

Introducción

LA ANTICONCEPCIÓN DE EMERGENCIA (AE)

Consiste en la utilización de fármacos o dispositivos para prevenir un embarazo no deseado luego de una relación sexual no protegida. La progesterona (P4) tiene un rol durante todo el proceso, desde la ovulación, implantación hasta el desarrollo del embarazo. Se han desarrollado numerosos compuestos farmacológicos con acción agonista/antagonista con fines anticonceptivos, como el **acetato de ulipristal (UPA)**, un *selective progesterone receptor modulator (SPRM)*. El principal mecanismo de acción del UPA es la inhibición o retraso de la ruptura folicular cuando se administra previo al aumento de hormona luteinizante (LH). Sin embargo, dada su alta efectividad en la prevención del embarazo hasta 5 días post coito, no se pueden descartar efectos post-ovulatorios relacionados con la receptividad endometrial en la implantación.

IMPLANTACIÓN Y RECEPTIVIDAD ENDOMETRIAL

La implantación del embrión humano ocurre durante la ventana implantatoria. En base a su receptividad, el endometrio puede ser: Pre-receptivo (LH+1 a LH+6, días 14 al 18 del ciclo), Receptivo: (correspondiente a la ventana **LH+7 y LH+8**, días 19 al 21 del ciclo) o pos-receptivo (LH+9 a LH+13, días 22 al 26 del ciclo menstrual). Tanto la calidad del embrión como el estatus del endometrio resultan de suma importancia para conseguir una implantación satisfactoria, por lo que el diálogo molecular entre ambos resulta indispensable.

MODELO CELULAR HUMANO

Estudios previos utilizando el mismo panel transcriptómico en la línea celular humana de carcinoma de endometrio (HEC-1A), mostraban cambios en la expresión génica de los cultivos expuestos a UPA. Estos cambios se asocian a funciones biológicas relacionadas con la disminución de la receptividad endometrial.

MODELO MURINO

Estudios recientes en ratón (1) muestran que, la administración de UPA después de la ovulación, disminuye el número de embriones implantados sin efecto sobre el desarrollo y transporte embrionario. Los cambios en la histología endometrial de las hembras sugieren que el fármaco puede afectar a la decidualización del útero y por lo tanto la implantación.

Objetivo

Estudiar el efecto y la reversibilidad del UPA sobre el perfil de expresión génica del endometrio a lo largo de tres ciclos menstruales en pacientes a las que se les administró el fármaco

Metodología

Este trabajo fue aprobado por el Comité de ética de la Universidad Estadual de Campinas (UNICAMP, Referencia: 2075.263). Todas las pacientes fueron informadas del protocolo y firmaron su consentimiento. El estudio se llevó a cabo en la Clínica de Planificación Familiar, Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina, UNICAMP, Campinas, Brasil.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

- Mujeres jóvenes
- Con paridad cumplida
- Esterilización quirúrgica y períodos menstruales regulares,
- Sin uso de terapia hormonal en los últimos 6 meses.
- Tampoco en lactancia o embarazadas los 6 meses anteriores.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

- Uso de dispositivo intrauterino de cobre o de liberación hormonal,
- Glucocorticoides durante al menos 3 meses antes del estudio,
- Quistes o tumor ovárico y leiomiomata uterino.

ESQUEMA DE CICLOS:

Se analizaron 3 ciclos menstruales consecutivos. Se monitorizó la ovulación por ecografía y LH urinaria y la P4 en fase lútea. La biopsia endometrial se tomó según:

Ciclo 1 CONTROL (C): biopsia LH+6 a +8

Ciclo 2 TRATAMIENTO (T): UPA 30 mg en LH+2 y biopsia LH+6 a +8

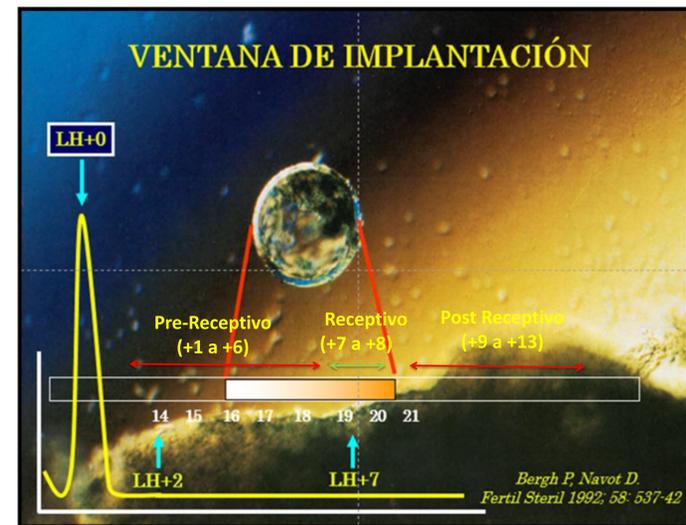
Ciclo 3 POST TRATAMIENTO (PT): 2 meses post UPA y biopsia LH+7 a +8

ESTUDIO DE RECEPTIVIDAD ENDOMETRIAL:

La técnica combina la teoría de microarrays con la técnica de PCR en tiempo real. El soporte físico, con forma de "chip", donde se depositan y se combinan las muestras y cebadores en estudio se denomina **Circuito Fluídico Integrado (IFC)**. Es un array dinámico de 96x96 donde se colocan las muestras de ADN, obtenidos del transcriptoma en un lateral y los cebadores en los pocillos opuestos del chip, junto con la *master mix* recomendada por el fabricante. Se puede obtener la firma transcriptómica del endometrio y clasificarlo como receptivo y no receptivo.

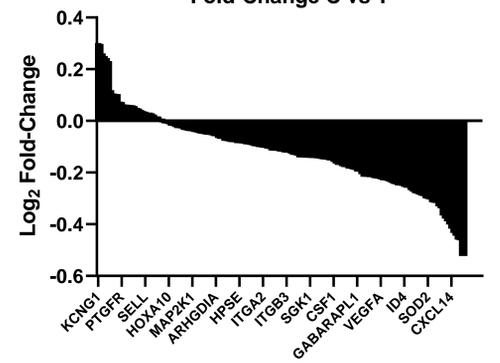
ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO:

De los datos de la PCR cuantitativa por microfluidos, se extrae el perfil de expresión diferencial del panel de genes estudiado. Se analizó el transcriptoma general de cada Biopsia: C, T y PT. A partir de los Cqs se calculó el Fold-Change (FC) para determinar la expresión diferencial del ciclo T respecto a C y PT. También se realizó un análisis de componentes principales (PCA) y *Gene Ontology* (GO) por prueba de Fisher para determinar la función biológica de los genes representativos obtenidos tanto en el FC como en el PCA. Además, gracias al algoritmo de red neuronal obtenido del transcriptoma se pueden clasificar las biopsias de endometrio en receptivas y no receptivas.



Histograma de expresión diferencial (FOLD CHANGE)

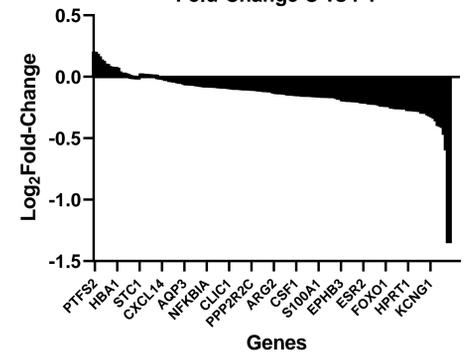
Fold-Change C vs T



Genes

Se observa una tendencia a la represión de los genes tras el tratamiento con UPA, ya que los genes que en condición previa, se expresaban, reducen su nivel de expresión después del tratamiento.

Fold-Change C vs PT



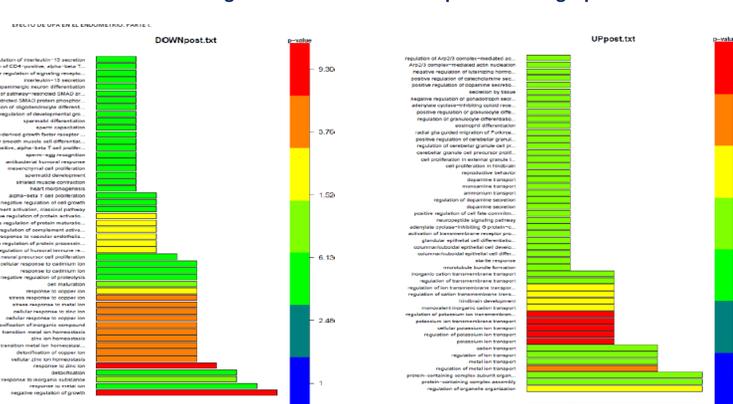
Genes

Lo mismo ocurre al comparar C frente a PT. Hay genes que continúan teniendo un cambio de expresión, por lo que el efecto podría seguir siendo residual, aunque a menor escala, tras un mes del tratamiento.

Bibliografía

(1) Gómez Elías y col. Mol Hum Reprod. 2019 May 1;25(5):257-264. doi: 10.1093/molehr/gaz013

Funciones asociadas a los genes diferencialmente expresados del grupo T vs Control



Funciones biológicas asociadas a los genes diferencialmente expresados de T con respecto a C

- Regulación negativa del crecimiento, Respuesta a iones como el zinc, cobre, metales y su homeostasis, Regulación negativa del procesamiento y maduración proteico.
- Regulación del transporte de iones como el potasio y algunos metales. Regulación del transporte transmembrana de iones y cationes

Funciones asociadas de los genes diferencialmente expresados PT con respecto a C

- Regulación de la remodelación tisular, Respuesta a iones como el zinc y metálicos, Regulación de la interleuquina 17

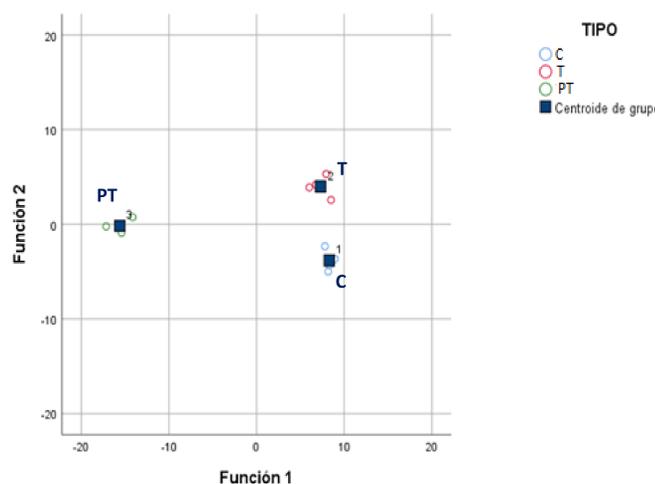
Funciones asociadas de los genes diferencialmente expresados PT vs T

- Regulación del ion potasio y su transporte, Desarrollo del sistema nervioso central y de sus células asociadas
- Generación de gametos y espermatogénesis, Reconocimiento espermato-ocito y capacitación espermática, fertilización.

Resultados

Gráfico del PCA

Las tres poblaciones están bien diferenciadas lo que sugiere que su perfil transcriptómico es diferente. El gráfico muestra una posible reversibilidad del efecto del UPA 2 meses después de su toma.



Conclusiones

Tras la administración de UPA posterior al pico de LH, se observa una tendencia a la represión de genes respecto a su estado basal (sin tratamiento). El análisis de componentes principales mostró que las tres condiciones representaban poblaciones bien diferenciadas (C, T, PT); y que 11 genes explican la varianza muestral. Las funciones biológicas más representativas obtenidas de los genes del PCA y los que representan un FC mayor de |0.2|, son las asociadas al crecimiento; a la respuesta a iones como el zinc, cobre y metales y su transporte; al procesamiento y maduración proteica; también funciones relacionadas con la interacción óvulo espermatozoide y fecundación. El perfil de expresión funcional cambia en función del ciclo que estemos comparando lo que sugiere de nuevo que UPA podría estar provocando un cambio en el perfil de expresión génica y fenotipo endometrial induciendo una menor receptividad hacia la implantación embrionaria.