

ARTICULO

Perfil lipídico y proteína transportadora de ésteres de colesterol (CETP) en mujeres postmenopáusicas con y sin terapia de reemplazo de estrógenos (TRH).Yubire Barrios ¹, Elisa Martínez ², Julio González ³, Gilberto Bastidas ^{4, 1}

¹ Departamento de Ciencias Básicas. Escuela de Bioanálisis, Módulo 3, Sede Valencia, Venezuela

² Departamento de Investigación y Desarrollo Profesional, Departamento de Ciencias Básicas, Modulo 3

³ Departamento de Morfofisiología, Escuela de Bioanálisis.

⁴ Departamento Clínico Integral de los Llanos, Escuela de Medicina.

Facultad de Ciencias de la Salud Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela.

e-mail: ybarrios1@uc.edu.ve

Tel.: +58 – 241-8674980,

Cel.: + 58-412 34007110

-

Recibido: Septiembre 2006 **Aprobado:** Diciembre 2006

RESUMEN

A pesar que la TRH modifica el perfil lipoprotéico en mujeres postmenopáusicas, es escasa la información del papel de las hormonas sexuales sobre las lipoproteínas (Lp) y CETP, proteína que transfiere ésteres de colesterol desde las Lp de alta densidad (HDL-c) a las Lp de baja densidad (LDL-c). Se determinó el perfil lipídico (colesterol total, HDL-c, LDL-c y triglicéridos), estradiol y CETP, en 35 mujeres postmenopáusicas, 17 con TRH (grupo A) y 18 no tratadas (grupo B). En la determinación del perfil lipídico se empleo el método enzimático de lectura fotométrica. La CETP y el estradiol fueron cuantificados por inmunoensayo enzimático de fase sólida. Resultados: colesterol (grupo A: $191,6 \pm 77,1$ mg/dL; grupo B: $149,2 \pm 32,1$ mg/dL), LDL-c (grupo A: $117,6 \pm 75,9$ mg/dL; grupo B: $80,0 \pm 39,4$ mg/dL), HDL-c (grupo A: $45,8 \pm 9,8$ mg/dL; grupo B: $38,3 \pm 2,5$ mg/dL), CETP (grupo A: $0,82 \pm 0,58$ µg/mL; grupo B: $0,76 \pm 0,33$ µg/mL) y estradiol (grupo A: $88,3 \pm 35,1$ pg/mL; grupo B: $12,2 \pm 5,9$ pg/mL). Conclusión: la CETP se ubica en el límite inferior del valor de referencia en ambos grupos; el estradiol en el grupo B esta en el rango esperado para postmenopáusicas, mientras que el grupo A muestra concentraciones por encima de éste valor, con diferencia significativa entre ambos; el perfil lipídico se encuentra dentro de los valores de referencias para los dos grupos, pero mayor en el grupo A, excepto los triglicéridos; y la concentración de colesterol y HDL-c fue significativamente mayor en mujeres con TRH.

Palabras Clave: postmenopausia, estradiol, lípidos, proteína transportadora de ésteres de colesterol.

ABSTRACT

Lipid profile and cholesterol ester transfer protein (CETP) in postmenopausal women with and without estrogen replacement therapy (HRT).

HRT modifies lipoprotein profile in postmenopausal women, nevertheless, there is little information about the role of sex hormones on lipoprotein (Lp) and CETP, enzyme that transfers cholesterol esters from high-density Lp (HDL-c) to low density Lp (LDL-c). Lipid profile (total cholesterol, HDL-c, LDL-c and triglycerides), estradiol and CETP were determined in 35 postmenopausal women, 17 with HRT (group A) and 18 without HRT (group B). Lipid profile was determined by the enzymatic method of photometric reading. CETP and estradiol were quantified by enzymatic immunoassay on a solid phase. Results: cholesterol (group A: $191,6 \pm 77,1$ mg/dL; group B: $149,2 \pm 32,1$ mg/dL), LDL-c (group A: $117,6 \pm 75,9$ mg/dL; group B: $80,0 \pm 39,4$ mg/dL), HDL-c (group A: $45,8 \pm 9,8$ µg/mL; group B: $38,3 \pm 2,5$ µg/mL), CETP (group A: $0,82 \pm 0,58$ mg/dL; group B: $0,76 \pm 0,33$) and estradiol (group A: $88,3 \pm 35,1$ pg/mL; group B: $12,2 \pm 5,9$ pg/mL).

Conclusion: CETP was at the lower limit of the reference value in both groups; estradiol in group B was within the expected range for postmenopausal women, while group A had concentrations above this value, with a significant difference between the two groups; lipid profile was within reference values for both groups, but it was higher in group A, except for triglycerides. Concentrations of cholesterol and HDL-c were significantly higher in women with HRT.

Key Words: postmenopausal, estradiol, lipids, cholesteryl ester transfer protein.

INTRODUCCIÓN

La menopausia es una parte natural del proceso de envejecimiento de la mujer debido a la menor producción de estrógenos y progesterona, que se acompaña de la pérdida de la capacidad de reproducción, señala el fin de la etapa fértil en la vida de la mujer y constituye un periodo de cambios fisiológicos que pueden acompañarse de signos, síntomas y complicaciones, cuya magnitud guarda estrecha relación con el grado de afectación de la concentración de las hormonas sexuales antes mencionadas (1).

Es un hecho que las mujeres de edad media y avanzada, tienen un riesgo aumentado de desarrollar enfermedades cardiovasculares, especialmente luego de llegarles la menopausia, por ello surge la duda de si la edad es el factor determinante, o lo es, la deficiencia fisiológica estrogénica, la cual se inicia algunos años antes de la menopausia y se hace evidente con la suspensión de la menstruación (2, 3). Esta constante dentro de los factores de riesgo en la morbilidad de la mujer durante esta etapa, inducen a que muchos estudios lleven implícitos investigaciones sobre la patología isquémica del cerebro y el corazón, atribuible además al cambio en el metabolismo de los lípidos (4, 5).

Después del inicio de la menopausia las mujeres experimentan cambios desfavorables en el perfil lipídico, presentándose niveles altos del colesterol total, atribuido principalmente a un aumento en el colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (LDL-c) al tiempo que el colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (HDL-c) tiende a disminuir, variaciones que se relacionan por supuesto con las bajas concentraciones séricas de los estrógenos (6) y con la acumulación o depósito de los lípidos en los vasos, proceso conocido como la aterosclerosis, anomalía ésta que dificulta la oxigenación de los tejidos, particularmente de el cerebro y el corazón ya que estos órganos se caracterizan por ser muy sensibles a la hipoxia (7, 8).

Además de todo lo anteriormente expuesto cabe destacar que, la formación de ateromas en los vasos sanguíneos, parece encontrarse bajo la influencia de una glicoproteína hidrofóbica de bajo peso molecular conocida como la proteína transportadora de esteres de colesterol (CETP), de amplia distribución en el organismo ya que se encuentra en diferentes tejidos y tipos de células (9), que interviene en el transporte reverso del colesterol intercelular y en la transferencia de los esteres de colesterol de las HDL-c a las lipoproteínas VLDL-c y LDL-c (10, 11). En estudios genéticos realizados en humanos y en animales de experimentación con deficiencia de la CETP, se ha podido observar una disminución del transporte del colesterol esterificado de las HDL-c a las VLDL-c y LDL-c, lo cual indica en estos casos que el metabolismo lipídico carece de potencial aterogénico y se presenta por lo tanto menor propensión a la formación de ateroma (12-15).

Se cree que la actividad de la CETP puede ser modulada por el estrógeno endógeno en las mujeres enstruantes, pero el efecto de esta hormona sobre la CETP, cuando es administrada de forma exógena, no está bien definido (16, 17); aspecto que sin duda alguna debe ser dilucidado en las mujeres postmenopáusicas que reciben terapia de reemplazo con estrógenos, a fin de disminuir los signos, síntomas y complicaciones clínicas característicos de la

menopausia tales como los sofocos, la sequedad vaginal, los cambios en la textura de la piel, la ansiedad, la depresión, la irritabilidad, la pérdida de la memoria, el insomnio, la disminución en la libido, entre otros (18).

Esta investigación implicó la determinación de las concentraciones séricas de la CETP, el estradiol y el perfil lipídico en mujeres postmenopáusicas con y sin terapia de reemplazo hormonal (TRH) y tuvo como objetivo principal el de contribuir al esclarecimiento del papel de los estrógenos exógenos sobre la modulación de la actividad de la CETP, dado a que las enfermedades isquémicas constituyen históricamente una importante causa de morbi-mortalidad en las mujeres menopáusicas en el mundo (7) y en Venezuela las enfermedades cardiovasculares y las cerebrovasculares en las mujeres entre 45 y 64 años, muestran altas tasas de mortalidad ocupando la segunda (19,86%) y cuarta (8,91%) causa de muerte respectivamente (19).

MATERIALES Y MÉTODOS

Es un estudio de tipo descriptivo de corte transversal, que incluyó de forma voluntaria a 35 mujeres con edades comprendidas entre 45 y 64 años, aparentemente sanas, menopáusicas con un año de amenorrea o con histerectomía total, que acudieron a la consulta ginecológica del Centro Clínico Flor Amarillo, Valencia, estado Carabobo, Venezuela, sin antecedentes de enfermedad cardíaca o cerebral isquémica, sin desordenes endocrinológicos, sin hábitos tabaquicos o alcohólicos y sin medicación que afectara el metabolismo de los lípidos. Del total de las mujeres, 17 habían recibido durante un año TRH en dosis de 0,625 mg/día de 17 α estradiol, por 25 días con cinco días sin tratamiento al mes, bajo prescripción médica y a este grupo se les llamo A. Se les designo como grupo B a las 18 mujeres restantes que nunca habían recibido tratamiento con estrógenos.

Previa información de los objetivos de la investigación a las mujeres voluntarias, se obtuvo el consentimiento informado y se extrajo luego de 12 horas de ayuno, 10 mL de sangre venosa por venopunción de vaso sanguíneo periférico braquial, con jeringa estéril. Las muestras fueron vertidas en tubos de ensayo sin anticoagulante y centrifugadas para la obtención del suero respectivamente. Para la cuantificación de las concentraciones séricas de colesterol, triglicéridos y de las lipoproteínas se emplearon los kits de la casa comercial Wiener Lab®. La lectura espectrofotométrica se hizo automáticamente en un equipo conocido como el Express Plus 550. La CETP y el estradiol fueron medidos por espectrofotometría con el método de inmunoensayo enzimático de fase sólida. Para la determinación de la CETP se utilizo un kit de la casa comercial Wako Diagnostics®, y para la de el estradiol un kit de la casa comercial Calbiotech, Inc., lo cual fueron leídos con un instrumento automatizado Chem Well. En el análisis de los resultados se emplearon análisis estadísticos de tipo descriptivo y para determinar si las diferencias entre las muestras se debían o no al azar se utilizo el estadístico inferencial conocido como la t de Student.

RESULTADOS

En el presente estudio se determinaron las concentraciones séricas de colesterol total, HDL-c, LDL-c y triglicéridos, así como también la concentración sérica de la proteína CETP y las concentraciones hormonales de estradiol en mujeres postmenopáusicas con y sin TRH. De igual manera se compararon los resultados en ambos grupos de mujeres. El perfil lipídico de las 35 mujeres pertenecientes al estudio se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Concentración sérica de colesterol total, HDL-c, LDL-c y triglicéridos en los grupos A y B, expresados como la media \pm DS.

Grupos	Colesterol*	Triglicéridos	HDL-c**	LDL-c
	VR 175-240 mg/dL	VR 35-165 mg/dL	VR 30-85 mg/dL	VR < 140 mg/dL
A n = 17	191,6 \pm 77,1	146,9 \pm 59,	45,8 \pm 9,8	117,6 \pm 75,9
B N = 18	149,2 \pm 32,1	155,0 \pm 61,9	38,3 \pm 2,5	80,0 \pm 39,4

*t de Student: *p<0,05 existen diferencias significativas en la concentración de colesterol entre grupo A y B. **p < 0,01 existen diferencias significativas en la concentración de HDL-c entre grupo A y B.*

Aunque todos los parámetros del perfil lipídico evaluados en los dos grupos (A y B) están dentro del valor referencia, las mujeres postmenopáusicas con TRH, mostraron concentraciones relativamente superiores de colesterol, HDL-c y LDL-c, con respecto a las mujeres postmenopáusicas sin TRH. Sin embargo, la concentración sérica de triglicéridos fue mayor en las mujeres sin TRH.

En la Tabla 2 se muestran las concentraciones de la CETP y estradiol de ambos grupos estudiados. No se observó diferencia significativa en la concentración de la CETP y el estradiol es significativamente mayor en las mujeres del grupo A.

Tabla 2. Concentración sérica de la CETP y estradiol en los grupos A y B, expresados como la media \pm DS.

Grupos	CETP (μ g/mL) §	Estradiol** (VR: 0-18 pg/mL) ¶
A n = 17	0,82 \pm 0,58	88,3 \pm 35,1
B n = 18	0,76 \pm 0,33	12,2 \pm 5,9

*t de Student: **p < 0,01 existen diferencias significativas en la concentración de estradiol entre grupo A y B. ¶ Valor de referencia para mujeres postmenopáusicas sin TRH. § No se ha establecido valor de referencia para el Kit de Wako Diagnostics®.*

DISCUSIÓN

Se ha relacionado la TRH con cambios significativos en el perfil lipoprotéico, incrementando las concentraciones de las HDL-c y disminuyendo las concentraciones de las LDL-c, de forma que hipotéticamente pudiera tener un efecto cardioprotector (6), no obstante, la acción de los estrógenos exógenos sobre las concentraciones séricas de la CETP, proteína que transfiere ésteres de colesterol desde las HDL-c a las LDL-c y VLDL-c, aun no está claro.

En el presente estudio no se observan modificaciones importantes en el perfil lipídico ya que todos los parámetros evaluados están dentro de los valores de referencia, sin embargo, las concentraciones de colesterol total y HDL-c fueron más altas en el grupo que recibía TRH. Estos resultados indican que los estrógenos exógenos ejercen alguna actividad sobre los lípidos, resultados que coinciden con los publicados por Ricky y cols (20) y Ritsch y cols (21); quienes argumentan que aunque los estrógenos endógenos tienen mayor actividad que los exógenos sobre los lípidos, no descartan que éstos últimos conserven cierta actividad sobre el perfil lipoprotéico.

Con respecto a las concentraciones de la CETP, Zhuang y cols (10); en un estudio que abarcó a 1128 sujetos sanos de nacionalidad china, encontraron que

en las mujeres la concentraciones de la CETP fue significativamente más alta que en hombres, con una correlación inversa de la CETP con respecto a la edad, concluyendo que la CETP puede ser uno de los factores que afecta la concentración de colesterol en las lipoproteínas, sin embargo en este estudio la concentración de la CETP obtenida para los dos grupos A y B se encontró dentro de los valores de referencia ya citados, cercanos al límite inferior y al parecer esto refleja que no existe diferencia en la concentraciones séricas de la CETP entre las mujeres postmenopáusicas con y sin TRH. Esto coincide con los estudios realizados por Zukerman y cols (22) y Ritsch y cols (21); los cuales no encontraron impacto de la actividad de la CETP al investigar el efecto de la TRH sobre las lipoproteínas séricas. En contraste a este resultado, esta el encontrado por Owens y cols (16) que si observaron relación directa entre la concentración sérica de estradiol exógeno y la CETP y al del encontrado por Zhang y cols (17), que observaron una relación directa entre los niveles séricos de la enzima CETP y el estradiol endógeno.

Estos resultados pudieran sugerir un efecto diferente de los estrógenos sobre la CETP según se trate de estrógenos producidos o administrados, o que existe otro factor que pudiera estar involucrado.

Para finalizar se considera importante destacar que el papel del estradiol sobre la proteína CETP y de esta última en la patogénesis de la enfermedad cardiaca y cerebrovascular isquémica, es muy complejo y no está del todo claro, por lo que se hace necesario emprender más y profundas investigaciones con el objeto de definirlo, ya que existen otros factores metabólicos que dificultan desentrañar el papel de los estrógenos endógenos y exógenos sobre la actividad de la CETP, como la enzima polimórfica paraoxonasa que juega un papel crucial en el metabolismo lipídico a través de la oxidación de los fosfolípidos (23) y por el control genético (8, 21).

BIBLIOGRAFIA:

1. Hulley S, Furberg C, Barrett-Connor E, Cauley J, Grady D, Haskell W, Knopp R, Lowery M, Satterfield S, Schmitt H, *et al.* Noncardiovascular disease outcomes during 6.8 years of hormone therapy: Heart and estrogen/progestin replacement study follow-up (HERS II). *JAMA.* 2002; 288:49–57.
2. Prentice RL, LaCroix AZ, Kooper-berg C, Stefanick ML, Jackson RD, Beresford SA, Howard BV, Johnson KC, Kotchen JM, Ockene J. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: Principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA.* 2002; 288:321-333.
3. Seed M, Knopp RH. Estrogens, lipoproteins, and cardiovascular risk factors: an update following the randomized placebo-controlled trials of hormone-replacement therapy. *Curr Opin Lipidol* 2004; 15(4):459-467.
4. Hulley S, Furberg C, Barrett-Connor E, Cauley J, Grady D, Haskell W, Knopp R, Lowery M, Satterfield S, Schmitt H, *et al.* Protective effects of estrogen on gender-specific development of diet-induced hypertension. *J Appl Physiol.* 2001; 91:2005–2009.
5. Kuhl H, Stevenson J. The effect of medroxyprogesterone acetate on estrogen-dependent risks and benefits an attempt to interpret the Women's Health Initiative results. *Gynecol Endocrinol.* 2006; 22(6):303-317.
6. Welty FK. Women and cardiovascular risk. *Am J Cardiol.* 2001; 11 88 (7B):48J-52J.
7. Rosano GM, Vitale C, Silvestri A, Fini M. Hormone replacement therapy and the cardiovascular system lessons learned and unanswered questions. *J Am Coll Cardiol.* 2006; 47(9):1741-1753.
8. Sun P, Dwyer KM, Merz CNB, Sun W, Johnson CA, Shircore AM, Dwyer JH. Blood pressure, LDL cholesterol, and intima-media thickness: a test of the "response to injury" hypothesis of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000; 20:2005–2010.

9. Hirano K, Yamashita S, Matsuzawa Y. Pros and cons of inhibiting cholesteryl ester transfer protein. *Curr Opin Lipidol.* 2000; 11: 589–596.
10. Zhuang Y, Wang J, Qiang H, Li Y, Ltui X, Li L, Chen G. Serum cholesteryl ester transfer protein concentrations in healthy Chinese subjects and cardio-cerebrovascular disease patients. *Clin Chim Acta.* 2001; 305(1-2):19-25.
11. Koizumi J, Inazu A, Yagi K, Koizumi I, Uno Y, Kajinami K, Miyamoto S, Moulin P, Tall AR, Mabuchi H, *et al.* Serum lipoprotein lipids concentrations and composition in homozygous and heterozygous patients with cholesteryl ester transfer protein deficiency. *Atherosclerosis.* 1991; 90(2-3):189-196.
12. Rittershaus CW, Miller DP, Thomas LJ, Picard MD, Honan CM, Emmett CD, Pettey CL, Adari H, Hammond RA, Beattie DT, *et al.* Vaccine-induced antibodies inhibit CETP activity in vivo and reduce aortic lesions in a rabbit model of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000; 20: 2106–2112.
13. Okamoto H, Yonemori F, Wakitani K, Minowa T, Maeda K, Shinkai H. Cholesteryl ester transfer protein inhibitor attenuates atherosclerosis in rabbits. *Nature.* 2000; 406: 203–207.
14. Wolfe ML, Rader DJ. Cholesteryl ester transfer protein and coronary artery disease. An observation with therapeutic implications. *Circulation.* 2004; 110:138-1340.
15. Matthijs S, Kuivenhoven J, Wareham NJ, Peters RJG, Wouter Jukema J, Luben R, Bingham SA, Day NE, Kastelein JJP, Khaw K. Plasma levels of cholesteryl ester transfer protein and the risk of future coronary artery disease in apparently healthy men and women. *Circulation.* 2004; 110:1418-1423.
16. Owens D, Collins PB, Johson A, Tomkin GH. Lipoproteins and low dose estradiol replacement therapy in post-menopausal type 2 diabetic patients: the effect of addition of norethisterone acetate. *Diabete Med.* 2000; 17(4):308-315.
17. Zhang Y, Zhuang Y, Qiang H, Liu X, Xu R, Wu Y. Relationship between endogenous estrogen concentrations and serum cholesteryl ester transfer protein concentration in Chinese women. *Clin Chim Acta.* 2001; 314(1-2):77-83.
18. Manson JE, Martin KA. Postmenopausal Hormone-Replacement Therapy. *The New Engl J Med.* 2001; 345(1):34-40.
19. Ministerio de Salud. Venezuela. Diez principales causas de muerte diagnosticada especificada por grupos de edad y sexo. Anuario de mortalidad 2004. Caracas, 2005; p 261.
20. Man RY, Ting LK, Fan S, Lau MM, Siow YL, Chung YH, Karmin O. Effect of postmenopausal hormone replacement therapy on lipoproteins and homocysteine levels in Chinese women. *Mol Cell Biochem.* 2001; 225(1):129-134.
21. Ritsch A, Kaser S, Volgger B, Abfalter E, Sturm W, Ganzer H, Foger B, Kirchmair R, Ebenbichler C, Patsch JR. Enhancement of cholesteryl ester transfer in plasma by hormone replacement therapy. *Metabolism.* 2002; 51(5):599-604.
22. Zuckerman SH, Evans GF, Schelm JA, Eacho PI, Sandusky G. Estrogen mediated increases in LDL-c and foam cell-containing lesions in human apoB100X CETP transgenic mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999; 19(6):1476-1483.
23. Akçay YD, Sagin FG, Şendağ F, Oztekin K, Sozmen EY. Effects of estrogen-only therapy on LDL oxidation in women with hysterectomy: Does paraoxonase genotype play a role?. *Maturitas.* 2006; 53(3):325-332