



PAPEL DE LA PROTEÍNA ABCG2 EN LA ALTERACIÓN DE LA HOMEOSTASIS MATERNO-FETAL DE ÁCIDOS BILIARES Y PROGESTERONA DURANTE LA COLESTASIS DE LA EMBARAZADA

ciberehd

Centro de Investigaciones Biomédicas en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas Instituto de Salud Carlos III



Rocio I.R. Macías^{1,4}, María C. Estiú², María J. Monte^{1,4}, María Moirón³, Laura Rivas¹, Elisa Lozano¹, Tomás Rodríguez-Bravo³, Beatriz Castaño^{1,3}, Silvia Jiménez^{1,3}, Felipe Jiménez^{1,2,4}, Ruba Al-Abdulla¹, Jose J.G. Marin^{1,4}

(1) Laboratorio de Hepatología Experimental y Vectorización de Fármacos (HEVEFARM), IBSAL, Universidad de Salamanca. (2) Hospital Materno Infantil Ramón Sardá de Buenos Aires (Argentina). (3) Hospital Universitario de Salamanca. (4) Centro de Investigaciones Biomédicas en Red para el Estudio de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd).

ANTECEDENTES

La colestasis intrahepática gestacional (CIG) se caracteriza por prurito y elevación de los niveles de ácidos biliares (ABs) en suero materno, lo que se asocia con un aumento del riesgo de complicaciones intrauterinas y perinatales. En la etiopatogénesis multifactorial de la CIG podrían estar implicados los niveles elevados de ABs y de metabolitos sulfatados de progesterona (PMS). Recientemente hemos demostrado que la bomba ABCG2 juega un papel clave en la barrera placentaria a los ABs.

BIBLIOGRAFÍA

- Blazquez A., et al. Mol Pharmacol, 81: 273-83 (2012)
- Estiú MC., et al. Br J Clin Pharmacol, 79: 316-29 (2015)
- Vallejo M., et al. J Hepatol, 44: 1150-7 (2006)
- Abu-Hayyeh S., et al. Hepatology, 57: 716-26 (2013)

OBJETIVO

El estudio incluía tres objetivos:

- 1) Calcular la tasa de respuesta de las pacientes con CIG a la administración de ácido ursodesoxicólico (AUDC) (900 mg/día) durante una semana.
- 2) Dilucidar el efecto del tratamiento con AUDC desde el diagnóstico al parto sobre la homeostasis de los ABs y la progesterona en el binomio madre-feto.
- 3) Analizar el papel de los cambios de expresión de la proteína ABCG2 en las alteraciones encontradas.

MÉTODOS

Se utilizaron muestras de gestantes atendidas entre 2009-2013 en el Hospital Materno Infantil Ramón Sardá de Buenos Aires (Argentina), donde la incidencia de la CIG de un 1.5%.

Para el primer objetivo, se reclutaron 35 pacientes con una edad gestacional media de 29.8 semanas al inicio del tratamiento. En el segundo estudio se incluyeron 25 embarazos control y 24 con CIG sin (n=9) o con (n=15) tratamiento con AUDC (900 mg/día) durante un período de 9 a 40 días, según el momento del diagnóstico y las recomendaciones individuales para cada paciente.

Las especies moleculares de ABs y PMS se determinaron por HPLC-MS/MS y la progesterona mediante ELISA. Los niveles de expresión de ABCG2 se determinaron por RT-PCRQ y por inmunofluorescencia.

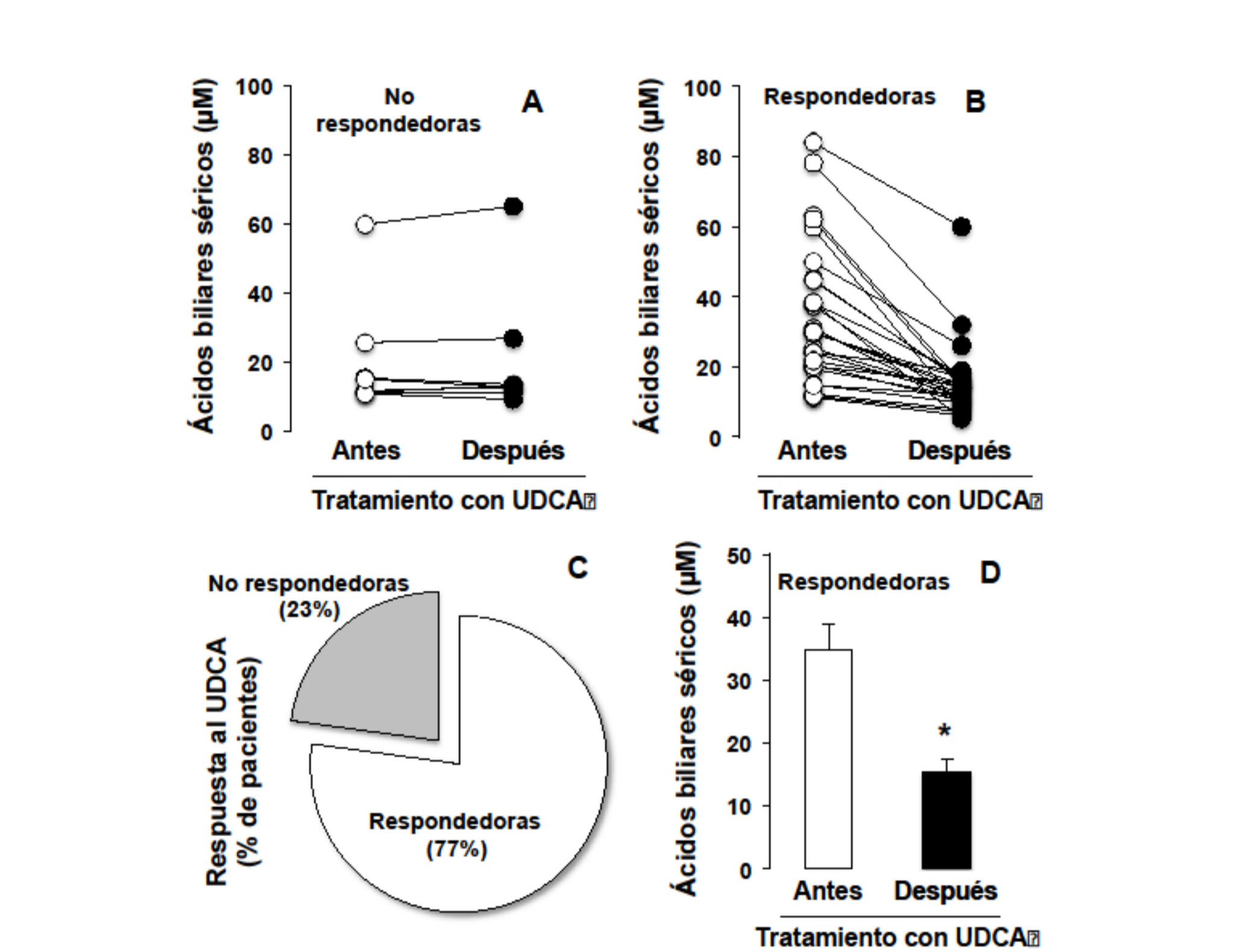


Figura 1. Efecto del tratamiento con UDCA (900 mg/día) durante 1 semana en la concentración sérica de ácidos biliares de pacientes con CIG. Las pacientes se clasificaron en no respondedoras (A) y respondedoras (B). Para considerarse respondedoras su hipercoleltemia debía reducirse al menos un 15%. Proporción de pacientes que respondieron o no al tratamiento (C). Valores medios (media ± EEM) de cambio en las concentraciones de ácidos biliares totales séricos en las pacientes respondedoras (D). *, p<0.05, comparado por el test de valores apareados.

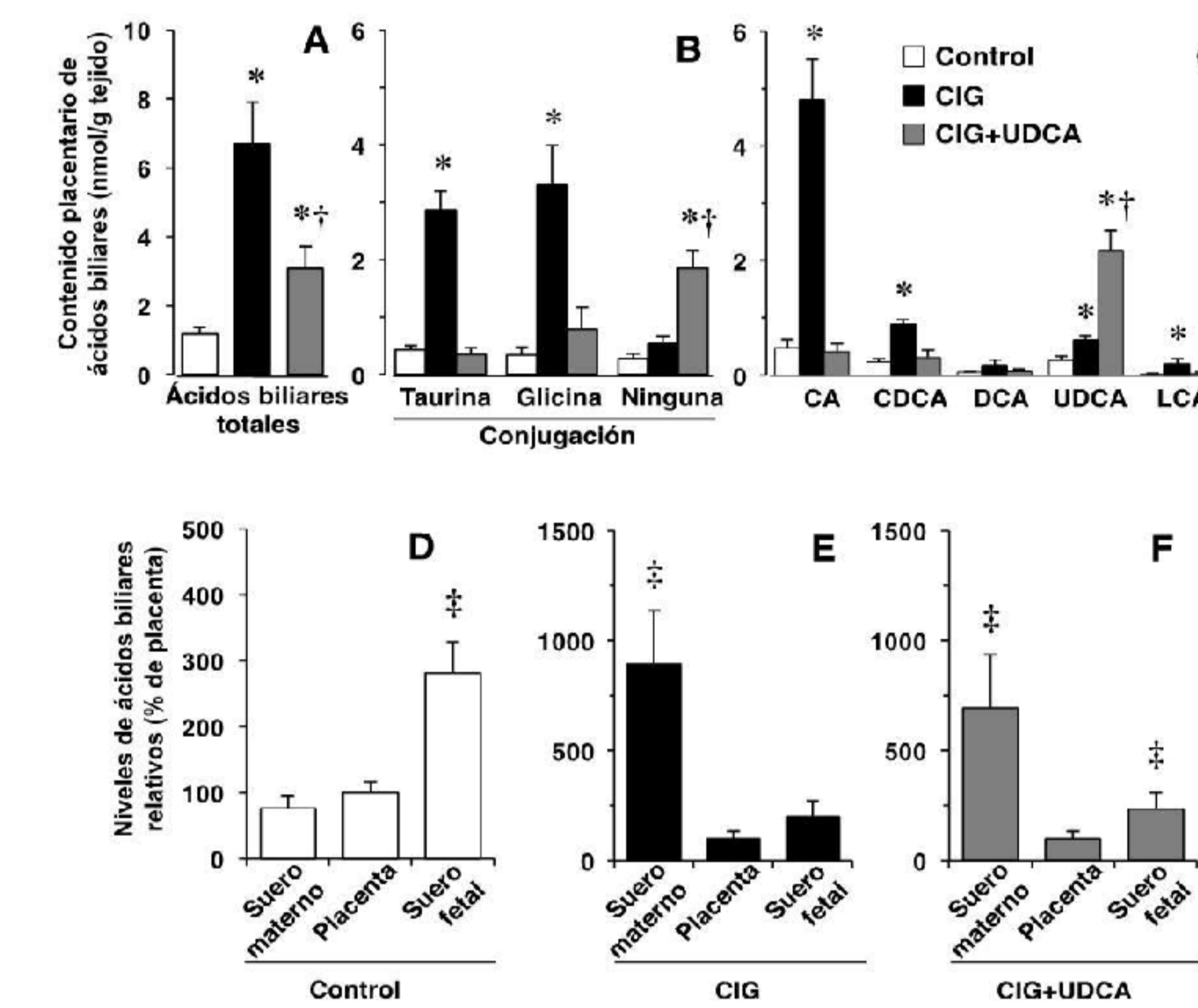


Figura 3. Contenido de ácidos biliares en el tejido placentario a término en gestaciones control (n=25) o complicadas con CIG sin tratamiento (n=9) o con tratamiento con UDCA (n=15) expresado como ácidos biliares totales (A), como familias de ácidos biliares conjugados con taurina, glicina o libres (B) y como familias de los distintos ácidos biliares (C). Niveles relativos de ácidos biliares totales en muestras pareadas de suero materno, placenta y suero fetal obtenidas de gestaciones control (D) o complicadas con CIG sin tratamiento (E) o con tratamiento con UDCA (F). Los valores representan la media ± EEM. *, p<0.05, comparado con muestras control; †, p<0.05, comparando muestras de CIG con y sin tratamiento con UDCA. ‡, p<0.05, comparado con la placenta.

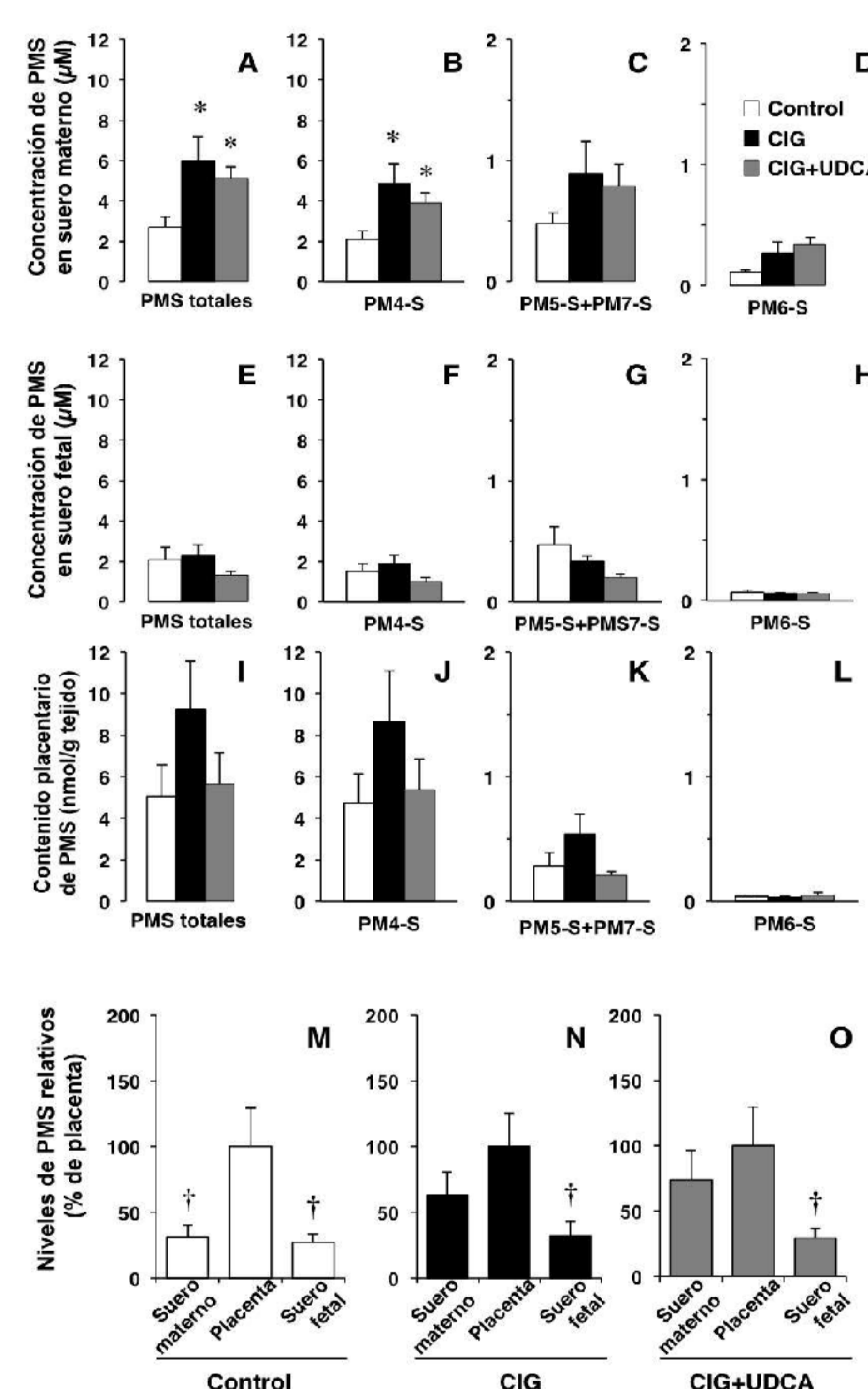


Figura 5. Niveles de derivados sulfatados de progesterona (PMS), sulfato de alopregnanolona (PM4-S), sulfato de epialopregnanolona + sulfato de epipregnanolona (PM5-S+PM7-S) y sulfato de pregnanolona (PM6-S) en suero materno (A-D) y fetal (E-H). Contenido de derivados sulfatados de progesterona (PMS) (I), sulfato de alopregnanolona (PM4-S) (J), sulfato de epialopregnanolona + sulfato de epipregnanolona (PM5-S+PM7-S) (K) y sulfato de pregnanolona (PM6-S) (L) en tejido placentario de mujeres control (n=25) o con gestaciones complicadas con CIG sin tratamiento (n=9) o con tratamiento con UDCA (n=15). Niveles relativos de derivados sulfatados de progesterona totales (PMS) en muestras pareadas de suero materno, placenta y suero fetal en cada caso (M-O). *, p<0.05, comparado con las placentas control. †, p<0.05, comparado con la placenta.

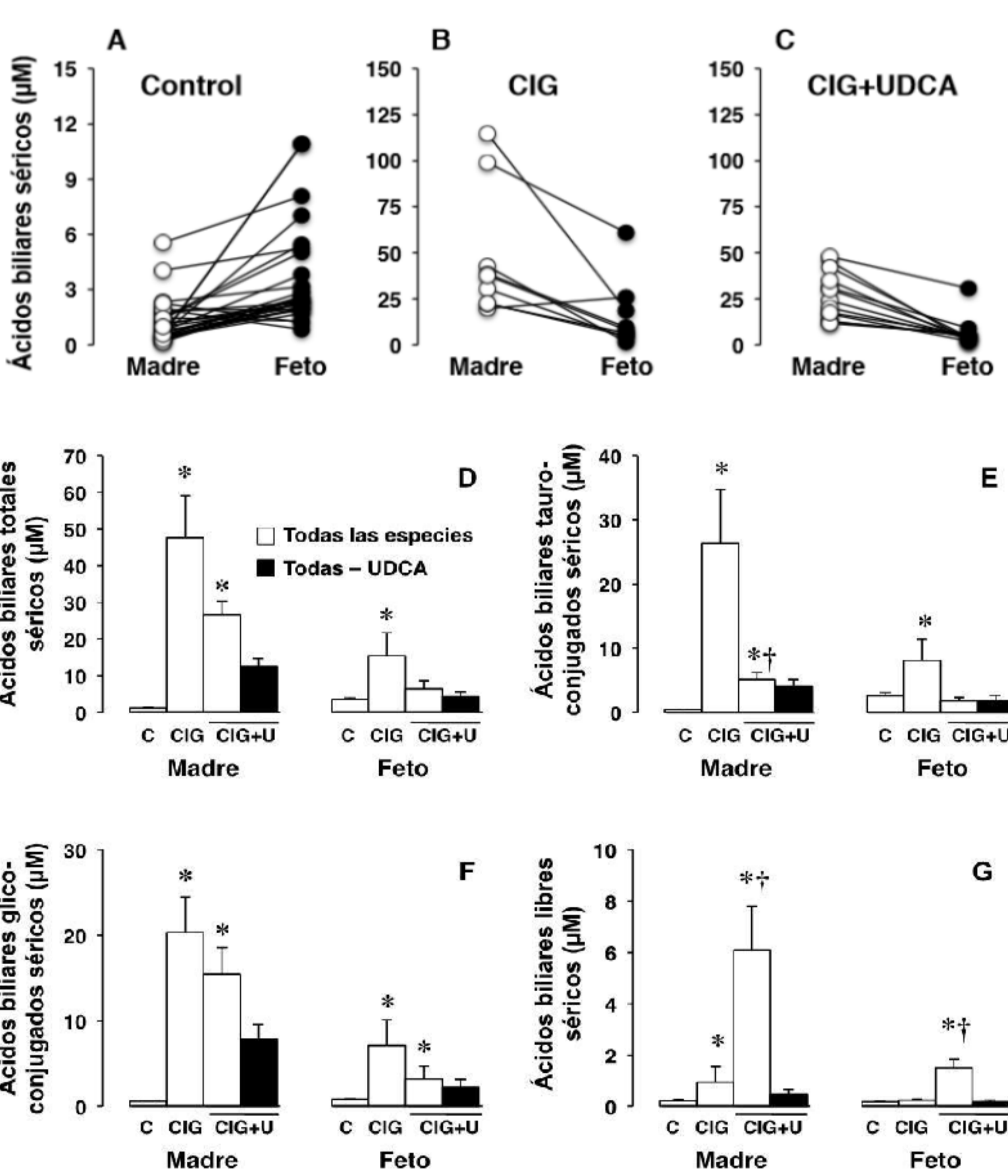


Figura 2. Valores individuales pareados de los gradientes materno-fetales de ácidos biliares totales a término en gestaciones control (n=25) (A) o complicadas con CIG sin tratamiento (n=9) (B) o con tratamiento con UDCA (n=15) (C). Concentraciones de ácidos biliares totales a término en gestaciones control (n=25) o complicadas con CIG sin tratamiento (n=9) o con tratamiento con UDCA (n=15) (CIG+U) determinadas en suero materno y fetal y expresadas como ácidos biliares totales (D), tauro-conjugados (E), glicico-conjugados (F) y libres (G). Los ácidos biliares endógenos en el grupo CIG+UDCA se calcularon restando las especies de la familia del UDCA. Los valores son media ± EEM. *, p<0.05, comparado con los controles apropiados y †, p<0.05, comparando los grupos de CIG.

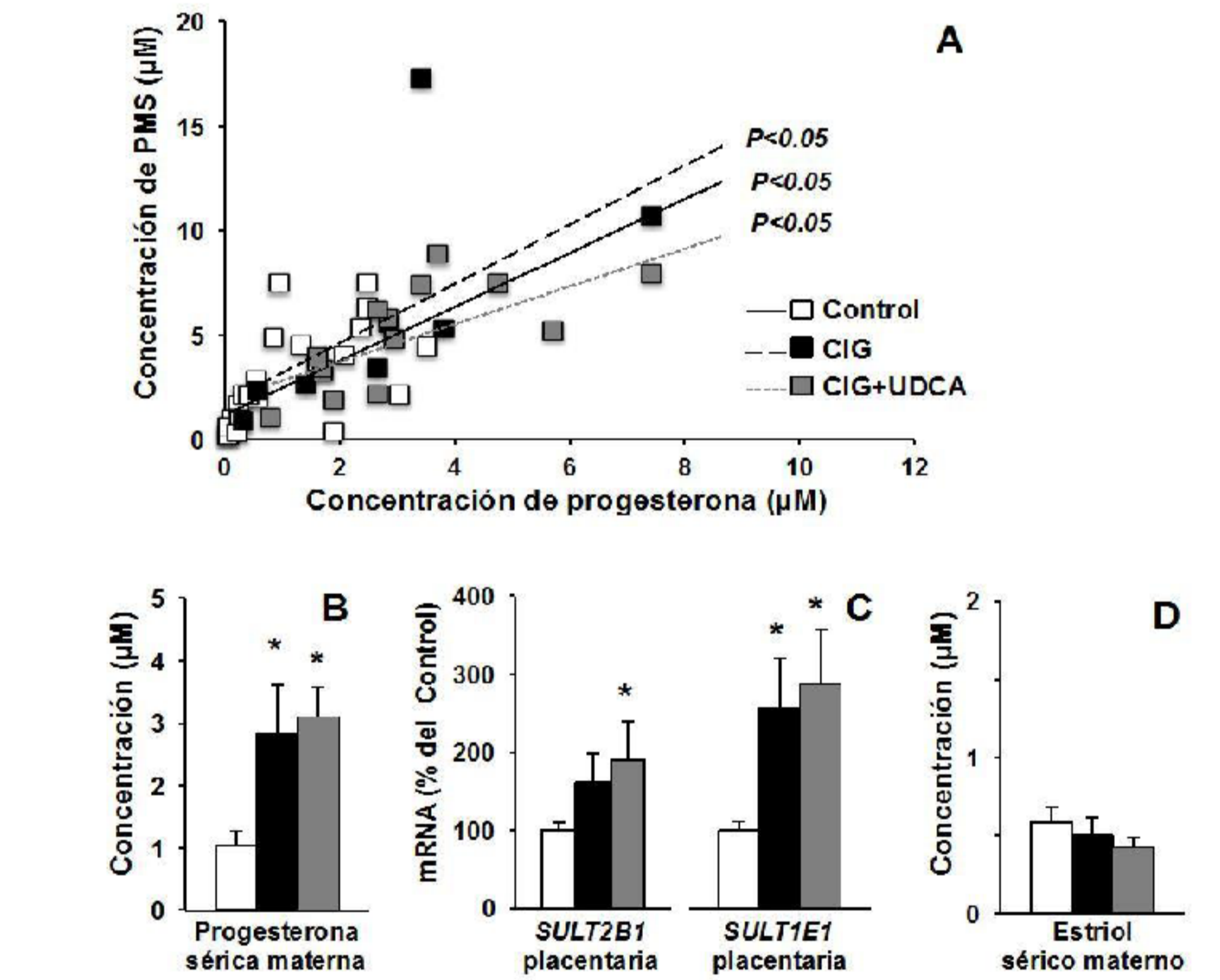


Figura 4. Relación entre las concentraciones de progesterona y de metabolitos sulfatados de progesterona totales (PMS) en suero materno a término obtenido de gestaciones control (n=25) o complicadas con CIG sin tratamiento (n=9) o con tratamiento con UDCA (n=15) (A). Valores medios de progesterona (B) y estrógeno (D) en suero materno. Abundancia relativa del mRNA de las enzimas sulfotransferasas SULT2B1 y SULT1E1 en la placenta a término (C). Los valores son media ± EEM. *, p<0.05, comparado con las muestras control. Los valores de coeficiente de correlación (A) fueron: Control: R=0.632, P<0.05; CIG: R=0.891, P<0.05; CIG+UDCA: R=0.702, P<0.05.

Tabla 1. Efecto de la CIG y del tratamiento con UDCA en la expresión de bombas exportadoras ABC en placentas humanas a término.

Gen	Ct Control	Control	CIG	CIG+UDCA
ABCG2	20	100 ± 14	268 ± 42 ^a	257 ± 44 ^a
ABCC1	21	100 ± 14	143 ± 19	146 ± 19
ABCC2	38	100 ± 22	128 ± 39	82 ± 59
ABCC3	24	100 ± 15	170 ± 51	157 ± 45
ABCB1	19.5	100 ± 26	301 ± 33 ^a	232 ± 38

Los valores son media ± EEM (n ≥ 6 analizados en triplicado) expresados como abundancia relativa respecto al Control. Los resultados se normalizaron con los niveles de GAPDH. A P<0.05, comparado con las placentas Control. Ct, ciclo umbral.

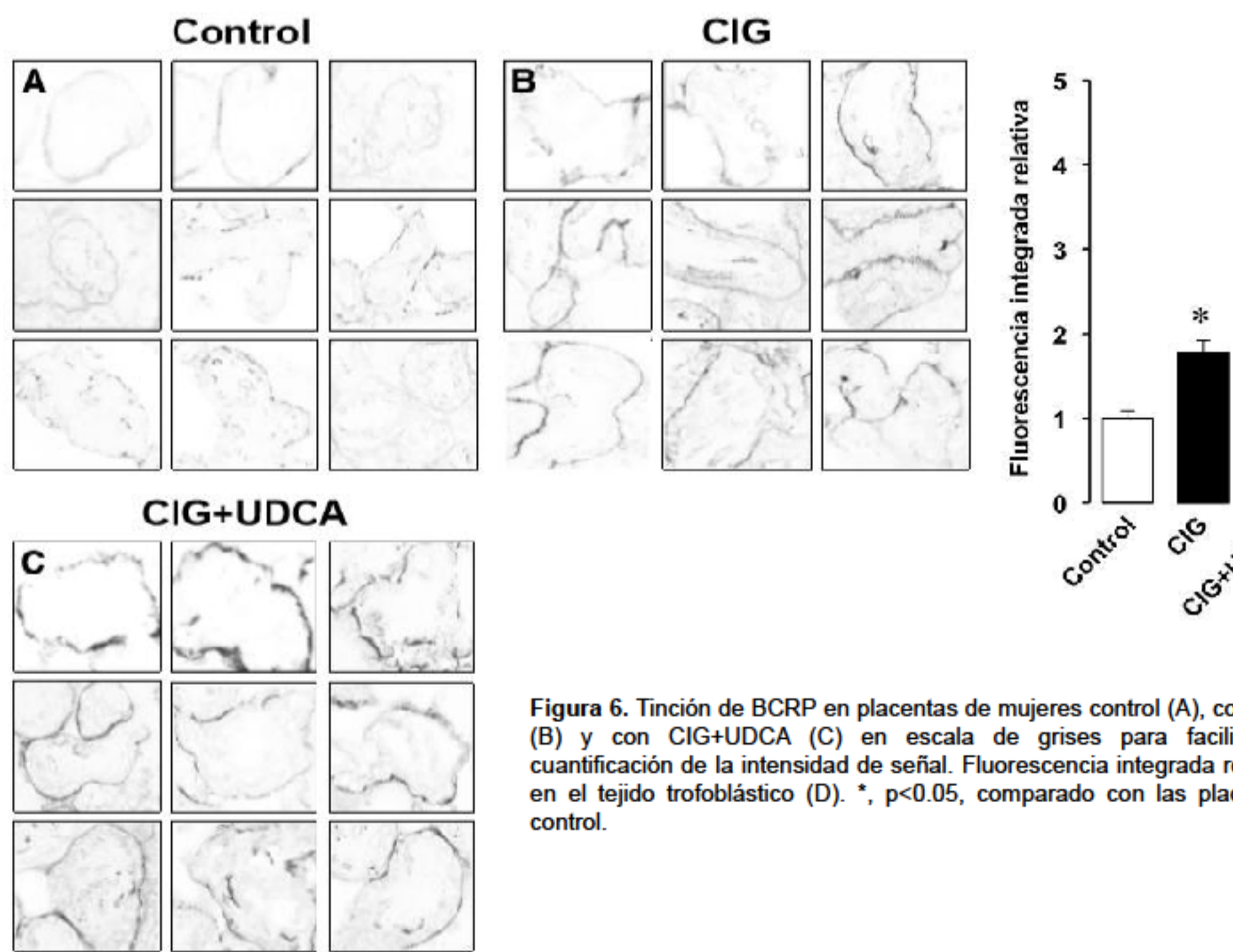


Figura 6. Tinción de BCRP en placentas de mujeres control (A), con CIG (B) y con CIG+UDCA (C) en una escala de grises para facilitar la cuantificación de la intensidad de señal. Fluorescencia integrada relativa en el tejido trofoblástico (D). †, p<0.05, comparado con las placentas control.

CONCLUSIÓN: El tratamiento con AUDC durante la colestasis gestacional reduce la acumulación de ABs en el binomio madre-feto, probablemente mediante la mejora de la función hepatobiliar materna, pero no mediante la reducción de la producción o el aumento en la eliminación de PMS. Además, el tratamiento con AUDC mejora la barrera placentaria para los ABs y PMS a través de la regulación de uno de los principales actores en esta función, la bomba ABCG2.