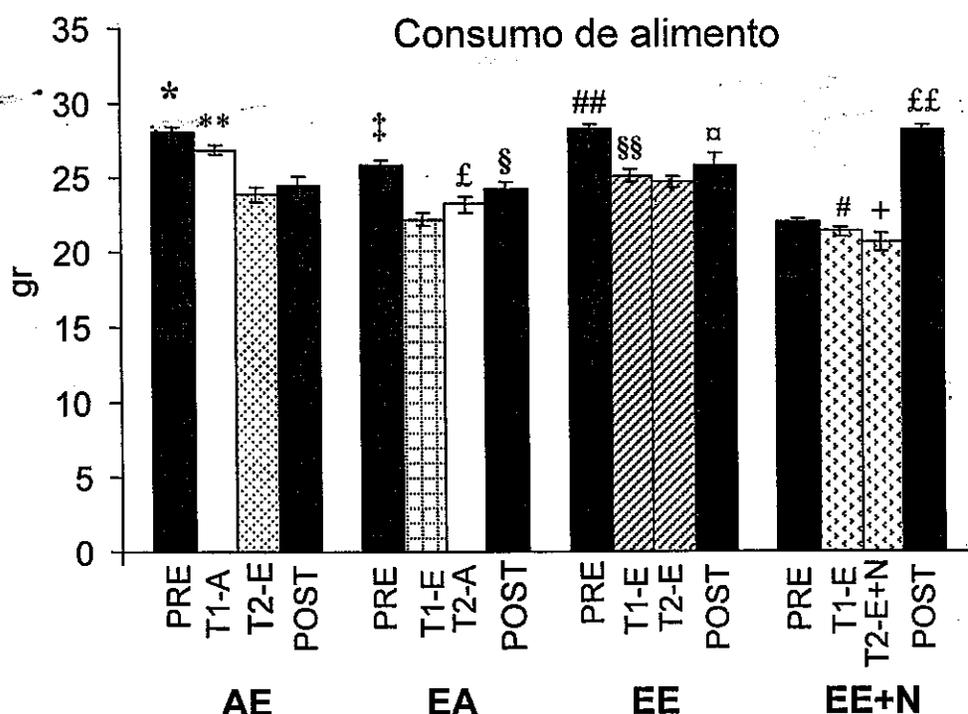


Figura 9 Consumo de alimento en gramos (gr) (media  $\pm$  E.S.), para los grupos con tratamiento con aceite-estrógenos (AE), estrógenos-aceite (EA), estrógenos-estrógenos (EE), estrógenos-estrógenos + naltrexona (EE+N); durante el pre-tratamiento (PRE), el primer tratamiento (T1), el segundo tratamiento (T2) y el post-tratamiento (POST). Nivel de significación  $p < 0.05$ .

\*PRE de AE > T2 y POST de AE; PRE de EE+N

§§T1 de EE > T1 de EE+N

£T2 de EA < T2 de EE

££POST de EE+N > POST de AE, EE y EA

\*\*T1 de AE > T2 y POST de AE, T1 de AE, EA, EE y EE+N

§POST de EA > T1 de EA

+T2 de EE+N < T2 de EA y AE; PRE de EE+N

#T1 de EE+N < T1 de EE

□POST de EE > POST de EA y AE

##PRE de EE > T1, T2 y POST de EE; PRE de EE+N

‡PRE de EA > T1, T2 y POST de EA; PRE de EE+N

POST, el consumo se recuperó mostrando valores incluso significativamente más altos que durante el PRE.

Las diferencias intergrupales (fig. 9) que se encontraron periodos equivalentes temporalmente fueron: durante el PRE del grupo EE+N el consumo de alimento fue menor que en el PRE de los otros grupos. Durante el primer tratamiento, el grupo que fue tratado con aceite (AE) comió significativamente más alimento que el resto de los grupos y el grupo EE consumió más alimento que el grupo EE+N en este periodo. Durante el segundo tratamiento, el grupo EE+N comió menos que los grupos AE y EA; y el grupo EA menos que el EE. En el POST, el grupo EE+N tuvo significativamente mayor consumo de alimento por encima del consumo de sujetos de los otros tres grupos. En el POST del grupo EE también se consumió más alimento que en los grupos EA y AE.

El factor días también fue significativo ( $F(5,160)=15.24$ ,  $p=0.00001$ ), y será descrito en la interacción de grupos x periodos x días, debido a que se encontraron diferencias significativas en esta interacción ( $F(45,480)=7.64$ ,  $p=0.00001$ ). Debido a que son numerosas las diferencias significativas en la interacción y tomando en cuenta que algunas son irrelevantes, sólo se describirán a continuación aquella que consideramos relevante a los objetivos del trabajo.

El consumo de alimento presentó una tendencia marcada a decrementar conforme transcurrieron los días durante el T1, en aquellos grupos a los que se les administró estrógeno (EE, EE+N y EA), a diferencia del grupo que recibió aceite

en este periodo (AE), en el cual el consumo de alimento permaneció estable. Aquellos grupos que recibieron estrógeno en T1, recuperaron el consumo de alimento en el periodo T2, con el transcurso de los días, a pesar de que en dos de ellos, se continuó el tratamiento con estrógenos. Esta recuperación en el consumo de alimento, estuvo más atenuada en el grupo EE. En este mismo periodo T2, el grupo que inició con E (AE), decrementó el consumo de alimento conforme transcurrieron los días, mostrando una tendencia inversa que los otros 3 grupos. Durante el POST, el consumo de alimento fue más estable en el curso de los días en todos los grupos.

Índice de ganancia de peso corporal de los grupos 3, 4, 5 y 6.

Debido a que los sujetos tienden a ganar peso con la edad, se calculó el índice de la ganancia de peso corporal (peso inicial del periodo menos peso final del periodo entre el número de días transcurridos entre ambas medidas), a través del pre-tratamiento (PRE), el tratamiento 1(T1), el tratamiento 2 (T2) y el post-tratamiento (POST).

El factor grupos no fue significativo. El factor periodos si fue significativo ( $F(3,96)=87.99$ ,  $p=0.00001$ ), pero la interacción de ambos (figura 10) si fue significativa ( $F(21,224)=54.42$ ,  $p=0.00001$ ), por lo que la interacción es lo que será descrito.

Se encontraron las siguientes diferencias intragrupalas: En el grupo AE, el índice de la ganancia de peso fue mayor durante el PRE vs el resto de los periodos, en T1 el índice de la ganancia de peso continuó siendo mayor que la

que obtuvieron durante el POST y el T2. En el T2 hubo una pérdida de peso, pero ya en el POST comenzó a recuperarse el peso siendo significativa esta diferencia entre T2 y el POST.

El grupo EA, hubo pérdida de peso en el T1, esta diferencia fue significativa contra el PRE, POST y el T2; en el T2 ya no hubo pérdida de peso, sin embargo, el índice de ganancia de peso fue significativamente menor con el PRE y el POST (figura 10).

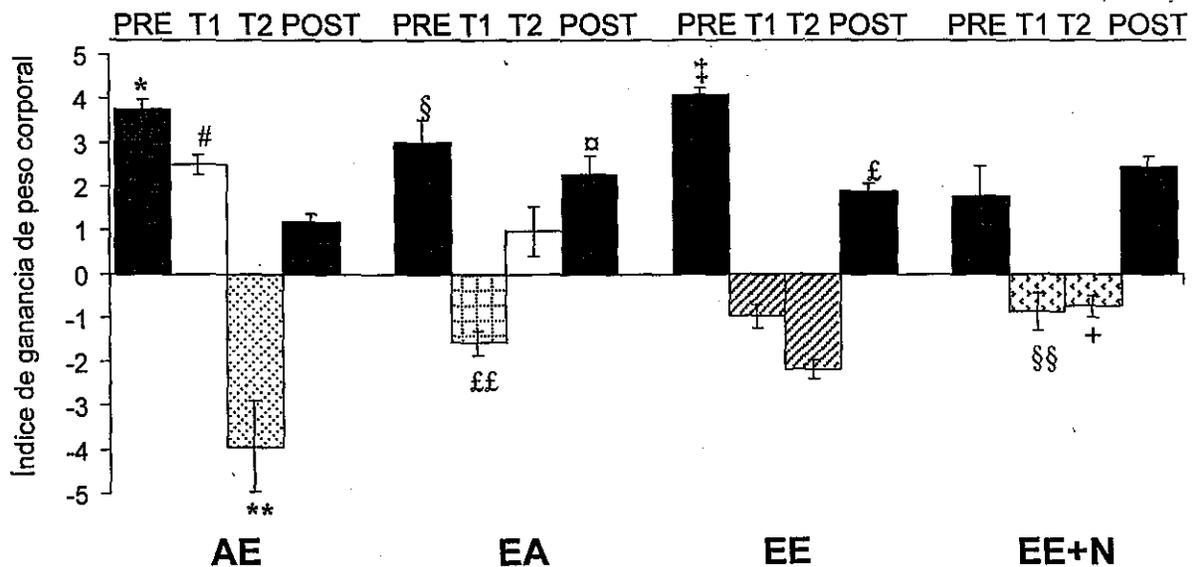


Fig. 10 Índice de la ganancia de peso corporal (peso inicial del periodo - peso final del periodo entre el número de días transcurridos entre ambos pesos) (media  $\pm$  E.S.), para los grupos con tratamiento con aceite-estrógenos (AE), estrógenos-aceite (EA), estrógenos-estrógenos (EE), estrógenos-estrógenos + naltrexona (EE+N); durante el pre-tratamiento (PRE), el primer tratamiento (T1), el segundo tratamiento (T2) y el post-tratamiento (POST). Nivel de significación  $p < 0.05$ .

\*PRE de AE > T1, T2 y POST de AE

\*\*T2 de AE < POST de AE

▣POST de EA > T1 y T2 de EA

£POST de EE > T1 y T2 de EE

+T2 de EE+N < PRE y POST de EE+N

#T1 de AE > T2 y POST de AE

§PRE de EA > T1 y T2 de EA

‡PRE de EE > T1, T2 y POST de EE

§§T1 de EE+N < PRE y POST de EE+N

££T1 de EA < T2 de EA

En el grupo EE, también durante el PRE, el índice de ganancia de peso fue mayor que en los demás periodos. En los dos tratamientos con estrógenos, hubo una pérdida de peso, por lo que los valores del índice de la ganancia de peso fueron negativos, recuperándose el peso, cuando se retiró la hormona, siendo esta diferencia significativa del POST contra los dos periodos del tratamiento.

En el grupo EE+N (figura 10) sucedió algo similar al grupo EE, el tratamiento con estrógenos decrementó el peso, encontrándose que tanto en el PRE como en el POST el índice de ganancia de peso fue significativamente mayor que en los dos periodos del tratamiento.

## DISCUSIÓN

Los estrógenos administrados en un periodo corto de seis días produjeron un decremento en el consumo del alcohol cuando fueron administrados junto con el alcohol. Esto pudo deberse a que al iniciar la administración de estrógenos, se produce un decremento en la densidad de receptores a opioides (Weiland y Wise, 1990) y un incremento en la internalización de los mismos (Eckersell y col, 1998) provocando, en ambos casos, un menor número de receptores disponibles. Por otro lado, se conoce que el alcohol incrementa los niveles de opioides endógenos (Li, XW y col, 1996; Gianoulakis, 1990; Gianoulakis y col, 1996), lo cual se ha asociado con los efectos reforzantes del alcohol. De esta manera, al haber pocos receptores por la acción estrogénica, el alcohol produciría un efecto menos reforzante, disminuyendo, por tanto, su consumo.

Esta menor disponibilidad de receptores pudo haber producido una sobre-regulación de receptores como un mecanismo fisiológico compensatorio bien conocido. En estas condiciones fisiológicas de mayor cantidad de receptores disponibles, el alcohol, que por sí mismo eleva los niveles de opioides, sería más reforzante y su consumo se incrementaría (Li, XW y col, 1996; Gianoulakis, 1990; Gianoulakis y col, 1996). Esto podría explicar el porqué el consumo del alcohol se incrementó en aquellos grupos en los cuáles, la exposición al alcohol se inició seis días después de haber iniciado el tratamiento con E (grupos: EE y EA). Aunque en estos dos grupos el consumo del alcohol se incrementó, éste incremento fue mayor en el grupo donde la administración de los estrógenos fue suspendida a los

seis días justo al inicio de la exposición al alcohol (grupo EA). Una posible explicación a esta diferencia es que en ambos casos al iniciar el tratamiento con alcohol, los receptores se encontrarían sobre-regulados, sin embargo, al continuar con la administración de la hormona, durante la exposición al alcohol (grupo EE), los estrógenos continuarían facilitando la internalización de receptores y por lo tanto su inactivación. De este modo, podría ser que la cantidad de receptores disponibles haya sido menor a la del grupo EA, ya que al no continuar con la administración de la hormona, se interrumpiría la internalización de receptores, manteniendo su disponibilidad incrementada, lo cual produciría un efecto aún más reforzante del alcohol, incrementando su consumo.

Se observó que un antagonista opioide es capaz de inhibir el incremento en el consumo del alcohol producido por el tratamiento prolongado con estrógenos. Este efecto de la naltrexona sugiere la participación del sistema opioide en los efectos de los estrógenos sobre el consumo del alcohol, sin embargo, se ha descrito que la administración de un antagonista opioide por sí misma produce un decremento en el consumo del alcohol (Kornet y col, 1991; Gardell y col, 1996; Volpicelli y col, 1992), por lo tanto, faltaría discernir la participación específica de la naltrexona como inhibidor intrínseco del consumo de alcohol versus su acción inhibitoria en un organismo cuyo sistema opioide ha sido modificado por la acción de los estrógenos.

Las diferencias encontradas entre los días y los grupos durante el periodo de pre-tratamiento en el consumo de alcohol en gr/kg y en el índice de

preferencia, no muestran ninguna tendencia sistemática, por lo que no se les puede asociar a ninguna variable específica que no sea la misma variabilidad que se da en el consumo del alcohol.

En repetidas ocasiones, hemos encontrado que los sujetos tienen una mayor preferencia por el alcohol y consumen mayores cantidades el primer día de contacto con él, o después de uno o varios días de abstinencia, volviendo a los niveles pre-tratamiento en los días subsecuentes (Juárez y cols. datos no publicados). Esto explicaría, el porqué en los tres grupos con tratamiento con estrógenos, previo al consumo de etanol, se encontraron mayores consumos este día que el resto de los días, durante el periodo de tratamiento; sin embargo, la secuencia del tratamiento, también parece representar un papel importante, ya que este incremento en el primer día de exposición al alcohol, no se presentó en el grupo en el que los estrógenos no fueron administrados antes de la exposición al alcohol. Dado que los resultados encontrados en la preferencia al alcohol replican fielmente aquellos del consumo del alcohol en gr/kg, la explicación de los cambios observados serían los mismos descritos previamente para ambas medidas.

Las diferencias en el consumo de alcohol (gr/kg) y el índice de preferencia entre los días fueron similares. En aquellos grupos donde el tratamiento con estrógenos fue previo a la presencia de alcohol sin la administración de naltrexona, se encontró que el consumo del alcohol fue decreciendo a lo largo de los días, lo cual podría deberse a que en los primeros días, los receptores podrían estar sobre-regulados en estos dos grupos, dándose una mayor captura de

opioides, produciendo que el alcohol sea más reforzante y debido a esto el consumo de alcohol se incrementa (De Witte y col, 1984, Hubbell y col, 1986, Marfaing-Jallat y col, 1983, Froehlich y col, 1990). Sin embargo, como la sobre-regulación es un mecanismo compensatorio homeostático del organismo. Es probable que no se mantenga por un periodo prolongado, como ocurre en la sobre-regulación producida por la interrupción de la administración de un antagonista opioide (naltrexona); en la cual, el número de receptores va disminuyendo a través de los días, y después del día 4 de retirar la administración de la naltrexona, los receptores casi llegan a los niveles encontrados en el grupo control (Parkes y Sinclair, 2000). En el caso de los grupos tratados con estrógenos previo al consumo de alcohol, como consecuencia de estar ingiriendo más alcohol, se estaría liberando mayores cantidades de opioides, lo que causaría una disminución en la cantidad de receptores a través de los días. Al disminuir los receptores habría una menor captura de opioides, decrementándose así las propiedades reforzantes del alcohol, por ende se reduciría la preferencia por el alcohol y disminuiría su consumo en los últimos días del tratamiento (De Witte y cols, 1984; Hubbell y cols, 1986; Marfaing-Jallat y col, 1983; Froelich y cols, 1990).

En el grupo en el que además del tratamiento largo de 12 días con estrógenos se le administró naltrexona, no se encontraron diferencias significativas entre los días durante el tratamiento en el consumo de alcohol en gr/kg. Esto probablemente se haya debido a que, al unirse el antagonista al receptor y bloquear su unión con los opioides inhibió sus acciones (Baxter, 1997),

disminuyendo las propiedades reforzantes del alcohol (Critcher y cols, 1983; Sinclair, 1990; Hyytiä y Sinclair, 1993).

En el tratamiento donde se inició la administración de estrógenos por 6 días junto con la administración de alcohol, el primer día de exposición al alcohol no se encontró un consumo mayor que el resto de los días, ni diferencias significativas entre los días. La ausencia de diferencias, probablemente se haya debido a que el primer día de contacto con el alcohol, se encontraban pocos receptores disponibles, por el incremento en la internalización de los receptores ante la presencia de los estrógenos (Eckersell y col, 1998), lo que al producir una escasa captura de opioides, causó que el alcohol fuera poco reforzante y como consecuencia, se obtuvo una baja preferencia por el alcohol con consumos bajos.

Se ha postulado que la actividad opioidérgica refuerza el consumo de alcohol (Sinclair, 1990, 1997 y 1998). Por consiguiente, si el alcohol es consumido mientras se tienen pocos receptores disponibles, éste será poco reforzante y la conducta de consumir alcohol será extinguida. Esto explicaría el porqué en aquellos grupos que tuvieron altos consumos de alcohol durante el tratamiento, en el post-tratamiento continuaron ingiriendo más alcohol que los grupos que consumieron menor cantidad de alcohol durante el tratamiento.

En todos los grupos el tratamiento con estrógenos decrementó el consumo de alimento y éste se recuperó al retirar la hormona. Esto coincide con lo que han descrito otros autores (Butera y col, 1990 y 1996; Dagnault y col, 1993; Varma y

col, 1999; Donohe y Stevens, 1982; Sandberg y col, 1982). Hay evidencia que sugiere que el estradiol puede inhibir el consumo de alimento por el aumento de los efectos saciativos del péptido colecistocinina (CCK) (Butera y col, 1993; Linden y cols, 1990). La CCK es la más importante de las hormonas peptídicas producidas por las células enteroendocrinas implicadas en la mediación de la saciedad. Los datos encontrados sugieren que el núcleo paraventricular (Butera y col, 1996) y el núcleo preóptico medial (Micevych y Sinchak, 2001) del hipotálamo están involucrados en la interacción entre CCK y estradiol, y son consistentes con la idea de que el estradiol potencia los efectos de la CCK al actuar en sitios cerebrales que procesan las señales nerviosas iniciadas por las acciones de la CCK en el intestino. La CCK también es sintetizada y liberada a nivel hipotalámico y se ha descrito que los estrógenos incrementan la expresión de RNAm para CCK en el núcleo preóptico medial (Michevych y col, 1997). Por otra parte, la administración en hipotálamo de estrógenos decremента el consumo de alimento (Butera y cols, 1996), por lo tanto, los estrógenos parecen estar actuando también a nivel central en núcleos hipotalámicos que regulan tanto la liberación de CCK como la ingesta alimenticia.

En el grupo en el que además de los estrógenos se administró naltrexona, el decremento en el consumo de alimento causado por los estrógenos fue menor y la recuperación, una vez retirada la hormona, fue más rápida que en los otros tres grupos. No sabemos a que puedan deberse estos resultados, sin embargo, es importante considerar que el consumo de alimento en este grupo durante la línea base fue menor que en el resto de los grupos. Esto sugiere que el valor

preservado para el peso corporal puede representar un papel importante en el grado de afectación de sustancias anoréxicas sobre el consumo de alimento.

Durante el tratamiento con estrógenos, en todos los grupos los sujetos presentaron una pérdida del peso corporal. Esto ya ha sido descrito por otros autores (Donohoe y Stevens, 1982,1984; Simpkins y col, 1988, 1989; Schwartz y col, 1981; Butera y cols, 1990, 1996; Peng y cols, 1986 y Juárez y cols, 2002). El peso corporal se determina por el balance entre la ingestión calórica y el gasto de energía, el decremento encontrado en el consumo de alimento durante los tratamientos con estrógenos, sugiere que la disminución del peso corporal pudo haberse debido al decremento en la ingesta calórica causado por la administración de estrógenos. Una vez retirada la hormona, los sujetos incrementaron su consumo de alimento recuperando rápidamente el peso corporal.

## DISCUSIÓN GENERAL

El tratamiento con estrógenos produjo inicialmente un decremento en el consumo de alcohol, lo que coincide con lo descrito en la literatura por otros autores en ratas macho gonadectomizadas (Juárez y cols, 2002), en hembras ovariectomizadas (Sandberg y Stewart, 1982; Sandberg y col, 1982; Almeida y col, 1998) y en ratas seleccionadas por su alta preferencia al alcohol (Messiha, 1981). Este decremento puede deberse a que se ha descrito que los estrógenos disminuyen los niveles de las  $\beta$ -endorfinas y metaencefalinas en hipotálamo (Carter y col, 1996; Desjardins y col, 1993; y Schipper y col, 1994). También se ha descrito que disminuye la densidad de receptores a opiodes administrados por un periodo corto menor a 48 horas (Weiland y Wise, 1990); y que producen un incremento en la internalización de receptores a opioides mu, provocando una menor disponibilidad de receptores a opioides (Eckersell y col, 1998). Considerando que la presencia de opiodes se ha asociado con las propiedades reforzantes del alcohol (De Witte y col, 1984, Hubbell y col, 1986, Marfaing-Jallat y col, 1983, Froelich y col, 1990), es probable que la disminución de la actividad opioide por estrógenos esté produciendo que el consumo del alcohol pueda ser menos reforzante, y sea por esta causa, que el consumo del alcohol disminuya en esos primeros días de tratamiento.

Después del día 7 de tratamiento con estrógenos, éstos provocaron una recuperación del consumo de alcohol que coincide con lo reportado en hembras

por otros autores (Sandberg y Stewart, 1982; Sandberg y col, 1982), aunque no ocurre en el tiempo descrito por ellos. Se ha reportado que después de un periodo de poca disponibilidad de receptores (lo cual supuestamente ocurre en los primeros días) puede producirse una sobre-regulación de receptores a opiodes, de manera similar al incremento de receptores opiodes como consecuencia de la administración de un antagonista opioide como la naltrexona (Hyytiä y col, 1999; Yoburn y col, 1993 y Candido y col, 1992). Este incremento en los receptores a opiodes, podría estar elevando las propiedades reforzantes del alcohol, ya que por un lado, hay más receptores disponibles y al mismo tiempo el alcohol incrementa los niveles de opiodes endógenos (De Witte y col, 1984, Hubbell y col, 1986, Marfaing-Jallat y col, 1983, Froehlich y col, 1990), por tanto, en los primeros días de tratamiento el efecto de los estrógenos supera al efecto del alcohol.

El tratamiento con estrógenos en ambos experimentos decrementó tanto el consumo de alimento, como el peso corporal de los sujetos. Esto coincide con lo que han descrito otros autores (Butera y col, 1990 y 1996; Dagnault y col, 1993; Varma y col, 1999; Donohe y Stevens, 1982; Sandberg y col, 1982). El mecanismo por el cuál pudiera darse este efecto anoréxico de los estrógenos, es a través de la activación de la secreción de CCK en el hipotálamo, la cual se conoce activa los mecanismos de saciedad, ya que se ha descrito que al incrementar la secreción de dicha sustancia, el consumo de alimento decremента; y el decremento en el peso corporal, parece depender del decremento en el consumo de alimento.

## CONCLUSIONES

Los resultados encontrados en el presente trabajo apoyan la idea de que los efectos del tratamiento con estrógenos sobre el consumo del alcohol varían dependiendo de si la duración de la administración es mayor o menor a 6 días y de si los estrógenos son suministrados de forma previa al consumo del alcohol o junto con él.

Los resultados sugieren la participación del sistema opioide en el efecto de los estrógenos sobre el consumo del alcohol, decrementando inicialmente la disponibilidad de receptores a opioides e incrementándola posteriormente quizás a través de un mecanismo de sobre-regulación. Dichos cambios en el sistema opioide explicarían el decremento inicial en el consumo del alcohol y su incremento posterior, respectivamente.

El tratamiento con estrógenos, decremента el consumo de alimento al parecer por una alteración en los mecanismos de saciedad. Sin embargo, con el tiempo, el consumo de alimento parece recuperarse paulatinamente y se hace más evidente la recuperación al retirar la administración de la hormona. Los estrógenos también decremantan la ganancia de peso corporal, retomando sus valores de línea base cuando se retira la hormona. Esto parece estar íntimamente asociado al efecto sobre el consumo de alimento. Este decremento limitado en el consumo de alimento a medida que el tratamiento con estrógenos se prolonga

puede estar relacionado con mecanismos homeostáticos compensatorios relacionados con el valor defendido del peso corporal.

Hasta donde sabemos, el presente representa el primer estudio donde se da apoyo experimental al efecto dual de los estrógenos sobre el consumo del alcohol. Este fenómeno no tiene porque ser privativo de los estrógenos y bien puede ocurrir con otras sustancias endógenas o exógenas.

## REFERENCIAS

Adams, ML; Little, PJ; Bell, B y Cicero, TJ (1991). Alcohol affects rat testicular interstitial fluid volume and testicular secretion of testosterone and beta-endorphin. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 258, 1008-1014.

Almeida, OFX; Shoaib, M; Deicke, J; Fischer, D; Darwish, MH y Patchev, VK (1998). Gender differences in ethanol preference and ingestion in rats. *J. Clin. Invest.* 101, 2677-2685.

Anderson, SHG y Sjoval, J (1986). Effects of ethanol on steroid profiles in the rat testis. *Biochem. Biophys. Acta* 876, 352-357.

Babichev, VN; Peryshkova, TA; Aivazashvili, NI y Shishkina, IV (1989). Effect of alcohol on the content of sex steroid receptors in the hypothalamus and hypophysis of male rats. *Biull. Eksp. Biol. Med.* 107, 204-207.

Bannister, P; Lowosky, MS (1987). Ethanol and hypogonadism. *Alcohol Alcohol.* 22, 213-218.

Baxter, JD (1997). Introduction to endocrinology. En *Basic & Clinical Endocrinology*, Greenspan, FS; Strewler, GJ, eds. Appleton & Lange. 1-36.

Brien, PO; Eckardt, MJ y Linnoila, MI (1995). Pharmacotherapy of Alcoholism. En *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress*. Bloom, FE; Kupfer, DJ, eds., Raven Press, 1745.

Brown, RE (1994). An introduction to neuroendocrinology. Cambridge University press. 152-154.

Butera, PC; Beikirch, RJ y Willard, DM (1990). Changes in ingestive behaviors and body weight following intracranial application of 17-alpha-estradiol. *Physiol. Behav.* 47, 1291-1293.

Butera, PC; Bradway, DM y Cataldo, NJ (1993). Modulation of the satiety effect of cholecystokinin by estradiol. *Physiol. Behav.* 53, 1235-1238.

Butera, PC; Xiong, M, Davis, RJ y Platania, SP (1996). Central implants of dilute estradiol enhance the satiety effect of CCK-8. *Behav. Neurosci.* 110, 823-830.

Candido, J; Lutfy, K; Billings, B; Sierra, V; Duttaroy, A; Inturrisi, CE y Yoburn, BC (1992). Effect of adrenal and sex hormones on opioid analgesia and opioid receptor regulation. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 42, 685-692.

Carter, A y Soliman, MR (1996). Estradiol alters ethanol-induced effects on beta-endorphin and met-enkephalin levels in specific brain regions of ovariectomized rats. *Pharmacology*. 53, 143-150.

Cicero, TJ (1982). Pathogenesis of alcohol-induced endocrine abnormalities. *Adv. alcohol Subst. Abuse*. 1, 87-112.

Clifton, NJ. *Molecular Mechanisms of Alcohol*. Humana Press. Galanter M. eds. 253-276.

Couwnbergs, CJ (1988). Acute effects of drinking beer or wine on the hormones of healthy men. *J. Steroid Biochem*. 31, 467-473.

Critchler, EC; Lin, CI; Patel, J y Myers RD (1983). Attenuation of alcohol drinking in tetrahydroisoquinoline-treated rats by morphine and naltrexone. *Pharmacol. Biochem. Behav*. 18, 225-229.

Dagnault, A; Ouerghi, D y Richar, D (1993). Treatment with alpha-helical-CRF (9-41) prevents the anorectic effect of 17-beta-estradiol. *Brain Research Bulletin*. 32, 689-692.

David, J (1995). *Pharmacotherapy of Alcoholism*. En *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress*, Bloom, FE y Kupfer, DJ, eds. Raven Press, 1745.

De Witte, P (1984). Naloxone reduces alcohol intake in a free-choice procedure even when both drinking bottles contain saccharin sodium or quinine substances. *Neuropsychobiology*. 12, 73-77.

Desjardins, GC; Brawer, JR y Beaudet, A (1993). Estradiol is selectively neurotoxic to a hypothalamic beta-endorphin neurons. *Endocrinology*. 132, 86-93.

Donohoe, TP y Stevens, R (1982). Modulation of food intake by hypothalamic implants of estradiol benzoate, estrone, estriol and CI-628 in female rats. *Pharmacol. Biochem. Behav*. 16, 93-99.

Donohoe, TP; Stevens, R; Johnson, NJ y Barker, S (1984). Effects of stereoisomers of estradiol on food intake, body weight and hoarding behavior in female rats. *Physiol. Behav*. 32, 589-592.

Eckersell, C; Popper, P y Micevych, P (1998). Estrogen-induced alteration of  $\mu$ -opioid receptor immunoreactivity in the medial preoptic nucleus and medial amygdala. *The J. of Neuroscience*. 18, 3967-3976.

Emanuele, N y Emanuele, MA (1997). The endocrine system: Alcohol alters critical hormonal balance. *Alcohol Health and Research World*. 21, 53-64.

Esquifino, AI; Mateos, A; Agrasal, C; Martin, I; Canovas, JM y Feroso, J (1989). Time-dependent effects of alcohol on the hypothalamic-hypophyseal-testicular function in the rat. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 13, 219-223.

Froehlich, JC (1996). The neurobiology of ethanol-opioid interactions in ethanol reinforcement. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 20, 181A-186A.

Froehlich, JC; Harts, JL y Li, TK (1990). Naloxone attenuates voluntary ethanol intake in rats selectively bred for high ethanol preference. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 35, 385-90.

Gardell, LR; Hubbell, LC y Reid, LD (1996). Naltrexone persistently reduces rats' intake of a palatable alcoholic beverage. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 20, 584-588.

Gavaler, JS y Van Thiel, DH (1992). The association between moderate alcoholic beverage consumption and serum estradiol and testosterone levels in normal postmenopausal women: Relationship to the literature. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 16, 87-92.

Gavaler, JS; Love, K; Van Thiel, D; Farholt, S; Gluud, C; Monteiro, E; Galvao-Teles, A; Ortega, TC y Cuervas-Mons, V (1991). An international study of the relationship between alcohol consumption and postmenopausal estradiol levels. *Alcohol Alcohol Suppl.* 1, 327-330.

Gavaler, JS y Van Thiel, DH (1992). Hormonal status of postmenopausal women with alcohol-induced cirrhosis: further findings and a review of the literature. *Hepatology.* 16, 312-319.

Gianoulakis, C (1990). Characterization of the effects of acute ethanol administration on the release of beta-endorphin peptides by the rat hypothalamus. *Eur. J. Pharmacol.* 180, 21-29.

Gianoulakis, C; Krishnan, B; Thavundayil, J (1996). Enhanced sensitivity of pituitary beta-endorphin to ethanol in subjects at high risk of alcoholism. *Arch. Gen. Psychiatry.* 53, 250-257.

Gill, J (1997). Women, alcohol and the menstrual cycle. *Alcohol Alcohol.* 32, 435-441.

Granner, DK (1994). Membranas: estructura, ensamble y función. En *Bioquímica de Harper. Manual Moderno.* Murray RK; Granner DK; Mayes PA y Rodwell, VW, eds. 569-571.

Hilakivi, Clarke L (1996). Role of estradiol in alcohol intake and alcohol-related behaviors. *J. Stud. Alcohol.* 57, 162-170.

Hubbell, CL; Czirr, SA; Hunter, GA; Beaman, CM; LeCann, NC y Reid, LD (1986). Consumption of ethanol solution is potentiated by morphine and attenuated by naloxone persistently across repeated daily administrations. *Alcohol*. 3, 39-54.

Huges, JN; Coste, T; Pret, G; Jayle, MF; Sebaoun, J y Mondigliani, E (1980). Hypothalamo-pituitary-ovarian function in thirty-one women with chronic alcoholism. *Clin. Endocrinol.* 12, 543-551.

Hyttiä, P y Sinclair, JD (1993). Responding for oral ethanol after naloxone treatment by alcohol-preferring AA rats. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 17, 631-636.

Hyttiä, PK; Soini, SL; Laitinen, JT y Korpi, ER (1999). Effects of continuous opioid receptor blockade on alcohol intake and up-regulation of opioid receptor subtype signalling in a genetic model of high alcohol drinking. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 360, 391-401.

Juárez, J (2001). Cerebro y función endocrina. En *Texto de neurociencias cognitivas*. Manual Moderno, Alcaraz, RV y Gumá, DE, eds. 1-20.

Juárez, J; Barrios de Tomasi, E y Virgen, M (2002). Effects of estradiol treatment on voluntary and forced alcohol consumption in male rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 71, 259-268.

Kalant, H; en Begleiter, H y Kissin, B (1996). The pharmacology of alcohol and alcohol dependence. *Pharmacokinetics of ethanol: absorption, distribution, and elimination*. Oxford University Press. 15-45.

Kalant, H. (1971) Absorption, diffusion, distribution, and elimination of ethanol: effects on biological membranes. In *The biology of alcoholism Biochemistry*, Kissin and Bleiter, eds. Plenum Press. 1-62.

Kalant, H. en Bevan, JA edi. (1982). *Fundamentos de farmacología. Bebidas alcohólicas y disulfiram*. Harlam. 103-108.

Keefer, D y Holderegger, C (1985). The ontogeny of estrogen receptors: Brain and pituitary. *Dev. Brain Res.* 19, 1983-1984.

Kornet, M; Goosen, C y Vanree, JM (1991). Effect of naltrexone on alcohol-consumption during chronic alcohol drinking and after a period of imposed abstinence in free-choice drinking rhesus-monkeys. *Psychopharmacology.* 104, 367-376.

Lakoza, GN y Barkov, NK (1980). The role of testosterone in the development of experimental alcoholism. *Bull. Narc.* 32, 41-48.

Lancaster, FE; Brown, TD; Coker, KL; Elliot, JA y Wren, SB (1996). Sex differences in alcohol preference and drinking patterns emerge during the early

postpubertal period in Sprague-Dawley rats. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 20, 1043-1049.

Lapchack, PA (1991). Effect of estradiol treatment on beta-endorphin content and release in the female rat hypothalamus. *Brain Res.* 554, 198-202.

Laurence, D (1998). *A Dictionary of Pharmacology and Allied Topics.* Elsevier, 256.

Linden, A; Uvnas-Moberg, K; Forsberg, G; Bednar, I y Sodersten, P (1990). Involvement of cholecystokinin in food intake: III. Oestradiol potentiates the inhibitory effect of cholecystokinin octapeptide on food intake in ovariectomized rats. *J. Neuroendocrinol.* 2, 797-801.

Li, X-W; Li, T-K y Froehlich, JC (1996). Alcohol alters preproenkephalin mRNA content in the shell and core of the nucleus accumbens. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 20, 53.

Lindman, RE; Koskelainen, BM y Eriksson, CJ (1999). Drinking, menstrual cycle, and female sexuality: A diary study. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 23, 169-173.

Litwack, G y Schmidt, T (1997). *Biochemistry of hormones I: polipeptide hormones.* En Devlin TM, eds. *Text Book of Biochemistry with clinical correlations.* Wiley-Liss. 876-877.

MacLusky, NJ y Naftolin, F (1981). Sexual differentiation of the central nervous system. *Science.* 211, 1294-1302.

Majchrowicz, E y Noble, EP (1979). *Biochemistry and pharmacology of etanol.* Plenum Press. xi.

Marfaing-Jallat, P; Miceli, D y Le Magnen, J (1983). Decrease in ethanol consumption by naloxone in naive and dependent rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 185, 537-539.

Martin, CR (1985). *Endocrine physiology.* Oxford University press.

McEwen, BS (1981). Neural gonadal steroid actions. *Science.* 211, 1303-1311.

Mello, NK (1988). Effects of alcohol abuse on reproductive function in women. En: Mello, NK; Bree, MP; Mendelson, JH; Ellingboe, J; King, NW y Sehgal, PK (1983). Alcohol self-administration disrupts reproductive function in female macaque monkeys. *Science.* 221, 667-679.

Mendelson, JH y Mello, NK (1988). Chronic alcohol effects on anterior pituitary and ovarian hormones in healthy women. *J. Pharmacol Exp. Ther.* 245, 407-412.

Messiha, FS (1981). Steroidal actions and voluntary drinking of ethanol by male and female rats. *Prog. Biochem. Pharmacol.* 18, 205-215.

Micevych, PE; Eckersell, CB; Brecha, N y Holland, KL (1997). Estrogen modulation of opioid and cholecystokinina systems in the limbic-hypothalamic circuit. 44,335-343.

Micevych, P y Sinchak K (2001). Estrogen and endogenous opioids regulate CCK in reproductive circuits. *Peptides*, 22, 1235-1244.

Mitchell, HH y Curzon GE (1940). The food value of alcohol. *Q. J. Stud. Alcohol.* 1, 227-245. En: Larue-Achagiotis, C; Poussard, AM y Louis-Sylvestre, J (1990). *Physiol. Behav.* 47, 545-548.

Norman, AW y Litwack, G (1997). General considerations of hormones. En *Hormones*. Academic Press. 1-47.

Ogilvie, KM y Rivier, C (1997). Gender difference in hypothalamic-pituitary-adrenal axis response to alcohol in the rat: activational role of gonadal steroids. *Brain Res.* 766, 19:28.

Parkes, JH y Sinclair, JD (2000). Reduction of alcohol drinking and upregulation of opioid receptors by oral naltrexone in AA rats. *Alcohol* 21, 215-221.

Peng, MT; Chiang, HL y Lee, LR (1986). Response of food intake and body weight to estradiol in old female rats. *Chin. J. Physiol.* 29,1-6.

Priest, CA y Roberts, JL (2000). Estrogen and tamoxifen differentially regulate beta-endorphin and cFos expression and neuronal colocalization in the arcuate nucleus of the rat; *Neuroendocrinology.* 72, 293-305.

Quiñones-Jenab; Vjenab, S; Ogawa, S; Inturrisi, C y Pfaff, SW (1997). Estrogen regulation of mu-opioid receptor mRNA in the forebrain of female rats; *Brain Res. Mol. Brain. Res.* 47, 138-148

Qulali, M y Crabb, DW (1992). Estradiol regulates class I alcohol dehydrogenase gene expression in renal medulla of males rats by a post transcriptional mechanism. *Arch. Biochem. Biophys.* 297, 277-84.

Qulali, M; Ross, RA y Crabb, DW (1991). Estradiol induces class I alcohol dehydrogenase activity and mRNA in kidney of female rats. *Arch. Biochem. Biophys.* 288, 406-13.

Rachamin, G; Maconald, JA; Wahid, S; Clapp, JJ; Khanna, JM y Israel, Y (1980). Modulation of alcohol dehydrogenase and ethanol metabolism by sex hormones in the spontaneously hypertensive rat. *J. Biochem.* 186, 483-490.

- Ross, WR (1989). "Diagnosis of Alcohol Abuse", CRC Press. 10-19.
- Roth, GS (1979). Hormone receptor changes during adulthood and senescence: Significance for aging research. *Federation Proceedings*. 38, 1910-1914.
- Ruusa, J; Bergman, B y Sundell, M-L (1997). Sex hormones during alcohol withdrawal: A longitudinal study of 29 male alcoholics during detoxification. *Alcohol Alcohol*. 32, 591-597.
- Sandberg, D; David, S y Stewart, J (1982a). Effects of estradiol benzoate on the pattern of eating and ethanol consumption. *Physiol. Behav.* 29, 61-65
- Sandberg, D y Stewart, J (1982b). Effects of estradiol benzoate and MER-25 on ethanol consumption in the ovariectomized rat. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 96, 635-648.
- Sar, M y Stumpf, WE (1975). Distribution of androgen-concentrating neurons in rat brain. *En Anatomical neuroendocrinology*. Stumpf, WE y Grant, LD, eds. 120-133.
- Schipper, HM; Desjardins, GC; Beaudet, A y Brawer, JR (1994). The 21-aminosteroid antioxidant, U74389F, prevents estradiol-induced depletion of hypothalamic beta-endorphin in adult female rats. *Brain Res.* 652, 161-163.
- Schwartz, S y Wade, GN (1981). Effects of estradiol and progesterone on food intake, body weight, and carcass adiposity in weanling rats. *Am. J. Physiol.* 240, E499-503.
- Sheridan, PJ (1983). Androgen receptors in the brain: what are we measuring? *Endocr. Rev.* 4, 171-178.
- Simerly, RB; Chang, C; Muramatsu, M y Swanson, LW (1990). Distribution of androgen and estrogen receptor mRNA-containing cells in the rat brain: an in situ hybridization study. *J. Comp. Neurol.* 294, 76-95.
- Simpkins, JW; Anderson, WR; Dawson, R Jr; Seth, A; Brewster, M; Estes, KS y Bodor, N (1988). Chronic weight loss in lean and obese rats with a brain-enhanced chemical delivery system for estradiol. *Physiol. Behav.* 44,573-580.
- Simpkins, JW; Anderson, WR; Dawson, R Jr y Bodor, N (1989). Effects of a brain-enhanced chemical delivery system for estradiol on body weight and food intake in intact and ovariectomized rats. *Pharm. Res.* 6, 592-600.
- Sinclair, JD (1990). Drugs to decrease alcohol drinking. *Ann. Med.* 22, 357-362.
- Stahl, SM (1998). *Essential psychopharmacology, neuroscientific basis and practical applications*. Cambridge university press. 398-439.

Teschke, R y Heymann, K (1982). Effect of sex hormones on the activities of hepatic alcohol-metabolizing enzymes in male rats. *Enzyme*. 28, 268-277.

Teschke, R y Wiese, B (1982). Sex-dependency of hepatic alcohol metabolizing enzymes. *J. Endocrinol. Invest.* 5, 243-50.

Thornton, JE; Loose, MD; Kelly, MJ y Ronnekleiv, OK (1994). Effects of estrogen on the number of neurons expressing beta-endorphin in the medial basal hypothalamus of the female guinea pig. *J. Comp. Neurol.* 341, 68-77.

Välimäki, MJ; Pelkonen, R; Salaspuro, M; Harkonen, M; Hirvonen, E y Ylikahri, R (1984). Sex hormones in amenorrheic women with alcoholic liver disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 59, 133-138.

Van Thiel, DH (1983). Ethanol its adverse effects upon the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. *J. Lab. Clin. Med.* 101, 21-33.

Van Thiel, DH; Gavalier, JS; Lester, R y Sherins, RJ (1978). Alcohol-induced ovarian failure in the rat. *J. Clin. Invest.* 61, 624-632.

Varma, M; Chai, JK; Meguid, MM; Laviano, AK; Gleson, JR y Yang, AJ (1999). Effect of estradiol and progesterone on daily rhythm in food intake and feeding patterns in Fischer rats. *Physiol. Behav.* 68, 99-107.

Villalta, J; Ballescá, JL; Nicolás y Martínez de Osaba, MJ (1997). Testicular function in asymptomatic chronic alcoholics: Relation to ethanol intake. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 21, 123-133.

Volpicelli, JR; Alterman, AI; Hayashida, M y O'Brien, CP (1992). Naltrexone in the treatment of alcohol dependence. *Arch. Gen. Psychiatry.* 49, 876-880.

Wallgren, H y Barry H 3<sup>rd</sup>. (1970). Action of alcohol. Elsevier. 1, 36-55. En: *The pharmacology of alcohol and alcohol dependence*. Begleiter, H y Kissin, B eds. 15-18.

Wardlaw, SL; Wang, PJ y Frantz, AG (1985). Regulation of beta-endorphin and ACTH in brain by estradiol. *Life Sci.* 37, 1941-1947.

Weiland, NG y Wise, PM (1990). Estrogen and progesterone regulate opiate receptor densities in multiple brain regions. *Endocrinology.* 126, 804-2808.

Willis, BR, Anderson, RA; Oswald, C y Zaneweld, JD (1983). Ethanol-induced male reproductive tract pathology as a function of ethanol dose and duration of exposure. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 225, 470-478.

Yoburn, BC; Billings, B y Duttaroy, A (1993). Opioid receptor regulation in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 265, 314-20.