



“CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

RELACIÓN DE LOS SÍNTOMAS FÍSICOS Y EMOCIONALES EN LA MENOPAUSIA CON LOS NIVELES PLASMÁTICOS DE 27 HIDROXICOLESTEROL

Brenda Zambrano Negrete BSc, Nicté Figueroa-Vega PhD, Juan Manuel

Malacara MD PhD

Dpto. Ciencias Médicas, Universidad de Guanajuato, campus León, León, Gto.
México.

Resumen

Introducción: La alteración endocrina más importante durante la menopausia es la disminución en la síntesis y concentración de Estradiol (E₂). La reducción de los esteroides sexuales durante la menopausia tiene efectos metabólicos, hematológicos, cardiovasculares, y cambios en tejidos estrógeno-dependientes, además de ocasionar síntomas físicos. Los oxisteroles, como el 27 hidroxicolesterol, han sido descritos como ligandos para receptores nucleares. Las concentraciones de 27 Hidroxicoleterol son altas en la vasculatura, donde juega un papel importante en la estrogenización debido a su habilidad para unirse a receptores de estrógenos, y su concentración correlaciona con niveles de colesterol y con la obesidad. La presencia de oxisteroles con función estrogénica puede tener las mismas características benéficas o de riesgo del Estradiol. **Objetivo:** Determinar si existe relación entre los síntomas físicos y emocionales de la menopausia y los niveles plasmáticos de 27-hidroxicolesterol. **Métodos:** Se aplicó un cuestionario acerca de síntomas físicos y emocionales a 68 mujeres en perimenopausia (n=27) y postmenopausia (n=41) y se cuantificó el 27 hidroxicolesterol en plasma mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. **Resultados:** Las mujeres en perimenopausia (45.14 ± 3.59 años) refirieron mayores niveles de ansiedad que las mujeres en postmenopausia (54.17 ± 6.80 años) (p= 0.004) sin diferencia entre otros síntomas. Los niveles plasmáticos de 27-hidroxicolesterol en las mujeres en perimenopausia fueron mayores que en aquellas con postmenopausia. Además, se encontró que las mujeres



“CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

con obesidad presentaron mayores concentraciones de 27-OHC en comparación con aquellas mujeres delgadas. **Conclusión:** Estos datos sugieren que los niveles de 27-hidroxicolesterol están asociados con el IMC y las concentraciones de estradiol.

Palabras clave: 27-Hidroxicolesterol, menopausia, obesidad, estrógenos

ANTECEDENTES

La menopausia corresponde al cese permanente de la menstruación, diagnosticada 12 meses después de aparición de amenorrea en mujeres que han tenido ciclos menstruales regulares⁽¹⁾, que resulta de la pérdida de la función ovárica. En promedio, la menopausia aparece después de los 51.4 años⁽²⁾. En México, la menopausia se presenta en una edad promedio de 47.6 años con un rango entre 41 a 55 años y se observa que la edad de aparición está influida por factores genéticos y puede ser modificada por factores ambientales.⁽³⁾

Durante la menopausia se identifican 3 periodos: La perimenopausia, que es el periodo previo a la menopausia donde, aún en presencia de ciclos menstruales, se comienzan a presentar los cambios endócrinos, clínicos y biológicos, con duración aproximada de 2 años. En esta etapa comienza la elevación paulatina de la hormona folículo estimulante (FSH), ganancia de peso y remodelación de tejido adiposo⁽⁴⁾; la transición a la menopausia, durante la cual terminan de ocurrir los cambios endócrinos y hormonales y la postmenopausia, que es el periodo que sigue a la última menstruación espontánea⁽⁵⁾. Ésta se clasifica en temprana, 5 años posteriores a la última menstruación, y tardía (> 5 años)⁽⁶⁾.

La reducción de los esteroides sexuales durante la menopausia tiene efectos metabólicos, hematológicos, cardiovasculares, y cambios en tejidos estrógeno-dependientes, además de ocasionar síntomas físicos. Los síntomas físicos incluyen bochornos, sequedad vaginal y dispareunia, que se encuentran asociados directamente con la deficiencia de estrógenos. Por otra parte, los síntomas



“CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

emocionales, depresión, ansiedad, pérdida de interés sexual y síndrome de nido vacío no son fácilmente asociados con los cambios hormonales⁽⁷⁾.

Sin embargo, en mujeres menopausicas el estrógeno con actividad biológica E_2 se sintetiza por producción extraglandular a partir de precursores de origen adrenal, a excepción de pequeñas cantidades de testosterona y androstendiona de origen ovárico o adrenal, en tejidos periféricos, como tejido adiposo y piel, de dehidroepiandrosterona (DHEA) y dehidroepiandrosterona sulfato (DHEAS) en estrona; y por la conversión de Androstendiona en Estrona en tejidos blanco de estrógenos por acción de la enzima aromatasa^(2,8-11).

La producción de andrógenos en la corteza suprarrenal disminuye en la edad madura de manera lenta y progresiva por el fenómeno de Adrenopausia. Debido a que DHEA es transformado en andrógenos y estrógenos en tejidos periféricos, la disminución en la concentración de los esteroides precursores de DHEA y DHEAS explica por que en las mujeres postmenopáusicas existe, además de la disminución de estrógenos, disminución de andrógenos^(8,12).

El tejido adiposo es el principal sitio de síntesis de estrógenos en mujeres menopáusicas⁽⁹⁾, y debido a la abundancia de los adipocitos y fibroblastos de la piel, éstos tejidos contribuyen a mantener los niveles de estradiol circulante. Éste efecto es observado mayormente en mujeres obesas debido al incremento en la masa de tejido adiposo además de la aumentada expresión de aromatasa dada por la edad, por lo cual la exposición a estrógenos es mayor, aumentando la frecuencia de cáncer mamario y disminuyendo la incidencia de osteoporosis.^(10,11)

La presencia de oxisterol puede tener las mismas características benéficas o de riesgo del Estradiol⁽¹³⁾. Los oxisteroles, como el 27-hidroxicolesterol, son metabolitos hidrolizados del colesterol que han sido descritos anteriormente como ligandos para receptores nucleares, más específicamente para el receptor hepático X (LXR). Estas moléculas son producidas por distintos tipos de células como metabolitos de



“CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

colesterol primarios y secundarios^(8,14). El metabolismo del colesterol a ácidos biliares ocurre por 2 vías: la vía clásica y la acídica. La formación de 7 α -hidroxicolesterol por el colesterol 7 α -hidroxilasa (CYP7A1) es la que limita el metabolismo en la vía clásica. En la vía acídica, llamada también alternativa, hay oxidación del colesterol para sintetizar 27-Hidroxicolesterol, que es hidroxilado posteriormente por el oxisterol 7 α -hidroxilasa (CYP7B1)⁽¹⁵⁾.

EL 27-hidroxicolesterol incrementa el crecimiento tumoral dependiente de receptor de Estrógeno (ER) y metástasis dependiente de LXR en modelos de ratón con cáncer mamario⁽¹³⁾. El efecto del colesterol en la patología del tumor requiere la conversión de 27 HC por la oxidada CYP27A1 del citocromo P450 y son atenuados por el tratamiento con inhibidores de CYP27A1. Las concentraciones de 27-HC son altas en la vasculatura, donde juega un papel importante en la estrogenización debido a su habilidad para unirse a receptores de estrógenos⁽¹⁶⁾, que al interactuar con los elementos de respuesta a estrógenos (ERE) modifica la función de ER-alfa y ER-beta inhibiendo su activación por E2^(7,17). Por tal motivo es importante tener nuevas estrategias para detectar las mujeres menopáusicas con exposición aumentada a estrógenos. Por lo tanto, el planteamiento del problema es si existe relación entre los síntomas físicos y emocionales de la menopausia con niveles plasmáticos de 27-hidroxicolesterol.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se incluyó a mujeres sanas de entre 45 y 65 años de edad que cumplieron con los criterios STRAW para ser clasificadas en peri y postmenopausia. No se incluyeron mujeres que estuvieran bajo terapia hormonal, que consumieran pastillas para dormir ni antidepresivos.



“CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

Se aplicó un cuestionario validado y utilizado en estudios previos que incluye datos generales, de estilo de vida, antecedentes gineco-obstétricos, síntomas físicos y síntomas emocionales⁽¹⁸⁾. Los síntomas físicos se dividieron en Vasomotores, sequedad vaginal y dispareunia. Para los síntomas emocionales se evaluó pérdida de interés sexual, estado de ánimo depresivo, ansiedad, síndrome del nido vacío, percepción del estrés y conducta sumisa.

Se tomó la muestra de sangre de las participantes después de un ayuno de 12 horas, de la cuál se obtuvo suero y plasma. Las concentraciones séricas de glucosa, colesterol, lipoproteínas y triglicéridos se determinaron por métodos rutinarios. Para el análisis de 27-hidroxicolesterol se colectó plasma al cuál se le añadió Butilhidroxitolueno a una concentración de 10ug/ml. Las muestras se conservan a -80°C hasta su análisis^(1, 19-21). La determinación del 27-hidroxicolesterol y hormonas se empleó la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (Agilent)^(22,23). Todos los procedimientos se llevaron a cabo de acuerdo a la Declaración de Helsinki, a la ley General de Salud, a el Reglamento de la ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud y a la Declaración Universal sobre Bioética y Derechos Humanos.

RESULTADOS

Se evaluó la presencia y severidad de síntomas presentes en la menopausia en 68 mujeres sanas. Para analizar la relación de los síntomas con el 27 hidroxicolesterol se realizó un primer análisis tomando como variable agrupante el índice de masa corporal, tomando como puntos de corte <25 kg/m² como normopeso y >25 kg/m² como sobrepeso (Tabla 1). No se encontraron diferencias significativas en la presencia de síntomas. Sin embargo, se observó una tendencia de incremento en las concentraciones del 27-Hidroxicolesterol en las mujeres con sobrepeso.



“CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

Tabla 1. Comparación de características antropométricas, bioquímicas y ginecológicas por IMC

	Mujeres con IMC <25 (kg/m ²) Media±DE (n=14)	Mujeres con IMC >25 (kg/m ²) Media±DE (n=54)	t-value	p
Edad (años)	51.5 ± 7.02	50.35 ± 7.34	0.53	0.60
IMC (kg/m ²)	22.45 ± 1.54	31.54 ± 4.85	-6.89	<0.0000
Cintura (cm)	75.071 ± 4.80	94.86 ± 11.17	-6.45	<0.0000
Glucosa (mg/dl)	89.71 ± 11.65	96.66 ± 14.99	-1.61	0.11
Triglicéridos (mg/dl)	90.14 ± 32.56	152.5 ± 58.26	-3.84	<0.0003
Colesterol Total(mg/dl)	182.78 ± 45.30	190.61 ± 32.18	-0.74	0.46
HDL-Cholesterol (mg/dl)	58.14 ± 11.43	56.94 ± 11.38	0.35	0.72
Cholesterol No-HDL(mg/dl)	124.64 ± 47.11	133.66 ± 35.21	-0.79	0.42
Tiempo de última menstruación (años)	4.29 ± 5.24	3.71 ± 4.47	0.42	0.67
Edad Menarca (años)	12.64 ± 1.22	12.46 ± 1.70	0.37	0.71
Bochornos (score 0-3)	0.78 ± 0.89	1.18 ± 1.01	-1.35	0.18
Sudoraciones nocturnas (score 0-2)	0.85 ± 0.86	0.98 ± 1.04	-0.41	0.68
Estado de ánimo depresivo(score 0-26)	5.28 ± 3.85	7 ± 4.41	-1.33	0.18
Ansiedad (scores 0-14)	5.71 ± 4.01	6.29 ± 3.89	-0.50	0.62
Estrés percibido (score 0-56)	27.07 ± 9.26	27.79 ± 7.77	-0.30	0.76
Sumisión (score 0-64)	19.85 ± 11.49	24.35 ± 9.73	-1.48	0.14
Dificultad para dormir (score 0-2)	0.92 ± 0.83	1 ± 0.78	-0.30	0.76
Sueño fraccionado (score 0-2)	0.92 ± 1.00	1.11 ± 0.98	-0.62	0.53
27-hidroxicolesterol (ng/ml)	339.17 ± 207.50	404.78 ± 228.68	-0.97	0.33

Como segundo análisis, se clasificó a las participantes de acuerdo al estadio de la menopausia en perimenopausia (<1 año de amenorrea) y postmenopausia (>1 año de amenorrea). Nuestros resultados muestran que la concentración de colesterol total y colesterol no-HDL fue mayor en las mujeres postmenopáusicas (p<0.006). En relación



“CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

a los síntomas, se observó que las mujeres en perimenopausia presentaron un mayor score en ansiedad comparados a las mujeres postmenopáusicas ($p=0.004$).

Finalmente, la concentración de 27-Hidroxicolesterol fue mayor en las mujeres perimenopáusicas (420.87 ± 240.30 ng/ml vs 371.78 ± 214.40 ng/ml) sin diferencia significativa (Tabla 2).

Tabla 2. Comparación de características antropométricas, bioquímicas y ginecológicas por etapas de la menopausia.

	Perimenopausia Media±DE (n=27)	Postmenopausia Media±DE (n=41)	t	p
Edad (años)	45.14 ± 3.59	54.17 ± 6.80	-6.33	<0.000000
IMC (kg/m ²)	28.84 ± 5.88	30.22 ± 5.63	-0.97	0.33
Cintura (cm)	87.46 ± 11.83	92.97 ± 13.35	-1.74	0.08
Glucosa (mg/dl)	94.22 ± 16.29	95.90 ± 13.48	-0.46	0.64
Triglicéridos (mg/dl)	131.74 ± 50.34	144.87 ± 64.85	-0.89	0.37
Colesterol Total(mg/dl)	175 ± 31.30	198.21 ± 34.65	-2.81	<0.006
HDL-Cholesterol (mg/dl)	59.25 ±	55.82 ± 11.53	1.23	0.22
Cholesterol No-HDL(mg/dl)	115.74 ± 30.74	142.39 ± 38.52	-3.02	<0.003
Tiempo de última menstruación (años)	0.29 ± 0.29	6.16 ± 4.63	-6.56	<0.0000000
Edad Menarca (años)	12.29 ± 1.61	12.63 ± 1.61	-0.85	0.40
Bochornos (score 0-3)	1.25 ± 1.10	1 ± 0.92	1.05	0.29
Sudoraciones nocturnas (score 0-2)	1.07 ± 1.04	0.87 ± 0.98	0.79	0.43
Estado de ánimo depresivo (score 0-26)	7.03 ± 4.16	6.39 ± 4.47	0.60	0.55
Ansiedad (scores 0-14)	7.81 ± 3.84	5.09 ± 3.58	2.98	<0.004
Estrés percibido (score 0-56)	28.59 ± 7.29	27.02 ± 8.51	0.79	0.43
Sumisión (score 0-64)	25.55 ± 11.37	22.02 ± 9.21	1.41	0.16
Dificultad para dormir (score 0-2)	1.11 ± 0.75	0.90 ± 0.80	1.08	0.28
Sueño fraccionado (score 0-2)	1.25 ± 1.02	0.95 ± 0.95	1.27	0.20
27-hidroxicolesterol (ng/ml)	420.87 ± 240.30	371.78 ± 214.40	0.88	0.38



“CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

BIBLIOGRAFÍA

1. Burger HG. *The endocrinology of the menopause*. J Steroid Biochem Mol Biol 1999;69:31-5.
2. Larsen PR, Kronenberg HM, Melmed S, et al ed. *Williams Textbook of Endocrinology*, 10th ed. Philadelphia, PA: Saunders.
3. Labrie F, Luu. The V, Labrie C. *Endocrine and Intracrine Sources of androgens in women: inhibition of breast cancer and other roles of androgens and their precursor dehydroepiandrosterone*. Endoc Rev 2003; 24: 152-182.
4. Lund KJ. Menopausia y transición menopáusica. Med Clin N Am 2008;92, 1253–71.
5. Carcía-Campos R, Aguilar-Zavala H, Malacara JM. *Symptoms at menopause and care of grandchildren*. Climateric 2010; 13(5): 492-498.
6. Soules M, Sherman S, Parrott E, et al. *Executive summary: Stages of Reproductive Aging Workshop (STRAW)*. Menopause 2001; 8: 402–407.
7. Umetani M, Domoto H, Gormley A, Yuhanna IS, Cummins CL, Javitt NB, Korach KS, Shaul PW, Mangelsdorf DJ. *27-Hydroxycholesterol is an endogenous selective estrogen receptor modulator that inhibits the cardiovascular effects of estrogen*. Nat Med 2007;13:1185–1192
8. Hernández ML, Malacara JM. *Condiciones metabólicas y hormonales en la menopausia*. Revista de Endocrinología y Nutrición 2006; 14(3): 149-155.
9. Barone I, Giordano C, Malivindi R, Lanzino M, Rizza P, Casaburi I, Bonofiglio D, Catalano S, Andó S. *Estrogens and PTP1B Function in a Novel Pathway to Regulate Aromatase Enzymatic Activity in Breast Cancer Cells*. Endocrinology. 2012;153(11):5157-5166
10. Malacara JM. *Menopausia: Nuevas evidencias, nuevos enigmas*. Revista de Endocrinología y Nutrición 2003;11(2):61-72
11. Misso ML, Jang C, Adams J, Tran J, Murata Y, Bell R, Boon WC, Simpson ER, Davis SR. *Adipose aromatase gene expression is greater in older women and is unaffected by postmenopausal estrogen therapy*. Menopause. 2005, 12(2): 210-215



“CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

12. Nunes VS, Panzoldo NB, Leança CC, Parra ES, Zgo VS, Da Silva EJ, Cazita PM, Nakandakare ER, de Faria EC, Quintão ECR. *Increased 27-hydroxycholesterol plasma level in men with low high density lipoprotein-cholesterol may circumvent their reduced cell cholesterol efflux rate.* Clinica Chimica Acta 2014; 433: 169–173.
13. Warner M, Gustaffson J. *On Estrogen, Cholesterol Metabolism, and Breast Cancer.* N Engl J Med. 2014; 370(6): 572-3
14. DuSell CD, Umetani M, Shaul PW, Mangelsdorf DJ, McDonnell DP. *27-Hydroxycholesterol Is an Endogenous Selective Estrogen Receptor Modulator.* Mol Endocrinol, 2008; 22(1):65–77
15. Kinoshita T, Honma S, Shibata Y, Yamashita K, Watanabe Y, Maekubo H, Okuyama M, Takashima A, Takeshita N. *An innovative LC-MS/MS-based method for determining CYP 17 and CYP 19 activity in the adipose tissue of pre- and postmenopausal and ovariectomized women using 13C-labeled steroid substrates.* J Clin Endocrinol Metab. 2014;99(4):1339-1347.
16. Nelson ER, Wardell SE, Jasper JS, Park S, Suchindran S, Howe MK, Carver NJ, Pillai RV, Sullivan PM, Sondhi V, Umetani M, Geradts J, McDonnell DP. *27-Hydroxycholesterol Links Hypercholesterolemia and Breast Cancer Pathophysiology.* Science. 2013;342(6162):1094-1098.
17. Umetani, M., and Shaul, P.W. (2011). *27-Hydroxycholesterol: the first identified endogenous SERM.* Trends Endocrinol. Metab. 22, 130–135.
18. Aguilar ZH, Pérez-Luque E, Luna-Martínez F, Bassol-Mayagoitia S, Canto de Cetina T, López-Conesa M, Malacara JM. *Symptoms at postmenopause generic and psychosocial factors.* Menopause 2012; 19(10): 1140-1145.
19. Griffiths WJ, Crick PJ, Wang Y, Ogundare M, Tuschl K, Morris AA, Bigger BW, Clayton PT, Wang Y. *Analytical strategies for characterization of oxysterol lipidomes: liver X receptor ligands in plasma.* Free Radic Biol Med. 2013 Jun;59:69-84



“CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

20. McDonald JG, Smith DD, Stiles AR, Russell DW. *A comprehensive method for extraction and quantitative analysis of sterols and secosteroids from human plasma*. J Lipid Res. 2012 Jul;53(7):1399-409.
21. Duane WC, Javitt NB. *27-Hydroxycholesterol: production rates in normal human subjects*. J Lipid Res. 1999; 40: 1194–1199.
22. McDonald JG, Smith DD, Stiles AR, Russell DW. *A comprehensive method for extraction and quantitative analysis of sterols and secosteroids from human plasma*. J Lipid Res. 2012 Jul;53(7):1399-409.
23. Matysik S, Klünemann HH, Schmitz G. *Gas Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Method for the Simultaneous Determination of Oxysterols, Plant Sterols, and Cholesterol Precursors*. *Clinical Chemistry*. 2012; 58:11