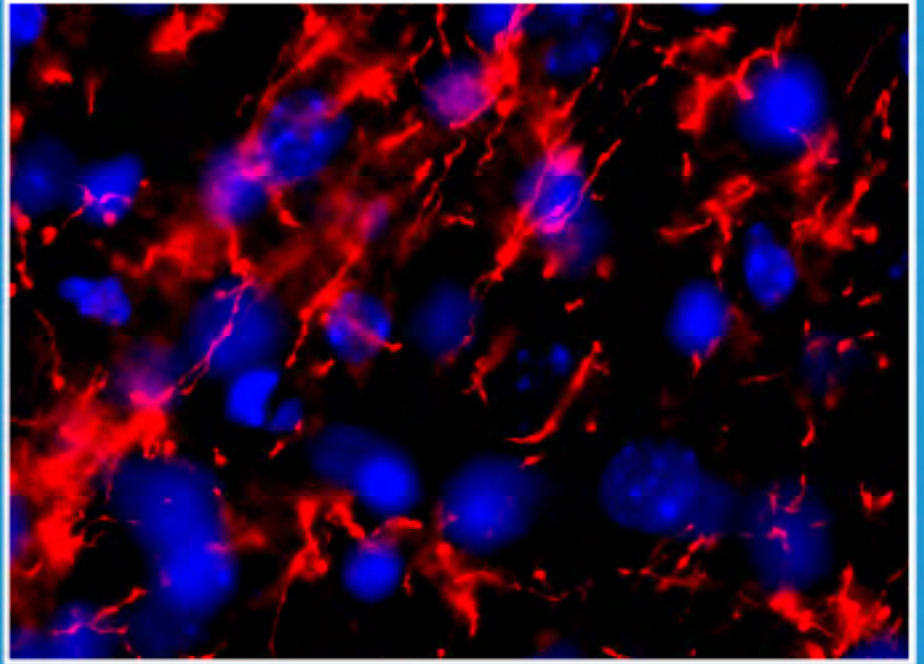


# Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva



Imunofluorescencia de Receptor Cannabinoide Tipo I (CB1) en corteza cerebral (en rojo).

## Contenidos de este número:

### ARTÍCULO ORIGINAL

- Biomarcadores, microbioma intestinal y reproducción.  
**Dra. Gabriela Gutiérrez**

### REVISIÓN

- Endocannabinoides y sistema endócrino.  
**Dra. S. Belingeri, Dra. A. Paganelli y Dra. L. Caltana**

### ANÁLISIS CRÍTICO POR EXPERTOS DE TRABAJOS SELECCIONADOS

- Deconstruyendo un síndrome: información genómica sobre el SOP. Mecanismos Causales y Clasificación.  
**Dra. Sandra Demayo - Dra. Gloria Cerrone**

### NOVEDAD BIBLIOGRÁFICA

- Impacto cardiovascular y tratamiento para osteoporosis.

### COMENTARIO

- Guías de endometriosis.  
**Dr. Juan José Etchepareborda**

# Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva



AFILIADA A LA INTERNATIONAL SOCIETY OF GYNECOLOGICAL ENDOCRINOLOGY (ISGE) Y A LA FEDERACIÓN LATINA DE ENDOCRINOLOGÍA GINECOLÓGICA (FLEG)

Año 30 • Volumen XXX • N° 1 • Enero - junio de 2023 • ISSN 1515-8845 (impresa) ISSN 2469-0252 (en línea)

## COMISIÓN DIRECTIVA 2023

Presidente: **Prof. Dr. Natalio Kuperman**

Vicepresidente: **Prof. Dr. Manuel Nöling**

## COMITÉ EDITORIAL

Directora:

**Dra. Dalhia Abramovich**, Bioquímica y Farmacéutica, Universidad de Buenos Aires (UBA), Doctora en Ciencias Biológicas, Universidad de Buenos Aires (UBA), Investigadora Independiente del CONICET, Laboratorio de Estudios de la Fisiopatología Ovárica, IBYME-CONICET.

Secretaria:

**Dra. Mariela Bilotas**, Doctora en Ciencias Biológicas Universidad de Buenos Aires (UBA). Argentina. Investigadora Adjunta del Comité nacional de Ciencia y Tecnología (CONICET), Laboratorio de Inmunología de la Reproducción, Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME) – Comité nacional de Ciencia y Tecnología (CONICET). CABA. Argentina.

Integrantes:

**Dra. María Soledad Belingeri**, Médica Endocrinóloga de Planta,

Sección Endocrinología y Metabolismo, Hospital de Agudos José María Penna. CABA. Argentina. Profesora Adjunta del Departamento de Histología, Biología Celular, Embriología y Genética de la Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires (UBA). Argentina.

**Dra. Yanina Azas**, Médica Especialista en Ginecología y Obstetricia Universidad de Buenos Aires (UBA). Argentina. Especialista en Endocrinología Ginecológica y de la Reproducción. Especialista en Medicina Reproductiva. Equipo Fertilidad del Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires. Argentina. Staff Centro de Estudios en Genética y Reproducción (CEGYR). CABA, Argentina.

**Dra. Ana Guadalupe Rolo**, Médica Especialista en Ginecología y Obstetricia, Especialista en Epidemiología y Salud Pública Instituto nacional de Estadísticas (INE) "Dr. Juan H. Jara", Universidad de

Buenos Aires (UBA). Argentina. Médica de Planta Hospital Francisco López Lima, General Roca, Río Negro. Argentina. Fellowship American College of Obstetrician and Gynecologist (ACOG).

**Dra. Judith Setton**, Médica Especialista en Endocrinología, Universidad de Buenos Aires (UBA). Argentina.

**Dr. Sebastian Irico** Doctor en Medicina y Cirugía. Especialista en Tocoginecología Facultad de Ciencias Médicas Universidad Nacional de Córdoba (UNC). Argentina. Mastólogo Sociedad Argentina de Mastología. CABA. Argentina. Ginecólogo Oncólogo Asociación Argentina de Controversias en Ginecología y Obstetricia (AAGO). Argentina. Prof. Titular 1ra Cátedra de Clínica Ginecológica. Hospital Nacional de Clínicas. Facultad de Ciencias Médicas Universidad Nacional de Córdoba (UNC). Argentina.

## Editor propietario:

Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva - SAEGRE

## Domicilio:

Viamonte 2660, piso 6°, ofic. D (C1056ABR), CABA, Argentina  
**Registro en la Dirección Nacional de Derecho de Autor:**  
Exp. N° 14961376. ISSN 1515-8845 (impresa)  
ISSN 2469-0252 (en línea)

## Periodicidad:

semestral

## Cuerpo editorial:

## Producción y Comercialización:

SAEGRE

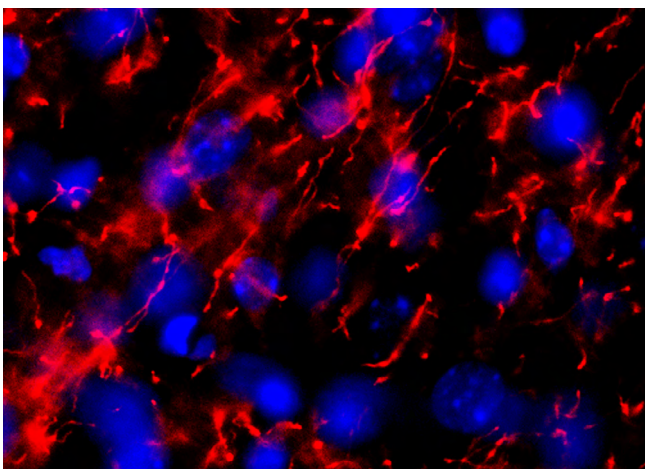
## Diseño gráfico:

Glicela Díaz

Año 30 • Volumen XXX • N° 1 • Enero - junio de 2023

## Tapa

Imunofluorescencia de Receptor Cannabinoide Tipo 1 (CB1) en corteza cerebral ( en rojo). En azul tinción nuclear con Hoechst. Gentileza Dra. Prof. Laura Caltana. Instituto de Biología Celular y Neurociencias IBCN Dr. Prof. De Robertis. Facultad de Medicina. UBA.



## XV Curso Superior BIANUAL en Endocrinología Ginecológica y Reproductiva

*Buenos Aires*

Edición: 2023 - 2024

**Directores:** Dra. Blanca Campostrini, Dra. Sandra Demayo, Dra. Fernanda González de Chazal, Dr. Manuel Nöling, Dra. Valeria Servetti

**Coordinadoras:** Dra. Yanina Azas, Dra. Eugenia Baum, Dra. Estela D'Isa, Dra. Mariana Jarlip, Dra. Mariela Ladino, Dra. María Cecilia López Screnci

**Secretarios:** Dra. María Teresa Brasesco, Dr. Ignacio Castagnasso, Dra. Rocio Cordoba, Dra. Erika Hedberg, Dra. María José Rivas, Dr. Hernán Santaella, Dra. Romina Tizzano

## VI Curso BIANUAL de Especialización en Endocrinología Ginecológica y Reproductiva

*Córdoba*

Edición: 2023 - 2024

**Directores:** Dr. Natalio Kuperman, Dra. Mercedes Lasaga, Dra. Viviana Mesch, Dr. Domingo Mugnolo, Dra. Karina Sternberg

**Coordinadoras:** Dra. Silvina Pérez Andrada, Dra. Fernanda Lamuraglia, Dra. Susana Nevoran, Dra. Carolina Simonet

**Secretarios:** Dra. Belén Jauregui Lorda, Dra. Cecilia Panero, Dra. Viviana Picasso

## Curso Online de formación avanzada en atención de Medicina Transgénero

**Directores:** Dr. Fabián Gómez Giglio, Dra. Yanina Azás, Dra. Yamile Mocarbel.

**Coordinadores:** Dra. Mercedes Lasaga, Dra. Carolina Simonet, Dr. Elbio Genovesi, Dra. Judith Setton, Dra. Guadalupe Rolo

## Curso Online - SAEGRE a la carta

*Clases magistrales, dictadas por expertos!*

**Directoras:** Dra. Blanca Campostrini - Dra. María Fernanda González del Chazal - Dra. Valeria Servetti

**Coordinadora:** Dra. Susana Nevoran

**Secretaria:** Dra. M. Cecilia López Screnci

## II Curso Internacional Universitario de Especialización en Endocrinología Ginecológica y Reproductiva

**Autoridades del curso:** Prof. Dra. Blanca Campostrini, Dra. Sandra Demayo, Prof. Dr. Manuel Nöling

## AUTORIDADES SAEGRE

*Comisión Directiva*

**Presidente**

Prof. Dr. Natalio Kuperman

**Secretaria**

Prof. Dra. Blanca Campostrini

**Vicepresidente**

Prof. Dr. Manuel Nöling

**Prosecretaria**

Dra. Karina Sternberg

**Tesorera**

Dra. Fernanda González de Chazal

**Protesorera**

Dra. Valeria Servetti

**Vocales Titulares**

Dr. Fabián Gómez Giglio, Dra. Yamile Mocarbel, Dr. Pablo Carpintero, Dra. Yanina Azás, Vocales Suplentes, Dra. Bárbara Seybold, Dr. Gustavo Litterio.

*Comisión Revisora de Cuentas*

**Miembros Titulares**

Dr. Ignacio Castagnasso

Dra. Agustina Piacentini

Dra. Silvana Pérez Andrada

**Miembros Suplentes**

Dr. Pablo Jorge Iglesias

Dr. José Sad Larcher

Dr. Jorge Ojeda

*Comité Científico*

**Directora:** Dra. Sandra Demayo

*Comité de Certificación y Recertificación*

Dra. María Fernanda González de Chazal, Dra. Estela D'Isa, Dra. Gisella Di Pietro, Dr. Fabián Gómez Giglio, Dra. María Belén Pérez Lana, Dra. Corolina Yulán  
**Miembros:** Dra. María Fernanda González de Chazal, Prof. Dr. Manuel Nöling

*Comité de Comunicación Institucional*

Prof. Dr. Natalio Kuperman, Prof. Dra. Blanca Campostrini, Dra. Lorena Giannoni, Dra. Valeria Servetti, Dra. Fernanda González de Chazal, Dra. Yanina Azas

## Directores Filiales

*Filial Patagonia:* Dr. Fabián Gómez Giglio, Dra. Carolina Yulan, Dra. Gisella Di Pietro

*Filial NOA:* Dr. Adrián Char Filial Litoral  
Dra. Graciela López, Dra. Mariana Degani

*Filial Centro:* Dra. María José Iturria, Dra. Delia Ostera, Dra. Sandra Antista

*Filial Cuyo:* Sede San Juan A definir

*Filial Córdoba:* Prof. Dr. Natalio Kuperman, Dr. José Sad

## Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva

Viamonte 2660, piso 6º, ofic. D (C1056ABR), (C1057AAU), Ciudad de Buenos Aires, Argentina. Tel.: (5411) 4961-0290. Email: saegre@saegre.org.ar. Sitio web: www.saegre.org.ar Esta publicación ha sido seleccionada y será indexada para la base de datos LILACS - Literatura Latinoamericana en Ciencias de la Salud de publicaciones científicas y la base de datos BINACIS - Bibliografía Nacional en Ciencias de la Salud de Argentina. Estas bases de datos están accesibles desde el sitio de la Biblioteca Virtual en Salud de Argentina en: <http://www.bvs.org.ar> y a nivel regional en el sitio: <http://www.bireme.br>



Esta obra está bajo una licencia de *Creative Commons* Atribución-NonCommercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Reconocimiento – Permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra. A cambio se debe reconocer y citar al autor original. No comercial – esta obra no puede ser utilizada con finalidades comerciales, a menos que se obtenga el permiso.

## ÍNDICE

### TRABAJO ORIGINAL

- Nuevos biomarcadores asociados a alteraciones en el microbioma intestinal que impactan en el resultado reproductivo 6  
María A. Azpiroz, Soledada Mayol, Lucila Orguilia, Maripaz Jimenez Guerrero, Alejandro Malpartida, Florencia Cerimedo, Gabriela Gutiérrez

### REVISIÓN

- Endocannabinoides y Sistema Endócrino 13  
Maria S. Belingeri, Alejandra R. Paganelli, Laura R. Caltana

### ANÁLISIS CRÍTICOS POR EXPERTOS DE TRABAJOS SELECCIONADOS

- Deconstruyendo un síndrome: información genómica sobre el SOP. Mecanismos Causales y Clasificación. 21  
Matthew Dapas, and Andrea Dunaif  
Comentarios: Sandra Demayo, Gloria Edith Cerrone

### NOVEDAD BIBLIOGRÁFICA

- Evidence for the cardiovascular effects of osteoporosis treatments in randomized trials of post-menopausal women: A systematic review and Bayesian network meta-analysis 35  
Alexander H. Seeto, Mina Tadrous, Abadi K. Gebre, Joshua R. Lewis, Howard A. Fink, Peter R. Ebeling, Alexander J. Rodríguez

### COMENTARIO

- Comentarios a las Guías ESHRE para el manejo de mujeres con Endometriosis 2022 37  
Juan José Etchepareborda

## INDEX

### ORIGINAL ARTICLE

- *New biomarkers associated with alterations in the gut microbiome that impact outcomereproductive* 6  
María A. Azpiroz, Soledada Mayol, Lucila Orguilia, Maripaz Jimenez Guerrero, Alejandro Malpartida, Florencia Cerimedo, Gabriela Gutiérrez

### REVIEW

- *Endocannabinoids and Endocrine System* 13  
Maria S. Belingeri, Alejandra R. Paganelli, Laura R. Caltana

### CRITICAL ANALYSIS OF SELECTED ARTICLES: EXPERTS OPINIONS

- *Deconstructing a Syndrome: Genomic Insights Into PCOS Causal Mechanisms and Classification* 21  
Matthew Dapas, and Andrea Dunaif  
Comments: Sandra Demayo, Gloria Edith Cerrone

### NOVEL ARTICLE

- *Evidence for the cardiovascular effects of osteoporosis treatments in randomized trials of post-menopausal women: A systematic review and Bayesian network meta-analysis* 35  
Alexander H. Seeto, Mina Tadrous, Abadi K. Gebre, Joshua R. Lewis, Howard A. Fink, Peter R. Ebeling, Alexander J. Rodríguez

### COMMENT

- *ESHRE guideline: endometriosis - Human Reproduction Open, pp. 1-26, 2022* 37  
Juan José Etchepareborda



## Acceso a Cursos auto- administrados online

- ✓ 100 % online
- ✓ Totalmente autoadministrados
- ✓ Acceso al campus las 24hs
- ✓ Créditos para la certificación

Climaterio, Infertilidad, Anticoncepción, Amenorreas, Disruptores, Sexualidad, Adolescencia, Osteoporosis y más!

⊕ Conocé más beneficios en [www.saegre.org.ar](http://www.saegre.org.ar)



# Nuevos biomarcadores asociados a alteraciones en el microbioma intestinal que impactan en el resultado reproductivo

## *New biomarkers associated with alterations in the gut microbiome that impact outcomereproductive*

María A. Azpiroz<sup>1</sup>, Soledada Mayol<sup>1</sup>, Lucila Orguilla<sup>1,2</sup>, Maripaz Jimenez Guerrero<sup>1</sup>, Alejandro Malpartida<sup>1</sup>, Florencia Cerimedo<sup>1</sup>, Gabriela Gutiérrez<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup> Microgénesis, Buenos Aires, Argentina;

<sup>2</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas Buenos Aires, Argentina.

**Correspondencia:** Gutiérrez, Gabriela. gabriela.gutierrez@microgenesis.net - +54-911-4438 2133; Av. Coronel Díaz 2277 8B, CABA, Argentina

**Agradecimientos:** Los autores agradecen a todos los participantes por su contribución. El estudio fue financiado por el Banco Mundial, EMPRETECNO 2016, PAEBT 016/16.

**Conflicto de intereses:** El documento US 63/076690 ha sido asignado a Microgenesis Corporation y CONICET. Los autores declaran que no existe ningún conflicto de intereses.

**Problema:** El aumento de la infertilidad a nivel mundial no solo está vinculado al aumento de la edad materna sino al impacto de factores ambientales que provocan cambios epigenéticos en el estado de salud de la mujer, y que tienen impacto en el origen de trastornos inflamatorios cuyo primer síntoma podría ser la infertilidad.

**Método de estudio:** Se reclutó a un total de 301 mujeres con múltiples fracasos de FIV-ET. Se analizó la expresión de microARNs específicos asociados a desbalances de la microbiota junto con marcadores en sangre y en saliva. Todas las pacientes mostraron desbalances al menos uno de los marcadores antes mencionados y decidieron seguir con su tratamiento habitual (n=23) o personalizar una suplementación alimentaria y de probióticos durante 75 días (n=278). La tasa de embarazo fue comparada entre ambos grupos luego de 180 días de búsqueda de embarazo.

**Resultado(s):** El 84% de las pacientes infértiles mostraron un aumento en al menos uno de estos microARNs. Teniendo en cuenta estos parámetros y los marcadores de sangre periférica y saliva, las pacientes fueron suplementadas con una combinación de dietas biomédicas, probióticos y nutraceuticos. La tasa de embarazo tras otro intento de FIV-ET fue del 75% para el grupo que personalizó la suplementación y del 30% para el grupo que no realizó la suplementación (\*p<0.05).

**Conclusiones:** Una suplementación dietaria adecuada según nuestra novedosa plataforma de diagnóstico de microARNs mejoró la tasa de embarazo de los pacientes con múltiples fallas de FIV-ET.

**Palabras clave:** infertilidad, microARNs, microbiota, permeabilidad intestinal, autoanticuerpos

**Problem:** The increase in infertility worldwide is not only linked to the increase in maternal age but also to the impact of environmental factors associated to epigenetic changes in women's health status, which have an impact on the origin of inflammatory disorders whose first symptom could be infertility.

**Method of study:** A total of 301 women with multiple IVF-ET failures were recruited. The expression of specific microRNAs associated with microbiota imbalances was analyzed together with biomarkers in blood and saliva. All patients showed imbalances in at least one of the above-mentioned biomarkers and decided to continue with their usual treatment (n=23) or to customize dietary and probiotic supplementation for 75 days (n=278). Pregnancy rate was compared between both groups after 180 days of pregnancy search.

**Result(s):** 84% of the infertile patients showed an increase in at least one of these microRNAs. Considering these parameters and peripheral blood and saliva biomarkers, the patients were supplemented with a combination of biomedical diets, probiotics and nutraceuticals. Pregnancy rate after another IVF-ET attempt was 75% for the group that customized supplementation and 30% for the group that did not supplement according tests results (\*p<0.05).

**Conclusions:** Appropriate dietary supplementation according to our novel microRNA diagnostic platform improved the pregnancy rate of patients with multiple IVF-ET failures.

**Keywords:** infertility, microRNAs, microbiota, intestinal permeability, autoantibodies

## INTRODUCCIÓN

La infertilidad es un importante problema de salud pública, con una prevalencia mundial del 8-12% entre las parejas en edad reproductiva<sup>1</sup> que tiene graves efectos adversos en la sociedad, la economía y la salud mental de la pareja implicada<sup>2</sup>. Las principales causas de infertilidad femenina son: 1) trastornos de la ovulación, 2) problemas uterinos o cervicales, 3) alteraciones tubáricas, 4) endometriosis, y/o 5) factores inmunológicos<sup>1</sup>. Sin embargo, aproximadamente el 30% de las faltas de embarazo no se pueden explicar, lo que se define como “infertilidad inexplicada” (IU) o sin causa aparente<sup>3</sup>.

En la actualidad, hay cada vez más pruebas que demuestran el impacto de la microbiota humana como factor de salud y enfermedad<sup>4,5</sup>. La microbiota es un grupo de microorganismos que se encuentran en los tejidos de las mucosas, como el intestino, el tracto reproductivo y la piel, y que son beneficiosos para la fisiología normal del huésped. La microbiota humana desempeña un papel fundamental en múltiples procesos biológicos, como el metabolismo de los nutrientes y los fármacos, el mantenimiento de la integridad estructural de la barrera de la mucosa, la inmunomodulación y la protección contra los patógenos<sup>6</sup>. La alteración de la composición de la microbiota, que resulta de una disminución de la proporción de bacterias beneficiosas/nocivas, se define como “disbiosis”<sup>7</sup>. La disbiosis puede clasificarse en tres tipos diferentes: pérdida de organismos beneficiosos, crecimiento excesivo de organismos potencialmente dañinos y pérdida de la diversidad microbiana general. Además, estos tres tipos no se excluyen mutuamente y pueden darse simultáneamente<sup>7-10</sup>.

La microbiota del tracto reproductivo femenino está recibiendo cada vez más atención en la reproducción humana porque no sólo puede influir en las posibilidades de lograr un embarazo, sino también en el estado de salud de la madre y del niño antes y después del parto. Estudios recientes han demostrado que la abundancia relativa de *L. iners*, *L. crispatus* y *L. gasseri* en la vagina puede distinguir a las mujeres infértiles idiopáticas de mujeres fértiles<sup>11</sup>.

Además de la función normal en el tracto digestivo, la microbiota intestinal normal tiene un impacto en la función normal del tracto reproductivo masculino y femenino al regular los cambios inmunológicos asociados con la concepción<sup>12</sup>. Sin embargo, los mecanismos asociados a esta regulación son todavía poco conocidos. Mientras que la microbiota intestinal normal es esencial para la función del sistema inmunitario, la disbiosis puede tener un gran impacto en su función normal, lo que provoca una desviación de las respuestas inmunitarias normales<sup>7</sup>. La permeabilidad del epitelio intestinal depende de

la regulación del sistema inmunitario de la mucosa y de las uniones estrechas intercelulares (TJ). La disfunción de la TJ parece ser un defecto primario en varias enfermedades autoinmunes (EA)<sup>13-20</sup>. La regulación fisiopatológica de las TJ está influenciada por muchos factores, como la inmunoglobulina A (IgA) secretora, las lectinas, las levaduras, las bacterias y los microARN (miARN)<sup>21,22</sup>.

Los microARNs son una clase de pequeñas moléculas de ARN no codificantes que controlan la expresión de los genes a nivel post-transcripcional<sup>23</sup>. Se ha descrito que varios miRNAs están asociados a estados de disbiosis y al desequilibrio inmunitario de las dos principales poblaciones celulares inmunitarias de las mucosas: los macrófagos (Ms) y las células dendríticas (DCs), mientras que la infiltración tisular y la remediación de la inflamación podrían estar reguladas por los miARNs<sup>24,25</sup>.

Se ha descubierto que el aumento de la permeabilidad intestinal desempeña un papel clave en el desarrollo de diversos trastornos inflamatorios y autoinmunes<sup>13-16,26</sup>. Los trastornos inmunitarios también están implicados en el fracaso reproductivo, y ocho de cada diez pacientes infértiles inexplicables dan positivo en las pruebas de autoanticuerpos<sup>27,28</sup>. Dado que, como se ha comentado anteriormente, la composición del microbioma afecta al repertorio de células inmunológicas de la mucosa, y que la disbiosis está asociada a las enfermedades inflamatorias<sup>29-33</sup> la hipótesis es que la patogénesis de la infertilidad podría estar asociada a respuestas inmunológicas anormales debidas a alteraciones de la microbiota. En este sentido, es plausible que la microbiota pueda desempeñar un papel en el desarrollo de la infertilidad al afectar a las funciones epigenéticas, inmunológicas y/o bioquímicas del huésped.

Demostramos previamente que el grupo de pacientes con infertilidad sin causa aparente y síntomas de intestino permeable tenía un desequilibrio del microbioma asociados a una sobreexpresión de microARNs<sup>34</sup>. Hemos propuesto la asociación entre la composición bacteriana y los trastornos inmunometabólicos. Así, cuando estudiamos los microARNs que comunican el microbioma con el sistema inmunitario y que están relacionados con la alteración de la TJ, observamos que miR-21-5p y miR-155-5p estaban sobreexpresados a nivel rectal y vaginal en estas mujeres. miR-21-5p está asociado con la alteración de las uniones estrechas intercelulares en el intestino<sup>35-40</sup>, trastornos en el Sistema inmunitario<sup>41-43</sup> y el sobrecrecimiento de levaduras<sup>44</sup> y miR-155-5p se asocia con enfermedades inflamatorias<sup>45</sup>, activación de los macrófagos hacia el fenotipo M1<sup>46,47</sup> y el sobrecrecimiento bacteriano<sup>48</sup>.

El objetivo de este estudio fue evaluar si los biomarcadores estudiados eran una buena herramienta

para personalizar el uso de los suplementos dietarios probióticos y dietas para mejorar el resultado reproductivo de las pacientes con infertilidad sin causa aparente.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Grupo de estudio

Un total de 301 mujeres fueron reclutadas desde marzo de 2018 hasta diciembre de 2020. La participación en este estudio preliminar fue voluntaria y se obtuvo el consentimiento informado por escrito de los sujetos. El estudio fue aprobado por el Comité de Revisión Ética del Instituto Médico Halitus.

Se definió a las pacientes como infertilidad inexplicada (IU) o sin causa aparente cuando cumplían los siguientes criterios: 1) función ovárica normal, según el día 3 del ciclo menstrual (+/-2 días) FSH  $\leq$  12 UI/L en el plazo de 1 año antes del inicio del estudio; 2) anatomía tubárica (al menos una trompa de Falopio permeable) y peritoneal normales, según histerosalpingografía y/o laparoscopia; 3) progesterona sérica de mitad de fase lutea  $>10$  ng/mL; 4) sin evidencia de infertilidad masculina; 5) los números 1 y 3 no se aplican si están en un programa de ovodonación (OD) debido al diagnóstico de insuficiencia ovárica; y 6) historial de al menos 2 procedimientos de FIV-ET o 1 OD-ET sin éxito. Se consideraron criterios de exclusión: la presencia de hidrosalpinx, endometriosis grave, tratamiento crónico con antibióticos y trastornos hormonales no tratados.

### Análisis de muestras de sangre

Se determinó la cuantificación de anticuerpos anti-tiroperoxidasa (ATPO), anticuerpos antitiroglobulina tiroidea (TgAb), anticuerpos anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA), anticoagulante lúpico y anticuerpos antinucleares (ANA), junto con los niveles sanguíneos de la hormona estimulante de la tiroides (TSH), la hemoglobina, las vitaminas D y B12, la insulina y la glucosa, siguiendo protocolos estándar en laboratorios clínicos certificados.

### Preparación de muestras de hisopado vaginal

La muestra vaginal fue recolectada por cada paciente utilizando un hisopo estéril de Dacron. El hisopo se suspendió en 1 mL de solución de ARN *later* para estabilizar el ARN y se almacenó a  $-80^{\circ}\text{C}$  en tubos individuales hasta su procesamiento. Para la toma de muestra las pacientes debieron abrir los labios vaginales, introducir el hisopo de 3 a 5 cm en la vagina, rotar el hisopo en varios círculos completos a lo largo de las paredes vaginales durante 20 segundos, e inmediatamente introducir el hisopo en el tubo de recogida.

### Aislamiento del ARN

El ARN total (incluidos los microARN) se aisló de cada muestra utilizando el kit de aislamiento mirVana (Life Technologies, EE.UU.), según las instrucciones del fabricante. La pureza (absorbancia 260/280) y la cantidad del ARN extraído se midieron con un espectrofotómetro Nanodrop One (Thermo Scientific, EE.UU.).

### Síntesis de ADN copia

El ADNc se sintetizó utilizando la transcripción reversa (RT) TaqMan específica prediseñada y el kit de transcripción reversa de microARN TaqMan (Applied Biosystems, EE.UU.), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las reacciones de transcripción reversa se realizaron en un volumen final de 15  $\mu\text{L}$ , y cada reacción contenía 4 ng de ARN total. Las reacciones se incubaron a  $16^{\circ}\text{C}$  durante 30 minutos,  $42^{\circ}\text{C}$  durante 30 minutos y  $85^{\circ}\text{C}$  durante 5 minutos, con una retención final a  $4^{\circ}\text{C}$ .

### Análisis por qRT-PCR

El volumen de reacción final fue de 20  $\mu\text{L}$ , que contenía 1,33  $\mu\text{L}$  del producto de la reacción RT. Los ciclos de PCR en tiempo real se realizaron en un sistema de tiempo real Thermal Cycler C1000 Touch CFX96 (Bio-Rad, EE.UU.) utilizando los siguientes parámetros:  $95^{\circ}\text{C}$  durante 10 min, seguido de 40 - 45 ciclos de  $95^{\circ}\text{C}$  durante 15 s, y  $60^{\circ}\text{C}$  durante 1 min. Los valores del ciclo umbral (Ct) se calcularon automáticamente utilizando el software Bio-Rad CFX Maestro, y los cambios en la expresión se calcularon mediante el método  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$  utilizando RNU48 como control endógeno de la expresión de microARNs<sup>49</sup>. Todas las combinaciones muestra-ensayo se detectaron por duplicado para muestras individuales, y se incluyeron controles negativos y positivos en cada placa.

### Análisis estadístico

El análisis de la eficacia de la intervención personalizada se realizó comparando el resultado primario de tasa de embarazo de las mujeres que utilizaron el tratamiento indicado según los biomarcadores estudiados vs. aquellas que no lo hicieron, mediante la prueba de chi-cuadrado de Pearson.

## RESULTADOS

### Caracterización clínica de los grupos de estudio

Un total de 301 pacientes con IU fueron incluidas en este estudio. La edad media era de 40 años (rango: 27-52); 26% de tasa de embarazo; media de Gravidad/Paridad = 1,2/0; media de ciclos de FIV-ET fallidos = 4,2; y media de tiempo intentando concebir = 10 años. 120 pacientes ya habían fracasado al menos en una TE con ovocitos donados de buena calidad.

### **Evaluación de miR-21 y miR-155 como biomarcadores de infertilidad femenina**

Teniendo en cuenta que los microARNs evaluados se asocian a diferentes funciones: miR-21-5p se asocia a la alteración de las uniones estrechas en el intestino, al sobrecrecimiento fúngico y a la ausencia de especies bacterianas; y miR-155-5p se asocia a los trastornos inflamatorios y al sobrecrecimiento bacteriano, se realizó el análisis para cada marcador individualmente. Este análisis mostro que el 20% de las pacientes tenía sobre-expresión únicamente de miR21, el 8% tenía sobre expresión de miR155, el 56% tenía sobreexpresión de ambos microARNs y un 16% tenía ambos microARNs por debajo del valor de corte.

### **Suplementos dietarios personalizados y su impacto en la tasa de embarazo**

Teniendo en cuenta los niveles vaginales de miR-21 y miR-155 y la expresión de marcadores inmunometabólicos (insulina, vitamina D, anticuerpos antinucleares, colesterol LDL y sIgA), clasificamos a las pacientes en 64 fenotipos diferentes y se les indico una combinación de nutraceuticos, probióticos y dietas biomédicas que podría mejorar potencialmente el resultado reproductivo. Las diferentes combinaciones de nutraceuticos, probióticos y dietas biomédicas estaba basada en: 1) tres perfiles nutricionales (hipofermentativo; bajo índice glucémico y bajo en grasas saturadas); 2) dos cepas probióticas (*Lactobacillus spp.* y *Bifidobacterium spp.*); y 3) once nutraceuticos (L-Glutamina, Triptófano, Magnesio, Omega3, Selenio, Trans-resveratrol, Vitamina D, Vitamina B12, Vitamina A, Vitamina E y Vitamina C).

De las 301 mujeres incluidas en este estudio, 23 no realizaron ningún cambio en la dieta ni incorporaron suplementos o probioticos antes del siguiente intento de FIV-ET y 287 pacientes recibieron la suplementación específica personalizada según los biomarcadores durante los 75 días previos al siguiente ciclo de FIV-ET. En este ultimo grupo se realizaron controles de los marcadores de sangre a partir del día 30 de suplementación. Luego de confirmar que las pacientes normalizaban los biomarcadores, se sometieron a un nuevo ciclo de FIV-ET y se registró el resultado del embarazo. El 41,8% de la cohorte total recibió ovocitos donados y el 55% de las pacientes transfirió embriones congelados en un ciclo no estimulado.

La tasa total de embarazo se tradujo en un 75% (215/287) de embarazo bioquímico (beta hCG) y un 73% (157/215) de embarazo clínicamente confirmado por ecografía.

En el grupo que no realizo cambios en las indicaciones antes del siguiente FIV, solo el 30% (7/23)

de las mujeres lograron un embarazo dentro de los 180 días siguientes.

### **DISCUSIÓN**

La infertilidad sin causa aparente es la categoría que incluye a todas las parejas que no tienen una explicación para su incapacidad de lograr un embarazo exitoso luego de 1 año de búsqueda no interrumpida. Buscar los biomarcadores correctos que discriminen la causa e identifiquen el siguiente tratamiento es algo que la ciencia le debe a estas parejas.

Consideramos que es importante identificar si los marcadores de sangre periférica y saliva de las vías inmunometabólicas probadas en este estudio estaban conectadas con la disfunción intestinal debido a una firma específica de microARNs que está relacionada con el aumento de la permeabilidad intestinal. Y en este caso, si la suplementación alimentaria personalizada puede mejorar los resultados reproductivos.

Analizamos los niveles de vitamina B12 en suero porque una de las causas más comunes de anemia crónica es la deficiencia de vitamina B12, que es sintetizada por las bacterias intestinales y se asocia con la gastritis autoinmune o distrófica<sup>50,51</sup>. Analizamos los niveles de insulina y LDL porque se ha demostrado que la disbiosis intestinal, al alterar el metabolismo del microbioma y, en consecuencia, el del huésped, no sólo afecta a las respuestas inflamatorias sino que también contribuye a los trastornos metabólicos<sup>52</sup>. Comparamos los niveles de autoanticuerpos porque, además de la predisposición genética y la exposición a antígenos no propios, la pérdida de la función protectora del microbioma normal y el efecto de la disbiosis en la función de las barreras de la mucosa, que interactúan con las células inmunitarias subyacentes, están relacionados con el desarrollo de autoanticuerpos<sup>53</sup>. Asimismo, se ha reportado de que los individuos con disfunción de la barrera intestinal expresan niveles más altos de anticuerpos ASCA que los individuos sanos y la expresión de este anticuerpo se correlacionó con la sobreexpresión de levaduras y la disfunción de la TJ<sup>54</sup>.

Consideramos que un desequilibrio de microorganismos a nivel intestinal se asocia con una barrera intestinal alterada a través de una TJ abierta, dando lugar a la entrada de antígenos inmunogénicos extraños y a la activación del sistema inmunitario de la mucosa. La alteración de la barrera epitelial inflamada está relacionada con la sobreexpresión de miR-21 y miR-155. Estos miRNAs podrían viajar a través de la circulación sanguínea y dirigirse al sistema reproductor, en el que también observamos una disbiosis, una mucosa inflamada y una barrera epitelial alterada.

Reportamos por primera vez que la identificación de biomarcadores específicos se correlaciona con la presencia de una firma específica del microbioma en pacientes con infertilidad sin causa aparente. Además, demostramos que una intervención personalizada de suplementos dietarios podría tener un impacto significativo en la tasa de éxito del embarazo.

La modulación del sistema inmunitario y del microbioma puede realizarse utilizando una combinación de diferentes cepas de probióticos y nutracéuticos seleccionados por su capacidad antioxidante, su capacidad para reparar la mucosa y para modular los sistemas inmunitarios innato y adaptativo. Todos ellos mostraron un efecto antiinflamatorio dosis-específico para mantener un delicado equilibrio inmunitario y favorecer la vascularización de la mucosa endometrial y la posterior placentación, para lograr un embarazo saludable.

El resultado del embarazo tras la suplementación personalizada se comparo con los datos registrados por las sociedades nacionales e internacionales y observamos una mayor tasa de nacidos vivos para la misma cohorte de edad. La Sociedad de Tecnología de Reproducción Asistida de Estados Unidos (SART) informó en 2018 una tasa de nacidos vivos por extracción y transferencia de óvulos prevista del 21,7% con óvulos frescos propios; 42,7% para transferencia de embriones congelados a partir de

óvulos propios; 42,7% para embriones transferidos en fresco de óvulos de donante y 39,3% para embriones congelados de óvulos de donante. Tras nuestra suplementación personalizada, observamos una tasa de nacidos vivos por extracción y transferencia de óvulos prevista del 52% para los óvulos frescos propios; del 55% para la transferencia de embriones criopreservados obtenidos a partir de ovulos propios; del 63% para embriones de óvulos frescos de donante y del 63% para embriones de óvulos congelados de donante.

Esta en curso la planificación de un futuro estudio en el que se analizará a todas las pacientes antes y después de la suplementación dietaria previo a un nuevo ciclo de búsqueda de embarazo para ver como se modulan estos biomarcadores y lograr una correlación directa entre el análisis de microARNs y la suplementación dietaria personalizada.

### CONCLUSIÓN

En conclusión, para evaluar el bioma fértil de una mujer, podríamos analizar un hisopo vaginal para buscar la firma de microARNs específicos. La firma de los microARNs, junto con los marcadores sanguíneos específicos, nos permite identificar los nutrientes de precisión, los probióticos y los nutracéuticos necesarios para mejorar los resultados reproductivos.

Tabla 1. Caracterización clínica de los biomarcadores sistémicos. Los datos se presentan como número de pacientes (n) y porcentaje del total de pacientes estudiados (%). Total pacientes = 278.

Caracterización clínica	Mujeres con IU	
	n	%
Anemia	43	15.0
Hipovitaminosis B y/o D	210	73.2
Hipotiroidismo	147	51.2
Síndrome metabólico	161	56.1
Síndrome de ovario poliquístico	53	18.5
Endometriosis y/o CA125+	78	27.2
Autoinmunidad	188	65.5
ATPO +	57	19.9
TgAb +	53	18.5
ANA +	59	20.6
ASCA (IgA, IgG)	88	30.7

Anemia: hemoglobina < 12 g/dL; Hipovitaminosis B: Vitamina B12 < 200 pg/mL; Hipovitaminosis D: Vitamina D < 30 ng/mL; Hipotiroidismo: TSH > 4 UI/mL; Síndrome metabólico: prueba de tolerancia oral a la glucosa (PTOG) alterada, glucemia > 100 mg/dL, insulina > 24 mU/L y/o Evaluación del Modelo Homeostático (HOMA) > 3; Síndrome de ovario poliquístico: diagnóstico ecográfico y/o indicación de inositol-metformina; endometriosis: diagnóstico laparoscópico y/o CA125 > 35 UI/mL; Autoinmunidad: diagnóstico de enfermedad celíaca, enfermedad de Hashimoto, enfermedad de Crohn, diabetes autoinmune, lupus, Graves, artritis reumatoide, esclerodermia, miastenia gravis y/o Sjogren; ATPO: anticuerpo anti-tiroperoxidasa; TgAb: anticuerpo anti-tiroglobulina; ANA: anticuerpo antinuclear; ASCA: anticuerpo anti-Saccharomyces cerevisiae; IgA: Inmunoglobulina A; IgG: Inmunoglobulina G.

**Tabla 2. Resultados obstetricos.** Los datos se presentan como porcentaje del total de pacientes estudiados en cada grupo (%).

	Pacientes que siguieron la recomendación de suplementos dietarios	Pacientes que NO siguieron recomendación de suplementos dietarios	P value
<b>Tasa de Embarazo bioquímico (%)</b>	75	30	p<0.05
<b>Tasa de embarazo clínico (%)</b>	55	29	p<0.05

## Referencias

- Vander Borgh M, Wyns C. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. *Clin Biochem.* 2018;62:2-10. doi:10.1016/j.clinbiochem.2018.03.012
- Inhorn MC, Patrizio P. Infertility around the globe: New thinking on gender, reproductive technologies and global movements in the 21st century. *Hum Reprod Update.* 2014;21(4):411-426. doi:10.1093/humupd/dmv016
- Sadegui MR. *Unexplained Infertility, the Controversial Matter in Management of Infertile Couples - PubMed.*; 2015. doi:10.1093/humupd/dmv016. Epub 2015 Mar 22. PMID: 25801630
- Kährström CT, Pariente N, Weiss U. Intestinal microbiota in health and disease. *Nature.* 2016;535(7610):47. doi:10.1038/535047a
- Dinan TG, Cryan JF. The Microbiome-Gut-Brain Axis in Health and Disease. *Gastroenterol Clin North Am.* 2017;46(1):77-89. doi:10.1016/j.gtc.2016.09.007
- Lynch S V, Pedersen O. The Human Intestinal Microbiome in Health and Disease. *N Engl J Med.* 2016;375(24):2369-2379. doi:10.1056/nejmra1600266
- Fallucca F, Porrata C, Fallucca S, Pianesi M. Influence of diet on gut microbiota, inflammation and type 2 diabetes mellitus. First experience with macrobiotic Ma-Pi 2 diet. *Diabetes Metab Res Rev.* 2014;30(S1):48-54. doi:10.1002/dmrr.2518
- Aagaard K, Riehle K, Ma J, et al. A metagenomic approach to characterization of the vaginal microbiome signature in pregnancy. *PLoS One.* 2012;7(6). doi:10.1371/journal.pone.0036466
- Boers SA, Jansen R, Hays JP. Understanding and overcoming the pitfalls and biases of next-generation sequencing (NGS) methods for use in the routine clinical microbiological diagnostic laboratory. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2019;38(6):1059-1070. doi:10.1007/s10096-019-03520-3
- Degruttola AK, Low D, Mizoguchi A, Mizoguchi E. Current understanding of dysbiosis in disease in human and animal models. *Inflamm Bowel Dis.* 2016;22(5):1137-1150. doi:10.1097/MIB.0000000000000750
- Campisciano G, Florian F, D'Eustacchio A, et al. Subclinical alteration of the cervical-vaginal microbiome in women with idiopathic infertility. *J Cell Physiol.* 2017;232(7):1681-1688. doi:10.1002/jcp.25806
- Mor G, Aldo P, Alvero AB. The unique immunological and microbial aspects of pregnancy. *Nat Rev Immunol.* 2017;17(8):469-482. doi:10.1038/nri.2017.64
- Fasano A, Shea-Donohue T. Mechanisms of disease: The role of intestinal barrier function in the pathogenesis of gastrointestinal autoimmune diseases. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol.* 2005;2(9):416-422. doi:10.1038/ncpgasthep0259
- Arvonen M, Berntson L, Pokka T, Karttunen TJ, Vähäsalo P, Stoll ML. Gut microbiota-host interactions and juvenile idiopathic arthritis. *Pediatr Rheumatol.* 2016;14(1). doi:10.1186/s12969-016-0104-6
- Fahlén A, Engstrand L, Baker BS, Powles A, Fry L. Comparison of bacterial microbiota in skin biopsies from normal and psoriatic skin. *Arch Dermatol Res.* 2012;304(1):15-22. doi:10.1007/s00403-011-1189-x
- Hold GL, Smith M, Grange C, Watt ER, El-Omar EM, Mukhopadhyaya I. Role of the gut microbiota in inflammatory bowel disease pathogenesis: What have we learnt in the past 10 years? *World J Gastroenterol.* 2014;20(5):1192-1210. doi:10.3748/wjg.v20.i5.1192
- Huipeng W, Lifeng G, Chuang G, Jiaying Z, Yuankun C. The differences in colonic mucosal microbiota between normal individual and colon cancer patients by polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis. *J Clin Gastroenterol.* 2014;48(2):138-144. doi:10.1097/MCG.0b013e3182a26719
- Maes M, Kubera M, Leuni J-C. The gut-brain barrier in major depression: Intestinal mucosal dysfunction with an increased translocation of LPS from gram negative enterobacteria (leaky gut) plays a role in the inflammatory pathophysiology of depression. *Neuro Endocrinol Lett.* Published online 2008. Accessed January 12, 2021. [https://www.researchgate.net/publication/5569445\\_The\\_gut-brain\\_barrier\\_in\\_major\\_depression\\_Intestinal\\_mucosal\\_dysfunction\\_with\\_an\\_increased\\_translocation\\_of\\_LPS\\_from\\_gram\\_negative\\_enterobacteria\\_leaky\\_gut\\_plays\\_a\\_role\\_in\\_the\\_inflammatory\\_pathophysio](https://www.researchgate.net/publication/5569445_The_gut-brain_barrier_in_major_depression_Intestinal_mucosal_dysfunction_with_an_increased_translocation_of_LPS_from_gram_negative_enterobacteria_leaky_gut_plays_a_role_in_the_inflammatory_pathophysio)
- Pärty A, Kalliomäki M, Wacklin P, Salminen S, Isolauri E. A possible link between early probiotic intervention and the risk of neuropsychiatric disorders later in childhood: A randomized trial. *Pediatr Res.* 2015;77(6):823-828. doi:10.1038/pr.2015.51
- Peterson DA, Frank DN, Pace NR, Gordon JI. Metagenomic Approaches for Defining the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Diseases. *Cell Host Microbe.* 2008;3(6):417-427. doi:10.1016/j.chom.2008.05.001
- Jeon MK. Intestinal barrier: Molecular pathways and modifiers. *World J Gastrointest Pathophysiol.* 2013;4(4):94. doi:10.4291/wjgp.v4.i4.94
- Catanzaro JR, Strauss JD, Bielecka A, et al. IgA-deficient humans exhibit gut microbiota dysbiosis despite secretion of compensatory IgM. *Sci Rep.* 2019;9(1). doi:10.1038/s41598-019-49923-2
- Gulyaeva LF, Kushlinskiy NE. Regulatory mechanisms of microRNA expression. *J Transl Med.* 2016;14(1). doi:10.1186/s12967-016-0893-x

24. Mortha A, Chudnovskiy A, Hashimoto D, et al. Microbiota-dependent crosstalk between macrophages and ILC3 promotes intestinal homeostasis. *Science (80- )*. 2014;343(6178). doi:10.1126/science.1249288
25. Curtale G, Rubino M, Locati M. MicroRNAs as molecular switches in macrophage activation. *Front Immunol*. 2019;10(MAR). doi:10.3389/fimmu.2019.00799
26. Vojdani A. For the assessment of intestinal permeability, size matters. *Altern Ther Health Med*. 2013;19(1):12-24. Accessed January 12, 2021. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23341423/>
27. Gleicher N, El-Roeiy A. The reproductive autoimmune failure syndrome. *Am J Obstet Gynecol*. 1988;159(1):223-227. doi:10.1016/0002-9378(88)90525-X
28. Laschke MW, Menger MD. The gut microbiota: A puppet master in the pathogenesis of endometriosis? *Am J Obstet Gynecol*. 2016;215(1):68.e1-68.e4. doi:10.1016/j.ajog.2016.02.036
29. De Luca F, Shoenfeld Y. The microbiome in autoimmune diseases. *Clin Exp Immunol*. 2019;195(1):74-85. doi:10.1111/cei.13158
30. Yu LCH. Microbiota dysbiosis and barrier dysfunction in inflammatory bowel disease and colorectal cancers: exploring a common ground hypothesis. *J Biomed Sci*. 2018;25(1). doi:10.1186/s12929-018-0483-8
31. Flores R, Shi J, Fuhrman B, et al. Fecal microbial determinants of fecal and systemic estrogens and estrogen metabolites: A cross-sectional study. *J Transl Med*. 2012;10(1). doi:10.1186/1479-5876-10-253
32. Zeng B, Lai Z, Sun L, et al. Structural and functional profiles of the gut microbial community in polycystic ovary syndrome with insulin resistance (IR-PCOS): a pilot study. *Res Microbiol*. 2019;170(1):43-52. doi:10.1016/j.resmic.2018.09.002
33. Yurtdaş G, Akdevelioğlu Y. A New Approach to Polycystic Ovary Syndrome: The Gut Microbiota. *J Am Coll Nutr*. 2020;39(4):371-382. doi:10.1080/07315724.2019.1657515
34. MA A, L O, MI P, et al. Potential biomarkers of infertility associated with microbiome imbalances. *Am J Reprod Immunol*. Published online 2021. doi:10.1111/AJI.13438
35. Zhang L, Zhang F, He DK, Fan XM, Shen J. MicroRNA-21 is upregulated during intestinal barrier dysfunction induced by ischemia reperfusion. *Kaobsiung J Med Sci*. 2018;34(10):556-563. doi:10.1016/j.kjms.2018.05.006
36. Zhang L, Shen J, Cheng J, Fan X. MicroRNA-21 regulates intestinal epithelial tight junction permeability. *Cell Biochem Funct*. 2015;33(4):235-240. doi:10.1002/cbf.3109
37. Nakata K, Sugi Y, Narabayashi H, et al. Commensal Microbiota-induced microRNA modulates intestinal epithelial permeability through the small GTPase ARF4. *J Biol Chem*. 2017;292(37):15426-15433. doi:10.1074/jbc.M117.788596
38. Shi C, Liang Y, Yang J, et al. MicroRNA-21 Knockout Improve the Survival Rate in DSS Induced Fatal Colitis through Protecting against Inflammation and Tissue Injury. *PLoS One*. 2013;8(6). doi:10.1371/journal.pone.0066814
39. Shi C, Yang Y, Xia Y, et al. Novel evidence for an oncogenic role of microRNA-21 in colitis-associated colorectal cancer. *Gut*. 2016;65(9):1470-1481. doi:10.1136/gutjnl-2014-308455
40. Jiang W, Li X. Molecular Analysis of Inflammatory Bowel Disease: Clinically Useful Tools for Diagnosis, Response Prediction, and Monitoring of Targeted Therapy. *Mol Diagnosis Ther*. 2015;19(3):141-158. doi:10.1007/s40291-015-0142-7
41. Xu WD, Pan HF, Li JH, Ye DQ. MicroRNA-21 with therapeutic potential in autoimmune diseases. *Expert Opin Ther Targets*. 2013;17(6):659-665. doi:10.1517/14728222.2013.773311
42. Wang S, Wan X, Ruan Q. The microRNA-21 in autoimmune diseases. *Int J Mol Sci*. 2016;17(6). doi:10.3390/ijms17060864
43. Wang Z, Brandt S, Medeiros A, et al. MicroRNA 21 Is a homeostatic regulator of macrophage polarization and prevents prostaglandin e2-mediated M2 generation. *PLoS One*. 2015;10(2). doi:10.1371/journal.pone.0115855
44. Croston TL, Lemons AR, Beezhold DH, Green BJ. MicroRNA regulation of host immune responses following fungal exposure. *Front Immunol*. 2018;9(FEB). doi:10.3389/fimmu.2018.00170
45. Abdul-Maksoud RS, Sediq AM, Kattaia AAA, et al. Serum miR-210 and miR-155 expression levels as novel biomarkers for rheumatoid arthritis diagnosis. *Br J Biomed Sci*. 2017;74(4):209-213. doi:10.1080/09674845.2017.1343545
46. Bala S, Csak T, Saha B, et al. The pro-inflammatory effects of miR-155 promote liver fibrosis and alcohol-induced steatohepatitis. *J Hepatol*. 2016;64(6):1378-1387. doi:10.1016/j.jhep.2016.01.035
47. Saare M, Rekker K, Laisk-Podar T, et al. Challenges in endometriosis miRNA studies — From tissue heterogeneity to disease specific miRNAs. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis*. 2017;1863(9):2282-2292. doi:10.1016/j.bbdis.2017.06.018
48. Nisenblat V, Sharkey DJ, Wang Z, et al. Plasma miRNAs display limited potential as diagnostic tools for endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2019;104(6):1999-2022. doi:10.1210/jc.2018-01464
49. Rotelli MT, Di Lena M, Cavallini A, et al. Fecal microRNA profile in patients with colorectal carcinoma before and after curative surgery. *Int J Colorectal Dis*. 2015;30(7):891-898. doi:10.1007/s00384-015-2248-0
50. Kulnigg-Dabsch S. Autoimmungastritis. *Wiener Medizinische Wochenschrift*. 2016;166(13-14):424-430. doi:10.1007/s10354-016-0515-5
51. Rodriguez-Castro KI, Franceschi M, Noto A, et al. Clinical manifestations of chronic atrophic gastritis. *Acta Biomed*. 2018;89(8-S):88-92. doi:10.23750/abm.v89i8-S.7921
52. Belizário JE, Faintuch J, Garay-Malpartida M. New frontiers for treatment of metabolic diseases. *Mediators Inflamm*. 2018;2018. doi:10.1155/2018/2037838
53. Kalinkovich A, Gabdulina G, Livshits G. Autoimmunity, inflammation, and dysbiosis mutually govern the transition from the preclinical to the clinical stage of rheumatoid arthritis. *Immunol Res*. 2018;66(6):696-709. doi:10.1007/s12026-018-9048-x
54. Vojdani A, Vojdani E, Herbert M, Kharrazian D. Correlation between antibodies to bacterial lipopolysaccharides and barrier proteins in sera positive for asca and anca. *Int J Mol Sci*. 2020;21(4). doi:10.3390/ijms21041381



Esta obra está bajo una licencia de *Creative Commons* Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Reconocimiento – Permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra. A cambio se debe reconocer y citar al autor original. No comercial – esta obra no puede ser utilizada con finalidades comerciales, a menos que se obtenga el permiso.

# Endocannabinoides y Sistema Endócrino

## *Endocannabinoids and Endocrine System*

Maria S. Belingeri<sup>1,3</sup>, Alejandra R. Paganelli<sup>1,2</sup>, Laura R. Caltana<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup> Departamento de Histología, Embriología, Biología Celular y Genética. Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup> Instituto de Biología Celular y Neurociencia "Prof. E. De Robertis" (Universidad de Buenos Aires- Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas), Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup> Sección de Endocrinología y Metabolismo, Hospital de Agudos José María Penna, Buenos Aires, Argentina.

**Correspondencia:** M. Soledad Belingeri. E-mail: mbelingeri@fmed.uba.ar - Paraguay 2155, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

**Conflicto de intereses:** los autores declaran no tener conflictos de interés.

### Resumen

Son conocidas las propiedades medicinales de la planta de cannabis a nivel mundial así como los efectos de sus derivados sintéticos en la terapéutica de diferentes enfermedades. En los países donde el consumo medicinal ha sido legalizado su utilidad en el tratamiento de enfermedades del sistema nervioso central ha generado amplios beneficios en los pacientes. En las últimas décadas ha tomado relevancia su efecto paliativo del dolor crónico en pacientes con patologías oncológicas o degenerativas y sus beneficios antiproliferativos e inmunomoduladores.

El sistema endocannabinoide está representado por ligandos endógenos, derivados de ácidos grasos, que tienen efectos sobre receptores expresados en distintas localizaciones del organismo. En el transcurso de los años se han descrito múltiples sitios target entre ellos los órganos del sistema endócrino. A pesar de estos avances sigue siendo un desafío determinar con certeza los efectos, la titulación de la dosis terapéutica para cada individuo y la detección de ligandos sintéticos agonistas y antagonistas selectivos para los diferentes receptores.

En esta revisión describiremos los aspectos generales del sistema endocannabinoide y sus efectos sobre los órganos endócrinos haciendo foco en las implicancias sobre el metabolismo de los hidratos de carbono, el tejido adiposo y la función reproductiva.

**Palabras Claves:** sistema cannabinoide, endocannabinoides, sistema endocrino, diabetes, reproducción.

### Abstract

*The medicinal properties of the cannabis plant are known worldwide as well as the effects of its synthetic derivatives in the therapeutics of different diseases. In countries where medicinal consumption has been legalized, its usefulness in the treatment of diseases of the central nervous system has generated extensive benefits in patients. In recent decades, its palliative effect of chronic pain in patients with oncological or degenerative pathologies and its antiproliferative and immunomodulating benefits have become relevant.*

*The endocannabinoid system is represented by endogenous ligands, derived from fatty acids, which have effects on receptors expressed in different locations of the body. Over the years, multiple target sites have been described, including the organs of the endocrine system. Despite these advances, it remains a challenge to determine with certainty the effects, the therapeutic dose for each individual and the detection of synthetic ligands agonists and selective antagonists for the different receptors.*

*In this review we will describe the general aspects of the endocannabinoid system and its effects on endocrine organs, focusing on the implications for carbohydrate metabolism, adipose tissue and reproductive function.*

**Key Words:** cannabinoid system, endocannabinoids, endocrine system, diabetes, reproduction.

## La historia del Cannabis

El uso de cannabis se ha utilizado por sus supuestas propiedades curativas durante milenios. El primer caso documentado se originó en el oeste de China y se remonta al año 2800 AC. Las indicaciones terapéuticas del cannabis también aparecen en los textos hindúes, asirios, griegos y romanos. Estos mencionan que el cannabis se utilizaba para tratar una amplia gama de diferentes problemas de salud, como la artritis, la depresión, la amenorrea, la inflamación, el dolor, la falta de apetito y el asma.

En el Imperio Romano, el uso médico, por las propiedades antiinflamatorias del cannabis fue mencionado, por Plinio el Viejo, Dioscórides y Galeno aunque sólo este último discutió los efectos psicoactivos<sup>1,2</sup>.

El uso recreativo del cannabis se refiere al consumo de la planta con fines de entretenimiento y aunque se ha legalizado en algunos países en otros sigue siendo ilegal. Además, el uso excesivo o prolongado de cannabis puede tener efectos negativos en la salud, como problemas de memoria a corto plazo, dificultad para concentrarse y problemas de coordinación. También hay preocupación acerca de los efectos a largo plazo del consumo de cannabis en el cerebro y el desarrollo cognitivo, especialmente en adolescentes y jóvenes adultos en desarrollo.

Se conoce como cannabinoides a los compuestos derivados del cannabis. En la actualidad se han aislado más de 100 cannabinoides. Los dos compuestos más significativos son el **cannabidiol (CBD)** y el  **$\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (THC)**. El CBD se aisló por primera vez de la marihuana en 1940 y la estructura del principal fitocanabinoide psicoactivo, el THC, fue determinada en Israel por Mechoulam y Gaoni en 1964. El descubrimiento de los efectos sobre el sistema nervioso de estos compuestos impulsó la exploración de un nuevo sistema receptor endógeno, el sistema endocannabinoide<sup>3</sup>.

Posteriormente, Devane y colaboradores caracterizaron un primer **receptor cannabinoide (CB1R)** en cerebros de ratas y humanos. Solo 4 años después se aisló, la araquidonoiletanolamida (AEA) también denominada anandamida, endocannabinoide derivado del ácido araquidónico agonista del CB1R<sup>4,5</sup>.

## Sistema Endocannabinoide

El sistema endocannabinoide está compuesto por los **endocannabinoides (eCBs)**, sus receptores diana, las enzimas de síntesis y metabolismo asociadas y las proteínas transportadoras. Se conocen bien dos receptores diana: los CB1R, que están altamente

expresados en varias regiones del cerebro y juegan un papel importante en la fisiología como neuromoduladores, y los CB2R, que se expresan principalmente en las células del sistema inmune<sup>6</sup>.

Los cannabinoides fueron originalmente llamados así debido a su relación con el cannabis y sus propiedades cannabimiméticas. Ambos receptores, CB1R y CB2R, son receptores acoplados a proteínas G (GPCRs) que inhiben la acumulación de monofosfato de adenosina cíclico (AMPC) dentro de las células mediante su proteína G Gi/o asociada. El CB1R tiene un ligando endógeno, la **anandamida (AEA)**, que fue el primer eCB aislado, seguido de otros como **2-araquidonoil glicerol (2-AG)**, que es el más prevalente en el cerebro.

La importancia fisiológica del sistema eCB radica en su función como neuromoduladores de la actividad sináptica, actuando como mensajeros retrógrados a nivel de los CB1R presinápticos. Los eCBs se han identificado como factores desencadenantes de la plasticidad a corto y largo plazo en las sinapsis a través del cerebro, debido a la expresión ubicua de CB1R.

Los eCBs son generalmente considerados como señalizadores retrógrados. Se liberan a nivel post-sináptico y cruzan la hendidura sináptica en la dirección inversa a la transmisión normal, activando los CB1R en los terminales nerviosos presinápticos y los CB2R postsinápticos.

El sistema eCB en el cerebro regula principalmente la comunicación sináptica y funciones biológicas como apetito, ansiedad, aprendizaje, memoria, el crecimiento y desarrollo, a través de una serie de acciones en todo el sistema nervioso<sup>6</sup>.

La naturaleza lipídica de los endocannabinoides les permite difundir a través de las membranas y por lo tanto activar sus receptores mediando efectos autócrinos o actuando en otras células target (parácrino o endócrino). La modulación de su efecto va a estar dada por el control de síntesis, liberación, recaptación y metabolización enzimática mediada por las enzimas **FAAH (Ácido Graso Amida Hidrolasa)** y **2-AG (Monoacilglicerol Lipasa)**. Esta característica les permite funcionar en el sistema nervioso central con un efecto neuromodulador siendo el proceso de recaptación el mayor punto de control del efecto cannabinoide.

Además de los receptores cannabinoides CB1R y CB2R, hay otros receptores que también han sido descubiertos y estudiados, aunque su relación con el sistema cannabinoide es menos clara. Algunos de estos receptores incluyen: TRPV1 (Receptor Transitorio de Potencial Vaniloide 1), GPR55 (Receptor Acoplado a Proteína G55), GPR18, GPR119.

Aunque estos receptores cannabinoides son menos conocidos, se cree que tienen un papel importante en la regulación de la inflamación, el dolor, la temperatura corporal, el apetito y la glucemia.

### **Fitocannabinoides**

Las distintas variedades de la planta *Cannabis* contiene aproximadamente 400 compuestos químicos distintos, entre ellos, más de 90 son fitocannabinoides, que son componentes terpenofenólicos C21 o C22 (con formas carboxiladas). Los fitocannabinoides más abundantes son el  $\Delta$ -9-tetrahidrocannabinol (THC), el cannabidiol (CBD) y el cannabinol (CBN). Otros fitocannabinoides importantes son el cannabigerol (CBG) y el cannabicromeno (CBC)<sup>7</sup>.

El CBD es uno de los cannabinoides presentes en la planta de cannabis que ha sido objeto de numerosos estudios científicos debido a sus posibles beneficios terapéuticos. Aunque el THC es el cannabinoide conocido por su efecto psicoactivo, el CBD no tiene efectos psicoactivos y se cree que puede tener un perfil de seguridad más favorable. El CBD ha sido estudiado en el tratamiento de trastornos de ansiedad, epilepsia, dolor crónico, adicción y enfermedades neurodegenerativas. Sin embargo, es importante mencionar que estos estudios son principalmente en animales o en pequeñas muestras de humanos y se necesitan más estudios clínicos controlados y a gran escala para entender completamente las propiedades terapéuticas del CBD y su seguridad y eficacia en el tratamiento de diferentes afecciones médicas.

### **Cannabis Medicinal en Argentina**

En Argentina, la Ley 27.350 del 2017 y reglamentada en 2020 regula el uso medicinal y científico del cannabis. Según esta ley, el cannabis medicinal y científico puede ser producido, distribuido y dispensado solo por el Estado. Además, los pacientes deben recibir una receta de un médico especialista y registrarse en el Registro Nacional de Usuarios de Cannabis Medicinal (Reprocan)<sup>8,9</sup>.

Esta ley se logró sancionar gracias al trabajo e incentivo de distintas organizaciones como CAMEDA (Cannabis Medicinal de Argentina,) cuyo objetivo es promover la regulación y el uso terapéutico de la marihuana, así como fomentar la investigación y el desarrollo en este campo y por otro lado, Mamá Cultiva, una organización de pacientes y familiares que buscan el acceso a la marihuana medicinal en Argentina. Se dedican a la educación y el apoyo a pacientes y familiares en el uso de la marihuana medicinal y a la promoción de la regulación de su uso terapéutico en el país.

Ambas organizaciones trabajan juntas para promover el acceso a la marihuana medicinal en Argentina, a través de la educación, la investigación y la promoción de la regulación de su uso terapéutico<sup>10</sup>.

### **Endocannabinoides (eCBs) y Sistema Endócrino**

El sistema eCB presenta una amplia expresión en el sistema nervioso donde estos compuestos participan regulando la respuesta al stress, balance homeostático, nocicepción, neuroprotección y memoria pero también ha tomado relevancia su rol en la respuesta inmune e inflamatoria, en el aparato cardiovascular y respiratorio, sus efectos antitumorales y en órganos del sistema endócrino<sup>11</sup>.

El CB1R es el principal receptor identificado para cannabinoides exógenos y endógenos en el SNC incluidos los núcleos hipotalámicos preóptico y paraventricular. Estos centros medían importantes funciones neuroendocrinas sugiriendo que la expresión de CBRs involucra la participación de los eCBs en el control de la síntesis y liberación de diferentes hormonas.

La activación de CB1R puede disminuir la liberación de glutamato y aumentar la de GABA en los núcleos supraóptico y paraventricular. El GABA es un neurotransmisor con efectos predominantemente inhibitorios sobre el eje hipotálamo hipofisario. Este hallazgo permite otorgar al sistema eCB un rol modulador neuroendocrino y como consecuencia de la función de glándulas periféricas reguladas por el eje hipotálamo hipofisario<sup>11,21</sup>.

A nivel hipofisario en modelos animales se ha descrito la expresión de CB1R en ambos lóbulos hipofisarios a predominio adenohipófisis en células lactotropas, gonadotropas y tiotropas<sup>12</sup>. Esto difiere de lo descrito en humanos donde la mayor marcación se ha detectado en células corticotropas, somatotropas y un bajo porcentaje de lactotropas con nula marcación en gonadotropas, tiotropas y neurohipófisis. Esta marcación se encuentra aumentada en tumores hipofisarios secretores de ACTH, GH y PRL demostrándose mayor secreción de eCBs y expresión de CB1R en células tumorales hipofisarias comparadas con normales. Esto proporciona perspectivas terapéuticas antitumorales relacionadas a las propiedades antiproliferativas de los cannabinoides y probabilidad de respuesta de tumores hipofisarios. En adenomas hipofisarios no funcionantes se identificó inmunomarcación positiva para CBR pero no se ha demostrado efecto antiproliferativo<sup>13</sup>.

En relación al eje adrenal hay datos controvertidos.

Si bien algunos autores han demostrado en modelos animales que agonistas CB1R aumentan las concentraciones de CRH en neuronas del núcleo paraventricular con consecuente aumento de las concentraciones de ACTH y cortisol otros demostraron que esto ocurre cuando se utilizan Antagonistas de dicho receptor desencadenando respuestas de ansiedad y stress. Los glucocorticoides per se también pueden estimular la síntesis y liberación de endocannabinoides en el hipotálamo por mecanismos que involucran la vía de la fosfolipasa C planteando la posibilidad de mecanismos de feed-back entre eCBs y eje adrenal. Aunque estudios más recientes demostraron que el efecto cannabinoide sobre el eje adrenal es a favor de inhibir el tono CRH-AC-TH teniendo propiedades anti stress<sup>14,15</sup>. Entender el sistema endocannabinoide como modulador de órganos endócrinos implica comprender que este efecto depende del tipo celular involucrado y las condiciones experimentales a las que es sometido.

Sobre el **eje somatotropo** la literatura reporta que los cannabinoides median efecto inhibitorio de la secreción de GHRH y GH. Se discute si este efecto es sólo hipotalámico o hay algún mecanismo mediado sobre células somatotropas de la hipófisis y si la disminución de las concentraciones de GHRH están mediadas por un mecanismo directo sobre neuronas secretoras o si está relacionado a un aumento del tono de somatostatina sobre dichas células. En cultivos de células de adenomas productores de GH el tratamiento con agonistas CB1R mostró disminución de las concentraciones de GH<sup>13</sup>.

Se ha descripto también participación de la hormona ghrelina donde algunos autores postulan que habría un feed-back entre efecto CB1R y ghrelina en la modulación del apetito y el eje somatotropo<sup>16</sup>.

En el **eje tiroideo** los cannabinoides median un efecto inhibitorio. Las primeras publicaciones describen la capacidad de la cannabis de suprimir la TSH y disminuir la captación de yodo en la glándula tiroidea donde se ha descripto expresión de CB1R tanto en células foliculares como parafoliculares.

La inmunomarcación negativa para CB1R en células tirotropas hace pensar que el efecto cannabinoide en el eje tiroideo está ejercido a nivel periférico y no central sumando a que se ha descripto disminución de la síntesis de T4 y T3 luego de la administración de análogos sintéticos de THC sin evidenciar cambios en la TSH<sup>13,17</sup>.

En relación a **Prolactina (PRL)** ya se ha mencionado que las células hipofisarias expresan receptores CB1 y tienen capacidad de sintetizar y secretar

endocannabinoides. Esta capacidad se mantiene tanto en lactotropas normales como en adenomas prolactínicos<sup>13</sup>.

Siendo el tono dopaminérgico el principal inhibidor de la secreción de PRL y el serotoninérgico, desencadenado por la succión del pezón, como principal estímulo; el efecto modulador de los cannabinoides sobre las vías dopaminérgicas (D2) y serotoninérgicas (5HT2) permite interpretar las controversias cuando se revisa la literatura en relación a prolactina y cannabis donde algunos autores describen aumento de las concentraciones de PRL y otros han demostrado inhibición con agonistas CB1R. En grupos de individuos con consumo crónico de cannabis se ha demostrado aumento de las concentraciones de cortisol y disminución de la prolactina comparados con controles<sup>18</sup>.

El **eje gonadal** no está exento del efecto cannabinoide. Se ha descripto reducción en los niveles de LH y esteroides sexuales (estrógenos/testosterona) luego de la administración de THC. Este efecto estaría relacionado al impacto central (hipotalámico) sobre neuronas GnRH y periférico en células de Leydig y granulosa mediado por CB1R. Se discute si el aumento de GnRH está relacionado a un agonismo directo de CB1R, que se expresa en dichas neuronas o a la modulación del tono gabaérgico ejercido por los cannabinoides. En células gonadotropas de la hipófisis si bien se ha demostrado la expresión de CB1R la estimulación con agonistas no modificó las concentraciones de LH<sup>19-20-21</sup>.

En relación a la disminución de la síntesis de testosterona y estrógenos correlaciona con el efecto central inhibitorio de GnRH-LH pero también periférico donde se relaciona con inhibición de las enzimas esteroidogénicas y disminución de la expresión de receptor LH mediado por efecto CB1R<sup>19-21,34,36</sup>.

Otros efectores endócrinos del sistema eCB son los hepatocitos y macrófagos de Kupffer, células del islote de Langerhans y células del sistema Neuroendocrino Difuso (SNED) del tracto gastrointestinal. En glándulas gástricas se ha sugerido que los cannabinoides podrían modular la liberación de ghrelina contribuyendo a su efecto regulador sobre el apetito<sup>16</sup>.

### **Implicancias en el Metabolismo de los Hidratos de Carbono y Lípidos**

“Metaobesidad” es un término acuñado hace unos años y comprende una amplia gama de condiciones con un factor común, los trastornos metabólicos, y las consecuencias que desencadenan en la salud humana. Estas enfermedades son diabetes,

obesidad (no considerada una enfermedad en muchos países), síndrome metabólico, enfermedad cardiovascular, dislipidemia, cáncer y envejecimiento acelerado. Su etiología radica en relaciones complejas entre los genes y el ambiente, que en este caso está dado por un entorno obesogénico al que están expuestos los individuos actualmente en la mayoría de los países<sup>22</sup>. Este control de la expresión del genoma mediado por el ambiente y sin cambios en la secuencia del ADN, es lo que se conoce con el nombre de epigenética. Cabe destacar que cada vez hay un mayor conocimiento sobre el papel que tiene la epigenética en la salud humana. A modo de ejemplo, análisis realizados en el genoma humano y del ratón mostraron que en ratones sometidos a una dieta alta en grasas y en humanos con diabetes tipo 2, hay una desregulación de la transcripción que lleva a una pérdida preferencial de células  $\beta$ <sup>23</sup>.

Los eCBs, están involucrados en la regulación de la homeostasis energética a través de acciones coordinadas en órganos periféricos (tejido adiposo, hígado y páncreas) y cerebro (hipotálamo, cuerpo estriado ventral).

Los CB1R se expresan fundamentalmente en el SNC, regulan el apetito y la respuesta a la recompensa en el hipotálamo. A nivel periférico regulan la motilidad intestinal y la secreción de incretinas entre ellas el Péptido Símil Glucagón (GLP-1).

Si bien los eCBs están implicados en el control de la utilización de glucosa y la homeostasis energética, en algunos nichos celulares regulan la proliferación celular, migración y apoptosis. Durante el desarrollo, los eCBs influyen en el modelado final de la arquitectura de los islotes pancreáticos. En fetos de ratón y en islotes pancreáticos humanos, se demostró que las células  $\alpha$  producen el eCB 2-AG, que estimula el reclutamiento de células  $\beta$  mediante la participación del CB1R. El glucagón y la insulina se producen en distintas poblaciones celulares dentro de los islotes pancreáticos de Langerhans, donde las interacciones intercelulares controlan tanto su producción como su liberación. Modificaciones de la microestructura de los islotes pancreáticos está asociada con un desbalance en la homeostasis energética y en la patogénesis de enfermedades asociadas al metabolismo de hidratos de carbono<sup>24</sup>.

Algunos autores describen la expresión de CB1R en las células  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\delta$  del páncreas mientras que otros observaron que en tejido humano solo hay expresión de CB1R en células  $\beta$ . Varios grupos han demostrado que los CB1R y las enzimas necesarias para catalizar la biosíntesis y la degradación de los eCBs 2-AG y AEA están presentes en las

células  $\beta$  de islotes humanos y de ratón. En la obesidad, como ocurre con dietas altas en azúcares y grasas hay un aumento de la síntesis de eCBs. La activación de CB1R en el páncreas endócrino es glucosa dependiente generando sobre las células  $\beta$  una inhibición de su función por un mecanismo autócrino<sup>25</sup>.

Los eCBs se sintetizan a demanda en respuesta a la concentración de glucosa y el 2-AG es el eCB más abundante. Las células humanas  $\beta$  y los hepatocitos expresan abundante cantidad de CB1bR y esta isoforma está ausente en el cerebro. Los eCBs inducen la detención del ciclo celular y apoptosis al inhibir la cascada PI3K-AKT en varias células cancerosas. Asimismo, los eCBs influyen en la acción de la insulina a través de la regulación de la señalización del receptor de insulina en tejidos sensibles a la insulina como el músculo, el hígado y los islotes de Langerhans. De este modo, el bloqueo del CB1R inhibe la apoptosis en las células  $\beta$ . Investigaciones anteriores que utilizaron antagonistas de los CB1R en animales habían indicado que la mejora resultante en la acción de la insulina se debía a la pérdida de peso, pero estudios posteriores muestran una relación directa entre CB1 y los receptores de insulina. La activación del CB1R induce la muerte de las células  $\beta$  de manera dependiente del receptor de insulina. En los mamíferos, el número absoluto de células  $\beta$  refleja un equilibrio dinámico entre el crecimiento y la muerte de las células  $\beta$ . Una expansión inadecuada de la masa de células  $\beta$  para compensar el aumento de la demanda de insulina, seguida de la eventual pérdida de células  $\beta$  debido a la apoptosis, es un sello distintivo de la diabetes mellitus. Esto es más evidente en la diabetes mellitus tipo 1 cuando la autoinmunidad provoca la destrucción y la consiguiente pérdida de células  $\beta$ . Aunque la masa de células  $\beta$  es altamente variable en las poblaciones humanas, también se han observado disminuciones en la masa de células  $\beta$  debido al aumento de la apoptosis en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. Parece existir un umbral de células  $\beta$  por debajo del cual se producirá hiperglucemia, y las personas obesas con diabetes mellitus tienen una masa de células  $\beta$  reducida debido al aumento de las tasas de apoptosis. La insulina que actúa a través de sus receptores es un factor clave de crecimiento y supervivencia en la mayoría de las células de mamíferos, incluidas las células  $\beta$ <sup>26</sup>.

A partir de los datos de estos estudios, el sistema eCB es una vía por la cual las células  $\beta$  podrían influir en su propia supervivencia y crecimiento.

Los eCBs aumentan tanto en la circulación como en el páncreas en individuos diabéticos y obesos.

Además, el aumento de las concentraciones de eCBs se asocia con mayores cantidades de DAG y menores cantidades de FAAH en las células  $\beta$ . Por lo tanto, en la diabetes tipo 2 al impedir la autofosforilación del receptor de la insulina en tejidos sensibles a la insulina, hay un aumento del “tono” eCB dentro de los islotes. Esto puede deberse a aumento de la síntesis de eCBs, reducción de la degradación, aumento de receptores o mayor actividad de ellos y todo esto probablemente contribuya a la falta de respuesta a la glucosa de las células  $\beta$  y al desarrollo de resistencia a la insulina. De hecho, el bloqueo farmacológico del CB1R en ratas obesas Zucker y ratones diabéticos conduce a una disminución de las concentraciones de glucosa en sangre y preserva la masa de células  $\beta$ . Asimismo, el bloqueo farmacológico y la deficiencia genética del CB1R en ratones normales conduce a una disminución de las concentraciones de glucosa en sangre y a un aumento de la masa de células  $\beta$  debido a la mejora de la señalización del receptor de insulina<sup>26-27</sup>.

El sistema eCB controla el balance energético y el metabolismo de los lípidos de forma central, en el hipotálamo y las vías mesolímbicas, y periféricamente en los adipocitos, el hígado, el músculo esquelético y el páncreas endocrino, actuando a través de numerosas vías anorexigénicas y orexigénicas. En el cerebro, los eCBs parecen controlar la ingesta de alimentos principalmente en dos niveles funcionales, el hipotálamo y en el sistema límbico. Los eCBs hipotalámicos modulan la alimentación al disminuir las señales de saciedad y potenciando las señales orexigénicas. Además, a través de interacciones con las vías mesolímbicas implicadas en los mecanismos de recompensa, los eCBs parecen aumentar la motivación para comer, posiblemente al reforzar el incentivo o valor hedónico de los alimentos<sup>28</sup>.

Los eCBs son un potencial blanco terapéutico para proteger a los islotes de la inflamación y apoptosis. Alrededor del año 2000 salió a la venta el Rimonabant, un agonista inverso de los CB1R, para tratar la obesidad y si bien tenía efectos prometedores sobre el metabolismo, se dejó de prescribir en el año 2008 debido a los efectos adversos que producía sobre el SNC. Durante su uso se notificaron aumentos significativos de casos de trastornos psiquiátricos severos, depresión, e incremento de casos de pensamientos suicidas y suicidio consumados<sup>29</sup>. Como conclusión, los antagonistas de CB1R que tienen poca penetración en el cerebro, para disminuir los efectos secundarios sobre el SNC, podrían ser útiles como agentes terapéuticos en la diabetes tipo 2, donde se esperaría una mejora en la función de las células  $\beta$ , un aumento de la captación de

glucosa en el músculo, reducción de la hiperglucemia y de la esteatosis hepática.

## Cannabinoides y Reproducción

La expresión de receptores a cannabinoides en hipotálamo, hipófisis y órganos de la reproducción sugiere un rol del sistema endocannabinoide en la modulación de glándulas periféricas entre ellas las gónadas y la función reproductiva<sup>11,29,34-39</sup>. La capacidad de los cannabinoides de atravesar la placenta también sugiere la posibilidad de efectos fetales que pueden generar complicaciones durante la gestación y en la vida post natal. Si bien los efectos teratogénicos no han sido del todo demostrados el impacto de la exposición prenatal está dado por la reprogramación del sistema endocannabinoide en la etapa post natal desencadenando consecuencias en la conducta y en la función cognitiva<sup>30</sup>.

Se ha descripto previamente la expresión del sistema eCB en el hipotálamo y sus mecanismos de regulación del eje gonadal centrales y periféricos así como también el efecto sobre el eje prolactinico, adrenal, tiroideo, el tejido adiposo y el metabolismo de los hidratos de carbono que no es menor ya que cambios en estos puntos de control impactan sobre la fertilidad.

El aparato **reproductor femenino** también expresa receptores a cannabinoides. En ovario el CB1R se localiza en células de la granulosa, cuya activación se relaciona con inhibición de la adenilato ciclasa (AC) y disminución de los niveles de AMPc. Este mecanismo genera inhibición de la esteroidogénesis y de las concentraciones de estrógenos y progesterona. La expresión CB1R no es exclusiva de la gónada. En Trompa de Falopio regula la motilidad muscular y el transporte del cigoto. En el útero permite la relajación muscular del miometrio y en modelos animales se observó que participa en la ventana preimplantatoria y genera efectos deletéreos sobre el desarrollo placentario y fetal<sup>31-32-33-34</sup>. Un review publicado recientemente relaciono cambios en la expresión de CB1R con mayor prevalencia de endometriosis, pre-eclampsia, ectópicos y abortos recurrentes. Mientras que alteraciones en la expresión de CB2R se relacionaron con cáncer de endometrio<sup>31</sup>.

En cuanto a reserva ovárica se ha descripto en modelos animales que la exposición a agonistas CB1R durante la etapa prenatal disminuye la reserva ovárica postnatal y adulta comparado con controles. Este efecto fue revertido cuando se expuso a antagonistas CB1R mostrando incremento de la reserva ovárica. También observaron cambios en la expresión de proteínas relacionadas con el metabolismo de endocannabinoides en folículos preantrales de la descendencia de animales expuestos<sup>35</sup>.

En testículo CB1R se expresa en células de Leydig y en cabeza y cuello de gametas masculinas. Si bien no se ha demostrado expresión de receptores a cannabinoides en células de Sertoli se han descrito alteraciones en el proceso de espermatogénesis por exposición a THC<sup>36,39</sup>.

Se ha descrito el impacto deletéreo de la exposición a cannabinoides sobre el proceso de espermatogénesis (alterando la meiosis), reducción de la motilidad espermática, de las concentraciones de ATP, capacitación y reacción acrosómica en espermatozoides maduros<sup>37</sup>.

De manera similar al aparato reproductor femenino la expresión del sistema eCB no se limita a la gónada. Se ha demostrado en modelos animales disminución del volumen del epidídimo, próstata y vesícula seminal por exposición a cannabinoides con un efecto dosis dependiente. Queda en discusión si estos cambios se deben exclusivamente al efecto cannabinoide o son secundarios a la disminución de las concentraciones de testosterona provocadas por estos compuestos<sup>38</sup>. El impacto sobre glándulas anexas no es menor ya que aportan el mayor porcentaje del volumen al líquido seminal para mantener la sobrevida espermática<sup>39</sup>.

En un trabajo suizo publicado recientemente donde se analizó el impacto del consumo de cannabis en el espermograma de una cohorte de 200 individuos se encontró oligozoospermia en el 18%, astenozoospermia en un 21% y un 42% teratozoospermia<sup>40</sup>.

El tejido adiposo es considerado como otra glándula endócrina dada su liberación de hormonas reguladoras del apetito, inflamación y proliferación celular denominadas adipokinas. Adipokinas como la leptina participan también regulando las neuronas secretoras de GnRh permitiendo entender la relación entre los cambios en el tejido adiposo (obesidad Vs. bajo peso) y su efecto sobre la función gonadal y la fertilidad. En relación a cannabinoides se ha demostrado expresión de CBR en adipocitos maduros y precursores o preadipocitos tanto en adiposo blanco como pardo donde se sugiere que modula procesos hormonales, adipogénesis

y termorregulación. También se ha relacionado la condición de obesidad visceral a un aumento de la actividad endocannabinoide.

El sistema eCB regula las funciones de los diferentes órganos que participan en la reproducción en condiciones fisiológicas teniendo múltiples puntos de control. Es importante tener en cuenta el impacto deletéreo que puede generar la exposición a sustancias exógenas derivadas de la cannabis alterando mecanismos del eje hipotálamo hipofisario y funciones endócrinas con consecuencias en el periodo preconcepcional, gestacional y post natal.

## CONCLUSIÓN

El sistema endocannabinoide presenta amplia distribución en el organismo y tiene múltiples puntos de relación con el sistema endocrino regulando funciones hipotálamo- hipofisarias y de glándulas periféricas entre ellas las gónadas.

Su expresión en núcleos hipotalámicos, aparato digestivo, adiposo, hígado y páncreas sugiere rol en el control del apetito, metabolismo de los lípidos y los hidratos de carbono.

Los puntos de regulación hormonal involucran fuertemente las funciones reproductivas en todo lo que la condición de fertilidad implica, emocional, hormonal, nutricional, gametas, fecundación, implantación, desarrollo del embarazo.

Se estima que la marihuana es consumida por el 3% de la población mundial entre 14-24 años y uno de cada 5 personas entre 18-25 años.

Es de suma importancia tener en cuenta el impacto endócrino de los cannabinoides e incorporar este aspecto en el interrogatorio de los pacientes que consultan por alteraciones endocrinas y/o fertilidad ya que el consumo de cannabis modifica funciones centrales y periféricas.

Ante el antecedente del hábito tóxico se deben interpretar las manifestaciones clínicas y determinaciones hormonales también en este contexto y en personas que desean fertilidad o van a iniciar la búsqueda concientizar de los efectos deletéreos en múltiples glándulas endócrinas involucradas en la función reproductiva.

## Referencias

1. Vera Rubin. Cannabis and Culture. Ed. De Gruyter Mouton (1975).
2. Crocq MA. History of cannabis and the endocannabinoid system. *Dialogues Clin Neurosci.* 2020;;22(3):223-228.
3. Mechoulam R, Gaoni Y. A total synthesis of dl- $\Delta^1$ -tetrahydrocannabinol, the active constituent of hashish. *J Am Chem Soc.* 1965;87:3273-3275.
4. Devane WA, Dysarz FA, Johnson MR, Melvin LS, Howlett AC. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol Pharmacol.* 1988;34:605-613.
5. Devane WA, Hanus L, Breuer A, et al Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science.* 1992;258(5090):1946-1949.
6. Lu HC, Mackie K. Review of the Endocannabinoid System. *Biol Psychiatry Cogn Neurosci Neuroimaging.* 2021; 6(6):607-615.
7. Oultram MJ, Pegler JL, Bowser TA, Ney LJ, Eamens AL, Grof CPL. Cannabis sativa: Interdisciplinary Strategies and Avenues for Medical and Commercial Progression Outside of CBD and THC. *Biomedicines.* 2021; 9(3):234.

8. De Vito Eduardo. Argentina tiene su primera Ley sobre el uso medicinal de la Planta de Cannabis. Historia y Perspectivas. Medicina. 2017. Vo. 77 N° 5
9. <https://www.argentina.gob.ar/salud/cannabis-medicinal/reprocan>
10. Valeria Salech. La historia de mamá cultiva argentina: el camino del cannabis terapéutico. 1 ed. Ediciones B, 2018.
11. Pagotto U, Marsicano G, Cota D, Lutz B, Pasquali Renato. The Emerging Role of the Endocannabinoid System in Endocrine Regulation and Energy Balance. *Endocrine Reviews*. 2006; 27:73–100.
12. Wenger T, Fernandez-Ruiz JJ, Ramos JA. Immunocytochemical demonstration of CB1 cannabinoid receptors in the anterior lobe of the pituitary gland. *J Neuroendocrinol* 1999; 11:873– 878.
13. Pagotto U, Marsicano G, Fezza F, Theodoropoulou M, Gruebler Y, Stalla J, Arzberger T, Milone A, Losa M, Di Marzo V, Lutz B, Stalla GK Normal human pituitary gland and pituitary adenomas express cannabinoid receptor type 1 and synthesize endogenous cannabinoids: first evidence for a direct role of cannabinoids on hormone modulation at the human pituitary level. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001; 86:2687–2696.
14. Patel S, Roelke CT, Rademacher DJ, Cullinan WE, Hillard CJ. Endocannabinoid signaling negatively modulates stress-induced activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocrinology*. 2004 145:5431–5438.
15. Labad J, Ortega L, Cabezas A, Montalvo I, Arranz S, Algora MJ, et al. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis function and exposure to stress factors and cannabis use in recent-onset psychosis.. *The World Journal of Biological Psychiatry*. 2020. Vol 21, N° 7, 564–571.
16. Tucci SA, Rogers EK, Korbonsits M, Kirkham TC. The cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716 blocks the orexiogenic effects of intrahypothalamic ghrelin. *Br J Pharmacol*. 2004; 143:520 –523
17. Porcella A, Marchese G, Casu MA, Rocchitta A, Lai ML, Gessa GL, Pani L Evidence for functional CB1 cannabinoid receptor expressed in the rat thyroid. *Eur J Endocrinology*. 2002; 147:255–261
18. Ranganathan M, Braley G, Pittman B, Cooper T, Perry E., Krystal J, Cyril D, Souza D. The effects of cannabinoids on serum cortisol and prolactin in humans. *Psychopharmacology*. 2009; 203:737–744
19. Gammon, C. M. et al. Regulation of gonadotropin releasing hormone secretion by cannabinoids. *Endocrinology*. 2005; 146, 4491–4499.
20. Scorticati, C. et al. The inhibitory effect of anandamide on luteinizing hormone-releasing hormone secretion is reversed by estrogen. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2004; 101, 11891–11896.
21. Watanabe, M., Fukuda, A. & Nabekura, J. The role of GABA in the regulation of GnRH neurons. *Front. Neurosci*. 2014; 8, 387.
22. Gauthier, B. R. et al. Advances in Genetics of Regeneration in Metabesity. *Genes* 2019; 10, 383.
23. Lu, T. T. et al. The polycomb-dependent epigenome controls cell dysfunction, dedifferentiation, and diabetes. *Cell Metab*. 2018; 27, 1294–1308.
24. Katarzyna M, Keimpemaa E, Piscitellid F, Calvigionia D, Björklunde P, Mackief K, et al Fetal endocannabinoids orchestrate the organization of pancreatic islet microarchitecture. *PNAS Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015;10;112(45)
25. González-Mariscal I, Krzysik-Walker SM, Doyle ME, Liu Q-R, Cimbro R, Santa-Cruz Calvo S, et al. Human CB1 receptor isoforms, present in hepatocytes and -cells, are involved in regulating metabolism. *Sci Rep* 2016; 6: 3330
26. Kim W, Lao Q, Shin Y-K, Carlson OD, Lee EK, Gorospe M, et al. Cannabinoids induce pancreatic -cell death by directly inhibiting insulin receptor activation. *Sci Signal* 2012; 5: ra23.
27. Hanho Shin, Ji Hye Han, Juhwan Yoon, Hyo Jung Sim, Tae Joo Park, Siyoung Yang, et al. Blockade of cannabinoid 1 receptor improves glucose responsiveness in pancreatic beta cells. *J Cell Mol Med*. 2018;22:2337–2345.
28. Kirkham TC. Endogenous cannabinoids: a new target in the treatment of obesity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2003;284:R343–4.
29. Robert Ettaro, Lucas Lauder milk, Stewart D. Clark, Rangan Maitra. Behavioral assessment of rimonabant under acute and chronic conditions. *Behav Brain Res*. 2020 July 15; 390.
30. Scheyer AF, Melis M, Trezza V, Manzoni OJJ. Consequences of perinatal cannabis exposure. *Trends Neurosci*. 2019; 42(12):871–884.
31. Maia J, Fonseca BM, Teixeira N, Correia-da-Silva G. The fundamental role of the endocannabinoid system in endometrium and placenta: implications in pathophysiological aspects of uterine and pregnancy disorders *Human Reproduction Update*. 2020; Vol.26, No.2, 586–602.
32. Innocenzi E, De Domenico E, Ciccarone F, Zampieri M, Rossi G, Cicconi R et al Paternal activation of CB2 cannabinoid receptor impairs placental and embryonic growth via an epigenetic mechanism. *Sci Rep* 2019; 9(1):17034
33. Wang H, Guo Y, Wang D, Kingsley PJ, Marnett LJ, Das SK et al. Aberrant cannabinoid signaling impairs oviductal transport of embryos. *Nat Med* 2004; 10(10):1074–1080
34. Cecconi S, Rossi G, Castellucci A, D'Andrea G, Maccarrone M. Endocannabinoid signaling in mammalian ovary. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2014; 178:6–11
35. Castel P, Barbier M, Pomerol E, Mandon-Pépin B, Tassistro V, Lepidi H, et al Prenatal cannabinoid exposure alters the ovarian reserve in adult offspring of rats. *Archives of Toxicology*. 2020; 94:4131–4141
36. Cacciola, G. et al. Expression of type-1 cannabinoid receptor during rat postnatal testicular development: possible involvement in adult Leydig cell differentiation. *Biol. Reprod*. 2008; 79, 758–765.
37. Hedges J, Hanna C, Bash J, Boniface ER, Burch FC, Mahalingaiah S, et al. Chronic exposure to delta-9-tetrahydrocannabinol impacts testicular volume and male reproductive health in rhesus macaques. *Fertility and Sterility*. 2022; Vol117, N° 4.
38. Banerjee, A., Singh, A., Srivastava, P., Turner, H. & Krishna, A. Effects of chronic bhong (cannabis) administration on the reproductive system of male mice. *Birth Defects Res. B Dev. Reprod. Toxicol*. 2011; 92, 195–205.
39. Maccarrone M, Rapino C, Francavilla F, Barbonettina A. Cannabinoid signalling and effects of cannabis on the male reproductive system *Urology*. 2021; Vol 18 (19-32)
40. Zufferey F, Donzé N, Rahban R, Senn A, Stettler E, Serge R, et al. Semen endocannabinoids are correlated to sperm quality in a cohort of 200 young Swiss men. *Andrology*. 2020;00:1–10.



Esta obra está bajo una licencia de *Creative Commons* Atribución-NonCommercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Reconocimiento – Permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra. A cambio se debe reconocer y citar al autor original. No comercial – esta obra no puede ser utilizada con finalidades comerciales, a menos que se obtenga el permiso.

# Deconstruyendo un síndrome: información genómica sobre el SOP. Mecanismos Causales y Clasificación.

## Deconstructing a Syndrome: Genomic Insights Into PCOS Causal Mechanisms and Classification

Matthew Dapas<sup>1</sup>, and Andrea Dunaif<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Department of Human Genetics, University of Chicago, Chicago, IL 60637, USA

<sup>2</sup> Division of Endocrinology, Diabetes and Bone Disease, Department of Medicine, Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York, NY 10029, USA

### Abstract

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is among the most common disorders in women of reproductive age, affecting up to 15% worldwide, depending on the diagnostic criteria. PCOS is characterized by a constellation of interrelated reproductive abnormalities, including disordered gonadotropin secretion, increased androgen production, chronic anovulation, and polycystic ovarian morphology. It is frequently associated with insulin resistance and obesity. These reproductive and metabolic derangements cause major morbidities across the lifespan, including anovulatory infertility and type 2 diabetes (T2D).

Despite decades of investigative effort, the etiology of PCOS remains unknown. Familial clustering of PCOS cases has indicated a genetic contribution to PCOS. There are rare Mendelian forms of PCOS associated with extreme phenotypes, but PCOS typically follows a non-Mendelian pattern of inheritance consistent with a complex genetic architecture, analogous to T2D and obesity, that reflects the interaction of susceptibility genes and environmental factors. Genomic studies of PCOS have provided important insights into disease pathways and have indicated that current diagnostic criteria do not capture underlying differences in biology associated with different forms of PCOS.

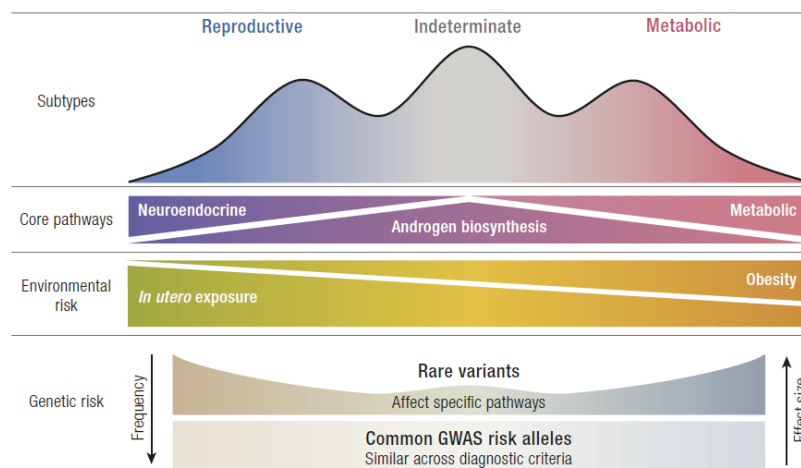
We provide a state-of-the-science review of genetic analyses of PCOS, including an overview of genomic methodologies aimed at a general audience of non-geneticists and clinicians. Applications in PCOS will be discussed, including strengths and limitations of

each study. The contributions of environmental factors, including developmental origins, will be reviewed. Insights into the pathogenesis and genetic architecture of PCOS will be summarized. Future directions for PCOS genetic studies will be outlined.

**Key Words:** polycystic ovary syndrome, PCOS, androgen excess, genetics, genomics, epigenetics

**Abbreviations:** AES, Androgen Excess Society; AMH, anti-Müllerian hormone; BMI, body mass index; ChIP-seq, chromatin immunoprecipitation followed by NGS; DHEAS, dehydroepiandrosterone sulfate; DZ, dizygotic; EHR, electronic health record; FSH, follicle-stimulating hormone; FSHR, follicle-stimulating hormone receptor; GnRH, gonadotropin-releasing hormone; GWAS, genome-wide association studies; HA, hyperandrogenism; LD, linkage disequilibrium; LH, luteinizing hormone; LHCGR, luteinizing hormone/human chorionic gonadotropin receptor; MAF, minor allele frequency; MZ, monozygotic; NGS, nextgeneration sequencing; NICHD, National Institute of Child Health and Human Development; NIH, National Institutes of Health; OD, ovulatory dysfunction; PCO, polycystic ovaries; PCOM, polycystic ovary morphology; PCOS, polycystic ovary syndrome; PheWAS, phenome-wide association study; RCT, randomized controlled trial; SHBG, sex hormone-binding globulin; SNP, single-nucleotide polymorphism; T2D, type 2 diabetes; TDT, transmission disequilibrium test; WES, whole exome sequencing; WGS, whole genome sequencing.

### Graphical Abstract



## COMENTARIO

Dra. Sandra Demayo

Especialista en Ginecológica y Obstetricia. Especialista en Endocrinología Ginecológica y Reproductiva. Especialista en Psiconeuroinmunoendocrinología. Fellow of the American College of Obstetricians and Gynecologists. Member of the European Society of Gynecology. Jefa del Área de Endocrinología Ginecológica del Hospital Argerich de Buenos Aires. Ex Presidente de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva (SAEGRE). Directora Académica de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva (SAEGRE).

El presente artículo grafica de manera clara y precisa los mecanismos fisiopatológicos del síndrome de ovario poliquístico (SOP), sus manifestaciones clínicas, el recorrido histórico de las dificultades diagnósticas y los criterios diagnósticos vigentes. También ahonda en los factores ambientales, epigenéticos y ofrece una revisión del estado del arte de los análisis genéticos del SOP, incluida una descripción general de las metodologías genómicas y dilucida el cambio de paradigma diagnóstico que podría alcanzarse a futuro con el avance de esta línea de investigación.

Se ofrece a continuación una apretada síntesis de los puntos relevantes que caracterizan al SOP abordados en este trabajo.

El SOP es el trastorno endocrino más frecuente en mujeres en edad reproductiva con una prevalencia mundial que oscila entre el 4% y el 20%.

Las manifestaciones clínicas primarias del SOP derivan del exceso de andrógenos son anovulación, alteraciones del ciclo menstrual, morfología de ovario poliquístico (MOP), acné e hirsutismo, mientras que las manifestaciones secundarias incluyen múltiples trastornos metabólicos, cardiovasculares y psicológicos. El SOP probablemente incluya un grupo de diferentes enfermedades con fenotipos clínicos similares pero distintos procesos fisiopatológicos subyacentes. En el SOP los trastornos reproductivos y metabólicos se superponen y potencian de manera tal que no puede ser determinado el punto de partida del círculo vicioso que caracteriza al síndrome<sup>1</sup>.

El diagnóstico de SOP se basa en los criterios de Rotterdam (2003), que requiere al menos dos de tres criterios: anovulación crónica, hiperandrogenismo clínico y/o bioquímicos y la MOP. Esta última definida como la imagen ovárica ecográfica con la presencia de un número de 20 folículos por ovario y/o un volumen ovárico 10 mL en cualquiera de los ovarios.

Un diagnóstico formal de SOP requiere que las condiciones de disfunción tiroidea, hiperprolactinemia, hiperplasia suprarrenal congénita no clásica, síndrome de Cushing y los tumores secretores de andrógenos de ovario y glándulas suprarrenal sean excluidos.

Aunque no se hace mención en estos criterios a las alteraciones del metabolismo de la insulina en las últimas décadas se ha considerado a la resistencia a la insulina (IR) como una característica clave en la etiopatología del SOP.

La IR y la consiguiente hiperinsulinemia compensatoria contribuyen a la desregulación endocrina aumentando el riesgo de enfermedad cardiometabólica, como la tolerancia a la glucosa alterada, DBT tipo 2, dislipidemia, hipertensión arterial, obesidad, síndrome metabólico y los trastornos del ánimo, y también contribuye a los signos clínicos típicos del hiperandrogenismo, como acné, hirsutismo y tiene un rol central en las dificultades reproductivas afectando la ovulación, el desarrollo endometrial, la supervivencia del blastocisto promoviendo complicaciones del embarazo y determinando programación fetal<sup>2</sup>.

A pesar de su alta incidencia, la etiología del SOP aún no se ha sido completamente dilucidada. La naturaleza heterogénea de este complejo trastorno resulta de la concurrencia combinada de factores genéticos, ambientales, endocrinos, psicológicos y conductuales<sup>1</sup>.

La participación de mecanismos epigenéticos en la etiopatología de SOP atrae cada vez más la atención de los investigadores a partir del estudio de la programación fetal. Los mecanismos epigenéticos proporcionan un margen adaptativo de control en la modulación de la expresión genética. De esta manera, los órganos y sistemas pueden adaptarse a un entorno cambiante para asegurar su supervivencia. Los mecanismos epigenéticos relevantes incluyen la metilación del ADN, la modificación de histona, la fosforilación de proteínas y el ARN no codificantes<sup>1</sup>.

El SOP resulta ser un modelo ostensible de epigenética no obstante la interacción entre los factores genéticos y ambientales posnatales resultan cruciales. La exposición al exceso de esteroides (glucocorticoides y/o andrógenos) durante los períodos críticos fetales genera modificaciones epigenéticas. La programación fetal determinaría la variante fenotípica según la etapa durante la cual el feto se expuso al exceso de esteroides resultando en mayor trastorno reproductivo si la exposición se produjo durante la conformación de los mecanismo de control neuroendócrino del eje gonadal o mayor desorden metabólico en caso de exposición durante la señalización de adipocitos viscerales.

La hipoxia Fetal por restricción nutricional y/o por alteración placentaria resulta en un retardo de crecimiento intrauterino (RCIU) y en un recién nacido de bajo peso para la edad gestacional (SGA) Para asegurar la supervivencia y reducir el gasto se genera un fenotipo fetal ahorrador con hiperactividad del eje Hipotálamo-Hipófiso-Adrenal con aumento de glucocorticoides para la redistribución del

flujo sanguíneo fetal hacia los órganos vitales. Este exceso de glucocorticoides es responsable de las modificaciones epigenéticas. Las mujeres que nacieron con SGA presentan mayor riesgo de desarrollar SOP y trastorno metabólico cuando se expone al superávit nutricional. La programación fetal por el exceso de andrógenos se produce por distintas condiciones que aumenten los niveles de andrógenos durante la gestación como obesidad, DBT tipo 2, SOP, IR o por aumento de peso excesivo durante el embarazo<sup>3</sup>.

Es extremadamente difícil proporcionar un informe completo y preciso sobre la genética de un trastorno altamente poligénico y multifactorial como el SOP debido a su compleja etiología.

La mayoría de los genes que tienen cualquier impacto en el funcionamiento de los ovarios puede estar involucrado en el desarrollo del SOP. Además, la existencia de diferentes fenotipos de SOP hace que la investigación genómica sea más compleja y difícil de dilucidar.

Los diferentes tipos de genes involucrados se dividen en varios grupos: genes involucrados en la esteroidogénesis ovárica y suprarrenal, genes implicados en acciones de hormonas esteroides, acción y regulación de gonadotropinas, genes implicados en acción y secreción de insulina, genes con impacto en la homeostasis energética y genes implicados en enfermedades inflamatorias crónicas<sup>4</sup>.

Investigaciones recientes realizadas en modelos animales indican un mayor riesgo de desarrollar el fenotipo SOP entre las crías femeninas de mujeres con síndrome SOP destacando la importancia de lograr una comprensión completa de los mecanismos moleculares involucrados y de los genes participantes<sup>4</sup>.

El agrupamiento familiar de casos de SOP ha indicado una contribución genética.

El patrón de herencia es habitualmente no mendeliano consistente con una arquitectura genética

compleja, análoga a la DBT Tipo 2 y la obesidad, que refleja la interacción de la susceptibilidad genética y factores ambientales. Los estudios genómicos del SOP han brindado información importante sobre las vías de la enfermedad y han indicado que los criterios de diagnóstico actuales no captan las diferencias subyacentes en la biología asociadas con las diferentes formas del SOP.

En los últimos años los análisis genéticos modernos han confirmado una importante contribución de la variación genética a la patogenia de SOP. Se han identificado numerosos alelos comunes de riesgo, lo que implica varias vías etiológicas plausibles relacionado con la función neuroendocrina, reproductiva y metabólica.

Mientras tanto, estudios en animales han demostrado que los cambios epigenéticos por las exposiciones en el medioambiente uterino pueden perpetuar los fenotipos del SOP en múltiples generaciones, ofreciendo un posible mecanismo de riesgo de SOP familiar no genético.

Serán necesarios estudios con análisis funcionales posteriores para determinar el significado biológico de la variación genética y su contribución al desarrollo del SOP.

La heterogeneidad fenotípica y genética del SOP indica claramente la necesidad de alejarse de diagnóstico de SOP basado en la opinión de expertos e implementar criterios basados en mecanismos biológicos. Al deconstruir el síndrome en sus componentes centrales, la genómica está liderando la transición hacia medicina de precisión para el SOP<sup>5</sup>.

Los análisis genéticos en curso prometen dilucidar los distintos etiologías del SOP, lo que permitirá la transición hacia medicina de precisión y el desarrollo de terapias dirigidas para revertir y eventualmente prevenir el desarrollo de esta enfermedad crónica con implicaciones para la salud a lo largo de toda la vida de la mujer.

## Referencias

1. Szukiewicz, D.;Trojanowski, S.; Kociszewska, A.;Szewczyk, G. Modulation of the Inflammatory Response in Polycystic Ovary Syndrome (PCOS)—Searching for Epigenetic Factors. *Int. J. Mol. Sci.* 2022, 23, 14663. <https://doi.org/10.3390/ijms232314663>
2. Petrillo, T.; Semprini, E.;Tomatis, V.; Arnesano, M.;Ambrosetti, F.; Battipaglia, C.; Sponzilli, A.; Ricciardiello, F.; Genazzani, A.R.; Genazzani, A.D. Putative Complementary Compounds to Counteract Insulin-Resistance in PCOS Patients. *Biomedicines* 2022, 10, 1924.<https://doi.org/10.3390/biomedicines10081924>
3. Bellver J, Rodríguez-Taberner L, Robles A, Muñoz E, Martínez F, Landeras J, García-Velasco J, Fontes J, Álvarez M, Álvarez C, Acevedo B; Group of interest in Reproductive Endocrinology (GIER) of the Spanish Fertility Society (SEF). Polycystic ovary syndrome throughout a woman's life. *J Assist Reprod Genet.* 2018 Jan;35(1):25-39. doi: 10.1007/s10815-017-1047-7. Epub 2017 Sep 27. PMID: 28951977; PMCID: PMC5758469.
4. Wawrzkiwicz-Jałowicka A, Kowalczyk K, Trybek P, Jarosz T, Radosz P, Setlak M, Madej P. In Search of New Therapeutics-Molecular Aspects of the PCOS Pathophysiology: Genetics, Hormones, Metabolism and Beyond. *Int J Mol Sci.* 2020 Sep 25; 21(19):7054. doi: 10.3390/ijms21197054. PMID: 32992734; PMCID: PMC7582580.
5. Dapas M, Dunaif A. Deconstructing a Syndrome: Genomic Insights Into PCOS Causal Mechanisms and Classification. *Endocr Rev.* 2022 Nov 25;43(6):927-965. doi: 10.1210/enedrev/bnac001. PMID: 35026001; PMCID: PMC9695127.



Esta obra está bajo una licencia de *Creative Commons* Atribución-NonCommercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Reconocimiento – Permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra. A cambio se debe reconocer y citar al autor original. No comercial – esta obra no puede ser utilizada con finalidades comerciales, a menos que se obtenga el permiso.

**COMENTARIO**

Dra. Gloria Edith Cerrone

Cátedra de Genética, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Laboratorio de Diabetes y metabolismo. Instituto de Inmunología, Genética y Metabolismo (INIGEM, UBA-CONICET). Facultad de Farmacia y Bioquímica-Hospital de Clínicas "José de San Martín". Universidad de Buenos Aires

**Resumen**

El síndrome de ovario poliquístico (SOP) es una de las principales alteraciones endócrinas y reproductivas que afecta hasta un 15% de las mujeres en edad reproductiva. Es una condición multifactorial compleja con orígenes genéticos y ambientales, influenciado por el estilo de vida.

El trabajo mencionado realiza una excelente y profunda investigación que brinda información actualizada para el conocimiento de las bases clínicas, bioquímicas y un enfoque exhaustivo sobre la arquitectura genética; así como, el entendimiento del impacto de los factores ambientales intrauterinos. Se describen directrices futuras a partir de los estudios genéticos del SOP.

En el presente trabajo se analizará la revisión de **Matthew Dapas y Andrea Dunaif: Deconstruyendo un síndrome: información genómica sobre el SOP. Mecanismos Causales y Clasificación**<sup>1</sup>.

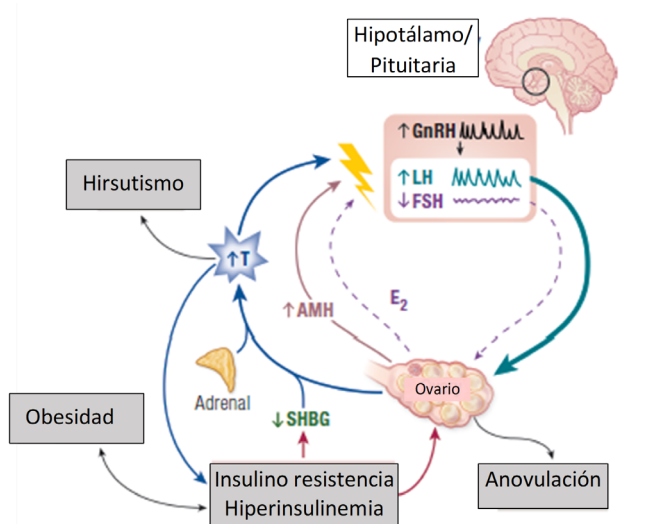
El primer abordaje del trabajo remarca detalladamente los aspectos de la Fisiopatología del SOP que caracterizan a los fenotipos reproductivo y metabólico. El SOP se caracteriza por una constelación de anomalías endócrinas y reproductivas

interrelacionadas, que incluye trastornos de la secreción de gonadotropina, aumento de la producción de andrógenos, anovulación crónica y morfología de ovario poliquístico<sup>2</sup>. El SOP es más que una patología reproductiva; se asocia con trastornos metabólicos como obesidad, resistencia a la insulina (RI) que contribuyen a un mayor riesgo de diabetes tipo 2 y enfermedades cardiovasculares, además de infertilidad anovulatoria.

En el trabajo revisado se presenta una exhaustiva revisión de las características del fenotipo reproductivo como una constelación de alteraciones hormonales reproductivas interrelacionadas a modo de "círculo vicioso", y del fenotipo metabólico caracterizado por insulino-resistencia e hiperinsulinemia; que se pueden observar en el SOP (Figura 1). Con respecto a los aspectos metabólicos, se centran particularmente en la resistencia a la insulina como contribuyente principal, sin realizar la descripción de otros aspectos metabólicos que se observan en el síndrome como dislipemia, estrés oxidativo, síndrome metabólico, inflamación, etc.; si bien los mismos pueden ser consecuencia de su asociación a obesidad u otras patologías metabólicas concomitantes.

Un primer desafío que se presenta en la clínica es el adecuado **Diagnóstico de las pacientes con SOP**. Existen diferentes criterios de diagnóstico que pueden afectar la evaluación de los pacientes y, por otra parte, impactan en la prevalencia e incidencia del síndrome en diferentes poblaciones. El trabajo de Dapas y Dunaif<sup>2</sup> refleja un recorrido crítico sobre los diferentes criterios diagnósticos y evidencias científicas que los avalan. Los diferentes criterios de

**Figura 1.** Fisiopatología del SOP. El "círculo vicioso" del SOP, una constelación de anomalías reproductivas y metabólicas. Abreviaturas: AMH, hormona antimülleriana; E2, estradiol; FSH, hormona estimulante del foliculo; GnRH, hormona liberadora de gonadotropina; LH, hormona luteinizante; SHBG, globulina fijadora de hormonas sexuales; T, testosterona. Modificada del trabajo Dapas y Dunaif



diagnóstico para SOP incluyen distintos fenotipos, se encuentran bien presentados y luego resumidos en el cuadro de la Tabla 1 del trabajo<sup>2</sup>. Además, en los últimos años se han brindado recomendaciones basadas en evidencia, por un lado un taller de metodología basada en evidencia sobre SOP patrocinado por el NIH en 2012<sup>3</sup> que revisó el estado actual del tema mediante un panel de expertos y, 2 guías basadas en la evidencia para el diagnóstico y manejo de SOP: la Guía de Práctica Clínica de la Sociedad de Endocrinología en 2013<sup>4</sup> y la Directriz International basada en la evidencia del 2018<sup>5,6,7</sup>. La calidad de la evidencia en la que se basan estas guías en algunos aspectos es baja, siendo necesario realizar más ensayos clínicos aleatorizados que aporten evidencias. Al respecto, es clara la postura de los autores en defensa de los criterios basados en el rol principal del hiperandrogenismo sobre el desarrollo del síndrome.

Las recomendaciones actuales indican los criterios de Rotterdam para el diagnóstico de SOP en pacientes, al considerar la presencia de al menos 2 de los siguientes criterios: hiperandrogenismo clínico o bioquímico (HA), oligo o amenorrea (OA) y MOP. De acuerdo a su presencia, es posible identificar 4 fenotipos principales, fenotipo A: paciente que presenta todas las características del SOP (OA, HA y MOP); fenotipo B: paciente con alteraciones menstruales e HA (OA e HA); fenotipo C: paciente con HA e imagen de quistes ováricos por ultrasonido (HA y MOP), y fenotipo D: paciente con alteraciones menstruales e imágenes quísticas en ovario (OA y MOP). Estos criterios comprenden un fenotipo normo-androgénico (fenotipo D, no hiperandrogénico o NHA) que no ha sido considerado en los otros 2 consensos descriptos para el diagnóstico de SOP (NIH 1990 y AES 2006)<sup>8</sup>. Aun es controvertido si dicho fenotipo normoandrogénico presenta la misma etiopatogenia que los otros fenotipos y, por lo tanto, si debería formar parte del SOP como se refleja en el trabajo revisado.

En el trabajo se brindan aspectos críticos sobre los criterios diagnósticos de SOP en cuanto a la inclusión de la alteración de la morfología de ovarios poliquísticos (MOP) en debido a su alta prevalencia en mujeres con HA y alteraciones menstruales, aspectos genéticos en común entre los fenotipos, la precisión de los estudios y la expertise en la interpretación de las imágenes de ultrasonido; además de considerar relevante la precisión del estudio de andrógenos en el laboratorio. Cabe agregar también que existen ligeras diferencias para definir el hiperandrogenismo y la irregularidad menstrual entre las recomendaciones, por lo tanto, es una patología que en la práctica es diagnosticada eminentemente

por el fenotipo y que requiere de constante actualización y entrenamiento de los miembros del sistema de salud para identificar adecuadamente los diferentes fenotipos de SOP.

La variación fenotípica observada en las pacientes con SOP es consecuencia de factores genéticos, ambientales y aleatorios, que se pueden analizar para comprender sus contribuciones en el desarrollo y el manejo clínico del SOP. Para evaluar la **contribución genética en SOP** es importante estudiar el agrupamiento familiar de los casos de SOP. La contribución genética asociada a la presencia de oligomenorrea, acné e hirsutismo, estima una heredabilidad general de SOP de un 0,79<sup>9</sup>. Además, individualmente, los componentes hormonales y metabólicos del SOP son altamente hereditarios.

La predisposición genética resulta de la influencia acumulativa de múltiples variantes genéticas<sup>a</sup> (en general variantes de nucleótido simple o SNPs, actualmente denominados SNVs) que proporcionan un pequeño efecto individual e interactúan de manera compleja entre sí y con factores ambientales. El trabajo de Dapas y Dunaif<sup>2</sup> puede considerarse una guía de entrenamiento para clínicos y especialistas endocrinólogos. Recomiendo su lectura minuciosa ya que brinda información fundamental, actualizada y de gran utilidad sobre los estudios genéticos.

En el trabajo, se presentan los diferentes métodos para detectar una variante genética y los enfoques analíticos que permiten probar asociaciones genéticas con rasgos en particular o con SOP. Los **estudios de ligamiento** en familias con múltiples casos permiten identificar locus en el genoma que cosegregan (están ligados) con la presencia de la patología. SOP, como patología de rasgos complejos, presenta una gran variación en el número de genes implicados (poligenicidad), bajo tamaño del efecto alélico y alta heterogeneidad genética (presenta múltiples alelos de predisposición), por lo cual los estudios de ligamiento resultan ineficientes para identificar locus asociados con la patología. Los estudios de ligamiento y asociación han predicho la relación entre las variantes genéticas y el riesgo de SOP entre familias o poblaciones.

Las **Pruebas de asociación genética en cohortes casos-control**, generalmente estuvieron limitadas a los genes candidatos con posible implicancia en una vía particular de la enfermedad, hasta el advenimiento de las tecnologías que permitieron reconocer (genotipar) eficientemente cientos de miles de marcadores simultáneamente. Han permitido identificar una gran cantidad de locus de predisposición con tamaños de efecto modesto que resultan extremadamente sensibles a las diferencias de ascendencia genética entre casos y controles, por

<sup>a</sup> Variante genética: cambios de información genética en una posición del genoma o locus, con respecto a una secuencia de referencia.

lo que muchas veces no han podido ser replicados exitosamente. A pesar de la heterogeneidad del SOP, los estudios de genes candidatos constituyeron la metodología más ampliamente utilizada para delinear las variantes genéticas y analizar la correlación entre la vía de biosíntesis de andrógenos, las que afectan la secreción o acción de la insulina y la etiología del síndrome.

Las **Pruebas de asociación basadas en familias** han permitido encontrar variantes raras causales. La prueba de **desequilibrio de transmisión (TDT)**, basada en tríos compuestos por padres y su descendencia afectada, permite identificar la asociación de un alelo con la enfermedad al observarse un exceso de transmisión entre padres- descendencia afectada. Se puede ampliar a estudios de transmisión familiar (la **prueba de asociación basada en la familia (FBAT)**), para aumentar el poder de detección genética de asociaciones al enriquecer las frecuencias de variantes raras causales en la población de estudio. La **Regresión de puntuación de LD** permite lograr una cuantificación de efectos genéticos aditivos compartidos entre rasgos.

Un gran avance en el conocimiento de la genética implicada en SOP lo impulsaron los **Estudios de asociación de todo el genoma (GWAS)**, mediante matrices comerciales de genotipado<sup>b</sup> de SNVs que permitieron estudiar simultáneamente cientos de miles de variantes frecuentes (comunes) distribuidas a lo largo de todo el ADN genómico. Los GWAS han logrado la identificación eficiente de regiones génicas candidatas facilitando en gran medida el descubrimiento de nuevos genes y luego de un mapeo fino, la identificación de alelos causales relacionados con SOP.

Es decir que los **GWAS han sido primordiales en la definición de la arquitectura genética de los rasgos complejos** como entidades altamente poligénicas, donde las variantes de un solo gen a menudo confieren múltiples efectos fenotípicos (un fenómeno llamado pleiotropía) y que la mayor parte de la heredabilidad de las enfermedades comunes puede explicarse por los efectos acumulativos de la variación genética común (SNVs).

Los GWAS han permitido la predicción del riesgo genético individual para enfermedades complejas. Es de considerar la importancia de las **puntuaciones de riesgo genético** que facilitarían la estratificación del riesgo para una enfermedad en un rastreo poblacional para encarar una intervención temprana, si bien aún no alcanzan un poder predictivo adecuado y no siempre son extrapolable a todas las poblaciones.

Los **Estudios de asociación del fenotipo completo (PheWAS)** resultan de la integración de los

datos genéticos con los registros electrónicos de salud (RES). En este caso, el paradigma se invierte en PheWAS de tal manera que un catálogo de fenotipos se prueba sistemáticamente para la asociación con un SNV dado. Los PheWAS han permitido comprender mejor las vías implicadas en el desarrollo de la enfermedad incluida la posible identificación de nuevos tratamientos con fármacos o efectos farmacológicos fuera del objetivo.

Las variantes genéticas también pueden servir para inferir el grado en que una enfermedad es causada por una exposición ambiental en un enfoque llamado **Aleatorización mendeliana**. Además, se puede utilizar para determinar si los efectos de las variantes asociadas a la enfermedad influyen de forma independiente al riesgo de la enfermedad o si están mediados a través de determinados factores de riesgo intermediarios. Los GWAS son susceptibles a confusores debidos a la estratificación de la población y la relación críptica entre muestras. Se puede estimar el sesgo de confusión neto de estos efectos utilizando la **regresión de puntuación LD** (desequilibrio de ligamiento) para la cuantificación de los efectos genéticos aditivos compartidos entre los rasgos.

Por último, la **Secuenciación de nueva generación (NGS)** que permite secuenciar (“leer”) millones de secuencia simultáneamente, llevó a una reducción dramática en el tiempo y el costo asociado a la secuenciación genómica. El NGS puede directamente detectar casi todas las posiciones en el genoma, debido al previo conocimiento e identificación de haplotipos en el genoma que comprenden enormes bloques de secuencia genómica “ligada” por lo cual se puede inferir (genotipar) el mismo a partir de un **SNV TAG** (SNV etiqueta). De esta manera permite identificar a todo el bloque sin necesidad de genotipar todos los SNVs del mismo. Al posibilitar detectar todo el genoma en simultáneo permite genotipificar variantes raras y/o mutaciones privadas en ciertos individuos.

Existen diferentes abordajes NGS, a nivel genómico que incluye la medición de la variación genética en todo el genoma llamado **secuenciación del genoma completo (WGS)**, de regiones de codificación de proteínas utilizando **secuenciación del exoma completo (WES)** o en regiones específicas con secuenciación dirigida a ciertos genes a través de **Paneles génicos**; también existen abordajes transcriptómicos y epigenéticos que están descritos en forma clara en la Tabla 2 del trabajo de Dapas y Dunaif<sup>2</sup>.

Los **GWAS** han facilitado grandes avances en la comprensión colectiva en torno a la genética de las poblaciones humanas y de los rasgos complejos del

<sup>b</sup> Identificación de variantes genéticas en ambos cromosomas para un mismo locus o posición en el genoma

SOP. Existen numerosas herramientas de software de código abierto para procesar los datos de secuenciación, clasificar las variantes genéticas según su impacto fenotípico, pero se requiere formación avanzada en bioinformática para garantizar que dichos análisis se realicen correctamente. Este es un detalle no menor a la hora de encarar estudios de patologías complejas y además, como se refleja en esta lectura, también son necesarios estudios genéticos avanzados.

Los estudios genéticos sobre SOP previos a los GWAS utilizaron enfoques de asociación casos-control analizando frecuencias de variantes dentro o cerca de genes candidatos elegidos en función del papel hipotético en vías relacionadas con la enfermedad. Los primeros genes candidatos para SOP incluyeron los implicados en la esteroideogénesis (p. ej., *CYP11A1*, *CYP17A1*, *STAR*), acción de andrógenos y gonadotropinas (p. ej., *FSHR*, *LHCGR*, *SHBG*, *AR*) y resistencia a la insulina (p. ej., *INSR*, *INSVNTR*, *IGF1*, *IGF1R*, *IRS1*, *PPARG*), entre otros. Es destacable que, si bien se encontraron cientos de asociaciones, pocas fueron replicadas debido a una heterogénea estratificación de la población entre casos y controles, no tener en cuenta comorbilidades, pequeños tamaños muestrales y la utilización de diferentes criterios diagnósticos. Un reciente metanálisis sistemático de genes candidatos<sup>10</sup> observó una baja consistencia en los mismos por falta de información sobre los criterios de inclusión de los controles y falta de exclusión de trabajos con inadecuadas distribuciones estadísticas de alelos.

Los GWAS brindaron la capacidad de estudiar en miles de individuos, las variantes genéticas a lo largo de todo el genoma en simultáneo mediante un modelo libre de hipótesis funcional para identificar alelos asociados con la enfermedad o algún rasgo de interés del SOP.

Los 2 primeros GWAS se realizaron con cohortes de chinos Han<sup>11,12</sup> y los casos de SOP definidos según los criterios de Rotterdam. Se identificaron, en conjunto, 11 ubicaciones genómicas con asociaciones significativas (genes implicados: *LHCGR*, *FSHR*, *THADA*, *C9orf3*, *DENND1A*, *YAP1*, *RAB5B/SUOX/ERBB3*, *HMG2*, *TOX3*, *INSR*, *SUMO1P1*). Otros 2 GWAS se realizaron en mujeres de ascendencia europea, el primero usando la definición NIH para los casos SOP<sup>13</sup>; el segundo utilizando casos de SOP autoinformados<sup>14</sup> y luego fueron validados por replicación en cohortes adicionales de casos definidos con criterios Rotterdam y fenotipo NIH. Estos GWAS europeos identificaron 5 asociaciones novedosas *ERBB4*, *IRF1/RAD50*, *GATA4/NEIL2*, *FSHB*, *KRR1*) y replicaron 3 señales de asociación observadas en la población china Han (genes implica-

dos: *THADA*, *C9orf3*, *YAP1*). Dos GWAS de mujeres coreanas<sup>15,16</sup> utilizaron los criterios de Rotterdam, pero no lograron identificar loci asociados significativamente con SOP, probablemente debido a los limitados tamaños muestrales y la presencia de hiperandrogenemia en los controles. En estos estudios toma relevancia el diseño experimental para la elección de controles adecuados y los criterios SOP utilizados para las cohortes de casos.

Un reciente metanálisis de estudios GWAS a gran escala en mujeres con SOP de ascendencia europea<sup>17</sup>, identificó 3 nuevos loci (cerca de *PLGRKT*, *ZBTB16* y *MAPRE1*) y replicó 11 de los loci previamente informados. Este trabajo merece especial atención ya que encontró una arquitectura genética similar para todos los criterios de diagnóstico. Por otra parte, los análisis de aleatorización sugirieron que variantes asociadas con el índice de masa corporal, la insulina en ayunas, el momento de la menopausia, la depresión y la calvicie de patrón masculino juegan un papel causal en el SOP.

Finalmente, un nuevo metanálisis de GWAS<sup>18</sup> que utilizó un diseño novedoso al estudiar casos de SOP algorítmicamente definidos como Rotterdam a partir de RES, provenientes de múltiples biobancos con ascendencias mixtas; identificó un nuevo locus asociado. De esta manera, se abrió un nuevo panorama para el estudio de SOP ya que los casos podrían ser identificados a partir de algoritmos aplicados sobre las RES de biobancos. Actualmente los valores predictivos positivos fueron superiores al 90% en poblaciones enriquecidas para SOP pero será necesario lograr un aumento de la sensibilidad de los mismos (50%).

En total, a través de los GWAS, se han asociado significativamente 20 loci con el riesgo de desarrollar SOP y se han replicado para diferentes ascendencias en estudios más pequeños. Resulta interesante que se comparten variantes de riesgo entre poblaciones chinas y europeas mostrando un origen ancestral de la patología previa a la migración fuera de África<sup>19</sup>.

Cabe destacar que una serie de ubicaciones genómicas de riesgo para SOP identificados por GWAS contienen genes previamente reconocidos como candidatos. Por ejemplo, los genes que codifican los receptores de la hormona luteinizante (*LHCGR*), FSH (*FSHR*) e insulina (*INSR*), lo cual refuerza su impacto funcional e implicación en la patogénesis del SOP. *LHCGR*, gen candidato debido a su papel en la acción de las gonadotropinas presentó una significativa desmetilación y mayor expresión en células de la teca y granulosa de ovarios poliquísticos. La expresión elevada de *FSHR* fue descrita en mujeres con SOP y se identificaron haplotipos asociados

a SOP. El gen que codifica la subunidad beta de FSH, *FSHB*, se ha replicado en GWAS como locus de riesgo. La variante de riesgo principal se encuentra en una región potenciadora de la transcripción de *FSHB*. Además, las variantes de *FSHB* se asociaron significativamente con niveles de *LH* y *FSH* en mujeres de ascendencia europea, y con niveles de *LH* en mujeres de ascendencia china Han.

Otros loci de GWAS incluyen genes que no se habían considerado previamente como candidatos para SOP. Dos alelos de riesgo asociados al desarrollo de T2D que contienen los genes *THADA* y *HMG2* se han relacionado con vías de la enfermedad, como regulador de la termogénesis y como promotor de la adipogénesis y la proliferación de células de la granulosa, respectivamente. Por otra parte, se observó asociación en la zona del gen *DENND1A*, un importante regulador de la biosíntesis de andrógenos en las células de la teca, con expresión regulada aumentada en SOP. El gen *YAP1* que desempeña un papel clave en el desarrollo del folículo ovárico. El locus GWAS que abarca los genes *RAB5B*, *SUOX*, y los genes *ERBB3* se identificaron previamente como alelos de riesgo para la diabetes tipo 1 (T1D). *ERBB4*, que también está en un locus de riesgo para el IMC, al igual que *ERBB3* codifican receptores de la superfamilia del factor de crecimiento epidérmico (EGFR). *ERBB3* ha sido implicado en la apoptosis de las células  $\beta$  y *ERBB4* en la regulación del ambiente del ovocito durante la foliculogénesis, por lo tanto, contribuirían al riesgo de SOP a través de vías reproductivas y metabólicas. *RAD50* está involucrado en la señalización de la respuesta al daño del ADN que probablemente se adquiere por la edad.

En un trabajo reciente se exploró la influencia de variantes genéticas en el SOP en los llamados genes GWAS, mediante un análisis computacional (*in silico*) identificó los SNVs y su impacto en las secuencias codificantes y no codificantes del genoma<sup>20</sup>. Se describieron las interacciones génicas y las vías implicadas en la patología.

Un recurso interesante para conocer SOP es la base PCOSKB<sup>21</sup> que brinda conocimientos curados sobre las variantes genéticas asociadas, interrelacionada con bases de datos moleculares, bioquímicos y clínicos. Varias herramientas están integradas en la base de datos: el análisis de comorbilidad para estimar el riesgo de enfermedades coexistentes con el SOP, análisis de red para identificar rutas enriquecidas y genes centrales; y análisis de Venn para encontrar ontologías, rutas y genes comunes y únicos.

Los GWAS han mejorado sustancialmente la comprensión de la fisiopatología del SOP me-

dante la identificación de variantes de riesgo en nuevos genes candidatos implicados en varias vías causales, incluida la secreción de la gonadotropina (*FSHB*) y su acción (*LHCGR*, *FSHR*), la biosíntesis de andrógenos (*DENND1A*), regulación metabólica (*THADA*, *INSR*, *HMG2*), desarrollo de folículos (*HMG2*, *YAP1*) y la edad de la menopausia (*FSHB*, *RAD50*).

Los GWAS para rasgos cuantitativos relacionados con la patología también ayudaron a comprender y delinear las vías biológicas implicadas en SOP. Estos abordajes permitieron constatar que algunos alelos de riesgo para SOP afectan a reguladores generales de niveles hormonales circulantes como testosterona, LH, FSH, DHEAS, y SHBG. Los SOP-GWAS han identificado muchos loci de riesgo, pero es importante enfatizar que los SNP de GWAS rara vez son las variantes que causan enfermedades, sino que están etiquetando regiones del genoma que contienen las variantes causales reales.

Los estudios de aleatorización mendeliana han permitido la investigación de caminos causales putativos y complementar los conocimientos proporcionados por GWAS para entender las interrelaciones entre las anomalías reproductivas y metabólicas del SOP. Por un lado, estos estudios han aclarado vías causales metabólicas que relacionaron al IMC determinado genéticamente con un aumento significativo del riesgo para SOP (OR: 1,90 a 4,89 por aumento de la desviación estándar en el IMC), así como los niveles más altos de insulina y más bajos de SHBG que tienen efectos causales de la patología. Por otro lado, los estudios de aleatorización mendeliana han aclarado vías causales reproductivas asociadas a determinantes genéticos relacionados con los niveles de testosterona total y no unida a SHBG, los niveles más altos de sulfato de epi androsterona, la edad tardía de la menopausia (variantes en *FSHB* y/o *RAD50*) y la calvicie de patrón masculino.

La regresión de la puntuación de LD sugiere correlaciones genéticas entre SOP e IMC, obesidad infantil, insulina en ayunas, niveles de triglicéridos, niveles de lipoproteínas de alta densidad y una arquitectura genética compartida sustancial con T2D, trastornos cardiometabólicos, inicio más temprano de la pubertad, edad de quebranto de voz en los hombres y depresión (en este caso influenciado por IMC). Los estudios de PheWAS confirmaron la relación comórbida del IMC con SOP.

Las variantes genéticas comunes explican solo alrededor del 10 % de la heredabilidad<sup>22</sup>. Por lo tanto, las variantes raras con tamaños de efecto más grandes pueden contribuir a la heredabilidad del SOP<sup>2</sup>. En este camino de identificación de la heredabilidad aún no hallada Un nuevo impulso en

el conocimiento de la contribución genética surgió a partir de los estudios de **Secuenciación NGS en SOP**. En los últimos años, el uso de tecnologías NGS se ha vuelto más común en la investigación SOP, produciendo nuevos conocimientos sobre la genética de la enfermedad. Los alelos comunes asociados con SOP que fueron identificados en los GWAS explicaban una fracción pequeña de la heredabilidad general del SOP. Las variantes raras (muy baja frecuencia en la población: frecuencia de alelo menor [MAF]  $\leq 1\%$ ) al ser genotipificadas mediante NGS, ¿aportan a la heredabilidad de SOP? Se observa en general que las variantes raras están implicadas en mecanismos causales y vías clave de la patología, por lo general relacionadas con la expresión génica.

Para estudiar variantes raras en PCOS, se usó un enfoque de gen candidato para estudiar variantes raras individuales y un análisis basado en la familia para estudiar variantes raras en todo el genoma a nivel de gen.

Los autores del trabajo han participado de estudios de secuenciación dirigida de los genes candidatos *AMH* y su receptor tipo 2 (*AMHR2*) de una cohorte de casos-control y luego se midió el impacto funcional de las variantes raras para confirmar la relevancia biológica de las variantes genéticas. *AMH* juega un papel central en la foliculogénesis y típicamente se sobreexpresa en mujeres con SOP. Las variantes raras halladas sólo en los casos SOP disminuyeron la capacidad de señalización mediada por *AMH*, mientras que ninguna de las variantes raras presentes en los controles afectó la señalización por *AMH*. En total, se identificaron 37 variantes raras específicas del SOP que alteraban significativamente la actividad de señalización de *AMH/AMHR2*, lo cual redimensiona el rol de *AMH* en mujeres con SOP.

También realizaron una secuenciación masiva del genoma en 261 individuos de 62 familias con una o más hijas con SOP lo cual permitió identificar una colección de variantes raras en el gen *DENND1A* que se asociaron significativamente con niveles alterados de rasgos cuantitativos relacionados con funciones reproductivas y metabólicas (testosterona, DHEAS, insulina, glucosa, LH, FSH, SHBG).

En conjunto, los estudios de secuenciación genómica refuerzan el papel putativo que juegan estos genes en la patogénesis del SOP y sugieren que las variantes patogénicas específicas de la familia del paciente que afectan a genes clave pueden ser en gran parte responsables del riesgo de SOP. Es decir que la **secuenciación NGS permitirá un**

**conocimiento individualizado que redundará en un tratamiento personalizado de la paciente con SOP.** En este sentido la presencia de variantes raras en ciertas familias que estén implicadas en el desarrollo de complicaciones o de presentaciones particulares podrán ser identificadas y realizar un tratamiento de las pacientes en forma personalizada, predictiva y preventiva.

**¿Qué otros estudios se pueden realizar para entender el comportamiento genético en el desarrollo del SOP?** Numerosos estudios han permitido conocer la expresión génica en las vías relacionadas con el SOP (en varios tejidos) usando RNA-seq. Estos estudios han identificado diferentes **redes y vías de genes que se interrumpen en SOP, incluyendo señalización MAPK, receptor de andrógenos señalización, procesos metabólicos, inflamación y respuestas inmunitarias.**

Un trabajo muy interesante proporcionó un mecanismo molecular detallado para la progresión del SOP, información detallada sobre los posibles biomarcadores y dianas terapéuticas a través de un estudio bioinformático integral de expresión génica. Se encontraron una serie de genes cruciales junto con las vías que estaban más estrechamente relacionadas con el inicio y el avance del SOP. Es decir que se está avanzando no solo en el conocimiento del SOP sino también en posibles tratamientos individualizados<sup>23</sup>.

Es decir que se están realizando contribuciones fundamentales para conocer y definir la **Arquitectura genética del SOP**. Los estudios genéticos del SOP indican que las variantes comunes y las raras, tanto codificantes como no codificantes, contribuyen a la patogénesis del SOP. Aunque sus contribuciones relativas a la heredabilidad del SOP todavía no se han cuantificado con precisión, la mayor parte de la heredabilidad probablemente proviene de una red altamente poligénica de variantes comunes con de efecto pequeños, con una contribución de variantes menos frecuentes encontradas en genes centrales con efectos mayores en el desarrollo de la enfermedad. La identificación de las variantes raras asociadas a la enfermedad apuntaría más directamente a mecanismos causales en vías clave de la enfermedad. Las variantes causales “marcadas” por SNVs identificados en los GWAS influirían en la expresión de uno o más transcritos de genes cercanos en uno o más tejidos específicos, aunque algunos pueden afectar genes más distantes a través de efectos “trans” a través de dominios TAD<sup>c</sup>.

**En resumen, la contribución genética en un individuo está dada por la suma de variantes de secuencia comunes (muy frecuentes en la pobla-**

<sup>c</sup> Dominios topológicamente asociados: región genómica que comprende genes y secuencias reguladoras que interactúan físicamente

ción) en múltiples genes (poligénica), cada una de ellas lleva implicada un pequeño riesgo para el desarrollo de la patología y además, en ciertas familias, se pueden presentar variantes genéticas específicas (raras en la población) en genes de vías centrales (mayor efecto) que también contribuyen al desarrollo de la misma.

Por todo lo expuesto, teniendo en cuenta los resultados de estudios genéticos de ligamiento, asociación y secuenciación, los estudios futuros en PCOS probablemente deberían considerar variantes comunes y raras en sus modelos estadísticos para comprender mejor la etiología del SOP.

¿Es posible definir una Arquitectura genética diferencial para los fenotipos SOP definidos por criterios NIH y Rotterdam? A partir de un metanálisis de GWAS<sup>17</sup> se compararon objetivamente las variantes genéticas entre los fenotipos de SOP definidos por NIH en comparación con los criterios de Rotterdam (10,074 casos y 103,164 controles). Específicamente, los casos definidos por los criterios NIH: HA+OA ± MOP, se compararon con los casos HA+MOP y OA+MOP de Rotterdam y en casos SOP autorreportados. Solo un locus, cerca de *GATA4/NEIL2*, mostró evidencia significativa de heterogeneidad entre los diferentes grupos de criterios diagnósticos, siendo más fuertemente asociado con el fenotipo NIH con implicancia en las vías que regulan la sensibilidad a la insulina. La ausencia de heterogeneidad entre los fenotipos para los otros 13 loci sugieren que la arquitectura genética de estos fenotipos es generalmente similar. Estos hallazgos implican que los criterios diagnósticos actuales no identifican fenotipos biológicamente distintos. Se examinaron también las asociaciones entre cada una de las principales variantes de susceptibilidad al SOP con las características de diagnóstico individuales (MOP, OA, HA) y con rasgos reproductivos relacionados con el SOP (volumen ovárico, niveles de testosterona, LH y FSH). Los resultados sugieren que la arquitectura genética de MOP y OA son similares ya que presentaban prácticamente las mismas asociaciones.

Recientes enfoques de análisis genéticos definen nuevos subtipos de PCOS. La variación fenotípica observada en el SOP sugiere una heterogeneidad genética subyacente. Mediante análisis de conglomerados para rasgos cuantitativos del SOP, se observó que la identificación y exclusión del grupo de mujeres con PCOM de los controles mejoró el poder diagnóstico del nivel sérico de hormona antimülleriana (*AMH*) y el número de folículos por ovario (*FNPO*) para discriminar entre mujeres con o sin SOP<sup>24</sup>, estudio que no llevó validación funcional.

Dapas y Dunaif<sup>2</sup> detallan un agrupamiento no supervisado que realizaron con datos antropométricos, reproductivos y metabólicos de múltiples, en cohortes independientes de PCOS, identificando 2 subtipos reproducibles con diferentes características fenotípicas: un grupo “reproductivo” (23%) caracterizado por mayor LH y niveles de SHBG con IMC y niveles de insulina relativamente bajos, y un grupo “metabólico” (37%) caracterizado por alto IMC, glucosa, y niveles de insulina con niveles más bajos de LH y SHBG. Los casos restantes fueron designados como “indeterminados” (40%). GWAS posteriores, revelaron nuevos loci significativamente asociados con cada subtipo, conteniendo genes con supuestas funciones en vías relevantes para SOP. Un locus significativamente asociado con el subtipo reproductivo estaba ubicado en el receptor de *AMH tipo I BMPRI1B* (receptor de proteína tipo 1B de hueso morfogenético) producido en las células de la granulosa y neuronas GnRH con funciones múltiples funciones reproductivas. También se asoció con *PRDM2* (coactivador del receptor de estrógeno) altamente expresado en la glándula pituitaria y el ovario conocido por su papel en el desarrollo de las células de la granulosa ovárica. El único lugar que fue significativamente asociado con el subtipo metabólico incluye un número de posibles genes en la región circundante (*GRB14, FIGN y KCNH7*). El subtipo indeterminado replica la asociación de locus FSHB del SOP GWAS original.

Se definieron dos subgrupos fenotípicos, reproductivos y metabólicos, con diferentes arquitecturas genéticas. Por superposición con la fisiopatología del SOP, se concluyó que el subtipo reproductivo se alinea con la producción de andrógeno dependiente de LH resultante de aberraciones en el hipotálamo-hipófisis-eje gonadal, mientras que el subtipo metabólico es consistente con hiperandrogenemia impulsada principalmente por resistencia a la insulina.

Es importante definir el rol de medio ambiente en la patología. En este sentido se plantea a la obesidad como una condición putativa evidentemente determinada por el medio ambiente colaboradora y altamente frecuente en el desarrollo de SOP. Las tasas de prevalencia del SOP son similares en diversas poblaciones con diferentes tasas de prevalencia de obesidad. Además, a pesar del aumento de las tasas de prevalencia obesidad en todo el mundo, la prevalencia del síndrome de ovario poliquístico se ha mantenido relativamente estable. Se observa que la obesidad exacerba los síntomas androgénicos, anovulación crónica, resistencia a la insulina y disglucemia. Desde el punto de vista genético, variantes en el gen del *FTO* como el mayor contribuyente

al desarrollo de obesidad y otros alelos de predisposición que aumentan el IMC, no se encontraron asociados con SOP independientemente del IMC.

¿Cuál es el origen del desarrollo del SOP? Actualmente se reconoce que los factores ambientales que actúan en la vida temprana pueden contribuir al desarrollo de un número de enfermedades crónicas del adulto, conocido como orígenes del desarrollo de la salud y la enfermedad (DOHaD). Efectos parentales relacionados con el aumento de andrógenos y la producción suprarrenal y ovárica de andrógenos intraútero en fetos femeninos sugiere que el entorno intrauterino puede desempeñar un papel en el SOP. **Variantes raras en el gen candidato GWAS, DENND1A, como regulador clave de biosíntesis de andrógenos y su alta frecuencia en las familias con SOP, avalan el rol de la alteración de la biosíntesis de andrógenos en el desarrollo de SOP, aunque la evidencia de exposición prenatal a andrógenos ha proporcionado resultados contradictorios.**

¿Existe una herencia epigenética relacionada con el desarrollo de SOP? Las experiencias de la vida temprana pueden conducir a cambios fenotípicos en la edad adulta a través de modificaciones epigenéticas como la metilación del ADN, o las modificaciones químicas y remodelación de la cromatina. Los investigadores también han comenzado a mapear la metilación del ADN implicados en los cambios de expresión génica en SOP, que permiten entender el impacto de las exposiciones ambientales sobre los cambios transcripcionales.

Por otra parte, cabe mencionar que también son relevantes los aspectos de regulación génica que implican ADN no codificantes como miRNA, ARN circulares, ARNlnc, etc. también están siendo abordados y se traducirán en un mejor conocimiento de la fisiopatología del síndrome. **Las modificaciones epigenéticas pueden persistir a través de múlti-**

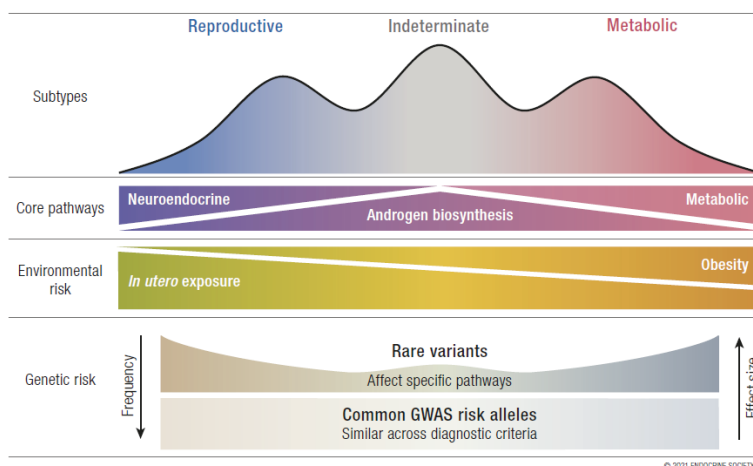
ples generaciones, ya sea a través de una reprogramación del desarrollo incompleta o mediante programación fetal transgeneracional, lo cual podría explicar en parte la heredabilidad no explicada en SOP. Varios estudios han proporcionado evidencia de cambios epigenéticos fisiológicamente relevantes en mujeres con SOP demostrando alteraciones en la expresión génica asociadas con cambios de metilación en las células de la granulosa, tejido adiposo tejido y músculo esquelético.

Por otra parte, estudios identificaron efectos transgeneracionales persistentes similares al SOP en la tercera generación de crías de ratones, androgenizados prenatalmente por dihidrotestosterona o expuesto a AMH. En este sentido, un trabajo reciente sumamente relevante en ratones muestra la herencia epigenética transgeneracional de rasgos similares al SOP<sup>25</sup> mediante la hipometilación del ADN que regula genes clave asociados con el SOP. Los estudios en humanos respaldaron estos hallazgos al demostrar que algunos de los genes fueron metilados diferencialmente o expresados en cohortes transversales de casos y controles de SOP y en hijas de mujeres con SOP. Por otro lado, el modelo de ratón con SOP tratado con el donante de grupo metilo S-adenosilmetionina corrigió sus defectos transcriptómicos, neuroendócrinos y metabólicos, restableciendo la ovulación y mejorando significativamente sus alteraciones metabólicas.

**Es probable que rutas centrales genéticamente determinadas, por ejemplo, de la biosíntesis de testosterona actúen en concierto con acciones epigenéticas de estos andrógenos para producir fenotipos de PCOS.**

**Resumen y direcciones futuras.** En menos de 10 años, los análisis genéticos modernos han confirmado una importante contribución de la variación genética a la patología de SOP.

**Resumen y direcciones futuras.** En menos de 10 años, los análisis genéticos modernos han confirmado una importante contribución de la variación genética a la patología de SOP



A modo de resumen como se observa en la Figura 2, es posible realizar una deconstrucción del síndrome en sus componentes:

- SOP es un rasgo complejo altamente heredable con alrededor de 20 variantes comunes que brindan susceptibilidad identificadas en estudios de asociación del genoma completo (GWAS), y variantes raras en algunos genes como DENND1A, AMH y AMHR2 descubiertos por secuenciación masiva de nueva generación.
- SOP presenta una red altamente poligénica de variantes comunes (alta frecuencia) con efectos pequeños, y una contribución de variantes menos frecuentes encontradas en genes centrales con efectos mayores en el desarrollo de la enfermedad. La identificación de las variantes raras asociadas a la enfermedad apuntaría más directamente a mecanismos causales en vías clave de la enfermedad.
- Factores ambientales, como el exceso de los andrógenos intrauterinos, pueden actuar a través de mecanismos epigenéticos en concierto con variantes de susceptibilidad para producir fenotipos SOP. La obesidad exagera los síntomas androgénicos, anovulación crónica, resistencia a la insulina y disglucemia.
- Los GWAS han identificado numerosos comunes alelos de riesgo, lo que implica varias vías etiológicas plausibles relacionadas con la función neuroendocrina, reproductiva y metabólica.
- Los estudios de aleatorización mendeliana han utilizado datos genéticos para respaldar los hallazgos epidemiológicos que vinculan el IMC, la insulina, la edad de menopausia, depresión, SHBG y calvicie de patrón masculino al riesgo de SOP.
- Los análisis de regresión de la puntuación de LD han indicado que PCOS comparte arquitectura genética con T2D, arteria coronaria enfermedad, IMC, niveles de insulina, niveles de HDL, niveles de triglicéridos, depresión, y la edad de la menarquia.
- La arquitectura genética del SOP clasificado según los diferentes criterios diagnósticos e incluso el SOP autoinformado generalmente es similar, lo que sugiere que estos criterios de diagnóstico no identifican fenotipos de SOP biológicamente distintos.
- El análisis de agrupamiento no supervisado ha identificado Subtipos de SOP con diferentes presentaciones metabólicas y reproductivas con evidencia preliminar basada en distintas arquitecturas genéticas.
- La variación genética conduciría a un exceso de andrógenos intrauterinos lo cual contribuye al desarrollo del SOP a través de los efectos epigenéticos en el útero.
- Los análisis genéticos en curso prometen dilucidar las distintas etiologías del SOP, lo que permite la transición hacia una medicina de precisión. Los estudios han arrojado ideas importantes que impactarán en futuras direcciones de investigación.
- **Determinar el significado biológico de la variación genética seguirá siendo un tema central**, será un desafío poder realizar un mapeo fino extensivo que sumado a estudios con análisis funcionales posteriores permitirá determinar cómo la variación genética dentro de estos loci contribuye al desarrollo del SOP.
- Ampliar los análisis genéticos para Cohortes de PCOS de diversos orígenes raciales y étnicos. Aquí me permito poner en consideración que nuestra población antes denominada caucásica, de ascendencia europea, una mezcla de razas, que los términos latino e hispano conllevan una enorme diversidad genética y por lo tanto es prioritario definir nuestro acervo genético.
- La secuenciación de genes candidatos puede ser una opción más rentable y un enfoque confiable para identificar variantes patogénicas raras.
- Utilizar información de grandes bases de datos que combinan resultados de estudios de asociación y funcional para predecir los efectos relativos de diferentes variantes.
- Seleccionar células específicas dentro de los tejidos Demayor importancia fisiopatológica para el SOP, (por ejemplo, células de la teca en el ovario, gonadotropos en la hipófisis o neuronas GnRH en el núcleo arcuato del hipotálamo). En este sentido, la expresión génica de tejido completo puede no ser suficientemente sensible para detectar cambios a nivel celular. La secuenciación de ARN de una sola célula podría usarse para distinguir el tipo de célula y sus efectos específicos, si bien requiere equipamiento específico para el aislamiento y también expertise en el aislamiento, estudio e interpretación de los resultados.
- Reevaluar objetivamente los criterios diagnósticos del SOP, en particular con respecto a la evaluación de MOP para el diagnóstico de PCOS.
- Nuevas clasificaciones de subfenotipos basadas en diferencias biológicas.
- Riesgo integrado de los modelos que consideran factores genéticos y clínicos pueden resultar más eficaces para la estratificación del riesgo.
- Los estudios futuros deberían esforzarse por identificar variantes de riesgo que se asocien con los cambios epigenéticos observados en el SOP.

Se puede proponer un modelo actualizado de Patogénesis del SOP que incorpora hallazgos de los estudios genéticos revisados en el trabajo. El SOP presenta un ciclo de retroalimentación a lo largo del eje hipotálamo-pituitario-gonadal (Fig. 1), por lo cual, las causas subyacentes de este síndrome pueden variar en sus tejidos, vías de origen; y sin embargo, dan como resultado el mismo Fenotipo SOP. Esta noción ha sido apoyada empíricamente por PCOS GWAS, que han implicado variantes en genes neuroendocrinos, vías metabólicas y reproductivas.

Los diferentes fenotipos descritos con los criterios diagnósticos de SOP no parecen capturar esta heterogeneidad genética, pero al caracterizar a las mujeres por sus perfiles hormonales utilizando métodos de aprendizaje automático, se pueden identificar subconjuntos de mujeres (reproductivo y metabólico) con asociaciones genéticas únicas.

Las variantes genéticas raras en DENND1A, AMH y AMHR2 implican biosíntesis de andrógenos y señalización de AMH como 2 de las vías reproductivas centrales en la patogénesis del SOP. Similarmente, es probable que ciertos factores de riesgo ambientales sean más o menos relevantes para estas diferentes formas de SOP, como lo demuestran los fenotipos específicos resultantes de diferentes exposiciones en el útero.

En última instancia, las contribuciones de estos

cambios genéticos y ambientales relativos ocurren a lo largo de un espectro. Es probable que muchas mujeres con SOP presenten alelos de riesgo genético en múltiples vías principales que trascienden los subtipos.

La heterogeneidad fenotípica y genética indican claramente la necesidad de alejarse de un diagnóstico de SOP basado en la opinión de expertos a criterios basados en evidencia sobre los mecanismos biológicos. **Al deconstruir el síndrome en sus componentes centrales, la genómica está liderando la transición hacia medicina de precisión para el SOP que permitirán el desarrollo de terapias dirigidas para revertir, predecir, tratar y prevenir el SOP.**

De esta forma estamos ante una **medicina de las 4P: Personalizada, Predictiva, Preventiva y Participativa** que se anticipe al desarrollo de futuras enfermedades de manera individualizada, establezca la predisposición o riesgo de una persona a padecer la enfermedad o la posible evolución de complicaciones, identificar alteraciones (comunes y raras) para diagnosticar de manera más precisa y temprana, realizar terapias dirigidas en función de la alteración genética en ciertos casos y, reducir toxicidades o efectos secundarios de algunos fármacos en ciertos pacientes gracias al ajuste de dosis en función de las características genéticas de cada paciente.

## Bibliografía

1. Dapas M, & Dunaif A. Deconstructing a Syndrome: Genomic insights into PCOS causal mechanisms and classification. *Endocrine reviews*. 2002; 43(6), 927-965.
2. Azziz R, Carmina E, Chen Z, Dunaif A, Laven JSE, Legro RS, Lizneva D, Natterson-Horowitz B, y col. Polycystic ovary syndrome. *Nat Rev Dis Primers* 2016; 2:16057.
3. National Institutes of Health. Evidence-based Methodology Workshop on Polycystic Ovary Syndrome - Final Report. Dec 3-5, 2012. <https://prevention.nih.gov/researchpriorities/research-needs-and-gaps/pathways-prevention/evidencebased-methodology-workshop-polycystic-ovary-syndrome-pcos>
4. Legro RS, Arslanian SA, Ehrmann DA, y col.; Endocrine Society. Diagnosis and treatment of polycystic ovary syndrome: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(12):4565-4592.
5. Teede HJ, Misso ML, Costello MF, y col.; International PCOS Network. Recommendations from the international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2018;89(3):251-268.
6. Teede HJ, Misso ML, Costello MF, y col.; International PCOS Network. Recommendations from the international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2018;110(3):364-379.
7. Teede HJ, Misso ML, Costello MF, y col.; International PCOS Network. Recommendations from the international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod*. 2018;33(9):1602-1618.
8. Azziz R, Carmina E, Dewailly D, Diamanti-Kandarakis E, Escobar-Morreale HF, Futterweit W, y col. Positions statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: An Androgen Excess Society guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006; 91, 4237-4245.
9. Vink JM, Sadrzadeh S, Lambalk CB, Boomsma DI. Heritability of polycystic ovary syndrome in a Dutch twin-family study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(6):2100-2104.
10. Hiam D, Moreno-Asso A, Teede HJ, y col. The genetics of polycystic ovary syndrome: an overview of candidate gene systematic reviews and genome-wide association studies. *J Clin Med*. 2019;8(10):1606.

11. Chen ZJ, Zhao H, He L, et al. Genome-wide association study identifies susceptibility loci for polycystic ovary syndrome on chromosome 2p16.3, 2p21 and 9q33.3. *Nat Genet.* 2011;43(1):55-59.
12. Shi Y, Zhao H, Shi Y, y col. Genome-wide association study identifies eight new risk loci for polycystic ovary syndrome. *Nat Genet.* 2012;44(9):1020-1025.
13. Hayes MG, Urbanek M, Ehrmann DA, et al.; Reproductive Medicine Network. Genome-wide association of polycystic ovary syndrome implicates alterations in gonadotropin secretion in European ancestry populations. *Nat Commun.* 2015;6:7502.
14. Day FR, Hinds DA, Tung JY, y col. Causal mechanisms and balancing selection inferred from genetic associations with polycystic ovary syndrome. *Nat Commun.* 2015;6:8464.
15. Hwang JY, Lee EJ, Jin Go M, y col. Genome-wide association study identifies GYS2 as a novel genetic factor for polycystic ovary syndrome through obesity-related condition. *J Hum Genet.* 2012;57(10):660-664.
16. Lee H, Oh JY, Sung YA, y col. Genome-wide association study identified new susceptibility loci for polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod.* 2015;30(3):723-731.
17. Day F, Karaderi T, Jones MR, y col.; 23andMe Research Team. Large-scale genome-wide meta-analysis of polycystic ovary syndrome suggests shared genetic architecture for different diagnosis criteria. *Plos Genet.* 2018;14(12):e1007813.
18. Zhang Y, Ho K, Keaton JM, y col. A genome-wide association study of polycystic ovary syndrome identified from electronic health records. *Am J Obstet Gynecol.* 2020;223(4):559.e1-559.e21.
19. Azziz R, Dumesic DA, Goodarzi MO. Polycystic ovary syndrome: an ancient disorder? *Fertil Steril.* 2011;95(5):1544-1548.
20. Prabhu, B.N., Kanchamreddy, S.H., Sharma, A.R. y col. Conceptualization of functional single nucleotide polymorphisms of polycystic ovarian syndrome genes: an in silico approach. *J Endocrinol Invest* 44, 1783–1793 (2021). <https://doi.org/10.1007/s40618-021-01498-4>
21. Sharma, M., Barai, R.S., Kundu, I., Bhaye S., Pokar K., Idicula-Thomas S. PCOSKBR2: a database of genes, diseases, pathways, and networks associated with polycystic ovary syndrome. *Sci Rep.* 2020; 10, 14738.
22. Azziz R. Introduction: determinants of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2016;106:4–5.
23. Devarbhavi, P., Telang, L., Vastrad, B. y col. Identification of key pathways and genes in polycystic ovary syndrome via integrated bioinformatics analysis and prediction of small therapeutic molecules. *Reprod Biol Endocrinol* 19, 31 (2021).
24. Dewailly D, Alebić MŠ, Duhamel A, Stojanović N. Using cluster analysis to identify a homogeneous subpopulation of women with polycystic ovarian morphology in a population of nonhyperandrogenic women with regular menstrual cycles. *Hum Reprod.* 2014;29(11):2536-2543.
25. Mimouni NEH, Paiva I, Barbotin AL, Timzoura FE, Plassard D, Le Gras S, Ternier G, Pigny P, y col. Polycystic ovary syndrome is transmitted via a transgenerational epigenetic process. *Cell Metab.* 2021 Mar 2;33(3):513-530.e8. doi: 10.1016/j.cmet.2021.01.004. Epub 2021 Feb 3. PMID: 33539777; PMCID: PMC7928942.



Esta obra está bajo una licencia de *Creative Commons* Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Reconocimiento – Permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra. A cambio se debe reconocer y citar al autor original. No comercial – esta obra no puede ser utilizada con finalidades comerciales, a menos que se obtenga el permiso.

# Evidence for the cardiovascular effects of osteoporosis treatments in randomized trials of post-menopausal women: A systematic review and Bayesian network meta-analysis

Alexander H. Seeto<sup>1</sup>, Mina Tadrous<sup>2,3,4</sup>, Abadi K. Gebre<sup>5,6</sup>, Joshua R. Lewis<sup>5,7,8</sup>, Howard A. Fink<sup>9,10</sup>, Peter R. Ebeling<sup>11,12,13</sup>, Alexander J. Rodríguez<sup>5,11\*</sup>

<sup>1</sup> School of Medicine and Dentistry, Griffith University, Gold Coast, Queensland, Australia

<sup>2</sup> Leslie Dan Faculty of Pharmacy, University of Toronto, Toronto, ON, Canada

<sup>3</sup> ICES, Toronto, ON, Canada

<sup>4</sup> Women's College Hospital Research Institute, Toronto, ON, Canada

<sup>5</sup> Institute for Nutrition Research, School of Medical and Health Sciences, Edith Cowan University, Joondalup, WA 6027, Australia

<sup>6</sup> School of Pharmacy, College of Health Sciences, Mekelle University, Mekelle, Tigray 1871, Ethiopia

<sup>7</sup> Medical School, The University of Western Australia, Perth, WA 6000, Australia

<sup>8</sup> Centre for Kidney Research, Children's Hospital at Westmead, School of Public Health, Sydney Medical School, The University of Sydney, Sydney, NSW 2145, Australia

<sup>9</sup> Geriatric Research Education and Clinical Center, VA Health Care System, Minneapolis, MN, USA

<sup>10</sup> Department of Medicine, University of Minnesota, Minneapolis, MN, USA

<sup>11</sup> Bone and Muscle Health Research Group, Department of Medicine, School of Clinical Sciences at Monash Health, Faculty of Medicine, Nursing and Health Sciences, Monash University, Clayton, Australia

<sup>12</sup> Department of Medicine, School of Clinical Sciences, Monash University, Clayton, Victoria, Australia

<sup>13</sup> Department of Endocrinology, Monash Health, Clayton, Victoria, Australia

\* **Corresponding author at:** Research Fellow - Bone & Muscle Research Group, Department of Medicine, Monash University, Level 7, Translational Research Facility MHTP Building, 51 Kanooka Grove, Clayton, VIC 3168, Australia.

**E-mail address:** alexander.rodriguez@monash.edu (A.J. Rodríguez).

<https://doi.org/10.1016/j.bone.2022.116610>

## ABSTRACT

Osteoporosis medications have been reported to have beneficial and harmful cardiovascular effects. Much of this evidence stems from single reports and as such, a comprehensive examination of the evidence is needed. We conducted a network meta-analysis (NMA) of cardiovascular adverse event (CAE) data from randomized trials of osteoporosis medications in postmenopausal women. Trials were identified from recent NMAs of osteoporosis treatment for fracture reduction with an updated literature search (December 2020). Included studies were randomized, included over 100 participants, and reported skeletal primary outcomes. We investigated three-point major adverse cardiovascular events (MACE3), four- (MACE4) and five-point MACE (MACE5), as well as myocardial infarction (MI) and stroke. Data were synthesized in a random-effects network meta-analysis using Bayesian modelling. Probabilistic ranking of treatment safety was performed. Relative to placebo, point estimates for the odds ratios (OR) with 95 % credible intervals (CrI) were also generated. We identified 75 trials (n =

136,940 women), of which 27 (68,699 women, nine arms) reported CAEs. In women randomized to placebo, the overall event rate for the MACE3 outcome was 2.58 % compared with 1.99 % in those randomized to all other active comparators. Probabilistic ranking found abaloparatide, oral bisphosphonates, teriparatide, and menopausal hormone therapy were less likely to have increased risk of CAEs than placebo, while romosozumab ranked more likely to have increased risk of CAEs than placebo for all outcomes. Compared with placebo, abaloparatide (one trial, n = 1642) was associated with a reduced odds for MACE3 (OR = 0.31; 95%CrI: 0.06 to 0.99), MACE4 (0.28; 0.06 to 0.88) and MACE5 (0.25; 0.06 to 0.79). When all PTH analogues were grouped together, magnitude and direction of effects were consistent but no longer statistically significant. We did not find pooled direct and indirect evidence that osteoporosis treatments significantly increased the risk of adverse cardiovascular events relative to placebo.

**Keywords:** Osteoporosis Post-menopausal women Cardiovascular Meta-analysis

## Resumen

Se ha informado que los medicamentos para la osteoporosis tienen efectos cardiovasculares benéficos y dañinos. Gran parte de esta evidencia proviene de informes individuales y, como tal, se necesita un examen exhaustivo de la misma. Se realizó un metanálisis en red (MAR) de los datos de eventos adversos cardiovasculares (EAC) de ensayos aleatorios de medicamentos para la osteoporosis en mujeres posmenopáusicas. Los ensayos se identificaron a partir de MAR más recientes del tratamiento de la osteoporosis para la reducción de fracturas con una búsqueda bibliográfica actualizada (diciembre 2020).

Los estudios incluidos fueron aleatorizados, incluyeron a más de 100 participantes y presentaron resultados primarios esqueléticos. Se investigaron los eventos cardiovasculares adversos mayores de tres puntos (MACE 3), MACE de cuatro (MACE4) y cinco puntos (MACE5), así como el infarto de miocardio (IM) y el accidente cerebrovascular. Los datos se sintetizaron en un metanálisis de red de efectos aleatorios mediante modelos bayesianos. Se realizó una clasificación probabilística de la seguridad del tratamiento. En relación con placebo, también se generaron estimaciones puntuales para los odds ratios (OR) con intervalos creíbles (ICr)

del 95 %. Se identificaron 75 ensayos (n = 136 940 mujeres), de los cuales 27 (68699 mujeres, nueve brazos) informaron EAC. En las mujeres asignadas al azar a placebo, la tasa general de eventos para el resultado MACE 3 fue del 2,58 % en comparación con el 1,99 % en las asignadas al azar a todos los demás comparadores activos. La clasificación probabilística encontró que la abaloparatide, bifosfonatos orales, teriparatida y la terapia hormonal menopáusica tenían menos probabilidades de tener un mayor riesgo de EAC que el placebo, mientras que Romosozumab tenía más probabilidades de tener un mayor riesgo de EAC que el placebo para todos los resultados. En comparación con placebo, la abaloparatida (un ensayo, n = 1642) se asoció con una reducción de las probabilidades de MACE3 (OR = 0.31; 95%CrI: 0.06 a 0.99), MACE4 (0.28; 0.06 a 0.88) y MACE5 (0.25; 0.06 a 0.79). Cuando se agruparon todos los análogos de PTH, la magnitud y la dirección de los efectos fueron consistentes pero ya no estadísticamente significativas. Conclusion: No se encontró evidencia conjunta directa e indirecta de que los tratamientos para la osteoporosis aumentarían significativamente el riesgo de eventos cardiovasculares adversos en relación con placebo.

**Palabras Clave:** osteoporosis. Mujeres postmenopausicas. Cardiovascular. Metanálisis.



Esta obra está bajo una licencia de *Creative Commons* Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Reconocimiento – Permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra. A cambio se debe reconocer y citar al autor original. No comercial – esta obra no puede ser utilizada con finalidades comerciales, a menos que se obtenga el permiso.

# Comentarios a las Guías ESHRE para el manejo de mujeres con Endometriosis 2022

## *ESHRE guideline: endometriosis -Human Reproduction Open, pp. 1–26, 2022*

Juan José Etchepareborda

Médico ginecólogo – Doctor en Medicina – Especialista en Reproducción y Cirugía laparoscópica – Ex Presidente de la Sociedad Argentina de Endometriosis.

Miembro Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva (SAEGRE), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Correspondencia: [juanjetche@gmail.com](mailto:juanjetche@gmail.com)

<https://doi.org/10.1093/hropen/hoac009>

Las guías ESHRE para endometriosis fueron publicadas por primera vez en 2005<sup>(1)</sup> y reformuladas en 2013 y 2014<sup>(2)</sup>, y se constituyeron en una herramienta insustituible a la hora de unificar criterios diagnósticos y terapéuticos para abordar la endometriosis, contribuyendo a armonizar las tan dispersas opiniones sobre cómo enfocarla.

Presentaré un resumen de las principales pautas y luego daré algunas consideraciones personales.

### Diagnóstico

Desde el punto de vista Diagnóstico las guías 2013 resaltaban la importancia de síntomas ginecológicos por un lado, y síntomas no ginecológicos si eran cíclicos por otro lado para sospechar la presencia de una endometriosis.

Las guías actuales agregan otros síntomas cíclicos o no cíclicos: dismenorrea, dispareunia profunda, disuria, disquezia, sangrado rectal o hematuria, omalgia, neumotórax catamenial; cíclicos como tos, hemoptisis, dolor torácico, sensibilidad o dolor de cicatrices, fatiga y esterilidad.

Ratifican la importancia del examen clínico-ginecológico, la utilidad de las imágenes (ultrasonido y resonancia magnética nuclear (RMN), que no estaba bien establecida en 2013). La ausencia de hallazgos en el examen y en las imágenes no descarta la presencia de endometriosis.

Se recomienda la laparoscopia cuando hay imágenes negativas y el tratamiento fracasó o es inapropiado.

Se ratifican dos conceptos anteriores: que si la histología es negativa no descarta la enfermedad, y que no es de utilidad la solicitud de biomarcadores incluido el CA-125.

Dada la heterogeneidad de la enfermedad no hay pautas de seguimiento, el cual debe ser individualizado según la evolución y las lesiones.

### Tratamiento del dolor asociado a la Endometriosis

Se recomienda el uso de antiinflamatorios no esteroideos (AINES) para el tratamiento del dolor

asociado a la endometriosis.

Se recomienda la hormonoterapia con el mismo fin: la utilización de anticonceptivos combinados, gestágenos, sistema intrauterino liberador de levonorgestrel (LNG-SIU), implante y agonistas de GnRH con el agregado de add-back. Respecto a estos últimos y a los antagonistas de GnRH recomiendan su uso como estrategia de segunda línea. En caso de fallo de todos los anteriores, incluso de la cirugía, se pueden asociar con inhibidores de la aromatasa.

La cirugía es una de las opciones que debe ser ofrecida para el alivio del dolor. La quistectomía, incluso la vaporización con laser, son superiores al drenaje y la coagulación, tanto en el alivio del dolor como en las tasas de recidivas, poniendo énfasis en evitar lo más posible el daño ovárico para preservación de la reserva ovárica.

Respecto a la endometriosis profunda la cirugía es una opción recomendada para el alivio del dolor y mejoría de la calidad de vida. Debe realizarse en centros con experiencia y claramente debe informarse a la paciente no solo los potenciales beneficios sino también los riesgos. No se recomienda ninguna técnica en particular.

La histerectomía total está reservada a las pacientes con paridad cumplida cuando han fallado las anteriores opciones terapéuticas. No garantiza la resolución de los síntomas.

No existen marcadores pronósticos que permitan predecir que pacientes se van a beneficiar más con la cirugía.

Se descarta el empleo del LUNA (laparoscopy

uterosacral nerve ablation) como herramienta efectiva para el dolor. Sí es válida la neurectomía presacra, pero debe ser llevada a cabo por manos experimentadas ya que tiene riesgos aumentados.

Se recomienda hablar sobre estrategias no médicas para mejorar la calidad de vida y el bienestar psicológico tales como acupuntura, medicina china, nutrición, ejercicio y psicoterapia entre otros, pero los daños y potenciales beneficios no están claros.

### **Tratamiento de la esterilidad**

En las mujeres que buscan embarazo no se debe realizar tratamiento hormonal para favorecer la fertilidad como alternativa inicial ni como complemento de la cirugía.

Se puede considerar y ofrecer la cirugía en los estadios I-II y en presencia de endometriomas ya que mejora las tasas de fertilidad. No está claro el beneficio de la cirugía de la endometriosis profunda sobre la fertilidad, por lo que se debe reservar para las pacientes sintomáticas que desean embarazarse. La decisión de operar en líneas generales debe tomarse en base a la presencia de dolor, a la edad, preferencia de la paciente, cirugías previas, otros factores de infertilidad, reserva ovárica y a la estimación del índice de infertilidad de endometriosis (EFI)<sup>(3)</sup>. Éste índice debe emplearse

para decidir qué pacientes necesitan de técnicas de reproducción asistida luego de haber sido sometidas a una cirugía.

La inseminación intrauterina aumenta las posibilidades de embarazo en los estadios I y II. Aunque los resultados son inciertos en los estadios III y IV con trompas permeables, la inseminación intrauterina es una opción a ofrecer.

Las técnicas de fertilización asistida de alta complejidad (ART) deben ser ofrecidas si hay compromiso de la función tubaria, factor masculino, EFI bajo o han fallado otros tratamientos. No se recomienda ningún protocolo de estimulación en particular.

Las técnicas de ART no aumentan las tasas de recurrencia.

Si hay endometrioma se recomienda el uso de antibióticos al momento de la recuperación de ovocitos, aunque es bajo el riesgo de formación de un absceso.

Antes de realizar una técnica de ART no se recomienda hormonoterapia, ni cirugía en estadios I y II, ni cirugía de un endometrioma ni en presencia de endometriosis profunda, salvo por la presencia de dolor o que el endometrioma dificulte la recuperación ovocitaria.

Las estrategias no médicas no ofrecen evidencia de mejoría de la fertilidad.

La preservación de ovocitos debe ser discutida

con la paciente. Su real valor es incierto.

No se debe recomendar buscar embarazo para tratar la endometriosis. Las complicaciones por una endometriosis previa son muy raras. Hay un aumento del riesgo de aborto y embarazo ectópico en pacientes con endometriosis.

### **Recurrencia**

La quistectomía en caso de un endometrioma es recomendada para prevención de los síntomas dolorosos, teniendo en cuenta el riesgo de reducción de la reserva ovárica.

Se recomienda hormonoterapia para prevención de recurrencia de enfermedad y síntomas.

Es recomendable la hormonoterapia postoperatoria de todo tipo de endometriosis para prevención de la recidiva de la enfermedad y de los síntomas, en la mujer que no tiene deseo inmediato de gestación. Las técnicas de ART no aumentan los índices de recidiva.

En caso de recurrencia debe analizarse el empleo de tratamiento hormonal o quirúrgico.

### **Adolescencia**

Se deben identificar factores de riesgo al confeccionar la historia clínica tales como historia familiar de endometriosis, malformaciones genitales obstructivas, menarca precoz y ciclos menstruales cortos. El ausentismo escolar cíclico y el uso de anticonceptivos orales para el tratamiento de la dismenorrea deben hacer pensar en endometriosis. Lo mismo que la presencia de los siguientes síntomas: dolor pelviano crónico o acíclico, particularmente si está asociado con náuseas, dismenorrea, disquemia, disuria, dispareunia; dolor pelviano cíclico.

Realizar examen físico y recurrir a las imágenes, utilizando la vía vaginal si ha iniciado relaciones sexuales. No se recomienda el uso de marcadores biológicos tales como el CA-125.

Considerar la laparoscopia cuando han fallado el uso de AINES y la hormonoterapia.

En adolescentes con dismenorrea severa o dolor asociado a endometriosis se deben prescribir anticonceptivos o gestágenos (sistémicos o vía LNG-SIU), teniendo en cuenta que algunos gestágenos pueden disminuir la densidad mineral ósea.

El uso de análogos de GnRH combinados con terapia add-back hasta un máximo de un año puede ser una opción terapéutica postoperatoria en aquellas adolescentes en las que falló la hormonoterapia, previa discusión sobre sus posibles efectos adversos.

La remoción laparoscópica de las lesiones es la técnica recomendada cuando se decide un tratamiento quirúrgico. Se recomienda hormonoterapia

postoperatoria para prevenir la recurrencia de los síntomas.

La endometriosis ovárica y la cirugía tienen un potencial efecto negativo sobre la reserva ovárica y la futura fertilidad. Se debe ofrecer la posibilidad de preservación ovocitaria aunque su real beneficio, eficacia y utilidad no está bien establecido.

### **Menopausia**

La endometriosis puede ser activa/sintomática en la menopausia.

Considerar la cirugía si hay sospecha y síntomas, sobre todo por el riesgo de malignidad. El abordaje quirúrgico debe hacerse con criterios oncológicos.

Considerar el uso de inhibidores de la aromatasa si hay dolor, especialmente si la cirugía no es factible.

Se puede realizar terapia hormonal de reemplazo combinada para el tratamiento de los síntomas menopáusicos en mujeres con antecedentes de endometriosis. Evitar la administración de estrógenos solos ya que aumenta el riesgo de transformación maligna.

En las pacientes con una menopausia quirúrgica y antecedentes de endometriosis, realizar tratamiento combinado hasta la edad de la menopausia natural.

Las mujeres con endometriosis tienen aumentado el riesgo cardiovascular.

### **Endometriosis extrapélvica**

Pensar en una endometriosis extrapélvica en presencia de síntomas cíclicos. Su abordaje debe presentar un enfoque multidisciplinario.

En la localización abdominal extrapélvica la remoción quirúrgica es lo más recomendable. En la localización torácica puede recurrirse a la hormonoterapia.

### **Endometriosis asintomática**

No se recomienda ni la cirugía ni la hormonoterapia en la endometriosis asintomática, y se recomienda un monitoreo rutinario con ultrasonido.

### **Prevención primaria**

La dieta, el estilo de vida sano, la reducción de ingesta alcohol y la actividad física deben ser promovidas, aunque no hay evidencia directa de sus beneficios en la prevención de la endometriosis. También es incierto el uso de anticonceptivos hormonales como preventivos.

### **Endometriosis y cáncer**

No hay aumento general de cáncer en las mujeres con endometriosis, solo un bajo aumento de riesgo de cáncer de mama, ovario y tiroideas. Por

lo tanto se sugiere recomendar medidas generales de prevención del cáncer, y advertir de los riesgos oncológicos del uso de anticonceptivos hormonales.

La escisión completa de la endometriosis ovárica reduce el riesgo de cáncer de ovario.

## **DISCUSIÓN**

Cambios significativos respecto a las guías 2013:

- 1) Evolución del proceso diagnóstico. La laparoscopia antes era considerada el gold standard. Ahora solo recomendada en pacientes sin imágenes y/o cuando el tratamiento empírico no ha sido exitoso o es inapropiado.
- 2) El uso de antagonistas de GnRH claramente es una conducta de segunda línea.
- 3) El tratamiento médico postoperatorio es beneficioso para manejo del dolor pelviano en quienes no tienen deseo inmediato de gestación.
- 4) Ya no se recomienda más el uso extendido de agonistas de GnRH previo a ART por sus pocos claros beneficios.
- 5) La incorporación de uso del EFI como ayuda para la toma de decisiones en la búsqueda del embarazo postoperatorio.

## **Comentarios personales**

Las guías ESHRE para el manejo de mujeres con endometriosis han significado un enorme aporte al enfoque de esta enfermedad, donde reinaba un caos sobre la forma de abordarla, tanto desde el punto de vista diagnóstico como terapéutico.

Uno de los méritos de esta versión es dejar bien establecido una serie de pautas en forma concluyente: el valor del examen clínico y de las imágenes, la falta de utilidad del CA-125 dentro del proceso diagnóstico; el valor de los AINES, la hormonoterapia y de la cirugía en el manejo del dolor asociado a la endometriosis; descartar el LUNA como herramienta útil para el dolor; la falta de utilidad de la hormonoterapia en mujeres con deseo inmediato de gestación; la utilidad del tratamiento quirúrgico y de las diferentes técnicas de reproducción asistida para aumentar la fertilidad.

Llamativamente pone en igualdad de condiciones el tratamiento médico empírico con el quirúrgico laparoscópico, sin remarcar indicaciones o prioridades para elegir uno u otro. Tampoco jerarquizan las distintas alternativas de hormonoterapia entre sí: no ponen a los gestágenos como mejor herramienta terapéutica, como lo indican las bases fisiopatológicas y la bibliografía respecto a los anticonceptivos hormonales combinados. Se coloca en mismo plano de igualdad al SIU-LNG, cuando otras

guías lo ponen como una alternativa de tercera línea. Se recomienda tan sólo evaluar las ventajas y desventajas, las preferencias del paciente, los costos y la disponibilidad terapéutica para la elección de un método quirúrgico o médico, o las distintas opciones de hormonoterapia, cuando sabemos que en la práctica la elección muchas veces está viciada por las inclinaciones del médico e, incluso, por su rédito económico.

Los géstagenos han demostrado jugar un papel relevante respecto a los anticonceptivos combinados, sobre todo en los casos severos, con menores complicaciones que la cirugía, lo cual ha llevado en los últimos años a priorizar el tratamiento médico sobre el quirúrgico, y eso no se pone claramente de manifiesto. Si bien se menciona que la cirugía estaría indicada ante la falla o intolerancia de los tratamientos hormonales, no se habla del tamaño límite del endometrioma y la presencia de una obstrucción de una víscera hueca como indicación de cirugía.

Pese a estas objeciones personales, las guías siguen siendo un riquísimo aporte para la lucha contra esta multifacética y enigmática enfermedad.

## Referencias

1. Kennedy S, Bergqvist A, Chapron C, D'Hooghe T, Dunselman G, Greb R, et al. ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis. *Hum Reprod.* 2005;20(10):2698–704.
2. Dunselman GAJ, Vermeulen N, Becker C, Calhaz-Jorge C, D'Hooghe T, De Bie B, et al. ESHRE guideline: Management of women with endometriosis. *Hum Reprod.* 2014;29(3):400–12.
3. Adamson GD, Pasta DJ. Endometriosis fertility index: The new, validated endometriosis staging system. *Fertil Steril [Internet].* 2010;94(5):1609–15. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.09.035>



Esta obra está bajo una licencia de *Creative Commons* Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Reconocimiento – Permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra. A cambio se debe reconocer y citar al autor original. No comercial – esta obra no puede ser utilizada con finalidades comerciales, a menos que se obtenga el permiso.



**¡NUEVA  
EDICIÓN!**

# Curso Avanzado Internacional de Medicina Transgénero

Debido al éxito de  
convocatoria en 2022,  
relanzamos el curso más  
completo de esta temática.

**¡ABIERTA LA  
INSCRIPCIÓN!**

Con la realización de 2  
o más cursos SAEGRE

**10%**  
de descuento

**Más info e inscripción:**

[congresosaegre@gmail.com](mailto:congresosaegre@gmail.com)

---

# Reglamento de Publicaciones Revista SAEGRE

---

AFILIADA A LA INTERNATIONAL SOCIETY OF GYNECOLOGICAL ENDOCRINOLOGY (ISGE)  
Y A LA FEDERACIÓN LATINA DE ENDOCRINOLOGÍA GINECOLÓGICA (FLEG)

## Generalidades

Se podrán enviar artículos para publicar en las siguientes secciones:

- Trabajo Original de Investigación
- Revisión y Actualización
- Casos clínicos
- Análisis Crítico de la Bibliografía

## Formato del artículo

Los manuscritos deben tipearse a doble espacio en papel tamaño A4, en Word for Windows, fuente Times New Roman, tamaño 12, texto justificado.

## Envío de artículos

El artículo debe enviarse por intermedio de la plataforma virtual.

**Todos los artículos enviados deberán incluir en la primera página:**

**Título completo del artículo:** en castellano y en inglés; en negrita, nombre y apellido del/los autor/es; título profesional; institución/es en la cual se desempeña cada autor, ciudad y país de dicha/s institución/es; dirección postal y electrónica del autor principal, sección de la revista a la que corresponde el artículo y conflicto de intereses. Se deberá incluir además un título breve, de menos de 50 caracteres.

Ejemplo:

### Artículo Original

#### Estados Hiperprolactinémicos: Correlación Bioquímica, Clínica y Etiológica

Hyperprolactinemic States: Biochemical, Clinical and Etiological Correlation

Masmud Florencia<sup>2</sup>, Petroni Jorgelina<sup>2</sup>, Lopardi Mónica<sup>2</sup>, Belingeri Soledad<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jefe Sección Endocrinología y Metabolismo Hospital General de Agudos J.M. Penna. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina.

<sup>2</sup>Médico de Planta Sección Endocrinología y Metabolismo Hospital General de Agudos J.M. Penna. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina.

**Correspondencia:** Florencia Masmud. endopenna@gmail.com. Pedro Chutro 3380. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina

**Conflictos de Interés:** los autores declaran no tener conflictos de interés.

**Resumen/Abstract:** debe incluirse un resumen en español y en inglés, con una extensión máxima de 250

palabras, sin tablas o figuras.

**Palabras Clave/Key words:** pueden incluirse hasta 6 palabras clave en inglés y español.

Ejemplo:

**Palabras Clave:** prolactina, hiperprolactinemia, etiología, prolactinoma, fármacos.

**Key words:** prolactin, hyperprolactinemia, etiology, prolactinoma, drugs.

## Trabajos originales de investigación

Los trabajos originales deben incluir las siguientes secciones: **Introducción, Materiales y métodos; Resultados; Discusión y Conclusiones.** Máximo total de 6000 palabras.

Pueden incluirse hasta 4 tablas y 4 figuras con sus respectivos epígrafes.

Los epígrafes de las tablas y/o figuras deben incluirse en el texto donde se desea insertar la tabla y/o figura (ver tablas, figuras y epígrafes)

Deben indicarse las normas y directrices éticas y los métodos estadísticos utilizados.

## Casos clínicos

Los casos clínicos deben ser concisos destacando el contenido relevante del caso.

Deben incluir **Introducción, reporte de caso y discusión o conclusiones.** Máximo total de 5000 palabras. Pueden incluirse hasta 4 tablas y 4 figuras con sus respectivos epígrafes.

## Actualizaciones y Revisiones

Las revisiones deben incluir **introducción, revisión** (pueden incluirse subtítulos o diferentes aspectos a revisar) y **conclusión o discusión final.** Máximo total de 6000 palabras.

Pueden incluirse hasta 4 tablas y 4 figuras con sus respectivos epígrafes.

## Análisis Crítico de la bibliografía

Esta sección consiste en aportes y discusión por expertos de un artículo seleccionado de la literatura aportando fundamentos de la bibliografía.

Máximo total de 3000 palabras por experto invitado.

## Referencias bibliográficas

**Todas las publicaciones deben asociarse a referencias bibliográficas que fundamenten el contenido. El texto de la bibliografía se excluye del total de palabras obligatorias por publicación.**

**Máximo 50 referencias por artículo.**

Formato de mención de las referencias bibliográficas: Estilo **Vancouver.**

Numerar las referencias bibliográficas en forma consecutiva, en el orden en que fueron mencionadas por primera vez en el texto y entre paréntesis (Ejemplos: Texto (1), Texto (1-3), que identifica las citas 1 a la 3, Texto (1,4), que identifica las citas 1 y 4, Texto (1, 5-7) que identifica las citas 1 y 5 a 7).

En cada una de ellas deben figurar todos los autores si el trabajo tuviera hasta 6 autores. Si el trabajo tuviera más de 6 autores debe colocarse "et al."

Las referencias bibliográficas que aparecen por primera vez en tablas y figuras deben ser numeradas en el orden que sigue el texto en donde se menciona el texto o la figura.

Las observaciones personales no publicadas o comunicaciones personales no podrán ser utilizadas como referencias.

Se solicita prestar especial atención para incluir y utilizar el formato apropiado al citar las referencias bibliográficas.

#### **Formato de referencias bibliográficas "Vancouver".**

##### **Ejemplos:**

##### **• Artículos de Revistas**

1. Takihara H, Sakatoku J, Cockett ATK. The pathophysiology of varicocele in male infertility. *Fertil Steril*. 1991; 55:861-8.
2. En caso de querer incluir Doi debe insertarse luego de la mención de la referencia bibliográfica correspondiente.

##### **• Libros**

2. Colson JH, Armour WJ. Sports injuries and their treatment, 2nd ed. rev. London: S. Paul; 1986:478.
3. Weinstein L, Swartz MN. Pathologic properties of invading microorganisms. En: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, eds. *Pathologic physiology: mechanisms of disease*, Vol. 1. Philadelphia: WB Saunders; 1974:457-72.

#### **Abreviaturas y símbolos**

Utilizar sólo abreviaturas universales; en caso contrario, definir las la primera vez que son utilizadas y procurar no incluirlas en exceso.

#### **Tablas, Figuras y Epígrafes**

• **Tablas:** deberán tipearse a doble espacio en páginas separadas y sernumeradas en números arábigos consecutivos, entre paréntesis, en letra mayúscula y en el orden que fueron citadas en el texto por primera vez. Ejemplo (**TABLA 1**).

Los textos explicativos deben ser breves y se incluirán al pie de la tabla. En caso de aclaración de siglas deben incluirse al pie y utilizar letras minúsculas en forma secuencial (a, b, c, etc.) en superíndice.

#### **• Figuras (Ilustraciones, imágenes) y Epígrafes**

Las fotografías, imágenes, ilustraciones o gráficos se enviarán en, formato digital y con la mayor resolución posible en archivo aparte en formato ".jpg o .tif".

Deben cargarse en la pataforma digital de la revista.

Se referirán en el texto entre paréntesis, en letra mayúscula y en números arábigos consecutivos, ejemplo (**FIGURA 1**).

En las micrografías se debe indicar la escala o el aumento que se usó.

Los **epígrafes** (aclaraciones de las figuras) deberán tipearse a doble espacio al pie de la figura correspondiente, incluidos en el texto donde debe aclararse a que figura corresponden.

**El material ilustrativo y tablas debe ser original.**

**NO pueden incluirse ilustraciones, imágenes o gráficos tomados de la literatura sin que conste la autorización del/los autor/es.**



REVISTA SAEGRE

[www.revistasae gre.com.ar](http://www.revistasae gre.com.ar)

ISSN 2469-0252 (en línea)

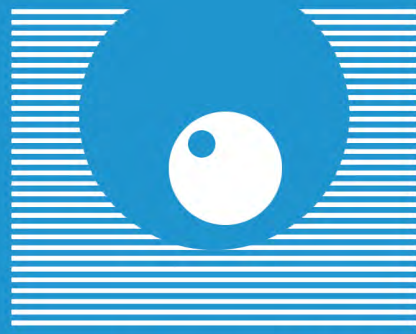
Entidad editora

SOCIEDAD ARGENTINA DE ENDOCRINOLOGÍA GINECOLÓGICA Y  
REPRODUCTIVA

Viamonte 2660 6ºD (1056). Ciudad de Buenos Aires – Argentina

+54 (11) 4961 0290

[www.sae gre.org.ar](http://www.sae gre.org.ar) – [sae gre@sae gre.org.ar](mailto:sae gre@sae gre.org.ar)



SAEGRE

REVISTA SAEGRE

Entidad editora

**Sociedad Argentina de Endocrinología  
Ginecológica y Reproductiva**