

Artículo Original

Drospirenona no desmejora la producción endotelial de óxido nítrico en mujeres postmenopáusicas.*Dra. Gabriela Ayala**, *Dra. María Semanate***, *Dr. Julio Galárraga******Resumen**

Objetivo: Demostrar que Drospirenona no disminuye los efectos del estradiol en la producción de óxido nítrico. Este estudio abierto incluyó a cuarenta y dos mujeres posmenopáusicas, no obesas, de entre 40 a 55 años de edad, sin tratamiento hormonal, que cumplieran con los requisitos de la Sociedad Internacional de Menopausia para uso de Terapia Hormonal. A cada una de las pacientes se le efectuó determinaciones sericas de Lipoproteína de Alta Densidad (HDL), Lipoproteína de Baja Densidad (LDL), Colesterol Total (CT) y Triglicéridos. Las Pacientes fueron asignadas de forma aleatoria a uno de los siguientes tres grupos: Grupo A: Drospirenona 2 mgs +Estradiol 1 mg; Grupo B: Estradiol 1 mg; Grupo C: Placebo. Las pacientes recibieron tratamiento durante tres meses. Antes del inicio y después de finalizar el tratamiento a cada paciente se le determinó Oxido Nítrico sanguíneo. Los análisis estadísticos incluyeron ANOVA, Diferencias y Contrastes Euclidian, con un valor de $p < 0.05$ para cada variable. Treinta pacientes finalizaron el protocolo completo, 11 para el Grupo A, 11 para el Grupo B y 8 para el Grupo C. No hubo diferencias para las variables basales en ninguno de los grupos. Después de finalizar el estudio no hubo incrementos significativos en los valores de Oxido Nítrico en ninguno de los grupos. En el Grupo A 5.12 $\mu\text{mols/l}$ (24.67 a 29.68), Grupo B: 6.27 $\mu\text{mols/l}$ (24.34 a 30.61) y Grupo C 1.29 $\mu\text{mols/l}$ (24.26 a 25.55). Se concluye que el presente estudio confirma in vitro y in vivo las observaciones previas de que Drospirenona no impide la producción de Oxido Nítrico.

Palabra clave: Drospirenona, óxido nítrico, endotelio vascular.

Introducción

La enfermedad cardiovascular es el factor de riesgo más importante para mortalidad en la postmenopausia. La producción de óxido nítrico se ha asociado a la salud endotelial, un aspecto principal para evitar la enfermedad cardiovascular. Estradiol incrementa la producción in vivo e in vitro de óxido nítrico. La progesterona también incrementa la producción de óxido nítrico. Se conoce que la terapia de reemplazo hormonal (TRH) combinada incrementa la mortalidad cardiovascular en las mujeres postmenopáusicas esto se ha demostrado mediante los estudios HERS y WHI.

Abstract

The objective of the study was to demonstrate that drospirenona does not decrease the effects of estradiol on the nitric oxide production. This open study included forty two non obese, 40 to 55 year's old, postmenopausal women without any hormonal treatment, within the recommendations of the international menopause society for the use of hormone therapy. Every patient had serum determinations of high density lipoprotein (HDL), low density lipoprotein (LDL), total cholesterol (TC), triglycerides. The patients were aleatory assigned to one of the following three groups: Group A: Drospirenone 2 mg +Estradiol 1 mg; Group B: Estradiol 1 mg; Group C: Placebo. They took the treatment during 3 months. Before beginning and after finishing treatment each patient had blood nitric oxide (NO) determination. The statistical analysis includes ANOVA, Euclidian differences and contrasts, with a p value < 0.05 for every variable. Thirty patients finished per protocol: 11 for group a, 11 for group B and 8 for group C, there were not differences between the groups in the basal variables. After finishing the study there was non significative increases in NO in any group. In group A 5.12 $\mu\text{mols/l}$ (24.67 to 29.68), group B: 6.27 $\mu\text{mols/l}$ (24.34 to 30.61) and group C 1.29 $\mu\text{mols/l}$ (24.26 to 25.55). We conclude that this study confirms in vivo the in vitro previous observations in which drospirenone did not impair NO production.

Key Words: Drospirenone, nitric oxide, vascular endothelium.

La deficiencia hormonal relacionada a la menopausia esta asociada con disfunción endotelial . La terapia hormonal (tanto por su componente estrogénico como progestágeno) debería disminuir los riesgos cardiovasculares, al mejorar la función de este órgano; o al menos ser neutral. Estudios experimentales han demostrado que los estrógenos podrían disminuir el riesgo cardiovascular al mejorar el perfil lipídico , disminuir mediadores inflamatorios , favorecer la distribución ginecoide de la grasa corporal , ser cardioprotectores por medio de la inhibición de las caspasas, inhibiendo la apoptosis de la células miocárdicas y principalmente al actuar sobre el endotelio vascular, liberar óxido nítrico (ON) y producir: vasodilatación, evitar daño endotelial y aterogénesis .

* Hospital Metropolitano de Quito, Escuela Politécnica Nacional.

** Hospital Eugenio Espejo

*** Escuela Politécnica Nacional.

Los estrógenos actuando a través de receptores nucleares y de membrana por mecanismos genómicos y no genómicos favorecen la liberación de ON. Los receptores de membrana localizados en las caveolas endoteliales activan segundos mensajeros permitiendo una liberación rápida de óxido nítrico, en cambio, los receptores genómicos son los responsables de la respuesta a largo plazo. El ON pasa rápidamente al músculo liso endotelial donde ejerce su papel vasodilatador por un mecanismo paracrino sobre la célula muscular lisa induciendo la síntesis de guanosin monofosfato cíclico (GMPc), el que disminuye el calcio intracelular y produce relajación de la capa muscular dando lugar a la vasodilatación, además evita la agregación plaquetaria endotelial al inducir la A.D.P., trombina, ácido araquidónico, óxido nítrico activa la guanilato ciclase del citosol, la cual a su vez incrementan los niveles de GMPc de las plaquetas. El óxido nítrico es metabolizado principalmente en nitritos y nitratos, los que serán eliminados por la orina.

Estudios realizados con valerato de estradiol solo o combinado con levonorgestrel sugieren que los efectos favorables del tratamiento con estrógenos a largo plazo sobre el flujo sanguíneo son particularmente mediados por óxido nítrico. La adición del levonorgestrel al régimen de tratamiento parece abolir este efecto. Las progestinas también ejercen su acción a través de receptores genómicos y no genómicos. La acción de las progestinas sobre el endotelio vascular es contradictorio, existen estudios que sustentan un sinergismo con los estrógenos en cuanto a la liberación del óxido nítrico y vasodilatación rápida, mientras que otros niegan esta afirmación. La vasodilatación arterial es dependiente de la función endotelial, la misma que puede ser evaluada midiendo las características anatómicas y mecánicas de la pared vascular, determinando marcadores séricos (óxido nítrico, activador del plasminógeno, factor de Von Willebrandt, etc.) y valorando la vasodilatación endotelio-dependiente. Drospirenona es un derivado sintético de la 17 alfa espirolactona, su gran afinidad con los receptores mineralocorticoides le permite actuar como diurético y antagonizar la acción de la aldosterona, la cual tiene efectos deletéreos sobre la función endotelial; además posee actividad anti-androgénica, esta última, favorecería el perfil lipídico, la no insulino resistencia y la distribución de la grasa corporal.

Estudios en pacientes hipertensas han demostrado que la combinación de estradiol y drospirenona disminuye la presión arterial y la dosis de anti-hipertensivos en mujeres con hipertensión tipo I.

En ese sentido se decidió evaluar la acción que tiene la combinación de 17 beta estradiol mas drospirenona sobre el endotelio vascular y la producción de óxido nítrico endotelial. La hipótesis a probarse fue que el uso de estradiol mas drospirenona en mujeres postmenopáusicas tempranas no disminuye la producción de ON endotelial.

Sujetos y métodos

Para la realización del presente estudio prospectivo aleatorio ciego, se reclutaron 42 mujeres post-menopáusicas con una edad (media 49.46 años; DS de 4.56) cuyas características metabólicas se describen en la Tabla 1.

Tabla 1
Condiciones Basales de las pacientes.

	PLACEBO	PROGYNOVA	ANGELIQ	<i>p</i>
N = 30	8	11	11	
EDAD	50.25	48.9090909	51.0909091	0.2734102
PESO	61.125	66.3181818	57.2727273	0.10306905
IMC.	26.336518	28.7558443	24.4659077	0.03617468
GLICEMIA	89.875	91.4545455	92.2545455	0.10632539
HDL	48.375	44.7	46.0818182	0.68918106
LDL	155.7142857	155.888889	153.09	0.98054584
COLESTEROL TOTAL	215.625	231.3	219.736364	0.66043235
TRIGLICERIDOS	136.875	162.2	141.727273	0.58651638
ON BASAL	24.26	24.3363636	24.567	0.99492596

Los criterios de inclusión aplicados a las pacientes fueron, estado de menopausia o valores de FSH > 30 ng/dl, edad entre 40 y 55 años, no uso de terapia de reemplazo hormonal por al menos 6 meses antes del estudio, sin factores de riesgo cardiovascular como hipertensión arterial, diabetes, uso de medicación vaso activa o estatinas, endometrio menor a 5 mm, por ecografía endovaginal o pacientes histerectomizadas, mamografía normal y citología vaginal normal. Además todas las pacientes firmaron consentimiento informado.

Tratamiento:

Las pacientes se asignaron al azar a la medicación que recibieron continuamente por tres ciclos de 28 días, de cualquiera de las tres siguientes formulaciones: 1mg de valerato de estradiol, 1 mg de 17 beta estradiol + 2 mg de Drospirenona, Placebo (almidón de maíz).

Evaluaciones:

Las pacientes incluidas en el estudio se sometieron a dosificación sérica de óxido nítrico basal y nueva dosificación sérica a los tres meses post tratamiento. La dosificación de óxido nítrico se realizó mediante técnica de quimioluminiscencia en un equipo (NOATM), Sievers 280 Nitric Oxide Analyzer, que es un detector super sensible de Óxido Nítrico en muestras

biológicas de hasta 1 picomol. Con controles de calidad. El oxígeno y el ozono se mezclan en un pequeño volumen de 20 ml. en la celda de reacción en el equipo (circulator C-400 Techne), que permite medir pequeñas producción de picos los mismos que fueron analizados en el software para la obtención de los resultados.

Los datos fueron almacenados en una hoja de cálculo de Excel y el análisis estadístico de los datos fue realizado con ANOVA, Contrastes de Scheffer, regresión lineal y T de Students, con SPSS versión 9.0. Se consideraron estadísticamente significativos los valores cuya P fue menor a 0,05 para todas las variables estudiadas.

Resultados

En total se reclutaron 42 pacientes, de las cuales 30 terminaron el estudio, que fueron asignadas al azar a los tres tratamientos: placebo (n = 8), 1mg. 17 Beta estradiol + 2mg. Drospirenona (n=11), 1mg de valerato de estradiol (n=11).

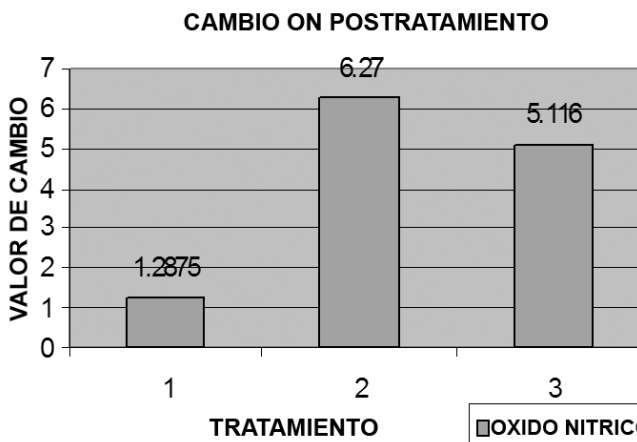
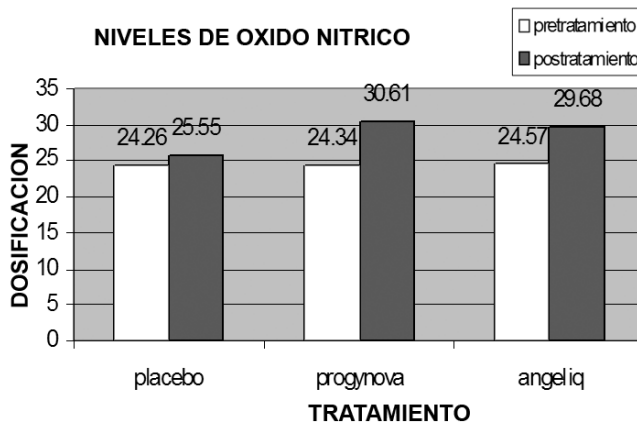
Se retiraron del estudio 12 pacientes en total, por diferentes razones que se detallan en la (Tabla 2).

Tabla 2
Motivo de abandono de tratamiento

Tratamiento	n	Motivo de abandono de tratamiento
1mg valerato de estradiol	1	Migraña
	1	Reacción alérgica cutánea
	2	Permanecieron más de 48 horas sin medicación.
Placebo	1	Gastritis
	3	Permanecieron más de 48 horas sin medicación.
	1	Sangrado genital (hiperplasia endometrial benigna)
1mg 17 beta estradiol+2mg de drospirenona	3	Permanecieron más de 48 horas sin medicación.
	12	Total

De las 30 pacientes que terminaron el estudio, no hubo diferencias estadísticamente significativas en cuanto a los parámetros de inclusión como son la edad, peso, talla, glucosa, HDL. LDL, Triglicéridos y colesterol total. (Tabla 1).

La media total de los valores basales de Oxido nítrico no fue diferente entre los tres grupos estudiados (P>0.05). Al finalizar los tres meses de tratamiento se encontró que los valores de oxido nítrico pasaron de 24,26 a 25,54 (P = 0,81) en el grupo placebo; de 24.34 a 30.61 (P = 0,18) en el grupo de 1 mg de valerato de estradiol y en el grupo de 1mg 17 beta estradiol mas 2mg de drospirenona el valor de oxido nítrico paso de 24.57 a 29.68 (P= 0,24)). Tabla 3.



Ninguna de las variables control estudiadas demostró correlación con los niveles de óxido nítrico.

Discusión

Estudios biológicos in Vitro y estudios clínicos han demostrado importantes beneficios de la terapia hormonal sobre la respuesta endotelial y el riesgo cardiovascular, sin embargo, estudios aleatorizados doble ciego y epidemiológicos realizados con un tipo específico de terapia de reemplazo hormonal han demostrado incrementos de los riesgos relativos de morbi-mortalidad cardiovascular.

El oxido nítrico protege los vasos sanguíneos de la injuria endógena, previene la adhesión plaquetaria, leucocitos y monocitos en la pared vascular, modula la interacción leucocito-endotelio alterando la expresión de moléculas de adhesión, inhibe la proliferación y migración de las células musculares lisas vasculares.

Elevaciones sostenidas de angiotensina II y aldosterona inducen reactividad vascular anormal y respuesta de barorreceptores provocando disfunción endotelial, stress oxidativo, generando

fibrosis orgánica e inhibición de la eONS a través de un mecanismo dependiente del receptor mineralocorticoideo . Los efectos deletéreos de aldosterona sobre el sistema vascular son la retención de sodio y agua con pérdida concomitante de potasio y magnesio, de esta manera elevan la tensión arterial y producen disfunción endotelial. La Drospirenona disminuye los efectos de aldosterona sobre SRAA, al bloquear al receptor de aldosterona aumentando la eliminación de sodio y agua y disminuyendo el peso corporal y la tensión arterial, al no poseer actividad androgénica no antagoniza los efectos benéficos del estradiol sobre los lípidos y la combinación de 17 beta estradiol más drospirenona se han asociado con efectos favorables sobre el colesterol total, LDL y HDL. Simoncini en estudios realizados con células endoteliales humanas cultivadas y sometidas a inducción de ONs con diferentes terapias tales como: estradiol solo, estradiol mas progesterona y estradiol mas acetato de medroxiprogesterona, observo una elevación significativa de la inducción de óxido nítrico endotelial sintetasa (eONS) en el grupo de estradiol y una inducción parecida en el grupo de estradiol mas progesterona, evento que no fue observado en el grupo de estradiol mas acetato de medroxiprogesterona, observaciones que permitieron intuir que la progesterona no interviene en la función de protección cardiovascular realizada por los estrógenos mediante la inducción de óxido nítrico endotelial, estos trabajos dieron lugar a recientes estudios realizados por A. Genazzani en células endoteliales humanas cultivadas que fueron sometidas a Inducción diferencial de eONS con progesterona, Drospirenona, acetato de medroxiprogesterona quien observó que drospirenona al igual que progesterona incrementaba la inducción y actividad de (eONS), actividad que no se observo con acetato de medroxiprogesterona lo que sugiere que las progestinas que posean un perfil farmacológico similar a progesterona, tendrán menor efecto deletéreo sobre el aparato cardiovascular. El presente estudio preliminar no demostró elevaciones significativas en los niveles de óxido nítrico con las pacientes que recibieron estradiol a diferencia de publicaciones previas.^{2, 3, 4, 5, 6} Como era de esperarse el grupo placebo fue el grupo que menos cambios demostró sin embargo la tendencia de elevación del óxido nítrico fue evidente en el grupo de estradiol lo que puede atribuirse a que el n era muy pequeño, posiblemente al aumentar el n esas diferencias podrían ser más manifiestas. Con la combinación de estradiol más drospirenona también se presentaron elevaciones no significativas de óxido nítrico en relación con el grupo de estradiol, pero con una tendencia diferente a la observada en el grupo placebo; lo que nos sugiere que si se realizan estudios con n mayores se podría confirmar que la combinación de 17 beta estradiol mas drospirenona produce elevación de los niveles de óxido nítrico, no diferentes de los obtenidos con estradiol solo.²¹

Conclusiones

No hubo diferencias significativas en los incrementos de ON

entre los grupos que recibieron estradiol solo (25.7%) o estradiol más drospirenona (20%). Por tanto la combinación de Estradiol + Drospirenona no desmejora los cambios que sobre ON puede inducir Estradiol en las pacientes posmenopáusicas estudiadas. El presente estudio corrobora las observaciones in Vitro realizadas previamente por Gennazzani, es necesario realizar trabajos posteriores con una n más grande, doble ciego que confirmen los resultados, y demuestren si estos efectos son secundarios a la interacción con los receptores mineralocorticoideos.

Conflicto de interés:

Auspicio parcial de Bayer Schering Pharma.

REFERENCIAS

1. Kalantaridou SN, et al. Impairs endothelial dysfunction in young women with premature ovarian failure. Normalization with hormone therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(8):3907-13
2. Carr Mc. Et al. The emergente of the metabolic síndrome in menopause. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(6):2401-11.
3. Davinson S. et al. New Markers for cardiovascular risk women: impact of endogenous status and exogenous postmenopausal hormona therapy. *J Clin Endocrinol Metabo* 2003;88(7):3005-10.
4. Kin-Chuen L, et al. Estrogen Regulation of Growth Hormone Action. *Endocr. Rev.* 2004; 25: 693 -721
5. Pfeilschifter J, et al. Changes in Proinflammatory Cytokine Activity after Menopause. *Endocr. Rev.*, Feb 2002; 23: 90-119
6. Kesim MD. Nitric oxide in postmenopausal women taking three different HRT regimens. *Maturitas* 2005; 50(1): 52-7
7. Arzumanian V, et al. Mechanisms of nitric oxide synthesis and action in cells. *Medicina* 2003;39(6):535-41 ISSN:1010-660X)
8. Bjornstrom L, et al. Mechanisms of the estrogens receptors: genomic and non-genomic action. *Molecular Endocrinology* 2005;19(4):833-42
9. Braz J. Effects of estrogen on the vascular system. *J Med Biol Res* 2003;36(9):1143-58
10. Sitges M, et al. El estradiol potencia la vasodilatación dependiente del endotelio a través del ON. *Revista Española de Cardiología* 2001;54:990-96
11. Luiking YC, et al. Isotopic investigation of nitric oxide metabolism in disease *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2003; 6(1):103-8 *Neuroscience.* 2002; 114(1):111-22
12. Rogers SC; Detection of human red blood cell-bound nitric oxide *Biol Chem.* 2005; 280(29):2672-80
13. Hannu Jokela, Prasun Dastidar, Riikka Rontu, Anne Salomäki, Klaus Teisala, Terho Lehtimäki and Reijo Punnonen. Effects of Long-Term Estrogen Replacement Therapy Versus Combined Hormone Replacement Therapy on Nitric Oxide-Dependent Vasomotor Function *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* Vol. 88, No. 9 4348-435. ABSTRACT.

14. Armas AH, et al. Increased serum levels of nitric oxide metabolites among users: a possible role in progestin-induced bleeding. *Human Reproduction* 2005;20(1): 302-6
15. Kulh H. Vascular effects of gestagens: biochemistry versus epidemiology. *Zentralbl Gynakol* 1999;121(2): 67-78
16. Chataigneau T, et al. Tratamiento crónico con progesterona y no con medroxiprogesterona reestablecen el control endoteiál del tono vascular en arterias mesentericas de ratas. *Menopause* 2004;11(3):255-263
17. Perusquia M. Vasodilating effect of norethisterone and its 5 alpha metabolites: a novel nongenomic action. *Eur J Pharmacol* -2003; 475(1-3):161-9
18. Welter BH, et al. Membrana-bound progesterone receptor expression in human aortic endothelial cells. *J Histochem cytochem* 2003;51(8):1049-55
19. Zha YP, et al. Effect of estrogens y progestogen on nitric oxide content in rat endometrium. *Di Yi Jun Yi D Xue Xue Bao* 2003;23(3):283 ISSN:1000-2588 China
20. Chu HP, et al. Estradiol and progestines regulate the ON-GMPc vía in the hypothalamics cell in ratas. *Endocrine* 2004;24(2):177-84
21. Moems AL, et al. Flow Mediated Vasodilatation. A Diagnostic Instrument or an experimental Tool? *Chest* 2005;127(6):2254-63
22. Kelm M. FMD in human circulation: diagnosis and therapeutic aspects. *Am J Physiol* 2002;282:H1-H5
23. Ylikorkala O, et al. Drospirenone, a progestine with a unique cardiovascular profile, for safe contraception and treatment of menopausal symptoms. *Climateric* 2005;8(3):1-3
24. Oelkers W. Drospirenone, a progestogen with antiminerlocorticoid properties: a short review. *Mol Cell Endocrinol* 2004;217(1-2):255-61
25. Rubig A. Drospirenone: a new cardiovascular active progestin with antialdosterone and antiandrogenic properties. *Climateric* 2003;6(3):49-54
26. Sitruk W. et al. Pharmacology of different Progestogens: the special case of case of drospirenona. *Climateric* 2005;8(3):4-12
27. Tanko LB, et al. Effects of 17(beta)-oestradiol plus different doses of drospirenone on adipose tissue, adiponectin and atherogenic metabolites in postmenopausal women. *J Internal Medicine* 2005;258(6):544-53
28. Archer DF, et al. Long term safety of drospirenona-estradiol for hormone therapy. *Menopause* 2005;12(6):716-27
29. White WB, et al. Antihypertensive effect of drospirenone-estradiol, a novel hormone treatment in the postmenopausal women with stage 1 hypertension. *Circulation* 2005;112(13):1979-84
30. Jokela H, *J Clin Endocrinol Metab* 2003
31. Mueck AO. *Curr Med Chem Cardiovasc Hematol Agents* 2004
32. WHI. *JAMA* 2002;288:321-33
33. Grady D, et al. HERS II. *J Am Med Assoc* 2002;288: 49-57
34. Million Women Study. *Lancet* 2003; 362: 419-27
35. Dra. Cristina Arranz. Disfunción endotelial en la HTA. *Boletín del Consejo Argentino de H.T.A. - Enero-Marzo - 2006*
36. Prof. Dr. Alcides A. Greca. Redescubrimiento de la aldosterona..Publicación digital de la 1ra Cátedra de Clínica Médica y Terapéutica. © 2006 Clínica-UNR.org.
37. Oylkorkala. Drospirenone, a progestin with a unique cardiovascular profile for safe contraception and treatment of menopausal symptoms. *Climateric* 2005; (suppl 3): 1-3.
38. (Hypertension. 2006;48:165.) © 2006 American Heart Association, Inc
Molecular Mechanism of the Inhibitory Effect of Aldosterone on Endothelial NO Synthase Activity . Daisuke Nagata; Masao Takahashi; Kuniko Sawai; et al.
39. A. R. Genazzani, P. Mannella and T. Simoncini. Drospirenone and its antialdosterone properties. *Climacteric*. 2007;10(Suppl 1):11-18
40. Simoncini T, Mannella P, Fornari L, et al. Differential signal transduction of progesterone and medroxyprogesterone acetate in human endothelial cells. *Endocrinology* 2004;145:5745-56.
41. A. R. Genazzani, P. Mannella and T. Simoncini. Drospirenone and its antialdosterone properties. *Climacteric*. 2007;10(Suppl 1):11-18