

CONFERENCIAS

CONFERENCIA - I

INFLUENCIA DE LOS FACTORES SOCIO-ECONOMICOS Y CULTURALES EN LA PRÁCTICA DE LA REPRODUCCION ASISTIDA EN EL MUNDO

DR. FERNANDO ZEGERS-HOCHSCHILD

Afiliación Unidad de Medicina Reproductiva, Clínica las Condes, Registro Latinoamericano de Reproducción Asistida (RLA), International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART)

El acceso a servicios y tratamientos de infertilidad son resultado de políticas de salud que derivan de condiciones socio-económicas, políticas y religiosas. Si bien existe una gran diversidad en el acceso y calidad de servicios de infertilidad ofrecidos en algunos países desarrollados, las diferencias más grandes se producen entre países desarrollados y aquellos en vías de desarrollo. En general, una proporción muy pequeña de la población mundial tiene acceso equitativo a tratamientos de infertilidad de alta complejidad. Esta inequidad se ve con mayor intensidad en países en vías de desarrollo e invariablemente se traduce en frustración y en conflictos sociales.

En países en que los tratamientos de infertilidad están garantizados por ley, como parte de un derecho sexual y reproductivo, como son la mayoría de los países de Europa, Australia e Israel, las personas tienen acceso igualitario a tratamientos eficientes y seguros; independientemente de su condición social o económica. Cuando el estado garantiza este derecho, fija ciertas reglas como por ejemplo, el límite de edad para acceder a tratamientos de infertilidad, así como el máximo número de embriones que pueden ser transferidos en tratamientos de reproducción asistida. De esta manera, los gastos incurridos por el estado en los tratamientos de fertilidad se ven compensados por una economía en la etapa neonatal, al evitar los altos gastos adscritos al manejo de la multigestación.

Cuando el acceso a tratamientos de infertilidad no es parte de políticas gubernamentales, como es el caso de países en Las Américas y Medio Oriente, las personas que pueden acceder a tratamientos complejos son aquellas con capacidad económica personal o poseedores de seguros de salud que acepten colaborar con este tipo de tratamientos. En este escenario, es el mercado quien regula el acceso a tratamiento. Como consecuencia directa de lo anterior, al no existir regulaciones en la manera de efectuar los procedimientos (numero de embriones a transferir, edad límite en el acceso a tratamiento, etc.), los gastos neonatales derivados de los partos múltiples se elevan y a diferencia del financiamiento del tratamiento propiamente tal, los costos del embarazo, parto y los costos neonatales son financiados por los sistemas de salud públicos o privados.

Factores que afectan el acceso a Técnicas de Reproducción Asistida (TRA)

Anualmente, entre 800 y 900,000 ciclos de TRA son reportados por 54 países al International Committee for Monitoring ART (ICMART). Un 50% de los procedimientos se realizan en Europa, 18% en USA, 22% en Asia y sólo un 3.1% en latino América. Muchos hechos pueden explicar las marcadas diferencias en la contribución regional al registro mundial. En esta presentación se

Examinará la influencia de tres factores:

1- Factores socio-económicos.

Países desarrollados y con acceso libre o con un reembolso mayor a un 70% de los costos, realizan entre 1000 y 2000 ciclos de TRA por millón de habitantes. En esta condición están Australia, Israel, Dinamarca, Suecia, Finlandia, Francia y Bélgica entre otros. Si bien la mayoría pertenecen a Europa, Australia e Israel tienen políticas socio económicas semejantes en relación a salud reproductiva. Países desarrollados pero que no tienen políticas de reembolso en los gastos en salud reproductiva como Japón y USA , realizan 890 y 357 ciclos por millón de habitantes respectivamente. Una situación extrema está representada por países en vías de desarrollo en Latinoamérica donde el numero de ciclos fluctúa entre 50 y 150 ciclos por millón. Igualmente, en Egipto y la mayor parte de los países del Medio Oriente donde tampoco hay reembolso, el número de ciclos no excede 113 por millón de habitantes.

Dado que diferentes regiones poseen estructuras etáreas de la población que difieren mucho, es preferible calcular el acceso, dividiendo el número de ciclos de TRA realizados en cada país, por el número de personas que

teóricamente requerirían tratamiento (Mujeres entre 20 y 44 años, asumiendo 10% de infertilidad, y 30% de ellas requiriendo tratamientos de TRA). Al hacer este cálculo, Israel cubre el 70% de su requerimiento teórico, seguido de Dinamarca, Suecia y Australia con 40 a 50%. Sorprendentemente, USA, el país con mas riqueza, cubre tan sólo un 7% de su necesidad teórica, Argentina un 3% y Brasil y Chile un 1% de las necesidades en mujeres en edad reproductiva.

Desde una perspectiva de políticas económicas, la mas grande diferencia entre países con alto o bajo acceso a salud está dado por la proporción del gasto en salud que se usa en políticas públicas respecto a gasto privado. Países con alta cobertura como Francia, Dinamarca, Suecia y Australia, destinan entre un 8 y 11% de su GDP en salud. De esta cantidad, 70 a 80% se destina a gasto público. Desde otra perspectiva de políticas de salud, USA destina 15.2% de su GDP a salud, pero sólo un 45.8 va destinado a gasto público; la mayoría se destina a gasto privado. Argentina destina un 10.1%, Chile un 5.3 y Brasil un 7.5% de su GDP a salud. En estos tres países, la distribución del gasto en salud sigue el modelo de mercado de USA, es decir, la mayor parte del gasto en salud se dirige al gastó privado y un menor porcentaje a gasto público. Lo mismo ocurre en Egipto y Jordania.

Modelos socio-económicos que reconocen acceso a salud como parte de los derechos de la población, coinciden con un mayor y mejor acceso de la población a tratamientos de infertilidad. Independientemente de la etnia o localización geográfica, las técnicas de Reproducción Asistida son usada con mayor prevalencia en países que favorecen el acceso como parte de programas de salud pública.

Cabe preguntarse si el acceso universal a TRA es exclusivamente el resultado de factores sociales o ideológicos. La situación no es así. En países como Bélgica, uno de los últimos en Europa en implementar acceso universal a TRA, ello fue el resultado de un ejercicio económico en que se calcularon los gastos neonatales derivados de la multigestación y partos prematuros asociados. Se demostró que al eliminar los partos múltiples, las economías logradas en el embarazo, parto y etapas neonatales lograban cubrir los gastos de tratamiento de TRE. Así, la ley promulgada en 2003, determina un cierto número de procedimientos de TRA gratuito para toda la población siempre que se evite la multigestación priorizando la transferencia electiva de un embrión y poniendo límites de edad para acceder a TRA con gametos autólogos.

Así, la cuestión de los derechos sexuales y reproductivos no son un elemento más en la aplicación de políticas sanitarias. Muchas veces lo que parece mas costoso, bien administrado genera economías sustanciales.

2- Factores demográficos y otros prioridades de salud sexual y reproductiva influyen en el acceso a tratamientos de infertilidad.

La mediana de la edad de las mujeres para el año 2006 en países como Francia Inglaterra, Dinamarca y Suecia, fluctúa entre 39.8 a 41.5 años. En Japón, la mediana es 44.3 años. A su vez, en esos países, el Crecimiento Poblacional Anual entre los años 2005 a 2006, fue de 0.2 a 0.6%; con la excepción de Japón que muestra el menor crecimiento con una tasa de sólo 0.1%.

En Latinoamérica, países como Argentina y Chile comparten una edad de la mujer entre 29.9 y 30.8 respectivamente. Perú, México y Brasil fluctúan entre 24.8 y 27.9 años. De igual manera, las tasas de crecimiento poblacional fluctúan entre 1 y 1.3%. Así, los países mas desarrollados de Europa requieren de políticas pro-natalidad y ello es consistente con la alta cobertura de los tratamientos de fertilidad en sus poblaciones. Por otra parte, Latinoamérica y Medio Oriente poseen una población femenina mucho mas joven y una tasa de crecimiento mayor. Coincidentemente, en estos países, las parejas infértiles son dejadas de lado como problema de salud.

Al examinar estos dos extremos demográficos y poblacionales, parece evidente que en los países Europeos y Japón, enfrentan problemas de país y sus soluciones son globales. En Latino América los problemas de un 10% de la población joven no parece tener eco en la sociedad como un todo.

3- factores culturales y religiosos influncian a legisladores y consumidores en el desarrollo de prioridades reproductivas.

Se hace difícil ponderar la influencia de las religiones, la tradición y la cultura en la aplicación de leyes que regulen la salud reproductiva. Las dificultades no se encuentran sólo en la imposición de una moralidad particular de una religión. Muchas veces, los poderes económicos y legislativos de un país se encuentran íntimamente ligados a grupos religiosos que al final influyen en los procesos legislativos.

En la mayor parte de los países occidentales influenciados por la tradición Cristiana, existe separación entre los poderes de las autoridades religiosas y las autoridades civiles y legislativas. Sin embargo, el Catolicismo es la religión más opinante en lo que se refiere a salud sexual y reproductiva y su influencia la ejerce a través de los establecimientos educacionales (escuelas y universidades), medios de comunicación de su propiedad; y por cierto, los púlpitos dominicales. Esto es particularmente complejo ya que desde la encíclica *Humanae Vitae* al final de los sesenta, hasta el documento *Donum Vitae* publicado en 1987; el magisterio de la Iglesia católica es abiertamente contrario a cualesquier intervención médica o técnica que disocie el fin reproductivo del fin unitivo de la relación sexual.

La influencia del catolicismo en la aplicación de TRA es menos evidente en USA, donde se ha valorado con mayor énfasis la autonomía tanto de las parejas infértiles como de los proveedores de salud. Sin embargo la oposición del pasado gobierno de USA a la investigación en células troncales y a la clonación terapéutica fue claramente el resultado de influencias religiosas. Con la excepción de Italia, el consejo de Obispos de Europa ha tenido una actitud mucho más tolerante, frente a la anticoncepción y la reproducción Asistida. Un ejemplo es la Universidad Católica de Lovaina, Bélgica que posee un exitoso programa de Reproducción Asistida, con criopreservación de embriones, y otros programas asociados a TRA.

A diferencia del Catolicismo, denominaciones protestantes como la bautista, metodista, Luterana y Presbiteriana son mucho más liberales en lo referente a tratamientos para promover la fecundidad y favorecer el desarrollo de la ciencia reproductiva. Todo ello, en la medida que los gametos pertenezcan a los esposos y no exista intención de destruir embriones.

A diferencia de las leyes religiosas aplicadas en el mundo occidental, en la tradición del Islam, la Sharia constituye la base de la religión Islámica y además regula la vida política, pública y privada. En general, sus direcciones e interpretaciones están abiertas a ser revisadas en la medida del avance de la ciencia. En lo referente a reproducción, todos los doctores de la ley coinciden en que es un derecho legítimo de las parejas, recurrir a cualesquier método para tener hijos, siempre que esto se de al interior del matrimonio y con gametos propios de la pareja. En el Islam no se acepta ni la donación de gametos ni la adopción de bebés.

La aplicación de la tradición judía se circunscribe a las enseñanzas encontradas en el Torah, seguido de una serie de interpretaciones y tradiciones como el Talmud y otros antiguos documentos religiosos. Cuando se trata de procreación, tanto las leyes religiosas como seculares favorecen la familia y desde esa perspectiva, cualesquier forma de TRA es aceptada entre parejas casadas, convivientes, e incluso en mujeres solteras. Diferentes denominaciones religiosas Judías tienen diferentes interpretaciones, sin embargo, al final prima la libertad individual. Israel tiene el mayor número de centros de TRA per cápita y el sistema nacional de salud cubre las necesidades de su población hasta haber tenido dos nacidos vivos.

El propósito de revisar aspectos de moralidad religiosa relativa a TRA es que especialmente en países en vías de desarrollo, la tradición religiosa puede tener enorme influencia. En países influenciados por la tradición Católica, gran parte de la discusión no se centra en los derechos reproductivos de las mujeres y hombres infértiles. La discusión se centra en los así llamados derechos de los embriones, generando una suerte de dictadura de los embriones por sobre sus progenitores. La falta de pragmatismo en el enfrentamiento de realidades biomédicas y sociales hace que las discusiones públicas se detienen en conflictos valóricos que finalmente se traduce en que ningún país Latinoamericano posee leyes que regulen los programas de TRA y basado en estas mismas cuestiones valóricas, Costa Rica es el único país en que la Corte Suprema dictaminó que la TRA es ilegal en ese país.

Por el contrario, en la mayor parte de los países Europeos, prima el respeto a la autonomía de las personas. Frente a la diversidad cultural, se aplican mínimos morales que regulan las decisiones de país. Cada individuo por cierto puede recurrir a máximos morales correspondientes a sus creencias particulares, pero estas no se imponen ni son parte de las decisiones generales del país.

Influencia de la legislación en la práctica de la reproducción asistida

La facilidad o dificultad en el acceso a TRA influye en el número de embriones que se transfieren. Esto, a su vez, determina la proporción de partos múltiples con sus preocupantes resultados perinatales. En países con acceso facilitado o gratuito como Suecia y Finlandia, más del 70% de las transferencias son de un solo embrión, El 20 a 30% son transferencias de dos embriones. Como consecuencia de ello, más del 94% de los bebés nacidos son únicos. En Francia, el 80% de las transferencias son de dos embriones, un 9% de un embrión y 6% de tres

embriones. La consecuencia de ello es que un 77% de los nacidos son únicos y un 22% gemelos. Australia sigue un patrón semejante con un 83% de los nacidos únicos y 17% gemelares.

En países donde el acceso a TRA está circunscrito a los que pueden pagar de su bolsillo, la tendencia es a transferir más embriones. En USA un 32% de las transferencias son de tres embriones y un 20% de cuatro embriones. En Latinoamérica un 39% y 24% corresponden a transferencias de tres y cuatro embriones respectivamente. La consecuencia de ello es que en USA el 30% de los bebés son gemelares y un 1.1% triples. En Latinoamérica, un 35% son gemelares y un 11.6% triples. La enorme diferencia de triples en Latinoamérica respecto de USA está en gran parte dado por la reducción selectiva embrionaria en USA. De esta manera queda manifiesto que en aquellos países donde la pareja debe desembolsar grandes cantidades de dinero sin apoyo de los sistemas de salud, parece haber una necesidad de éxito rápido para lo cual se transfieren más embriones. El éxito sin embargo no considera que la mortalidad perinatal es 2.4 veces mayor en gemelos y 5.3 veces mayor en triples que en partos singles. Tampoco considera que debido preferentemente a los partos prematuros, la morbilidad neonatal es enormemente mayor en partos múltiples que en partos únicos.

Parece evidente que desde una perspectiva de salud pública, aspectos relativos a seguridad y eficacia en las TRA se encuentran mejor balanceadas en culturas que han incluido tratamientos de fertilidad como parte de sus políticas de salud.

Comentarios finales

La infertilidad es una enfermedad del sistema reproductivo que afecta a individuos y sus familias. Esta condición se ve agravada cuando debido a restricciones económicas, las parejas no tienen acceso a tratamientos eficientes y seguros.

Mujeres infértiles carentes de redes de apoyo social se hacen “vulnerables” limitando su capacidad de tomar decisiones racionales. Estas mujeres están expuestas a aceptar mayores riesgos tanto para ellas como para sus hijos/as.

En la búsqueda de bienestar para las mujeres y sus hijos/as la prevención de partos múltiples de alto orden constituye una obligación de la profesión médica

Cuando la sociedad provee servicios gratuitos o accesibles a las parejas infértiles, parte de su autonomía se pierde, sin embargo los tratamientos son más seguros, y los derechos reproductivos son distribuidos de manera más equitativa.

CONFERENCIA - 2

PROGESTAGENOS: CUAL, COMO, CUANDO

LUIS BAHAMONDES

Professor Titular de Ginecología, Departamento de Tocoginecología, Faculdade de Ciências Médicas Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, Brasil

Los progestágenos fueron introducidos primeramente en 1950 y en 1952, Carl Djerassi desarrolló la noretisterona (NET) (noretindrona) y Colton desarrolló el noretinodrel. En 1956, fue agregado mestranol al noretinodrel y fue desarrollada la primera píldora combinada. El primer compuesto, clormadinona, fue probado inicialmente en México en 1966. Esta droga fue derivada de la 17-hidroxiprogesterona, pero como causaba tumores en la mama de las perras fue retirada, así como ocurrió con megestrol. Así el interés fue focado en los derivados de 19-nortestosterona. Entre ellos están algunas píldoras de sólo progestágenos como estranos, como NET y linestrenol (LIN), sin embargo, los nuevos progestágenos son gonanos, como dl-norgestrel (NG), levonorgestrel (LNG) y desogestrel (DSG). En 1973, NET 0,35 mg/día fue la primera llamada minipíldora. Luego vino NG 0,075 mg/día. LNG fue desarrollado en 1972 y LIN 0,5 mg/día en 1970. El principal motivo para este desarrollo fue que así se evitarían los riesgos de los anticonceptivos orales combinados (ACOs) principalmente el tromboembolismo causado por los estrógenos.

El mecanismo de acción es afectando la ovulación por inhibición del pico de LH y FSH, recordando que mismo en los ACOs el progestágenos es quien da la anticoncepción y el estrógeno sólo sirve para evitar sangrado anormal. Además, los progestágenos afectan el moco cervical impidiendo la penetración de espermatozoides y

transforman el endometrio inhibiendo la síntesis de receptores de progesterona aumentando el tejido estromal y disminuyendo el número de glándulas y el edema estromal. Los progestágenos pueden ser administrados como píldoras, implantes, inyecciones y en aplicación intrauterina o intravaginal.

Orales

La minipíldora, como es llamada, es recomendada para mujeres que no pueden o no deben tomar contraceptivos con estrógenos. Así, su uso es limitado comparado con ACOs y el número de usuarias no pasa de 2 millones comparando con 100 millones de usuarias de ACOs. Estas píldoras no han sido asociadas con aumento de riesgo de fenómenos tromboembólicos. El efecto sobre las lipoproteínas, hemostasia y metabolismo de la glucosa es despreciable. Por eso puede ser usado por mujeres en riesgo de trombosis venosa o arterial o infarto de miocardio o mujeres que fuman, que son hipertensas o mayores de 40 años.

Así como los ACOs tienen beneficios, estas píldoras también. Entre los observados pueden disminuir la migraña menstrual, dismenorrea, tensión mamaria, dolor de ovulación y dismenorrea en la endometriosis. Puede también darse durante la lactancia iniciando a las 1-4 semanas post parto no afectando las gonadotropinas o el desarrollo folicular y no afecta la cantidad de leche y por consiguiente, el desarrollo del niño. La mayoría de las píldoras tienen: DSG 0,075 mg, LNG 0,03 mg, LIN 0,5 mg, NET 0,35, NG 0,075 mg o diacetato de etinodiol (AEN) 0,5 mg/día. Recordar que DSG es una pro-droga que al ser metabolizada da un metabolito activo el 3-ketodesogestrel o etonogestrel (ENG).

Durante el uso el ovario puede presentar ovulación normal, cuerpo lúteo insuficiente, desarrollo folicular sin ruptura o anovulación. Ha sido descrito ovulación en 28,6% de los ciclos con la mayoría de las píldoras, pero con DSG la anovulación llega a 97% de los ciclos. La eficacia varía entre las preparaciones con Índice de Pearl entre 0,1 y 8,0 para DSG y LIN y de 1,2 para LNG. La toma regular es esencial para garantizar la eficacia. Deben ser tomadas todos los días y de preferencia a la misma hora. El riesgo de falla aumenta con mayor peso de la mujer (>70Kg) y disminuye en mujeres mayores de 40 años. Otro problema es que la toma de ciertas drogas aumentan el riesgo de falla como primidona, carbamazepina, oxcarbazepina, topiramato, felbamato, rifampicina, griseofulvina, ritonavir e hierba de St Johns. Sin embargo, los nuevos antiepilépticos como valproato, lamotrigina y gabapentina no tienen este efecto. No ha habido informes sobre daño al feto cuando el embarazo ocurre durante la ingesta de estas píldoras. Sin embargo, como la motilidad tubaria es afectada puede haber más embarazos ectópicos (4/100 mujeres) pero a una tasa siempre menor que en mujeres que no usen nada. El efecto colateral más común es el sangrado uterino anormal, como ocurre con todos los contraceptivos con progestágenos siendo el motivo más común de discontinuación (25%), a pesar de que amenorrea también es frecuente. La persistencia de folículos ováricos es común y puede dar dolor, sin embargo, no tienen mayor significación clínica y desaparecen rápidamente.

Implantes

El primer implante fue desarrollado en 1960 con el propósito de tener un contraceptivo de larga duración, sin estrógenos y con pocos efectos colaterales. En 1975 se iniciaron los estudios en larga escala y Norplant® fue el primer implante aprobado en 1983 en Finlandia y en 1985 en Suecia. Norplant tiene seis cápsulas con LNG, Jadelle® son dos bastonetes con LNG e Implanon® es un bastonete con ENG. El otro implante disponible es un bastón con Nestorona®. El número de usuarias es estimado en 7 millones de mujeres.

Los implantes se introducen con un trocar subcutáneo en el brazo. Los que liberan LNG lo hacen a una dosis de 80 µg/día (Norplant) o 100 µg/día (Jadelle) y el LNG se puede detectar en suero 2 horas post inserción con concentración máxima a las 24 horas, reduciendo a los primeros meses y al quinto año de uso sobrando aun, al quinto año, 2/3 del LNG original. Por eso, es que pueden ser usados por 7 años a pesar de que Norplant y Jadelle son licenciados para 5 años de uso. Sin embargo, las concentraciones séricas son afectadas por el peso de la mujer, y personas con >70Kg tienen la mitad que mujeres con ≤50 Kg.

Implanon® contiene 68 mg de ENG y está licenciado para 3 años, si bien ya hay evidencia de que dura 5 años. Hay otros implantes en desarrollo como el que libera Nestorona® y que en un bastón contiene 92,7 mg del esteroide liberando 125 µg/día durando 2 años. Hay otros biodegradables como Anuelle® que libera NET.

La eficacia contraceptiva depende del mecanismo de acción ya que anovulación es muy importante. Norplant® y Jadelle® tienen un Índice de Pearl de 0-0,3 en el primer año y de 1,0 acumulado a los 5 años y con Implanon

ha sido descrito Índice de Pearl de 0,0-0,07. El riesgo de embarazo ectópico es menor que 0,5/1000 mujeres/año. La tasa de continuación ha sido de 85% al primer año y de 40-50% a los 5. Para Implanon ha sido de 60% al fin del tercer año. La principal causa de remoción es la irregularidad menstrual y la amenorrea. Otros síntomas como aumento de peso, cefalea, acné, leucorrea, tensión mamaria y cambios de humor, son menos frecuentes.

Inyectables

En 1960, el acetato de medroxiprogesterona de depósito (AMPD) fue aprobado en los Estados Unidos para endometriosis y aborto habitual. Luego fue aprobado como contraceptivo en numerosos países y en 1992 esta indicación fue aprobada en los EEUU. Se estima que 68 millones de mujeres en 114 países han usado el método y que 10 millones lo usan ahora. AMPD contiene 150 mg por ampolla IM y debe aplicarse a cada 90 días. Su principal mecanismo de acción es la inhibición de la ovulación sin pico de LH y FSH provocando hipoestrogenismo lo que lleva a la atrofia de endometrio y amenorrea. La eficacia contraceptiva es muy alta, las fallas están en torno de 0,25 por 100 mujeres/año. Es especial para mujeres que olvidan de tomar la píldora ya que sólo deben recordar cada tres meses y la eficacia no se ve afectada por peso o uso de drogas.

Sin embargo, uno de los problemas es la demora en el retorno de la fertilidad ya que en promedio, la concepción ocurre 5-7 meses post última inyección pudiendo llegar a 16 meses.

Los efectos colaterales más comunes son la amenorrea que ocurre en 70% de las usuarias a los 12 meses de uso. También puede haber sangrado irregular y manchas principalmente los 3 primeros meses de uso. Amenorrea puede ser interpretada como un beneficio para mujeres con metrorragia, dismenorrea y anemia por deficiencia de hierro. Una preocupación es el aumento de peso, sin embargo, aparentemente el mismo ocurre más frecuentemente entre mujeres con síndrome metabólico. El principal efecto es el cambio de humor, especialmente, depresión a pesar de haber sido usado con éxito en mujeres con migraña y síndrome depresión a pesar de haber sido usado con éxito en mujeres con migraña y síndrome premenstrual. También no hay evidencia de que el uso de AMPD aumente el riesgo de derrame o infarto de miocardio y el aumento de tromboembolismo es mínimo. No hay interferencia con las drogas antiretrovirales en uso en mujeres VIH positivas.

Finalmente, como durante el uso del AMPD ocurre un marcado hipoestrogenismo, existe una preocupación sobre la densidad mineral ósea (DMO) de estas mujeres con consecuente aumento del riesgo de fractura. Está bien establecido que entre usuarias actuales, la DMO es menor que entre no usuarias pero dentro de 1 desvío standard. Por otro lado, esta pérdida es reversible después de la interrupción de uso. No ha sido observado aumento del riesgo de fractura en más de 30 años de uso. Sin embargo, algunos no recomiendan el uso a menores de 16 años, que están ganando masa ósea o a mujeres con riesgo de osteoporosis o fracturas.

Sistema intrauterino liberador de levonorgestrel (SIU-LNG)

Este sistema fue desarrollado en Finlandia por Tapani Luukkainen en 1970. Se calcula que más de 20 millones de mujeres ya hayan usado este método que ya está aprobado en 120 países. Es un dispositivo en forma de T con un cilindro con 52 mg de LNG que libera 20 µg/día el primer año y 14 µg/día el quinto año del esteroide y dura por 5 años si bien ya ha sido probado hasta 7 años. La concentración del esteroide dentro del útero es 1000 veces mayor que en plasma. El principal mecanismo de acción es como efecto local, afectando el moco cervical lo que lleva a mala penetración de espermatozoides, así como las altas concentraciones de LNG afectan otras funciones espermáticas como la reacción acrosomal. También ha sido observado anovulación pero en pequeñas proporciones de mujeres.

El SIU-LNG tiene una tasa de falla contraceptiva sumamente baja, de no más de 0,1 por 100 mujeres acumulado a 7 años que son comparables con ligadura tubaria. El riesgo de embarazo ectópico es muy bajo, de 0,02% durante 5 años de uso. La tasa de continuación es muy alta entre 93 y 65% al primero y quinto año de uso, respectivamente. La principal causa de discontinuación es el sangrado anormal, spotting y dolor. También un 19% de las mujeres pueden desarrollar quistes de ovario, los cuales desaparecen espontáneamente. Además del efecto contraceptivo el SIU-LNG tiene beneficios adicionales. Puede ser usado como tratamiento de la metrorragia (con reducción del sangrado de 75% en promedio), como adjuvante en la terapia hormonal continua con estrógenos en la post menopausia, en mujeres con trastornos hematológicos, mujeres con dismenorrea, endometriosis o en mujeres VIH positivas. No hay interferencia con las drogas antiretrovirales en uso en mujeres VIH positivas.

Métodos vaginales

Los progestágenos utilizados en los anillos vaginales han sido AMP, NET, progesterona, NG, LNG, ENG, NES y norgestrienona. En los diferentes estudios los anillos han sido usados por 3 semanas con una semana de descanso. Dependiendo la dosis y el progestágeno la anovulación llega a 66% y los embarazos descritos han sido muy pocos. El mayor estudio de OMS con un anillo liberador de LNG que libera 0,020 mg/día mostró tasas de embarazo de 3,6/100 mujeres/año, expulsión de 7,1% y discontinuaciones por trastornos menstruales de 17,2% en un año. Hay que tener en cuenta que muchas mujeres no gustan de manipular los genitales y por eso la aceptabilidad puede estar comprometida.

Anticoncepción de emergencia

El principal método actualmente es con LNG a dosis de 1,5 mg en dosis única. Debe ser ingerida lo más pronto posible y hasta 5 días posteriores a un coito no protegido y previene 7 de 8 embarazos con tasas de embarazo de 0,4, 1,2 y 2,7% si tomadas a las 24, 48 o 72 horas post coito, respectivamente. Los eventos indeseables más comunes son náusea, vómitos, tensión mamaria, dolor abdominal y mareos. Está siendo evaluado el uso de 0,75 mg en mujeres que tienen coito ocasional como anticoncepción regular.

CONFERENCIA - 3

EMBARAZO Y LACTANCIA. RIESGO DE OSTEOPOROSIS

LUISA PLANTALECH.

Servicio de Endocrinología (Osteopatías Metabólicas), Hospital Italiano de Buenos Aires

Durante el embarazo y la lactancia se movilizan del esqueleto materno los depósitos de calcio para asegurar una correcta mineralización del esqueleto fetal y la producción de leche. Estos cambios están regulados por diferentes sistemas hormonales. La pérdida acumulativa de calcio de este periodo se estima en el 6% del contenido mineral total del esqueleto materno.

Se transfieren 30 gr de calcio de la madre al hijo en forma activa durante la gesta (tercer trimestre). Este suministro proviene del tejido óseo materno y de la intensa absorción intestinal de calcio que está duplicada desde los primeros estadios del embarazo. La excreción urinaria de calcio se incrementa a partir de la 12° semana debido al aumento de la filtración glomerular, la "hiper" absorción de calcio intestinal y la secreción de calcitonina. El calcio iónico se mantiene en niveles normales, la calcemia total disminuye debido a la hemodilución del embarazo. Se considera que existe un estado de *hipercalcia fisiológica*. La prolactina, la hormona lactógena placentaria, el calcitriol (metabolito activo de la vitamina D) y la hipertrofia intestinal son los factores determinantes de esta adaptación. La PTH (hormona paratiroidea) desciende durante el embarazo y la PTHrP (péptido relacionado a la PTH) se incrementa. Esta hormona procede de la placenta y las mamas y es activa en el transporte transplacentario del calcio, la síntesis del calcitriol y la resorción esquelética. El calcitriol, se incrementa a partir de la 12° semana y desempeña un papel determinante en la absorción intestinal de calcio. La "hiperabsorción intestinal" de calcio y la elevación de la calcitonina circulante equilibran la pérdida ósea materna inducida por PTHrP y otras hormonas.

La remodelación ósea es muy activa durante el embarazo especialmente en el 3° trimestre reflejada por los marcadores bioquímicos de formación y resorción. Estudios con biopsias dan cuenta de un incremento en la resorción ósea

La valoración con densitometría ósea (DMO) convencional tiene el inconveniente de la irradiación fetal (rayos X). Es por ello que hay pocos estudios. Algunos fueron realizados en mujeres con embarazos asistidos a quienes se les efectuaron DMO antes y luego del parto comprobándose pérdida de masa ósea. En otras investigaciones se utilizó la ultrasonografía del calcáneo que permitió la evaluación durante toda la gesta y se comprobó disminución del tejido trabecular especialmente en el 3° trimestre.

La lactancia presenta otras variables en la regulación del calcio esquelético materno. Se verificó incremento en rango normales altos del calcio iónico, del fosfato y disminución crítica de la calciuria. La madre que amamanta

se encuentra en un estado de **hiperprolactinemia e hipoestrogenismo**. La prolactina libera PTHrP, el hipoestrogenismo incrementa las citoquinas IL1, IL6, TNF α que activan la resorción ósea. El PTHrP procedente de la mama es fundamental en el primer trimestre: activa la remodelación ósea, incrementa la reabsorción tubular renal del calcio favoreciendo un balance neto positivo de calcio en el LEC que se transfiere a la mama para la producción láctea. La persistencia de la lactancia se asocia a hipoestrogenismo e incremento de la actividad de los osteoclastos inducida por las citoquinas.

Se comprobó un alto remodelado óseo (marcadores bioquímicos) y descenso de la masa ósea medida por DMO en el primer semestre del periodo de lactancia. Esta pérdida se recupera ad integrum seis meses después de finalizada (al año del parto).

Durante el periodo de 3-4 meses de lactancia la madre transfiere entre 30-60gr de calcio para la producción láctea.

Osteoporosis durante el embarazo y la lactancia.

Se han descripto tres tipos de osteoporosis:

- 1- Osteoporosis asociada a fracturas vertebrales y no vertebrales (costales). Se comprueba baja masa ósea en la DMO del raquis y fémur. Se presume baja densidad ósea antes del embarazo, asociado a desbalance de los factores reguladores (PTHrP/ calcitriol), bajo consumo de calcio e insuficientes niveles de vitamina D. Suele manifestarse en el tercer trimestre del embarazo y/o en los primeros meses de la lactancia. Es poco frecuente.
- 2- Osteoporosis transitoria: se manifiesta en la/s cadera/s a veces en rodillas durante el tercer trimestre y/o el post-parto inmediato. Se trata de una manifestación regional, auto-limitada y rara, puede ser bilateral. Se describieron casos con fracturas de cadera. Se vincula a factores locales de resorción. Se diagnostica mediante RNM: el edema en el tercio superior del fémur es característico. Resuelve ad integrum en 2-6 meses.
- 3- Osteoporosis y anticoagulantes
- 4- Se observó asociación entre fracturas por fragilidad y heparina de bajo peso molecular en el 2,2 a 5% de mujeres tratadas. En el 17% se comprobó osteopenia en la DMO. Existe controversias, para algunos autores, la osteopenia se debe a la pérdida fisiológica propia del periodo de la lactancia. Se deben conducir trabajos con mayor número de pacientes con valoración pre-y post embarazo de la DMO y consideración de las variantes fisiológicas antes de concluir sobre este tema.

Multiparidad, lactancia prolongada y osteoporosis en la post menopausia

La demanda de calcio en el embarazo y la lactancia puede constituir un impacto negativo en la masa ósea materna y favorecer la osteoporosis en periodos tardíos de la vida. No hay acuerdo de los autores en la relación entre multiparidad y osteoporosis en la menopausia. En algunos trabajos se consideró que favorecía la pérdida de masa ósea y las fracturas vertebrales y de cadera; en recientes, por el contrario, los datos afirman que incrementa la DMO y previenen las fracturas por fragilidad. En un reciente estudio realizado a mujeres menopáusicas multíparas y con amamantamiento prolongado perteneciente a un país en vías de desarrollo, no se comprobó diferencias en la DMO e incidencia de fracturas entre estas mujeres y sus congéneres con menor paridad.

El esqueleto de la descendencia

Existen evidencias que el bajo consumo de calcio y vitamina D durante el embarazo favorece un bajo contenido mineral óseo de los hijos. Estas evaluaciones se realizaron en niños de 9 años cuyas madres fueron estudiadas durante el embarazo. Esta observación abre un importante capítulo en la prevención temprana de la osteoporosis.

En síntesis:

Muchos autores consideran que el esqueleto materno actúa como un sistema calcio-buffer de rápido intercambio y que conlleva una desmineralización transitoria con recuperación "ad integrum" luego del amamantamiento. Se postula que alteraciones de los mecanismos de adaptación asociados a un bajo pico de masa ósea favorecen la osteoporosis del embarazo y la lactancia. La osteoporosis regional en cadera es otra entidad que merece investigaciones. Poco se conoce sobre la incidencia de fracturas en mujeres tratadas con anticoagulantes. Se requieren importantes investigaciones para dilucidar la afectación del esqueleto en mujeres multíparas y con lactancia prolongadas. Existen evidencias que la hipovitaminosis D y la ingesta pobre en calcio durante el embarazo, favorecen un bajo contenido mineral

CONFERENCIA - 4

NUTRICION, OBESIDAD Y EMBARAZO

DR. ANDRES CALLE M.
acalle@uio.satnet.net, Quito, Ecuador

Los efectos de una nutrición no adecuada, especialmente predominante en hidratos de carbono y grasas saturadas (*fast food*), son los desencadenantes de una creciente prevalencia de población con sobre peso y obesidad. Es indudable que la economía direccionada para los alimentos es cada vez mayor y por ello la población prefiere los alimentos de menor costo, que son justamente los hidratos de carbono aquellos que predominan en la dieta de la mayoría de la población.

La nutrición en las personas adultas generalmente es valorada por la relación entre peso y la talla (índice de masa corporal: IMC), aunque aquello no indica el verdadero estado nutricional, pues la amplitud de este término implica además del ingreso de los grandes nutrientes, el ingreso dietético de vitaminas, minerales y oligoelementos, algunos de los cuáles son vitales y de alta importancia fisiológica y metabólica, como sucede con el hierro y la concentración de hemoglobina, pues fácilmente se puede encontrar poblaciones que presentan bajos niveles de hemoglobina y que pueden presentar obesidad. Así, no siempre el término nutrición está bien delimitado en el estado de salud de las personas, pues su amplitud implica no solo la presentación de un adecuado IMC, sino también la provisión de otros micronutrientes (vitaminas y oligoelementos), que cumplen funciones metabólicas determinantes en el estado de salud de un individuo.

La obesidad es un término relacionado al notable incremento del IMC. Este incremento del IMC es producto de un exceso de triglicéridos depositados en el tejido celular graso; por lo tanto es importante reconocer cómo y porqué se forman los triglicéridos y de donde provienen.

En la dieta diaria de todos los humanos ingresa almidones, los cuáles se desintegran el proceso digestivo hasta ingresar a nivel intestinal en forma de monosacáridos, especialmente en forma de glucosa. La glucosa pasa a la circulación, produciendo hiperglicemia transitoria, pues la insulina secretada por el páncreas lleva al ingreso de la glucosa al interior de la célula. Una vez ingresada a la célula, la glucosa es inmediatamente fosforilada (para perder el efecto osmótico) y forma la Glucosa -6- Fosfato, la cuál seguirá la vía de la glucólisis para buscar producir energía para el organismo (en forma de ATP). Esta energía está regulada por las actividades de cada persona, pues debemos recordar que los humanos en promedio requerimos 2200 Kcal día; 50% de esta energía sirve para el metabolismo basal y el restantes 50% es para las actividades diarias.

Si la ingesta calórica es excesiva, entonces se produce un represamiento de la los metabolitos de la glucólisis que conduce a la formación de triglicéridos. Para la formación de triglicéridos se requiere dos productos: Glicerol -3- fosfato y ácidos grasos. El Glicerol -3- Fosfato es proveniente del metabolito de la glucólisis denominado Gliceraldehído -3- Fosfato, el cuál por estar en exceso, pues la ingesta dietética fue mayor en calorías, deja de ser aldehído y pasa a ser alcohol, y de esta forma puede enlazarse con los ácidos grasos saturados, que son los que producen los triglicéridos.

Normalmente el Gliceraldehído -3- Fosfato debe seguir su camino catalítico y llegar hasta piruvato, el cuál posteriormente en forma de Acetil CoA ingresará al ciclo de Krebs, para poder producir NADH+H y FADH₂, nucleótidos que luego ingresarán a la cadena transportadora de electrones (llamada también fosforilación oxidativa), para producir agua y energía (ATP). Así, el exceso de energía ofertada (por el exceso de hidratos de carbono en la alimentación), conlleva la acumulación de Gliceraldehído -3- Fosfato y su consiguiente transformación en Glicerol -3- fosfato, el cuál espera la presencia de ácidos grasos saturados para sintetizar los triglicéridos.

A su vez, los ácidos grasos pueden ser producto del ingreso de ácidos grasos en la dieta y/o ser producto de síntesis al interior de la célula. Cuando aquellos ingresaron en la dieta (sea en forma de ácidos grasos o en forma de triglicéridos, los cuáles se desintegran en ácidos grasos para ser ingresados a la circulación), entonces se puede sintetizar los triglicéridos. Pero si aquellos no ingresaron en la dieta, el organismo los puede sintetizar cuando el exceso de glucosa ingresada en la alimentación, llega hasta piruvato e ingresa al Krebs, el cuál se detiene y permite acumular citrato, metabolito que sale de la mitocondria y se transforma en oxalacetato y acetil CoA citoplasmática. Este último metabolito es la fuente para que el organismo pueda sintetizar ácidos grasos. A su vez el oxalacetato regresa hacia Fosfoenol Piruvato, terminando en un nuevo incremento de Glicerol -3- Fosfato. ⁽¹⁾

Del análisis precedente se concluye que no es necesario el ingreso de ácidos grasos en la alimentación para poder formar triglicéridos, pues con el solo exceso de hidratos de carbono, existe una sobre oferta de Glicerol -3- Fosfato y la síntesis de ácidos grasos. Los triglicéridos formados son transportados por el plasma (unido a la proteína transportadora: quilomicrones) y depositados en la célula denominada adipocito. De esta forma podemos concluir que el sobrepeso y la obesidad constituyen la consecuencia del exceso de hidratos de carbono ingeridos (a veces incluido ácidos grasos), los cuáles llevan a incrementar el peso y su relación con la talla, llevando a un IMC superior a 24 (sobrepeso) y si es superior a 28 (obesidad).

El aumento de peso en el embarazo: normalmente una mujer gestante con un IMC = 20, debe ganar 12 Kg de peso, de los cuáles 3,5 Kg es tejido celular graso (30% del total de la ganancia de peso), el cuál sirve de reserva energética para el período de lactancia, pues esta etapa pos gestacional tiene requerimientos energéticos mayores que la gestación. Cuando la paciente brinda lactancia a su recién nacido al menos por un período de 6 meses, pierde totalmente el tejido celular graso restante del embarazo y recupera totalmente su peso anterior e incluso éste puede ser menor.⁽²⁾

Si la paciente tiene mayor peso previo a la gestación, deberá ganar menor cantidad de peso, el cuál está en relación con su peso previo (Tabla 1).⁽³⁾

Indice de Masa Corporal	Ganancia de Peso
28	- 35 %
26	- 25 %
24	- 10 %
22	- 5 %
20	12 Kg
19	+ 10 %
18	+ 15 %

Solo las pacientes con un IMC = 20 deben ganar 12 Kg de peso; las pacientes con IMC = 24, deben ganar el 10% menos de 12 Kg (10,8 Kg); igualmente las pacientes con IMC = 18, ganarán el 15% más de 12 Kg (13,8 Kg). Para una paciente que ganará 12 Kg, el crecimiento del peso debe seguir el siguiente esquema:⁽⁴⁾

Semana de Gestación	Ganancia por semana
0 a 10	0,065 Kg
11 a 20	0,335 Kg
21 a 30	0,450 Kg
31 a 40	0,335 Kg
TOTAL	11,85 Kg

En el caso de una mujer gestante, existen dos clasificaciones para identificar la obesidad:

- Obesidad previa al embarazo: en este caso, la mujer ya tiene sobrepeso y/o obesidad
- Obesidad durante el embarazo: en este caso, la paciente desarrolla sobrepeso y/o obesidad durante el embarazo.

La paciente que ingresa con obesidad a la gestación, el control prenatal debe ser riguroso en la restricción de hidratos de carbono en la dieta, pues esta paciente debe ganar menor peso (dependiendo de IMC) y en el mismo se debe considerar que la paciente ya tiene triglicéridos antes de la gestación y por lo tanto su ganancia de peso será menor. Si esta paciente no tiene control en su ganancia de peso, las complicaciones del sobrepeso gestacional aumentarán los riesgos (diabetes, polihidramnios, macrosomía, etc.).

La paciente que desarrolla sobrepeso y obesidad en el embarazo, es debido a una ingesta elevada de hidratos de carbono. El exceso de energía ingresada en la dieta, se comporta igualmente como en la mujer no gestante. Se produce sobreoferta de Glicerol -3- Fosfato e igualmente el exceso de citrato en el ciclo de Krebs, sobre oferta Acetil CoA citoplasmática, la misma que lleva a la síntesis de ácidos grasos saturados, los cuáles se enlazarán con el Glicerol -3- Fosfato, llevando a la síntesis incrementada de triglicéridos.⁽¹⁾

Es indudable que esta complicación es responsabilidad del profesional que efectúa el control prenatal, pues durante este período de control preventivo, no se ha evaluado adecuadamente la evolución del peso materno y no se ha indicado la restricción necesaria de hidratos de carbono para evitar el sobrepeso u obesidad.

Por lo general las complicaciones de la paciente con obesidad son casi similares, las mismas que están relacionadas, tanto a la madre, como al feto y/o recién nacido. Si la gestante era obesa previo a la gestación es probable que exista exceso de colesterol esterificado con ácidos grasos y por lo tanto exista ya un depósito de placas ateromatosas en el endotelio vascular.^(5,6) Si ello está presente, aunque no exista hipertensión ya manifiesta, durante el embarazo no se presentará la adecuada producción de óxido nítrico, el cuál es fundamental para producir la vasodilatación fisiológica de la gestación y por lo tanto el riego sanguíneo placentario y fetal será menor, llevando a alteraciones fetales en su crecimiento. En estos casos existe un aumento en el riesgo de Hipertensión arterial, además de un incremento del 17% de la posibilidad de desarrollar diabetes durante la gestación y el 90% de llevar a una macrosomía fetal. También está presente el riesgo de prematuridad ⁽⁷⁾ En estas pacientes el tratamiento es solo preventivo, como es efectuar un control prenatal estricto, especialmente en la dieta hidrocarbonada y su nivel de ganancia de peso.

En el caso de la mujer gestante que desarrolla sobre peso u obesidad durante la gestación, las complicaciones son las mismas que la paciente descrita previamente, pero por lo general no existe ateromatosis, siendo por lo tanto muy remota la posibilidad de desarrollar hipertensión crónica, aunque si existe mayor riesgo de presentar preeclampsia.⁽⁸⁾

Igualmente existirá mayores riesgos para desarrollar macrosomía fetal pues la ingesta excesiva de hidratos de carbono conllevará estados de hiperglicemia materna, los cuáles producen en el feto mayor insulinismo y en consecuencia la síntesis de células fetales llevarán a producir células de mayor tamaño, que gracias al contenido del agua celular, producen un feto finalmente de mayor peso, aunque no necesariamente de mayor número de células. También el incremento no controlado del peso fetal, conlleva riesgo de parto prematuro, pues la cavidad uterina tendrá sobredistensión.⁽⁷⁾

En los dos casos, la paciente con feto macrosómico llevará a un riesgo elevado de hipoglicemia del neonato, además que seguramente la vía del nacimiento será por cesárea y la cicatrización del tejido materno con seguridad será de mayor dificultad, debido al exceso de tejido graso, que facilita la infección de heridas con mayor facilidad.

Colofón:

Los aspectos nutricionales en los humanos son vitales en el análisis desde el punto de vista metabólico. El exceso de hidratos de carbono conlleva un almacenamiento de triglicéridos que alteran el IMC. Si la gestante tiene estas condiciones (ya sea antes de la gestación o durante la misma), debe tener un control prenatal estricto en los aspectos nutricionales (ingesta de hidratos de carbono), pues los riesgos se incrementan con patologías como hipertensión crónica, preeclampsia, parto prematuro, macrosomía fetal e incluso polihidramnios, además de mayor prevalencia de cesárea e infección de herida.

Rreferencias Bibliográficas

1. Boyer R. Metabolismo y Energía. En. Boyer R. Conceptos de Bioquímica. Ed. Thomson Internacional, 2000. pp411
2. Calle A. Crecimiento fetal y aumento de peso materno. En: Calle A. Gestación y Lactancia. Las deficiencias nutricionales de la mujer andina ecuatoriana. Ed. Propumed, 2003. pp161
3. Calle A. IMC y ganancia de peso Materno. En: Calle A. Gestación y Lactancia. Las deficiencias nutricionales de la mujer andina ecuatoriana. Ed. Propumed, 2003. pp205
4. Hytten FE, Leithc I. The Physiology of Human Pregnancy. Ed. Blackwell, Oxford. 1991
5. Kumari AS. Pregnancy outcome in women with morbid obesity. Int J Gynaecol Obstet, 2001; 73:101-107
6. O'Brien TE, Ray JG, Chan WS. Maternal body mass index and the risk of preeclampsia: A systematic overview. Epidemiology, 2003; 14:368:374
7. Castro LC, Avina RL. Maternal Obesity and Pregnancy outcomes. Curr Opin Obstet Gynecol, 2002; 14:601-606
8. Llurva Olivé E, Cabero Roura L. Prevención y Tratamiento de los Estados Hipertensivos en el embarazo. En: Cabero Roura L, y cols. Obstetricia y Medicina Materno Fetal. Ed. Panamericana, 2007. pp663

CONFERENCIA - 5

“INFECTION, INFLAMMATION AND FETAL DAMAGE”

GIL MOR MD, PHD

Department of Obstetrics Gynecology and Reproductive Sciences, Reproductive Immunology Unit,
School of Medicine, Yale University, USA

Viral or bacterial pandemics threats the general population; however, there are special populations which may be in a higher risk or be more susceptible to or more severely affected by infectious diseases. Pregnant women are considered to be a population group to be more susceptible to infections diseases due to its unique “immunological” condition.

Pregnancy presents many challenges for making decisions on how to treat or prevent infectious diseases. The most challenging questions includes: i) is a pregnant women more susceptible to infectious disease threats? ii) how a viral infection affect the fetus and the pregnancy outcome; iii), are profilaxis and treatment appropriate and beneficial for pregnant women.

The complexity of the immunology of pregnancy and the focus, for many years, on the concept of immunology of pregnancy as an organ transplantation have complicated the field and prevented the develop of new guidelines with clinical implications that could help to answer these and other relevant questions.

The challenge for scientist and clinicians involved in the field of reproductive immunology is to re-evaluate many of the “classical concepts”, which have not provided a clear clinical advantage and re-defined the problems and approaches for understanding the immunology of pregnancy.

CONFERENCIA - 6

ETIOPATHOGENESIS OF PCOS: HISTORICAL PERSPECTIVE

DAVID A. EHRMANN, M.D.

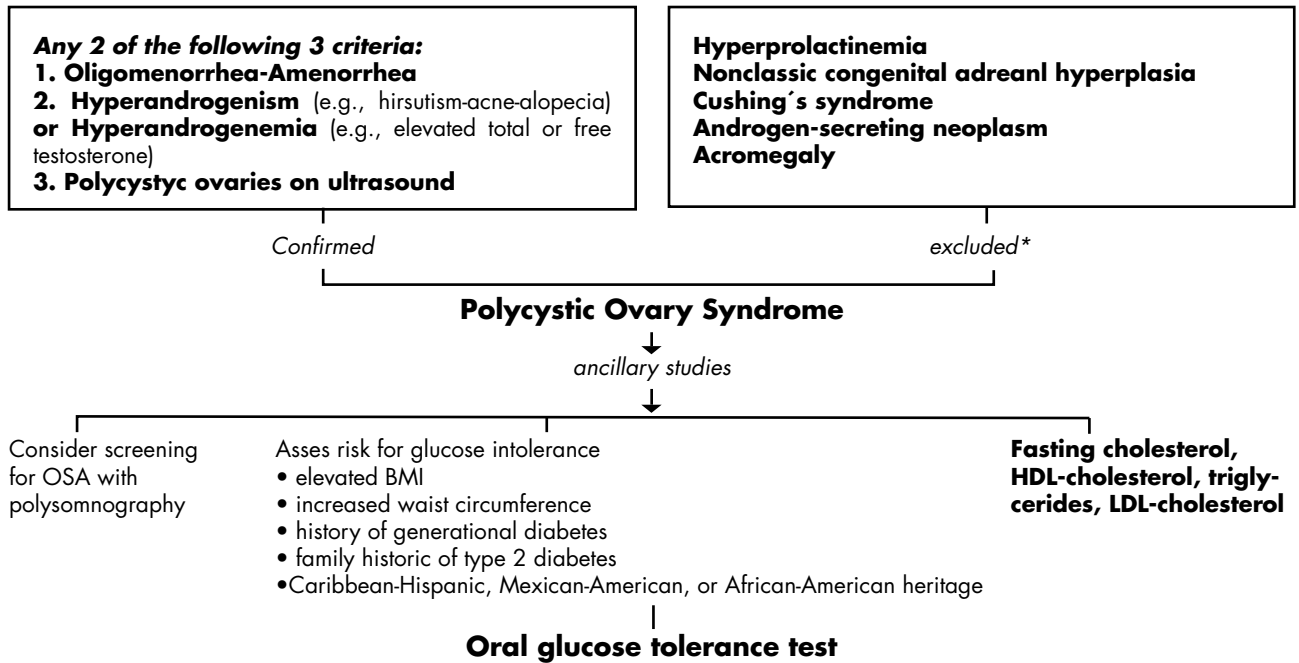
Professor of Medicine, The University of Chicago, Chicago, IL, USA

In 1935, the classic form of PCOS was described by Stein and Leventhal, who reported the association of polycystic ovaries with amenorrhea, hirsutism, and obesity. Later, increased serum LH concentrations or an increase in the ratio of LH to FSH were shown to be characteristic and became common diagnostic criteria in lieu of biopsy evidence of polycystic ovaries. More recently, hyperandrogenemia was shown to be typical and improvements in ultrasonographic techniques have made it possible to noninvasively demonstrate polycystic ovaries.

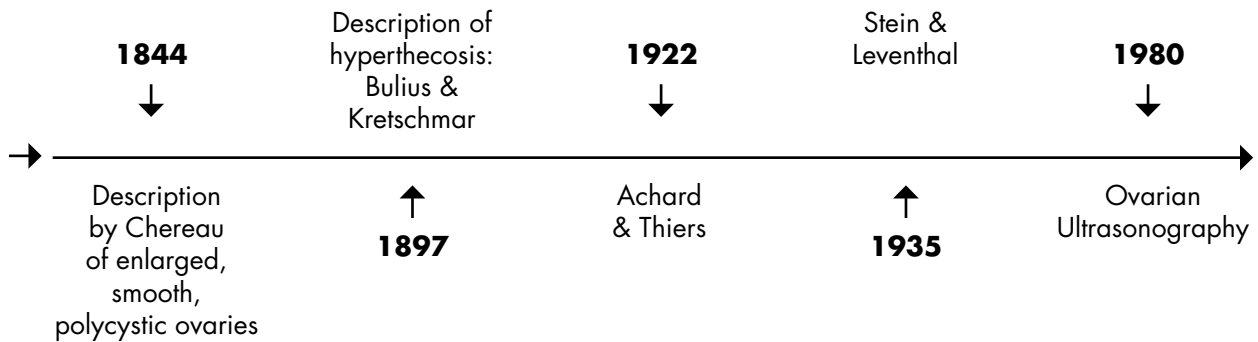
Until recently, hyperandrogenism in association with either an increased serum concentration of LH or LH:FSH ratio or polycystic ovaries on ultrasonography were the usual diagnostic criteria for what is termed PCOS. However, some women without polycystic ovaries or gonadotropin abnormalities have been considered to have the syndrome. Indeed, some investigators have required only the presence of oligomenorrhea and hirsutism to make the diagnosis. Furthermore, both women with and without the characteristic histologic or sonographic changes of the ovaries have evidence of similar ovarian dysfunction. Ovarian vein catheterization has also suggested that excessive ovarian androgen production occurs not only with but without polycystic ovaries. Recent studies have shown a characteristic type of ovarian dysfunction in classic PCOS which supports the thesis that PCOS is typically a form of functional ovarian hyperandrogenism and, conversely, that a PCOS-type of ovarian hyperandrogenism may occur without the LH or ultrasound criteria for PCOS. The most recent diagnostic criteria, the so-called “Rotterdam Criteria” for PCOS are depicted below.

It is generally agreed that PCOS/FOH is a complex genetic disorder that is likely to have a multigenic basis for its variable pheotypic expression. Indeed, evidence has emerged to support a genetic/familial basis for a number of the syndrome’s components, including hyperandrogenism, hyperinsulinemia, glucose intolerance/diabetes, and polycystic ovaries, among others.

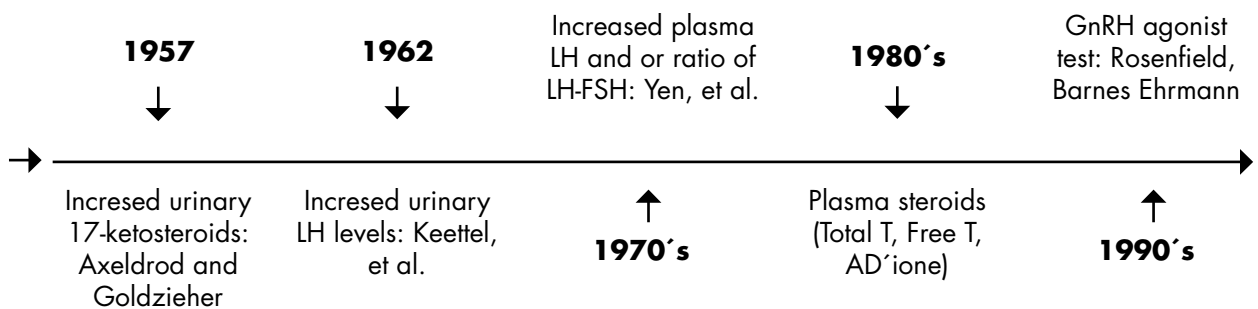
PCOS: A Diagnostic Algorithm



PCOS Historical Timeline I: Descriptive-Anatomical



PCOS Historical Timeline II: Biochemical



CONFERENCIA - 7

METFORMIN: FROM PHARMACOLOGY TO CLINICAL USE FOR WOMAN'S HEALTH

ALESSANDRO D. GENAZZANI, FEDERICA RICCHIERI, SUSANNA SANTAGNI, ERIKA RATTIGHIERI, ELISA CHIERCHIA, ANNALISA CAMPEDELLI, CHIARA LANZONI
Department Obstetrics and Gynecology, Gynecological Endocrinology Center,
University of Modena and Reggio Emilia, Italy

Introduction

Metformin is quite an old compound introduced in the clinical use in Europe in 1957 and only in 1995 in United States. Chemically speaking is 1,1-dimethylbiguanide hydrochloride, a biguanide currently used as an oral anti hyperglycemic agent for diabetes mellitus. More or less 15 years ago it has been reported for the first time that the use of metformin in a group of obese patients with polycystic ovary syndrome (PCOS) was able to reduce insulin resistance. Moreover within 6 months such treatment significantly reduced circulating androgen levels and body weight together with the occurrence of more regular menstrual cyclicity and ovulation. From that moment on, increasing evidences clearly demonstrated the importance of the use of metformin not only in presence of diabetes mellitus type 2 but also in patients with PCOS and hyperinsulinemia, resolving several issues such as menstrual cyclicity, fertility, hormonal levels and metabolic syndrome.

To better understand the clinical significance of the use of metformin, a brief review is needed to elucidate why the linkage between PCOS and this biguanide is so tight and so clinically relevant for women health.

Endocrine and metabolic disturbances of PCOS

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is one of the most frequently encountered endocrine disorders in women. It has been suggested that this condition occurs in as many as 10 percent of women of reproductive age, with onset manifesting as early as puberty. For many years there has been no agreement on the criteria on which to base the diagnosis of PCOS. This was probably a consequence of the heterogeneity of the syndrome but it also depended on the absence of pathogenetic mechanism accepted.

With the Rotterdam PCOS workshop of may 2003, at a joint meeting of the European Society for Human Reproduction (ESHRE) and the American Society of Reproductive Medicine (ASRM) new guidelines for the diagnosis of PCOS were suggested. According to these guidelines, it is possible to reach a diagnosis of PCOS when at least 2 of these 3 elements are present: hyperandrogenism (biological/or clinical), chronic anovulation and polycystic ovaries.

Ultrasonographic diagnosis of polycystic ovaries is confirmed when at least 1 of these elements: increase in ovarian size, increase number of follicles (at least 12 of 2-10 mm of diameter) and it is sufficient that only one ovary is affected. These diagnostic guidelines represent an important progress because they are more flexible and permit us to make previously excluded by the syndrome such as ovulatory hyperandrogenic women with polycystic ovaries or anovulatory normo-androgenic women with polycystic ovaries.

Clinical and biochemical markers of PCOS

Clinical features of PCOS are represented by:

1. Hirsutism interests about 30-60 % of polycystic women. Hirsutism is a symptom rather than a disease and may be a sign of a more serious medical indication, especially if it develops well after puberty, like congenital enzymatic adrenal hyperplasia, ovarian or adrenal gland tumours or Cushing's disease. The method of evaluating hirsutism is the Ferriman-Gallway score which gives a score based on the amount and the location of hair growth on a woman: a score over 8 shows a pathological situation. In PCOS we have a functional hyperandrogenism, in fact skin and pilo-sebaceous unit have specific receptors for sexual steroids and there ovarian and adrenal androgen precursors (androstenedione and DHEA) can be converted in testosterone (T).
2. Oligomenorrhea and amenorrhea or irregular bleeding occurs in about 50% of women with PCOS. In first years after menarche this alteration are not distinguished from physiological irregularity related to the incomplete

maturation of hypothalamic-pituitary-ovarian axis. After years only a little percent of young women with PCOS have regular menstruation and a lot of these have a progressive appearance of oligo or amenorrhea. PCOS women have frequently chronic anovulation that lead to infertility.

3. Anovulation is frequent in PCOS. It is due to endocrine modifications such as increase in LH/FSH ratio, increase in androgen circulatory levels, increased in follicle LH receptors expression with its consequent atresia. Most of women affected presents oligomenorrhea and irregular vaginal bleeding menstrual-like not for the ovulation occurs but for plasmatic estrogen levels drop.
4. Acne and seborrhoea are present in 25-30% on women with PCOS, and they are due to hyperandrogenism, in fact sebaceous gland is stimulated by DHEA and DHEAS. Acne is most common during adolescence for rapid increased in male sex hormones and in irregular menstrual periods or during treatment for induction of ovulation.
5. Overweight and obesity affect about 50 % of PCOS women. Obesity is a condition in which excess body fat has accumulated to such an extent that health may be negatively affected. It is commonly defined as a body mass index (BMI = weight in Kg/ height in m²) of 30 Kg/m² or higher. This distinguishes it from being overweight as defined by a BMI of 25 Kg/m². Excessive body weight is associated with various diseases, particularly cardiovascular diseases, diabetes mellitus type 2, obstructive sleep apnoea, endometrial cancer and it is an aggravating factor for PCOS, in fact fat tissue is an extra-gland source of androgen that is not controlled by endocrine system. In PCOS we tend to have android body types of obesity, with waist-to-hip ratios greater than 0,8.
6. Acanthosis nigricans interests 5-6% women with PCOS. It's a dermatological alteration characterized by thick and hyperpigmentation skin in folds, due to skin hyperstimulation by insulin and so it can be use like skin marker of hypersulinism and insulin-resistance.
7. Virilisation signs, such as temporal alopecia and clitoric hypertrophic, are rare in PCOS and are more often present in association with androgen secreted neoplasia or adrenal enzymatic defects.

The endocrine profile of women with PCOS is quite characteristic. About 50-60% of women with PCOS have a high LH/FSH ratio (over 2,5) due more to increased levels of LH rather than low levels FSH and administration of GnRH evokes an exaggerated LH response. Also LH dynamic pulsatility is abnormal and this situation induces androgen hypersecretion by theca cells. Moreover constant FSH levels are not sufficient to induce folliculogenesis and so follicles are transformed in cysts.

Hyperandrogenemia is a key feature of the syndrome: it is mainly of ovarian origin although an adrenal contribution cannot be ruled out, in fact in a percent of PCOS patients we can found also steroidogenic defects in adrenal glands, in particular in 21-idroxilasy. Most but not all women with PCOS have high plasma levels of androgens. Testosterone (T) and androstenedione are the best marker of ovarian androgen secretion and DHEAS is the best marker of adrenal secretion. The ovaries and the adrenal glands contribute equally to testosterone production in women but in PCOS the main source of androgens is from the ovaries. Dysregulation of cytochrome p450c17, the androgen- forming enzyme in both the adrenal and the ovaries, may be the central pathogenic mechanism underlying hyperandrogenism in PCOS. Moreover in hyperandrogenic patients the amount of SHBG is lower than healthy subjects since androgens reduce SHBG production from the liver. This determines a higher rate of unbound steroids, mainly androgens.

Insulin resistance and compensatory hyperinsulinemia are characteristic metabolic disturbances of many, but not all, women with PCOS. Hyperinsulinemia may be central to the pathogenesis of the syndrome for some women, since it can induce hyperandrogenism and anovulation (24). Hyperinsulinemia stimulates ovarian androgen production and decreases the synthesis of SHBG by the liver (25). Hyperinsulinemia in women with PCOS has proven to be associated with higher frequency of menstrual abnormalities than in normoinsulinemic women with PCOS (26). It has also been shown that chronic hyperandrogenism and hyperinsulinemia affect the secretion of gonadotropins in favour of increased LH, which contributes to the mechanism of anovulation (27). Insulin resistance in at least 50% of women with PCOS appears to be related to excessive serine phosphorylation of the insulin receptor. In hypersulinemic women we found also lower levels of insulin growth factor binding proteins (IGF-BP), associated with normal or higher IGF-1 levels.

Metabolism and PCOS

In PCOS patients there are an increased risk to the development of Type II Diabetes and for the development of coronary heart disease (CHD). PCOS has been linked to an increased risk of metabolic cardiovascular syndrome (MCS). Metabolic cardiovascular syndrome refers to a clustering within the same individual of hyperinsulinemia, mild glucose intolerance, dyslipidemia, and hypertension; all are CHD risk factors that are also associated with PCOS. PCOS is associated with a significantly higher odds ratio for the development of various cardiovascular risk factors and a significantly greater risk of metabolic syndrome when compared with controls. The international Diabetes Federation in 2005 has proposed the definition for metabolic syndrome, and this definition includes central obesity defined as a waist circumference > 80 cm in European women) as a necessary prerequisite risk factor for the diagnosis of metabolic syndrome. Other factors are:

- elevated triglycerides ($\geq 1,7$ mmol/l)
- reduced HDL ($< 1,29$ mmol/l in women)
- specific treatment for lipid abnormalities
- elevated blood pressure (systolic ≥ 130 mmHg or diastolic ≥ 85 mmHg)
- specific treatment or precedent diagnosis of hypertension
- fasting plasma glucose ≥ 5.6 mmol/l
- previously diagnosis of two type diabetes mellitus.

The prevalence of metabolic syndrome in polycystic women is around above 40-45% and the major predictors factor for it are elevated free serum free testosterone and reduced serum SHBG level. The association of MS with PCOS appears to be particularly strong in those PCOS women who are young (below 30 years) and overweight or obese (BMI > 27 kg/m²).

Of great relevance is the fact that the women with PCOS have an increased risk for impaired glucose tolerance (IGT) and type 2 diabetes mellitus (T2DM), with a tendency to an early development of glucose intolerance (GI) state. Similarly to the general population, there is evidence that insulin resistance may play a major pathophysiological role in the development of GI in PCOS women as well. In fact the decrease of insulin sensitivity in PCOS women appears to be quite similar to what observed in patients with T2DM and to be relatively independent of obesity, fat distribution and lean body mass.

PCOS treatment and the use of metformin

The choice for PCOS treatment depends on symptom severity, hormonal abnormalities and mainly if there is a desire to conceive. However, the overall aims of treatment are to reduce androgen levels, to induce ovulation for women desiring conception, to reduce body weight and to reduce long-term health risks of diabetes mellitus and cardiovascular disease. Endometrial protection from theoretical longer-term risks of hyperplasia and cancer is also important as well.

Infertility is typical for PCOS patients. The infertility of women with PCOS may not be due solely to oligo-anovulation, there is evidence ovulation is frequently impaired. The main principles in treating anovulatory infertility of patients with PCOS are to exclude other coexistent factors of infertility (tubal factor, male infertility), to correct any underlying disorders (obesity) and to induce regular unifollicular ovulation.

Clomiphene citrate (CC) has a long history of utility in restoring ovulation and fertility to women with PCOS and is recommended as first line treatment for induction of ovulation in patients with PCOS since it is effective, safe and easy to use. The majority of infertile women with PCOS (65-95%) achieve ovulation with CC therapy but PCOS patients most likely not able to respond to CC are those who show a high grade of hyperandrogenism and overweight.

Treatment with exogenous gonadotropin has generally been advocated as treatment for women with PCOS who either fail to ovulate or fail to conceive despite ovulation with CC. However, the number of follicles recruited and matured in any given cycle is dependent on the amount of follicle stimulating hormone (FSH) administered, the duration of stimulation and the sensitivity of the ovary. In patients with PCOS excessive response to gonadotropins and higher ovarian steroid production has been described.

These patients produce 3 times more follicles and eggs than normoovulatory women stimulated by similar protocols. Reduced fertilization and cleavage rates due to the poor quality of the retrieved oocytes have been reported in PCOS women. In addition the ovarian hyperstimulation syndrome can affect these patients and create life-threatening

condition of iatrogenic origin. For this reason low dose FSH therapy has been evaluated for PCOS patients, with satisfactory results in terms of safety and efficacy, particularly with regard to the low rate of multiple pregnancies.

In PCOS patients who don't want conception the most common treatment for hirsutism, acne or irregular bleeding is the use of oral contraceptives (OC) which suppress circulating LH and FSH leading to a decrease in ovarian androgen production. Ethinyl-estradiol (EE) of the OC favours the hypoandrogenic effect throughout SHBG. The type of progestin compound is very important. In PCOS patients an OC containing a progestin with low androgenic activity as desogestrel, gestodene or drospirenone can be used. We can use in PCOS OC alone or in combination with peripheral androgen blockers that include agents that inhibit androgen synthesis (ketoconazole), block 5 alpha reductase (finasteride), or interact with androgen receptors preventing the biological actions of androgens on their target tissues (flutamide). All have teratogenic potential, inhibiting the normal development of the male external genitalia and should be used only with secure and adequate contraceptive method.

Last but not least important is the fact that women with PCOS are frequently hyperinsulinemic and insulin resistant independently of obesity. In this regard several data support the hypothesis that insulin resistance and the associated hyperinsulinemia play a pathogenetic role in PCOS. Insulin has direct effects on ovarian steroidogenesis in vitro stimulating androgen synthesis and secretion in theca cells; it also decreases serum sex hormone binding globulin (SHBG) synthesis in the liver, increasing available androgen levels. All these insulin effects may contribute to androgen excess in PCOS women. Because these metabolic impairments are common, in addition to the use of oral contraceptives and/or antiandrogens, clinical and therapeutic approaches to PCOS have considered also the use of Insulin sensitizing agents, such as metformin. Metformin enhances insulin sensitivity in liver and muscle tissue, where it improves glucose uptake and use, with no direct effect on insulin secretion by pancreatic cells. Such treatment has been reported as effective in restoring normal gonadotropin control of ovarian function in non-obese PCOS patients, with a significant reduction of androgen excess and an increase in insulin sensitivity. In most cases reductions were seen in BMI, waist-to-hip ratio (WHR) or both, but an improvement in menstrual cyclicity was also found. Metformin and other insulin-sensitizing agents, which proved to reduce serum insulin and testosterone have been used in the treatment of hirsutism, in fact with only 3-6 months of treatment with metformin have showed a significantly reduction in Ferriman-Gallway score, but what is important is to evaluate carefully whether or not the PCOS patient would get benefit from metformin administration. The higher rate of success using metformin has been demonstrated in patients with hyperinsulinemia. Metformin and life style permits not only the recovery of ovarian function but also the reducing of body weight.

What has to be underlined is the fact that women with PCOS have a greater risk for developing type 2 diabetes. The prevalence of insulin resistance and diabetes is around 30-40% and 5-10% respectively in PCOS patients, especially if they are obese, and this is 3-7 folds greater than the normal population. The mechanisms underlying the association between PCOS and glucose metabolism impairment are not well defined and are severely affected by several situations such as fetal growth restrain and low weight at birth followed by greater increase of weight during infancy. All these features may lead to have obesity, insulin resistance and hyperinsulinemia, and, after menarche, PCOS, thus predisposing to type 2 diabetes in late adulthood. Since the incidence of cardiovascular diseases are quite high in diabetes, it has to be seriously considered that also PCOS might be exposed to such a risk, being at a higher risk for diabetes than the normal population. This fact is enforced also by the demonstration that both hyperandrogenism and impaired peripheral insulin sensitivity may increase the risk of CVD though prospective controlled data on CVD morbidity and mortality in PCOS patients has never been attently evaluated. In other words, PCOS patients have a greater risk of being seriously affected not only by diabetes but also by a higher degree of CVD and/or its precursors such as hypertension.

All these aspects are of great importance and give clear relevance to the fact that PCOS patients have greater chances to benefit from metformin administration than the normal population, especially if their insulin resistance and glucose tolerance are impaired. Such consideration is incredibly important especially when PCOS patients are seeking pregnancy. In fact, being clear that metformin helps in increasing the chance of becoming pregnant both spontaneously or during induced ovulation/FIVET programs, epidemiological data reported that PCOS patients have a risk of miscarriage, which has been computed as 3-fold greater than in normal controls. In addition, PCOS patients are likely to develop gestational diabetes in 30-40% of cases, with a higher chance than normal pregnant women.

Recent data demonstrated that metformin use during pregnancy reduced the risk of gestational DM through the reduction of preconceptual body mass (BMI), fasting insulin levels, insulin resistance. Various reports confirmed the efficacy of metformin treatment in PCOS pregnant women reducing significantly the risks of gestational diabetes and of preeclampsia. In addition, a recent metaanalysis confirmed that there is no difference in abortion risk in PCOS patients undergoing to metformin treatment before pregnancy when compared to normal population. The safety of metformin administration during pregnancy was attently evaluated and no congenital abnormalities or adverse fetal outcomes were related to metformin. Moreover no negative effects on growth, motor and social development in infants were reported when metformin was administered to PCOS women during the first months of breast feeding.

In conclusion the clinical use of metformin is suggested in women with PCOS and abnormal insulin sensitivity. Metformin induces positive modulation on peripheral tissues and permits the recovery of an optimal control of the endocrine function of the ovary as well as of the reproductive axis and in the same time creates conditions of counteracting the negative effects of hyperinsulinism, hyperandrogenism and obesity on body health.

References

- Genazzani AD, Lanzoni C, Ricchieri F, Baraldi E, Casarosa E, Jasonni VM. Metformin administration is more effective when non-obese patients with polycystic ovary syndrome show both hyperandrogenism and hyperinsulinemia. *Gynecol Endocrinol* 2007, 23: 146-152
- Gilbert C, Valois M, Koren G. Pregnancy outcome after first trimester exposure to metformin: a meta-analysis. *Fertil Steril* 2006, 86: 658-663
- Glueck CJ, Goldenberg N, Wang P, Loftspring M, Sherman A. Metformin during pregnancy reduces insulin, insulin resistance, insulin secretion, weight, testosterone and development of gestational diabetes: prospective longitudinal assessment of women with polycystic ovary syndrome from preconception throughout pregnancy. *Hum Reprod* 2004,19:510-521
- Glueck CJ, Pranikoff J, Aregawi D, Wang P. Prevention of gestational diabetes by metformin plus diet in patients with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2008, 89:625-634
- Moore LE, Briery CM, Clokey D, Martin RW, Williford NJ, Bofill JA, Morrison JC. Metformin and insulin in the management of gestational diabetes mellitus: preliminary results of a comparison. *J Reprod Med* 2007, 52:1011-1015
- Palomba S, Falbo A, Orio F, Zullo F Effect of preconceptual metformin on abortion risk in polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials.. *Fertil Steril*. 2009, 92: 1646-58
- Palomba S, Falbo A, Zullo F, Orio F. Evidence-based and potential benefits of metformin in the polycystic ovary syndrome: a comprehensive review. *End Rev* 2009, 1-50
- Pasquali R, Gambineri A, Pagotto U. The impact of obesity on reproduction in women with polycystic ovary

CONFERENCIA - 8

CYTOKINE NETWORKS AND EMBRYO IMPLANTATION

GÉRARD CHAOUAT, MARIE PETITBARAT, SYLVIE DUBANCHET, MONA RAHMATI AND NATHALIE LÉDÉE.
U 782 INSERM. 32 rue des carnets and Hôpital Antoine Béchère. 92141 Clamart France.

Implantation is a crucial step in the present limitations of Assisted Reproductive Technologies. Understanding it would be an important part in permitting a single embryo transfer policy with a high rate of success, thus limiting the pathology associated with IVF/ICSI multiple pregnancies and the associated pathology. It could also, of course, by deciphering and understanding the circuits involved in uterine tissue remodelling at implantation allow to determine key points in implantation which define the implantation window, and determine the causes of sterilities and recurrent spontaneous abortions.

One of the key issues in that context is that "immune" molecules, e.g. several cytokines with immunological functions, play a key role in Reproduction, whereas the other is that the Natural Immune system is involved

in implantation. In fact, the embryo implants in an “uterine stroma” which, at implantation, is filled with lymphocytes, essentially uterine Natural Killer cells. It should be recalled in this introduction that uNK represents a specialised subset, with low lytic capacity, differing phenotypically and functionally from peripheral blood NK cells. In fact, these cells represent up to 70% or more of the cellular content of the peri embryonic “stroma”, so that it has been said that the embryo implants in a “transient lymph node”.

Ed. paradigm, “for immunologists, ruminations about the immune system during pregnancy are mostly centred on the acquisition of maternal tolerance to the allogeneic foetus” (Moffett and Loke). This “tolerance” approach is too often used still, and creates confusion: in fact, the mother is NOT tolerant systemically –nor even, for Beer and Billingham, locally- to the paternal alloantigens in the classical sense. The discovery that “vaccination against spontaneous abortion in mice” was possible proved that immunostimulation is involved in pregnancy success, leading to the immunotrophic concept. The focus on GM-CSF, IL-3, and, with Jeff Pollard, on CSF-1 was quickly followed by Tom Wegmann 2nd paradigm, “pregnancy is a Th2 phenomenon”. We will first briefly summarize this steps by presenting data on these aspects.

However, whereas these data applied to established pregnancy, it was seen that even in such a case the Th1/Th2 paradigm was an oversimplification. We will again present the relevant data.

However, as early as 1990-1992, it was seen that there were a lot of T cells, macrophages, and INFLAMMATORY cytokines in the pre and peri implantation uterus. We will describe why implantation, as shown for example by the fact that BN5021 mediated neutralisation of inflammation and local PAF aceter production blocks implantation.

Indeed, “could there be life w/o LIF?” (Nature’s Editorial, 1992). We will show data proving that there exists a subset of women who have a lack of production of LIF (or LIF mutations) and are thus sterile, just as LIF KO mice. Turning to other inflammatory cytokines, we will show data about IL-11, and discuss the case of IL-1. We will link those cytokines, as well as TNF, to adhesion molecules and MMP production, and briefly describe the discrete cytokine balance that regulates invasion.

We will then focus on the role of Natural Killer cells, a “Janus cell”, which can either be anti implantation / cytotoxic and abortive, or be absolutely required for pregnancy. We will briefly summarize Anne Croy’s data in mice, and then turn to cytokine production in the pre implantation uterus and present the data obtained by Nathalie Ledée about IL-12, IL-15, IL-18 and uNK, the “tripod” correlated with vascular flow. We will show that BOTH absence or excess of cytokine can result in sterility correlated with abnormal blood flow

However, the presence of such cytokines requires “regulators of the regulators”. We will thus describe, in mice and human, the role of IL-23, IL-27, and TWEAK, and discuss –in mice- the emerging role of IL-35.

These inflammation phenomenon participate, apparently paradoxically, in local Treg recruitment in the peri implantation uterus, and we will describe the evidence about their role in mice and human.

Both these systems can control Natural Immunity, but can eventually be by passed by “danger” signals. We will thus in this context recall the available evidence for involvement of complement in early pregnancy loss, and give data about MBL regulation in mice and human.

Whether this is under embryo control is also a pending question. We will briefly discuss the EMBIC multicentre assay on sHLA-G. We will then recall dat by the group of Dufort on WNT beta catenin. We will end this part of the talk by presenting EMBIC data (Nathalie Ledée, Marie Pierre Piccinni) about follicular fluid G-CSF.

Data linking these events with Angiopoietin and the VEGF system will be presented in the course of this talk.

CONFERENCIA - 9

PRESENTE Y FUTURO DEL DIAGNOSTICO DE OSTEOPOROSIS

DR. JOSE RUBEN ZANCHETTA

El diagnostico de Osteoporosis esta incorporando nuevos conceptos mas novedosos. Si bien el uso de la densitometria y el T score ha ayudado mucho a clasificar , hacer universales las comparaciones y permitir el seguimiento de los pacientes, debemos saber que los datos arrojados por la densitometria son solo una parte del diagnostico de la osteoporosis. El concepto actual que se busca entender y medir es el de calidad osea. Un hueso de

buena calidad va a ser resistente a las fracturas. Este nuevo concepto que va mucho mas alla del t score incluye la arquitectura osea, las propiedades de los materiales oseos y tambien la masa osea. Como clasicos ejemplos tenemos el hueso esclerotico con gran cantidad de masa osea y excelentes valores densitometricos pero muy fragil y poco resistente a las fracturas. Hay nuevas tecnicas de imagen actualmente de uso solo en investigacion que pueden medir la microarquitectura osea, las mas importantes utilizan la resonancia magnetica o la tomografia computada con altas resoluciones. Sin embargo, el analisis de los ant personales y familiares del paciente siguen siendo el pilar fundamental del diagnostico del paciente. Esto esta resaltado en la nueva herramienta desarrollada por la OMS el FRAX que incorpora la dxa como un elemento mas del dxco pero incluye factores claves como el índice de masa corporal, el antecedente de fracturas, el uso de corticoides u alcohol entre otros factores para dar un riesgo absoluto de fracturas. Hay entonces importantes avances y cambios de paradigma en el dxco actual de la osteoporosis.

CONFERENCIA - 10

FUTURO REPRODUCTIVO EN PACIENTES CON DISGENESIA GONADAL Y SINDROME DE TURNER

DRA. INES DE LA PARRA

Servicio Ginecología Hospital Italiano Buenos Aires

Disgenesia gonadal

Las pacientes con disgenesia gonadal, presentan un número normal de ovocitos primordiales durante la vida fetal. En las pacientes con síndrome de Turner (ST), el desarrollo gonadal embriológico es normal hasta la semana 18 cuando empieza a producirse la depleción oocitaria, los cuales se hallan en la fase temprana de la pro-fase de la meiosis y continúa hasta los primeros meses y años de vida, dando como consecuencia una estría ovárica estromal sin ovocitos. En los casos de cariotipo con mosaicos hay una escasa cantidad de folículos, pudiendo las mismas presentar menarca hasta en el 12% de los casos y en algún embarazo espontáneo entre el 2-7% (Abir R 2001). Pero un tercio de estos embarazos finalizan con abortos o muertes perinatales, con anomalías cromosómicas o malformaciones.

La falla ovárica se puede presentar con cariotipo normal o anormal.

Disgenesia gonadal con cariotipo normal

- *Disgenesia gonadal para XX*
1/8000 genotipo y fenotipo normal, estatura normal
- *Disgenesia gonadal XX*
otras malformaciones
- *Disgenesia gonadal*, enfermedad mendeliana
- *Disgenesia gonadal*
Múltiples malformaciones
- Mutación del receptor FSH
- Mutación del receptor LH
- Síndrome poliglandular (mutación del gen AIRE)
- Galactosemia
- Defecto biosíntesis de ovario y suprarrenal
- Síndrome del X frágil (gen FM RI) (triplete CGC)

Disgenesia gonadal: cariotipo anormal

Las anomalías cromosómicas pueden ser de número o estructurales

Alteraciones de número

- Monosomía: X, síndrome de T (45X)
- Mosaico: 45X/46XX, 45X/47XXX, 45X/46XY
- Polisomía: 47/XXX, 48/XXXX

Estructural

Delección de cromosoma
Traslocación autonómica

Pacientes con **mosaico 45X/46XX**, el 20% menstrúan, el 18% presentan desarrollo mamario, la estatura es normal y algunas pueden tener pequeñas alteraciones somáticas del ST, pero también pueden llegar a quedarse embarazadas en forma espontánea.

Las pacientes con **polisomía 47/XXX** (1/1000 RN vivos) no presentan anomalías somáticas, pero si pueden presentar retraso de menarca y falla ovárica precoz.

Las portadoras de **48/XXXX**, tienen asociado un leve retraso mental, con disfunción ovárica y facias similares al síndrome de Down

Delección de cromosomas: la delección del brazo largo afecta la talla, la delección proximal se acompaña de disgenesia gonadal y amenorrea primaria, la delección distal el ciclo menstrual puede ser normal y el X Ring cromosoma, 100% presenta baja estatura y complicaciones en el embarazo (Petrachi F 2001)

Síndrome de Turner (monosomía del cromosoma X)

Este síndrome, es la patología más frecuente que compromete los cromosomas sexuales, es causada por la ausencia completa o parcial del cromosoma X. afecta aproximadamente a 1/2000-2500 RNV (Nielsen 1991). Presentando estas pacientes alteraciones genéticas, clínicas, endócrinas, cardiovasculares, psicosociales y reproductivas (alta tasa de aborto, prevalencia cesárea, etc)

El 50-60% de los casos hay ausencia completa del cromosoma X, hallando en un 20% alteraciones estructurales (delección isocromosoma, cromosoma X en anillo) y los mosaicos se presentan en un 20% (46XX/45X, etc.)

El diagnóstico del síndrome de Turner, lo sugiere la clínica pero lo confirma el cariotipo.

Dentro de las alteraciones clínicas que podemos encontrar sería: linfedema, malformaciones cardíacas, retardo de crecimiento (percentilo < 10), baja estatura, escoliosis, malformación árbol urinario, cúbito valgo, bradicefalea, polihamnios, oligohidramnios, riesgo de enfermedad celíaca (4-6%), sordera, tiroiditis (hipotiroidismo 24%), dislipemia, diabetes, obesidad, osteoporosis, enfermedades inmunológicas, cáncer de colon y recto.

La asociación con malformaciones cardiovasculares se presenta entre el 25-50%. Estas pueden ser: válvulas bicúspide aórtica 50%, coartación aórtica 30%, estenosis aórtica 10%, estenosis mitral 3%, prolapso válvula 5-15%. La más grave complicación es la disección y ruptura de aorta. Es importante también realizar profilaxis para prevención de endocarditis bacteriana (Gotzch 1994).

Estas pacientes presentan alta prevalencia de anticuerpos que predisponen a una enfermedad autoinmune y enfermedad celíaca, siendo necesario evaluar esto antes de planificar un embarazo.

Reemplazo hormonal mujeres con ST: se debe individualizar en cada paciente y su comorbilidad. La administración de anticoncepción hormonal por vía oral no es el esquema óptimo, ya que al requerir una semana de placebo se tiene 3 meses al año sin reemplazo hormonal. Mientras que la administración de estrógenos con esquema de terapia hormonal supletoria es la que mejora los niveles de estrógenos y volumen uterino sin generar un riesgo aumentado de incidencia de cáncer de mama. (Saenger 2001, Velazco 2006)

Inteligencia. Sexualidad y aspectos psicosociales

La inteligencia en las pacientes con síndrome de Turner en general es normal, pero en algunos casos puede presentarse con dislexia o falta de atención.

Las portadoras del cromosoma X en pequeño anillo, incrementa la prevalencia de retraso mental. En ocasiones pueden presentarse trastornos psíquicos por alteraciones físicas e infantilismo sexual, pudiendo acompañarse esto de depresión y retraimiento social (E. Cab y col 1999)

Estas pacientes, presentan desarrollo e identificación totalmente femenina. Es común en mujeres con estatura baja el retraso en el desarrollo sexual, especialmente en el síndrome de Turner.

La edad e inicio de reacciones sexuales, se desplaza y es infrecuente siendo importante el reemplazo estrogénico mejorando su respuesta estimulando la confianza en sí mismos

Probablemente el retraso sexual está más relacionado con lo psicosocial (baja talla) que propiamente en la alteración cromosómica (Mc Cunley 1993)

Futuro reproductivo. Planificación familiar

La *planificación de un embarazo* espontáneo o con reproducción asistida, debe realizarse con un equipo interdisciplinario que incluyen diferentes especialidades: psicólogos, endocrinólogos, especialistas en reproducción, genetistas, cardiólogos, perinatólogos, etc.

Antes de proyectar la búsqueda de embarazo se debe realizar una evaluación médica previa investigando: enfermedad renal, evolución tiroidea con búsqueda de anticuerpos, tolerancia a la glucosa, sistema cardiovascular, etc. (Saenger et al 2001). La presencia de defectos cardiovasculares, dilatación de aorta, hipertensión podría contraindicar el embarazo (Kamis MF 2003).

Se debe informar a la paciente que debe tener cuidado con la *actividad física* durante la gestación, lo mismo si hay embarazo pero si hay alteraciones cardiovasculares.

Mujeres con síndrome de Turner y función ovárica

Mujeres con menarca y ciclos espontáneos y en ocasiones con ovulación normal, pueden presentarse entre el 2-16%. Pero solo el 2% quedan embarazadas con embarazo espontáneo siendo estos con complicaciones.

Entre las complicaciones del 1er trimestre (14-18 semanas) lo mas frecuente es el aborto en pacientes portadoras del 45X.

En mujeres con síndrome de Turner y ciclos menstruales, deben recibir consejo de *adelantar el embarazo* por el riesgo de falla ovárica prematura. El embarazo no debe ser pospuesto sino hay razones suficientes.

Plantear la posibilidad de: criopreservación de óvulo o embrión, el riesgo de aborto espontáneo y anomalías cromosómicas. También debe informarse la posibilidad de realizar estudios genéticos prenatales (Saenger et al 2001)

Mujeres con síndrome de Turner sin función ovárica

El oocito o embrión donado será implantado en estas pacientes previa preparación del útero.

El reemplazo hormonal debe ser realizado por lo menos 3-4 meses previos a la transferencia (estradiol + progesterona), debiendo incrementarse la dosis de estradiol en ciclos previos. El endometrio en el momento de la transferencia debe ser mayor de 7mm y solamente debe transferirse un embrión por riesgo de embarazo múltiple.

En estas pacientes sería conveniente realizar una cesárea excepto que se presente un parto espontáneo por vía vaginal. Siendo importante que el dador sea anónimo.

La tasa de cesárea es alta debido a varias condiciones obstétricas propias del ST como la talla baja, que se traduce por pelvis estrecha y por lo tanto desproporción pélvica y falta de descenso de la presentación.

El factor endometrial muchas veces interfiere en el proceso de implantación siendo mas frecuente en ST (45X) que en mosaicos.

Tremendas controversias existen con el deseo de embarazo y la **ovodonación** en el síndrome de Turner, uno de los problemas importantes sería la baja tasa de implantación solo del 30-40% de embriones frescos transferidos. También existe un incremento del gasto cardíaco, teniendo un alto riesgo de disección, ruptura de aorta y muerte. (4 mujeres con ST fallecieron con ovodonación) (Beauchesme L 2001)

Este signo de alarma es importante para informar el riesgo de mortalidad materna en estas pacientes.

El riesgo de dilatación, disección y ruptura de aorta ascendente debe servir como fuerte contraindicación para indicar un embarazo. La ausencia de estos riesgos no significa que el embarazo va a estar libre de riesgo (Karmas 2001)

La malformación mas frecuente es la válvula aórtica bicúspide la cual puede asociarse o no a coartación aórtica, pueden predisponer a riesgo de muerte durante el embarazo y postparto.

Las pacientes con ST, tienen un riesgo 3 veces mayor de hipertensión arterial que las pacientes sanas.

Criopreservación de ovarios y oocitos inmaduros

La utilización de esta técnica obteniendo los oocitos antes que se produzca la regresión ovárica esta dentro de la línea de investigación, resultando promisorio en el futuro de la misma (Money 2007)

Transplante ovárico (nuevas fronteras) (Mhatea R 2005) en la India, realizada en 2 casos de ST 45XO. 2 trasplantes ováricos, siendo dadoras la hermana en un caso y en el otro la madre. En ambos casos tuvieron desarrollo folicular, menstruación y ovulación.

Anormalidad endometrial e importancia del tamaño uterino en el síndrome de Turner

Los resultados de embarazos en pacientes con ST, independientemente de la técnica usada es muy baja

Emb bioquímicos: 22.7%

Emb clínico: 4.3%

Las pacientes con deficiencia completa o parcial del cromosoma X, tienen reducido el número de embarazos clínicos con incremento de falla en la implantación de oocitos donados.

Esto puede indicar una anomalía endometrial asociada a deficiencia del cromosoma X (gen regulador de la receptividad endometrial) (Yaron Y y col 1996)

(Doer HG 2005) en un grupo de 75 pacientes con ST y edad entre 15.8 y 30.8 años las clasificaron según el cariotipo:

45X	(78.6%)
45X/46XX	(5.4%)
45X/46iXq	(8%)
45X/46XY	(8%)

Se realizó tratamiento para mejorar el tamaño uterino en 66 pacientes utilizaron estradiol y estradiol con progesterona.

Los resultados fueron los siguientes:

45X/46XX: el útero adquirió tamaño normal

45X (11 pacientes: 18.6%) el útero no aumentó lo suficiente

45X/46XY: (2 pacientes 3%) el desarrollo uterino y mamario fue incompleto

(Delbarre A y col 2002), halla, una alta tasa de abortos (40-50%) por causa de hipoplasia uterina debido a la hipovascularización que presenta el endometrio de estas pacientes que recibieron ovodonación. También observaron una alta tasa de cesárea por desproporción feto/placentaria.

Conclusión

El manejo de las pacientes con disgenesia gonadal y mas específicamente con síndrome de Turner es compleja y multifacético. El tratamiento debe estar acompañado de un equipo multidisciplinario de profesionales que incluyan: endocrinólogo, cardiólogo, nefrólogo, psicólogo, especialistas en reproducción, etc.

Es importante que la paciente y su familia estén informados en forma comprensiva acerca de este síndrome, desde el nacimiento y durante el transcurso de la vida. Deben conocer acerca de los problemas y dificultades asociadas con la disgenesia gonadal y la problemática que se plantea ante la búsqueda de la fertilidad, informando acerca de las nuevas técnicas reproductivas, pero necesariamente una importante evaluación clínica previa a estos tratamientos. En Estados Unidos existe la Sociedad del Síndrome de Turner en diferentes estados (www.turner_syndrome_us.org). ellos proveen un invaluable servicio en la información y apoyo a estos pacientes y familiares.

Pero es fundamental que todos estos pacientes con ST requieren un continuo monitoreo de la función tiroidea en el transcurso de la vida, lo mismo se sugiere que los adultos con ST deben ser monitoreados por la probable elongación aórtica, hipertensión, diabetes y displipemia (Consenso Síndrome Turner Bondy C 2007)

CONFERENCIA - 11

DIAGNOSTICO Y TRATAMIENTO DE AMENORREAS 1° POR ALTERACIONES DEL GONADUCTO

LILIANE DIEFENTHAELER HERTER¹

Professora de Ginecologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre/Brasil; Presidente da Comissão Nacional de Ginecologia Infanto-Puberal da FEBRASGO 2009/2010.

Amenorréa primária é definida como a ausência de sangramento menstrual até os 16 anos de idade.

As malformações do gonaducto são anomalias congênitas do trato reprodutivo feminino decorrentes de falha no desenvolvimento dos ductos de Müller. Tem prevalência de até 3,2% da população e apresentam etiologia multifatorial/poligênica.

Em 20 a 30% das vezes pode haver outras malformações associadas como as renais (mais comum); deformidade membros inferiores; estenose de ducto lacrimal; estenose de canal auditivo; malformações cardíacas; hérnia inguinal; ânus imperfurado e mal posicionamento dos ovários.

Distúrbio de formação, canalização, fusão ou reabsorção dos gonaductos causam alterações das tubas, útero, cérvix e vagina e podem determinar amenorréa primária em alguns casos. Malformações da placa vaginal também pode causar amenorréa primária nos casos de atresia da porção final da vagina e hímen imperfurado.

Os sintomas se manifestam, principalmente, durante a adolescência e início da vida adulta, podendo afetar a capacidade reprodutiva dessas mulheres. São agrupadas em malformações obstrutivas e não obstrutivas. Podem ser assintomáticas ou causar dor pélvica; dismenorréia; aumento do volume abdominal; amenorréia primária; hipomenorréia; dispareunia; hematometra; hematocolpo; infertilidade; endometriose, aborto e parto prematuro.

A Sociedade Americana de Fertilidade elaborou uma classificação das malformações müllerianas em 7 classes:

As malformações do gonaducto que podem causar amenorréia primária são:

- Hipoplasia uterina
- Agenesia uterina
- Agenesia cervical
- Atresia vaginal
- Agenesia vaginal
- Septo vaginal transverso
- “Hímen imperfurado”

A suspeita de malformação do gonaducto em paciente com queixa de amenorréia primária surge após a inspeção dos genitais externos, toque vaginal/retal ou realização de ultrassonografia pélvica/transvaginal. Conforme a necessidade pode-se indicar exames mais detalhados (tomografia; ressonância magnética; histerossalpingografia; histeroscopia e laparoscopia) para esclarecer a exata etiologia da malformação.

Além da investigação anatômica e hormonal, a indicação do cariótipo é mandatório quando ocorrer:

- Testosterona total elevada
- Gonadotrofinas elevadas
- Ausência de pêlos pubianos
- Sinais de virilização
- Presença de seio urogenital

As malformações müllerianas variam de paciente para paciente e sua abordagem é individual. O tratamento depende do tipo de malformação, dos sintomas e do desejo de fertilidade. Sugere-se que seja feito com especialistas e equipe multidisciplinar. O apoio emocional à paciente e à família é fundamental, pois a infertilidade e a existência de malformações ginecológicas podem causar grande sofrimento psíquico.

Em linhas gerais, pode-se sugerir os seguintes tratamentos cirúrgicos:

- Septo uterino: ressecção histeroscópica
- Septo vaginal transverso ou oblíquo: ressecção via vaginal
- Agenesia cervical: a princípio está indicado histerectomia preferencialmente por laparoscopia, pois técnicas de reconstrução da cérvix são complicadas e podem resultar em morte. No entanto, são descritos alguns casos na literatura com sucesso cirúrgico. O “útero de aluguel” poderia ser uma forma de tratamento da infertilidade.
- Septo uterino completo: ressecção total do septo uterino com metroplastia histeroscópica
- Corno uterino rudimentar acessório: remoção laparoscópica se corno for separado do corpo uterino
- Sinéquia uterina: histeroscopia seguida de estrogênio. O uso de DIU no pós-operatório não é consenso.
- Agenesia vaginal: neovagina. A melhor técnica ainda não foi definida. Depende da experiência do cirurgião e pode ser realizada por dilatação (técnica de Frank); Dilatação com molde (Téc. Frank), Enxerto de pele (Téc. McIndoe), Vulvovaginoplastia (Téc. Williams), Segmento do intestino, Técnica de Vecchiatti, Técnica de Davydov, Enxerto com membrana amniótica, Enxerto de mucosa oral.

CONFERENCIA - 12

METABOLIC ABNORMALITIES IN PCOS

DAVID A. EHRMANN, M.D.

Professor of Medicine, The University of Chicago, Chicago, IL, USA

Polycystic ovary syndrome (PCOS) affects between 5 and 8% of women making it one of the most common endocrinopathies in women. The disorder typically has its onset at puberty with evidence of excessive androgen production, obesity, and insulin resistance. Women with PCOS are more insulin resistant than weight-matched controls and have an exceptionally high prevalence of early-onset impaired glucose tolerance (30 - 40 percent), and type 2 diabetes (up to 10 percent). In addition, the rate of deterioration in glucose tolerance is accelerated in PCOS. Vascular disorders are also common in this population due, at least in part, to disordered lipid metabolism. Hypertriglyceridemia, increased levels of very-low-density lipoprotein (VLDL) cholesterol, low-density lipoprotein (LDL) cholesterol, and decreased levels of high-density lipoprotein (HDL) cholesterol are typical. While insulin resistance contributes to glucose intolerance and dyslipidemia, it has become increasingly clear that other factors must be involved in the pathogenesis of the metabolic derangements so commonly seen in PCOS.

Over the past several years, chronic decreases in sleep duration and/or quality have been identified as a risk for the development of a number of metabolic derangements that are strikingly similar to those seen in PCOS. Specifically, decreased sleep quality due to obstructive sleep apnea (OSA) has been causally linked to insulin resistance, glucose intolerance, dyslipidemia and hypertension independent of body mass index (BMI). Until recently however, it had not been recognized that OSA is present in a disproportionate number of women with PCOS: the risk for OSA is at least 5-fold higher, and perhaps as much as thirty-fold higher, compared to the risk in similarly obese women without PCOS.

It was initially thought that hyperandrogenemia or obesity are the key determinants of the high prevalence of OSA in PCOS. However, both published data as well as results of our We have found that plasma concentrations of free testosterone are virtually identical in PCOS women with and without OSA. In addition, measures of OSA severity, such as the apnea-hypopnea index (AHI), do not correlate with either the degree of androgen elevation or with body mass index (BMI) among PCOS women with OSA.

Both progesterone and estrogen reportedly “protect” against the development of OSA, and levels of these sex steroids are typically low in PCOS relative to those in normal cycling women.

OSA appears to be an underrecognized, yet significant factor in the pathogenesis of metabolic derangements in PCOS. In a recent study, we showed that measures of insulin resistance and glucose tolerance in PCOS women are strongly predicted by the severity of OSA. These intriguing findings suggest that there may be two “subtypes” of women with PCOS, i.e. those with and those without OSA, and that these two subtypes may be associated with distinct metabolic and endocrine alterations. PCOS women with OSA may be at much higher risk for diabetes and cardiovascular disease than PCOS women without OSA and may benefit from therapeutic interventions targeted to decrease the severity of OSA.

CONFERENCIA - 13

DIAGNOSTIC AND THERAPEUTIC APPROACH TO HYPOTHALAMIC AMENORRHEA

ALESSANDRO D. GENAZZANIÑ; ELISA CHIERCHIA; SUSANNA SANTAGNI;
ERIKA RATTIGHIERI; CHIARA LANZONI
Department of Obstetrics and Gynecology, Gynecological Endocrinology Center,
University of Modena and Reggio Emilia, Modena, Italy

INTRODUCTION

Among secondary amenorrheas hypothalamic amenorrhea (HA) is the one with no evidence of endocrine/systemic causal factors, mainly related to various stressors affecting neuroendocrine control of the reproductive axis. The disappearance of menstrual cyclicity is related to a dysfunction of hypothalamic signals to the pituitary gland, resulting in a failure of the ovarian function with no ovulation.

Typically, HA is also indicated as functional hypothalamic amenorrhea (FHA) since this condition and disorder no systemic causal factors, no endocrine disease (such as thyroid or prolactin [PRL] dysfunctions), and no central nervous system (CNS) disease or lesion such as tumor or trauma. FHA occurs with a random frequency not different throughout the fertile life, as reported in a group of randomly sampled postmenarcheal women. In fact, this disorder is not limited to a restricted period of a woman's reproductive life but may occur at any age.

NEUROENDOCRINE DISORDERS IN MENSTRUAL CYCLICITY.

In clinical practice, HA is mainly associated with metabolic, physical, or psychological stress. Stress is the adaptive response of our body through all its homeostatic systems, to external and/or internal stimuli that activate specific and nonspecific physiological pathways. FHA generally occurs after severe stressant conditions/situations such as dieting, heavy training, or intense emotional events, all situations that can induce amenorrhea with or without body weight loss. A specific correlation exists between loss of weight and amenorrhea when loss of weight is below a critical point and the ratio between fat and muscular mass is severely reduced, and loss of menstrual cyclicity is a typical occurrence. In fact, after dieting as well as during intense training of dancers or runners (excessive consumption of energies) amenorrhea is a frequent symptom. Indeed, the low ratio may be due both to high energy consumption and reduced food intake, since the best performance in athletics is also linked to an equilibrium between lean mass (i.e., muscles) and body weight, where body weight is usually kept at the lower levels. Psychological stressors such as emotional, familial, or working problems may have a negative impact on food intake. Reduced food intake can induce amenorrhea through specific metabolic signals, which amplify the stress response to fasting. Associated with psychological stressor(s) recorded as heavy negative event(s), many patients often show affective disorders (neuroticism, somatization, anxiety) and this mix of situations leads to the disruption of the hypothalamus-pituitary activity controlling the ovarian function. These cascades of situations negatively affect gonadotropin-releasing hormone (GnRH) release and the reproductive axis, activating or inhibiting hypothalamic and/or extra-hypothalamic areas in the brain as well as acting in the periphery. In particular, one of the key events of this modulatory action is played by neurotransmitters and neuropeptides produced in the central nervous system. The central nervous system (CNS) and networks are sensitive to external and internal environmental change (light-dark cycle, temperature), as well as to cognitive, social, cultural, and emotional events. Each of these signals may become stressor agents when acute changes occur, and through integration with the hormonal signals they can stimulate while adapting responses.

On the basis of what has been described above, the ovarian failure typically occurring in patients affected by HA represents the adaptive mechanism to stress, so that the reproductive axis activity is reduced/blocked. Such a blockade of the reproductive function is reversible but it occurs in such critical conditions that reproduction is not considered essential for the survival of those women. Poly- or oligomenorrhea are some intermediate steps that can anticipate the occurrence of the amenorrheic condition, which is the last and worst stage of this clinically adaptive response to stress.

PHYSIOPATHOLOGY OF STRESS-INDUCED HYPOTHALAMIC AMENORRHEA

HA is a model of hypogonadism characterized by several neuroendocrine aberrations that occur after a relatively long period of exposure to a repetitive and/or chronic stressor(s) so as to affect the neuroendocrine hypothalamic

lamic activity as well as the release of several hypophyseal hormones. The reproductive axis is severely altered in these patients and both the opioid and dopaminergic systems have been proposed as potential mediators of stress related amenorrhea in humans. The common response to stressors is the increase of adrenocorticotropin hormone (ACTH) and cortisol plasma levels that activate lipolysis and glycogenolysis-like compensatory mechanisms. In animals it has been demonstrated that the intraventricular injection of corticotropin-releasing hormone (CRF) reduces GnRH and luteinizing hormone (LH) release. Since the corticotropin-releasing hormone (CRF) is the specific hypothalamic stimulating factor for ACTH, elevation of ACTH in response to stress is anticipated by the elevation of CRF stimulation. Evidence of a central site of action for CRF in blocking GnRH-induced LH release is demonstrated by the fact that CRF antagonists reverse the stress-induced LH decrease in rats. CRF elevation as an adaptive response to stress is also responsible for the increase of central β -endorphin (β EP) release. β EP is the most important peptide of the endogenous opioid peptides (EOPs) family and is a potent inhibitor of GnRH-LH secretion. Because of this evidence a connection has been suggested between the activation of the hypothalamus-pituitary-adrenal (HPA) axis and the stress inhibition of the hypothalamus-pituitary-gonadal (HPG) axis. Since naloxone, a specific opioid receptor antagonist, is able to counteract the CRF-induced LH secretory blockade, opioid peptides have been considered the key factors in the stress induced inhibition of the HPG axis. Moreover, the stress-induced hyperactivation of the CRF-ACTH-adrenal axis induce an exaggerated secretion of cortisol. In fact higher cortisolemia is present in patients affected by HA and negatively modulates adrenal response to stress since they have a reduced response to exogenous ACTH stimulation. Such data confirmed that though in baseline conditions the adrenal gland is overstimulated, the maximum response of cortisol to external stimuli remains the same. Clinically, this means that the adrenal gland produces a lower amount of cortisol when the stressant situation hits.

Among the hormones deeply involved in the modulation of the CNS, there are also neurosteroids. These steroids are synthesized in and/or act on the CNS and include pregnenolone, pregnenolone sulfate, allopregnanolone, dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone sulfate. Patients suffering from FHA demonstrate a high plasma levels than fertile women. When the temporal coupling between LH and allopregnanolone pulses was studied in hypothalamic amenorrheic patients no temporal coupling was observed between LH and allopregnanolone while this was present between adrenocorticotropin hormone (ACTH)/cortisol and allopregnanolone secretion. In other words allopregnanolone secretion is coupled only to a hyperactivated adrenal function in patients suffering for hypothalamic amenorrhea.

Peripheral hormonal signals, such as glucocorticoid hormones or PRL, are also activated by stress and are able to act as stress-induced hormonal signals. In fact, cortisol itself exerts a suppressive effect on GnRH-stimulated LH release and such action mainly takes place at the pituitary level but it cannot be concluded that an additional negative effect may be present in extra pituitary areas, indirectly inhibiting LH secretion. Also, PRL increases and responds to external stimuli such as emotional and physical events as well as internal rhythms such as sleep. This mechanism has been extensively studied in the rat and is mediated by the activation of several stimulating factors like thyrotropin releasing hormone, vasoactive intestinal peptide, oxytocin, or by the failure of the dopaminergic control that antagonizes prolactin. The final result of stress related hormone responses is a negative effect both on gonadotropin secretion and gonadal steroid biosynthesis.

The fact that patients suffering for FHA have low weight or exaggerated weight loss induce specific adjustment in the metabolic pathways, not only for the consistent reduction of the fat mass but for the significant reduction of insulin, leptin and NPY plasma levels. Indeed these hormones can heavily affect reproductive function since all of them are able to modulate directly and/or indirectly the reproductive axis. Insulin modulates both ovarian and hypothalamic functions, similarly to NPY and leptin, inducing direct stimulation on GnRH secreting neurons. The significant reduction of these hormones due to the consistent reduction of the fat mass (that reduces leptin synthesis) and to the low glucose availability (most of it is quickly metabolized as soon as is introduced with eating) that maintain low insulin levels, induce low NPY levels. It is interesting to remember that NPY directly modulates GnRH production through leptin mediation within the hypothalamus.

HORMONAL PROFILE IN HYPOTHALAMIC AMENORRHEA

HA is a secondary amenorrhea with reduced LH plasma levels and normal FSH plasma levels. Regarding LH plasma levels, women affected by HA are usually characterized by two possible situations: 1) normogonado-

tropinism, with LH more than 3 mU/mL, 2) hypogonadotropinism, with LH equal or less than 3 mU/mL. These are not two distinct kind of HA but just the evolution of the same HA, from normal normogonadotropic levels to hypogonadotropic levels, due to the growing blockade of the hypothalamus-pituitary function(s).

Usually, in hypogonadotropic patients, LH pulsatile secretion is characterized by a pulse amplitude significantly reduced while pulse frequency is higher than what can be observed in eumenorrheic women. In some HA patients LH pulses can only be observed during the night as in prepuberal girls. In addition, LH response to exogenous GnRH may be lower than that in women with normal menstrual cycles. These abnormalities of hypophyseal hormones secretory pattern deeply influence ovarian activity, inducing the blockade of follicular maturation and the typical condition of hypoestrogenism. In these women most of the circulating estrogens derive from peripheral conversion of androgens, especially in the muscle tissue. The hypoestrogenic condition, especially if present for several months up to 1 year, might induce metabolic consequences, affecting, in particular, specific tissues such as bone tissue. In fact, bone mass peak might be affected and reduced so that showing osteopenia may expose the patient to the risk of reduced bone mass density during fertile life and perimenopausal period, which results in a major risk of pathological fractures.

When stressant conditions are chronic, the HPA axis might be activated at higher levels for a long time interval. It can frequently be observed that in a discreet group of patients with HA there might be high and steady levels of cortisol, higher than 25 mg/L. Chronic activation of adrenal pathways determines a lower response of adrenal gland to endogenous as well as exogenous ACTH (i.e., ACTH stimulation test) in amenorrheic women than in eumenorrheic women, and this is due to the fact that in HA patients the adrenal gland is already highly activated and the adrenal response to ACTH cannot be higher than what has been observed as the maximal response. In HA PRL levels are normal or lower than in women with normal cyclicity, and this can be explained by the dopaminergic hypertone that inhibits PRL secretion. Moreover, in women with HA, and in particular in women with anorexia or with excessive restrictive feeding, hypothyroidism with low plasma levels of fT3 and fT4 and a relative increase of TSH plasma levels are frequent.

These features characterize the so-called "low fT3 syndrome" where fT3 is reduced due to the fact that "reverse" T3, the biologically inactive analogue of fT3, is produced in a higher amount. The reverse T3 is not able to induce metabolic effects on the cells and this is a defensive system, especially for patients with feeding restriction or excessive energy consumption. In addition, the thyroid gland shows that lower basal metabolism is also reduced and limits the energy dispersion for heat production. In fact, these patients typically have cooler skin and wear heavy dresses in comparison to the other (eumenorrheic) subjects.

DIAGNOSTIC APPROACH

The diagnosis is essentially based on a good anamnestic investigation. The clinical history of the patient (occurrence of menarche, menstrual cyclicity, time and modality of amenorrhea) has to be investigated. Any endocrine disease or any metabolic (i.e., diabetes) and systemic disorders are excluded and it is important to identify any stressant situation induced by loss, family or working problems, weight loss, or eating disorders, resulting from physical training or agonist activity. All these are the main causal factors of stress-induced HA. Obviously, a clinical check is important for evaluating weight and body composition, computing body mass index (BMI = weight in kg/height in m²), looking for physical signs of weight loss/anorexia like deterioration, hirsutism, hypoproteinemia, hypothermia, thin skin, and face and legs edema (these latter are induced by hypoproteinemia). It is important to exclude other kinds of amenorrhea such as hyperandrogenic amenorrhea (the signs are acne, hirsutism, seborrhea), hyperPRL (the signs are galactorrhea, cephalalgia), and visual disorders (that lead to the suspicion of pituitary micro/macro adenomas). It is of relevance the evaluation of the hormonal profile in the baseline condition, especially LH, FSH, estradiol, androgens (testosterone, androstenedione, DHEA, DHEAS), cortisol, prolactin, thyroid hormones (TSH, fT3, fT4), and thyroid autoantibodies (anti-TPO, anti-TG, and anti-TSHr). The hepatic function, total proteins, albumin, sideremia, amylase, and lipid profile must also be evaluated.

Though most of the diagnostic approach can be performed with a simple baseline determination, in some cases additional investigation might be more helpful to better study the physiopathological condition for that single patient. These kinds of exams can be done in specific centers where the dynamic endocrine stimulation tests can be organized. Among them the most useful are: the pulsatility study of LH and FSH (sampling every 10–15

min for 4–6 h) to assess the gonadotropin profile and to classify the type of LH pulses and the type of amenorrhea (normo- or hypogonadotropinemic); the GnRH test (using a bolus of 10 ug of GnRH) to evaluate LH and FSH pituitary responses; and the naloxone test (using the infusion of 10 mg of naloxone chloride) to assess whether the opioidergic tone is responsible of the gonadotropin dysfunction. In women with stress-induced HA, LH response to naloxone infusion is considered positive when LH is increased more than two times the baseline levels. It is also necessary to mention that a negative response does not exclude the presence of the opioidergic hypertone since this might be so high that the amount of naloxone infused is not effective in counteracting it.

THERAPEUTIC STRATEGIES

The approach to HA must always be considered as stereoscopic, in the sense that more than one factor is always involved in the genesis of the functional blockage of the reproductive system. Therefore, more than one therapeutical approach might be needed.

If eating disorders are present, it is important to reduce the negative modulation/action induced by starvation, energy imbalance, and/or training as well as all the psychological disturbances. Obviously, it is very important to increase the quality of food with more proteins in the diet and probably psychological support might be suggested.

In case opioidergic hypertone is suspected as one of the pathogenetic mechanisms of HA, the therapeutic administration of an opioid receptor blocker, such as naltrexone chloride, might be proposed. Naltrexone is usually administered at a dose of 25-50 mg/die per os for several weeks (up to 3–6 months). Some clinical trials have reported the occurrence of menstrual cyclicality within 2–6 months. It is important to note that a higher rate of success has been demonstrated in patients that are responsive to the naloxone test.

Another possible therapeutic strategy is the use of acetyl-L-carnitine (ALC) that has been reported to act on the central cholinergic, serotonergic, and dopaminergic systems and to modulate some neuronal activities. For this reason ALC administration is used to improve the central nervous activities in patients affected by dementia and some studies showed that ALC modulates HPG axis function in hypogonadotropinemic patients. Indeed 6 months ALC administration at the dose of 1-2 g/die was able to induce the increase of both LH and PRL plasma levels and the LH pulse amplitude. These observations support the fact that ALC is active in those hypothalamic areas involved in the activation/maturation of the hypothalamus-pituitary axis. It has been proposed that these effects might be due to the fact that carnitine derived from ALC increases the amount of the intra-mitochondrial carnitine, improving the transportation of free fatty acids in Krebs's cycle. This observation might explain the higher rate of success on patients with hypogonadotropic HA and weight loss and/or high energy consumption.

Among the mediator(s) of opiate and/or dopaminergic systems in HA, a role has also been proposed for gamma-aminobutyric acid (GABA), an important modulator of the physiological response to stress or anxiety. In fact, various acute and chronic stressors have been shown to produce a rapid decrease in the activity of GABAergic pathways in primates and in humans. The fact that stress and anxiety stimulate both the secretion of corticotropin-releasing factor (CRF) and modulate GABAergic neurons, suggests a possible functional interaction between these two systems. Indeed, GABAergic or benzodiazepine receptor-mediated mechanisms inhibit CRF release and anxiolytic benzodiazepines can reverse or antagonize in experimental animals several CRF-mediated behavioral effects that are thought to be related to stress. Few years ago a neurotropic compound, pivalgabine (PVG), a hydrophobic-4 aminobutyric acid derivative has been shown to exert specific effects on stress-induced activities in rats. Experimental data also showed specific inhibitory actions of PVG on some behavioral parameters in rats exposed to various stressors. It has been supposed that PVG might modulate the adaptive response to stress since in patients with HA specific modulation on GH, ACTH and cortisol secretions were observed. These data sustained the role of anti-stress activity of this compound in patients with highly activated HPA axis. In addition, PVG has been reported to reduce anxiety and depression in postmenopausal women. Probably, PVG modulates the release of hypothalamic CRF and/or pituitary ACTH, and this last observation is in agreement with the fact that the increased GH release might also be related to the PVG-induced decrease of the CRF hypothalamic tone. In fact, CRF is involved in GH regulation and acute CRF administration inhibits GHRH-induced GH secretion probably through a higher somatostatin release.

In conclusion, FHA is quite a complex syndrome. Diagnostic criteria are not so easy to identify since any

other systemic causal factors that might be the basis of the amenorrheic condition have to be excluded. It must be kept in mind that all kinds of stressors (physical, metabolic, and psychological) are always deeply and tightly involved in the genesis of the reproductive failure and it is almost impossible to exclude their combination. This means that FHA needs a stereoscopic approach and diagnosis, with a balanced analysis of all clinical and anamnestic data. Endocrinological as well as gynecological and psychological evaluation are important, thus confirming that the gynecologist needs to be well trained in fields close to gynecology or reproductive medicine such as internal medicine and psychology

REFERENCES

- Biggio G, Sanna E, Serra M, Costa E. GABA_A receptors and anxiety. In *Advances in Biochemistry and Psychopharmacology*, G. Biaggio, vol 48. Raven Press, New York, NY, 1995
- Facchinetti F, Fava M, Fioroni L, *et al.* Stressful life events and affective disorders inhibit pulsatile LH secretion in hypothalamic amenorrhea. *Psychoneuroendocrinology* 1993, 18: 397–404.
- Fioroni L, Fava M, Genazzani AD, *et al.* Life events impact in patients with secondary amenorrhea. *J. Psychosom. Res.* 1994, 6: 617–622.
- Genazzani AD, Petraglia F, Fabbri G, *et al.* Evidence of luteinizing hormone secretion in hypothalamic amenorrhea associated with weight loss. *Fertil. Steril.* 1990, 54: 222–226.
- Genazzani AD, Petraglia F, Volpe A, Genazzani AR. Hypothalamic amenorrhea: neuroendocrine mechanisms/stress-induced anomalies. *Assist Reprod Technol/Androl* 1997;9:1–13.
- Genazzani AD, Stomati M, Bersi C, *et al.* Pivagabine decreases stress-related hormone secretion in women with hypothalamic amenorrhea. *J. Endocrinol. Invest.* 2000, 23: 526–532.
- Genazzani AD, Petraglia F, Algeri I, Gastaldi M, Calvani M, Botticelli G, Genazzani AR. 1991. Acetyl-L-Carnitine as a possible drug in the treatment of hypothalamic amenorrhea. *Acta Obstet Gynec Scand* 70: 487–492
- Genazzani AD, Gastaldi M, Petraglia F, Battaglia C, Surico N, Volpe A, Genazzani AR. 1995. Naltrexone administration modulates the neuroendocrine control of luteinizing hormone secretion in hypothalamic amenorrhea. *Hum Reprod* 10: 101–4
- Genazzani AD, Strucchi C, Malavasi B, Tortolani F, Vecchi F, Luisi S, Petraglia F. Effects of cyproheptadine dlorhydrate, a serotonin receptor antagonist, on endocrine parameters in weight-loss related amenorrhea. *Gynecol Endocrinol* 2001, 15: 279–285
- Genazzani AD, Luisi M, Malavasi B, Strucchi C, Luisi S, Casarosa E, Bernardi F, Genazzani AR, Petraglia F. Pulsatile secretory characteristics of allopregnanolone, a neuroactive steroid, during the menstrual cycle and in amenorrheic subjects. *Eur J Endocrinol* 2002;146:347–356.
- Genazzani AD. Neuroendocrine aspects of amenorrhea related to stress. *Ped End Rev* 2005, 2: 661–668
- Meczekalski B, Tonetti A, Monteleone P, *et al.* Hypothalamic amenorrhea with normal body weight: ACTH, allopregnanolone and cortisol responses to corticotropin-releasing hormone test. *Eur. J. Endocrin.* 2000, 142: 280–285.
- Meczekalski B, Podfigurna-Stopa, Warenik-Szymankiewicz A, Genazzani AR. Functional hypothalamic amenorrhea: Current view on neuroendocrine aberrations. *Gynecological Endocrinology* 2008; 24: 4–11
- Petraglia F, D'Ambrogio G, Comitini G, *et al.* Impairment of opioid control of luteinizing hormone secretion in menstrual disorders. *Fertil. Steril.* 1985, 43: 535–540.
- Petraglia F, Porro C, Facchinetti F, *et al.* Opioid control of LH secretion in humans: menstrual cycle, menopause and aging reduce effect of naloxone but not of morphine. *Life Sci.* 1986, 38: 2103–2110.
- Quigley ME, Yen SSC. The role of endogenous opiates on LH secretion during the menstrual cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1980, 51: 179–181.
- Robel P, Baulieu EE. Neurosteroids: biosynthesis and function. *Crit Rev Neurobiol* 1995;9:383–394.
- Serra M, Concas A, Mostallino MC, *et al.* Antagonism by pivagabine of stress-induced changes in GABA_A receptor function and corticotropin-releasing factor concentrations in rat brain. *Psychoneuroendocrinology* 1999, 24: 269–284.