

Los anticonceptivos de progestinas de acción prolongada alteran la vasculatura endometrial inhibiendo la supervivencia de las células de músculo liso vascular uterinas

Long-acting progestin-only contraceptives impair endometrial vasculature by inhibiting uterine vascular smooth muscle cell survival

Umit A. Kayisli¹, Murat Basar², Ozlem Guzeloglu-Kayisli¹, Nihan Semerci¹, Helen C. Atkinson³, John Shapiro², Taryn Summerfield², S. Joseph Huang², Katja Prelle⁴, Frederick Schatz¹, Charles J. Lockwood¹

¹ Department of Obstetrics & Gynecology, Morsani College of Medicine, University of South Florida, Tampa, FL 33612

² Department of Obstetrics & Gynecology, College of Medicine, The Ohio State University, Columbus, OH 43210

³ Department of Pediatric Endocrinology Research, School of Women's & Infants' Health, University of Western Australia, Crawley, WA 6009, Australia

⁴ Department of Safety Pharmacology, Bayer HealthCare, GDD-GED-TOX Safety Pharmacology, 42096 Wuppertal, Germany

Resumen

Los mecanismos moleculares responsables de la vascularización anormal endometrial que se observa en mujeres que han recibido anticonceptivos de progestinas de acción prolongada (LAPC) son aún desconocidos. Nuestra hipótesis es que los LAPC deterioran las células del músculo liso vascular (VSMCs) y la proliferación y migración de pericitos produciendo hiperdilatación de las paredes delgadas de los microvasos, haciéndolas propensas a sangrar.

Se evaluó la proliferación y diferenciación de las VSMCs endometriales de mujeres antes y después del tratamiento con DepoProvera (Depo) y de cobayos hembras ovariectomizados (OVX-GP) tratados con vehículo, estradiol (E_2), acetato de medroxiprogesterona (MPA) o E_2 + MPA, por doble inmuno-tinción con el antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA) y la actina de músculo liso α -(α SMA). Todos los ensayos de perfil genómico, proliferación y migración se realizaron en cultivos de VSMCs tratados con MPA o etonogestrel (ETO).

Los vasos endometriales provenientes de mujeres a las cuales se les administró Depo mostraron una inmunorreactividad reducida de α SMA y disminución de positividad para PCNA (+) en los núcleos de las células que fueron positivas para α SMA ($P < 0,008$). El análisis de los microarrays de VSMCs pudo identificar distintos transcritos alterados por MPA y ETO regulados por la señalización de STAT1 ($P < 2,22 \times 10^{-6}$), incluyendo el ligando 2 de la quimiocina con motivo C-C (CCL2). Tanto MPA como ETO redujeron la proliferación y la migración de las VSMCs ($p < 0,001$).

El CCL2 recombinante revirtió esta inhibición mediada por la progestina, mientras que un inhibidor de STAT1 abolió el efecto de CCL2. Del mismo modo, el endometrio de los OVX-GPs tratados con MPA mostró una disminución de tinción α SMA y de PCNA en núcleos de VSMCs ($p < 0,005$). En conclusión, los LAPC promueven la formación anormal de los vasos endometriales mediante la inhibición de la proliferación y migración de las VSMCs.

PNAS. 2015, 112:5153-5158

Comentario

Dra. Gabriela Meresman

Los anticonceptivos de progestinas de acción prolongada (LAPC) se asocian a sangrado uterino anormal y es el principal motivo por el cual algunas mujeres discontinúan su uso. Los autores de este trabajo plantean que los LAPC suprimen la proliferación de las células del músculo liso vascular (VSMCs) y la diferenciación, proliferación y migración de los pericitos para generar vasos frágiles, con paredes delgadas e hiperdilatación propensas a sangrar. En este trabajo se evaluó la proliferación de las células del músculo liso vascular (VSMCs) en cortes de tejido endometrial en fase secretoria provenientes de mujeres en edad reproductiva y ciclo menstrual regular antes y después del tratamiento con DepoProvera (acetato de medroxiprogesterona, MPA inyectable, Depo), y

se observó disminución de la proliferación de las VSMCs endometriales. Al evaluar el perfil génico de las VSMCs de los transcritos modificados por el tratamiento con MPA o etonogestrel (ETO), los autores observaron que los LAPC regulan genes involucrados en la diferenciación y proliferación de estas células. Se observó también que la proliferación de las VSMCs cultivadas por 48 horas con MPA o ETO se veía significativamente disminuida. Sin embargo, las progestinas no modificaban la apoptosis de esas mismas células. Para evaluar si la inhibición de la proliferación de las VSMCs era mediada por una disminución de la expresión de la citocina CCL2 se trataron a estas células con vehículo, MPA o ETO con CCL2 recombinante (rCCL2). Los resultados mostraron que el rCCL2 aumentó de manera dosis dependiente la proliferación celular comparado con el control. El agregado de 10 ng/ml de rCCL2 revirtió los efectos inhibitorios de MPA o ETO, mientras que el agregado de 100 μ m de MTA, un inhibidor específico de STAT1, abolió los efectos de rCCL2. Asimismo, mediante un ensayo de migración, se demostró que los LAPC inhibieron la migración de las VSMC in vitro. El modelo animal de cobayos hembras ovariectomizadas (OVX-GPs) ha sido elegido por los autores debido a que de manera similar a los humanos estos animales exhiben ciclos estrales cíclicos y placentación hemocorial y son un buen modelo para estudiar el sangrado uterino anormal estimulado por LAPC. Se observó que la administración de MPA disminuyó el número de VSMCs.

La proteína α SMA es un marcador de diferenciación temprana que se expresa en las VSMCs de los vasos endometriales y en los pericitos (células contráctiles que se envuelven alrededor de las células endoteliales de los capilares). Se ha reportado que la expresión de α SMA disminuye alrededor de la microvasculatura en el endometrio de mujeres usuarias de Norplant que presentan sangrado. En coincidencia y complementación con estos antecedentes, los autores observaron en este trabajo una disminución significativa de PCNA y α SMA en las VSMCs endometriales, lo que indica una inhibición del índice de proliferación, reducción del número de VSMCs, disminución del espesor de la pared vascular y alteración estructural de la integridad vascular. Estos cambios son en definitiva los responsables de la hiperdilatación vascular que se observa en el tejido endometrial en las mujeres que recibieron Depo.

El presente estudio demuestra, además, la inhibición de las VSMCs en cultivos tratados con MPA o ETO. Esta inhibición se produce en paralelo a la inhibición de la expresión de CCL2 provocada por ambas hormonas. A la inversa, la inducción de la proliferación de las VSMCs por CCL2 sugiere que esta citocina podría actuar como un tratamiento adyuvante para revertir la inhibición de la proliferación de las VSMCs causada por LAPC. Este mecanismo es avalado por el hallazgo en el cual rCCL2 revierte la inhibición de la proliferación celular mediada por MPA y ETO en las VSMCs in vitro. Por otro lado, resultados previos demostraron que MPA y ETO suprimen la señalización de STAT1 y median la inhibición de la proliferación de VSMCs. En concordancia, se observó que el inhibidor de STAT1, MTA suprime los efectos proliferativos de CCL2 en VSMCs tratadas con progestinas. Antecedentes previos demostraron que la administración de LAPC a los cobayos trajo como resultado cambios vasculares endometriales como hemorragia local, aumento del estrés oxidativo, altos índices de apoptosis y elevados índices de peroxidación lipídica. Del mismo modo que en el endometrio de las mujeres que recibieron Depo, el presente estudio confirma la reducción del número de células α SMA (+) y la disminución de la proliferación de VSMCs en endometrio de cobayos tratados con MPA y confirma que en estos animales, la mayoría de los vasos endometriales superficiales está desprovisto de VSMCs. Aunque el aumento de apoptosis podría contribuir a la reducción de la densidad de la capa de VSMCs observada en los endometrios de las usuarias de LAPC, a partir de los resultados obtenidos, los autores sugieren que es poco probable que la apoptosis contribuya a la vasculatura anormal ya que el índice de este tipo de muerte celular no fue afectado por MPA, ETO o progesterona. En conclusión, estos resultados revelan que los LAPC inducen sangrado uterino anormal por mecanismos moleculares y celulares únicos que alteran la proliferación, migración o la diferenciación de las VSMCs endometriales, y por lo tanto producen VSMCs insuficientes para mantener la integridad vascular. Este nuevo planteo explica el hallazgo de los vasos frágiles hiperdilataados y la hemorragia local observada en el endometrio de las usuarias de LAPC. Estos resultados también sugieren que la coadministración de CCL2 podría impedir el sangrado anormal inducido por LAPC.

Este estudio propone un mecanismo novedoso

para explicar la anomalía observada en los vasos de los endometrios de las mujeres a las que se les administra LAPC y presentan sangrado uterino anormal. La integración de los hallazgos in vitro en VSMCs humanas, junto con las observaciones in situ en el modelo animal de OVX-GPs tratados con MPA y las evaluaciones en el endometrio de mujeres tratadas con Depo, demostraron el papel inhibitorio que juega la progesterona en la proliferación y migración de las VSMCs.

El trabajo está muy bien planteado desde el punto de vista experimental ya que evalúa distintos

parámetros asociados a esta anomalía vascular en tres modelos experimentales distintos y complementarios. Las conclusiones a las que arriban a partir de las evaluaciones que realizan y sus resultados contundentes y novedosos explican parte de los mecanismos implicados en la debilitación de la microvasculatura endometrial responsable del sangrado uterino anormal producido por progestinas. Considero que Kayisli et al. logran realizar un aporte valioso publicando este trabajo de medicina reproductiva en la prestigiosa revista PNAS.

Relación entre el cortisol salival y la depresión en adolescentes sobrevivientes de una catástrofe natural

ANÁLISIS CRÍTICO

Relationship between salivary cortisol and depression in adolescent survivors of a major natural disaster

Takashi Yonekura, Kazunori Takeda, Vivek Shetty, Masaki Yamaguchi
Biomedical Engineering and Robotics Laboratory, Graduate School of Engineering, Iwate University, 4-3-5 Ueda, Morioka, 020-8551, Japan

El propósito de este estudio fue determinar la utilidad de los niveles de cortisol salival para la detección de estados mentales como la depresión en los adolescentes después de una catástrofe natural. Se examinó la relación de los niveles de cortisol salival en adolescentes sobrevivientes del terremoto de Tohoku en 2011 con la subescala de depresión de 28 ítems, General Health Questionnaire (GHQ). Los sujetos fueron 63 adolescentes sobrevivientes (edad = 14,29±0,51 años) a quienes se evaluó de acuerdo al GHQ. Se tomaron muestras de saliva, tres veces al día (mañana, tarde y noche) en el transcurso de tres días. En base a las puntuaciones obtenidas con el GHQ, se dividieron los sujetos en grupos de baja y alta de depresión. El grupo con alta depresión comprendía el 22% de los sujetos. Cuando se analizaron los datos de los niveles de cortisol salival a lo largo de tres días, se observó una diferencia significativa entre los dos grupos en las muestras de la tarde y en la relación de los niveles mañana/tarde ($p < 0,05$). El análisis por medio de curvas características de receptor-operativo (curvas ROC), de la relación de los niveles mañana/tarde mostró un buen poder discriminatorio entre los sujetos con y sin síntomas de depresión. Este estudio sugiere que la medición

repetida de los niveles de cortisol salivales a lo largo de tres días tiene utilidad en la detección de los estados depresivos en adolescentes después de una catástrofe natural.

J. Physiol. Sci. (2014) 64:261–267

Comentario

Dra. Silvia Iglesias, Dr. Sergio Azzara, Dra. Bibiana Fabre

El propósito de este trabajo fue determinar la utilidad del cortisol salival para la detección de trastornos mentales en los adolescentes, tal como la depresión luego de haber experimentado un desastre natural como un terremoto. La muestra de estudio incluyó 63 estudiantes sobrevivientes del terremoto de Tohoku del año 2011. Se evaluó la intensidad de los síntomas depresivos en estos adolescentes a través de la aplicación de la subescala de depresión del Cuestionario de Salud General (GHQ) de 28 ítems. Basándose en las puntuaciones obtenidas, se dividieron a los adolescentes en dos grupos: alta depresión ($n=14$) y baja depresión ($n=49$).

Todos los adolescentes tomaron muestras de sali-