



## Modificación de las concentraciones de C3 y C4 luego de la administración de estrógenos conjugados más medroxiprogesterona o raloxifeno en mujeres posmenopáusicas

Sebastián Carranza Lira,\* Ana Luz Mac Gregor Gooch,\*\* Aleida Olivares,\*\*\* Sandra Luz González Legorreta,\*\*\*\* Nadia Saldívar,\*\* Juan Carlos Martínez Chéquer\*\*\*

### RESUMEN

**Objetivo:** evaluar el efecto de los estrógenos equinos conjugados (EEC) más acetato de medroxiprogesterona (MPA) y del raloxifeno en las fracciones de C3 y C4 del complemento en mujeres posmenopáusicas.

**Pacientes y método:** se estudiaron 20 mujeres posmenopáusicas sanas. En todas se registró el peso, la talla y el índice de masa corporal (IMC), y se determinaron las concentraciones de FSH y estradiol. Las pacientes se dividieron al azar en dos grupos, según el tratamiento que recibieron: grupo I, EEC a razón de 0.625 mg/día más MPA a dosis de 2.5 mg/día ( $n = 7$ ); grupo II, raloxifeno a dosis de 60 mg/día ( $n = 13$ ), ambos tratamientos se administraron de manera continua. Las fracciones C3 y C4 del complemento se midieron por inmunonefelometría al inicio y a los seis meses del tratamiento. Se midieron las diferencias entre los grupos con la prueba de la t de Student para muestras independientes y pareadas, así como las concentraciones basales y finales de las fracciones de C3 y C4.

**Resultados:** no hubo diferencias entre los grupos en relación con la edad, peso, talla e índice de masa corporal. Por lo que se refiere a las concentraciones basales y finales de las fracciones de C3 y C4, no se registraron diferencias significativas entre los grupos.

**Conclusiones:** quizás la participación del complemento no sea relevante en el proceso inflamatorio de la aterosclerosis en mujeres tratadas con estrógenos equinos conjugados más medroxiprogesterona o raloxifeno.

**Palabras clave:** inflamación, complemento, raloxifeno, estrógenos equinos conjugados, medroxiprogesterona.

### ABSTRACT

**Objective:** To evaluate the effect of conjugated equine estrogens (CEE) plus medroxyprogesterone acetate (MPA) and raloxifene on serum levels of complement C3 and C4 fractions in postmenopausal women.

**Patients and method:** Twenty healthy postmenopausal women were studied. In all weight, height and body mass index (BMI) were documented. FSH and estradiol levels were measured. They were randomly divided into two groups, according to the treatment they received: group I, CEE 0.625 mg/day plus MPA 2.5 mg/day ( $n = 7$ ); group II, raloxifene 60 mg/day ( $n = 13$ ), both treatments were continuous. Serum levels of C3 and C4 complement fractions were measured by immunonephelometry at baseline and six months after start of treatment. Differences among groups of baseline and final C3 and C4 levels were measured with Student's t test for independent and paired samples, respectively.

**Results:** There were no differences among groups in age, weight, height and body mass index, neither in C3 and C4 levels among baseline and final levels when comparing each group separately.

**Conclusions:** Complement may not intervene significantly in the atherosclerotic inflammatory process in women receiving CEE plus MPA or raloxifene.

**Key words:** inflammation, complement, raloxifene, conjugated equine estrogens, medroxiprogesterone.

### RÉSUMÉ

**Objectif:** Évaluer l'effet des estrogènes conjugués équins (ECE) plus l'acétate de medroxiprogesterone (MPA) ou raloxifène sur le dosage des fractions C3 et C4 du complément chez la femme postménopausique.

**Patients et méthodes:** Vingt femmes postménopausiques en bonne santé ont été étudiées. Le poids, la taille et l'indice de masse corporelle (IMC) ont été documentés. Les concentrations de FSH et estradiol ont été mesurées. Les femmes ont été divisées par hasard en deux groupes, selon le traitement qu'elles ont reçu: groupe I, ECE 0.625 mg/jour plus MPA 2.5 mg/jour ( $n = 7$ ); groupe II, raloxifène 60 mg/jour ( $n = 13$ ). Les deux traitements ont été continus. Le dosage des fractions C3 et C4 du complément ont été mesurées par immunonefélométrie au commencement et six mois après. Les différences entre les deux groupes et entre les concentrations au

commencement et à la fin du traitement ont été fait avec le test de Student par populations indépendantes et deux par deux respectivement. **Résultats:** Il n'y a pas eu des différences dans les profils d'âge, poids et dans l'indice de masse corporelle entre les groupes. De la même manière, il n'y a pas eu des différences significatives entre les deux groupes ni entre le dosage des fractions C3 et C4 au commencement et à la fin du traitement en considérant chacun des groupes.

**Conclusions:** C'est possible que le complément n'intervienne pas d'une manière importante pendant le processus inflammatoire de l'athérosclérose, chez la femme qui reçoit ECE plus MPA ou raloxifène.

**Mot clés:** inflammation, complément, raloxifène, estrogènes conjugués, medroxyprogesterone.

## RESUMO

**Objetivo:** avaliar o efeito dos estrogênios eqüinos conjugados (ECC) mais acetato de medroxiprogesterona (MPA) e do raloxifeno nas frações de C3 e C4 do complemento em mulheres com pós-menopausa.

**Pacientes e métodos:** estudaram-se 20 mulheres saudáveis com pós-menopausa. Em todas elas o peso, o tamanho e o índice de massa corpórea (IMC) foram registrados e determinaram-se as concentrações de FSH e estradiol. As pacientes foram divididas ao azar em dois grupos, segundo o tratamento que receberam: grupo I, EEC a razão de 0,625 mg/dia mais MPA a dose de 2,5 mg/dia ( $n = 7$ ); grupo II, raloxifeno a dose de 60 mg/dia ( $n = 13$ ), os dois tratamentos foram administrados de maneira contínua. As frações C3 e C4 do complemento mediram-se, no começo e aos seis meses do tratamento, por imuno-nefelometria. Mediram-se as diferenças entre os grupos como teste do t de Student para amostras independentes e pareadas, assim como também as concentrações basais e finais das frações de C3 e C4.

**Resultados:** não houve diferenças entre os grupos em relação com a idade, peso, tamanho e índice de massa corpórea. No que tem a ver com as concentrações basais e finais das frações de C3 e C4, não houve diferenças importantes entre os grupos.

**Conclusões:** tal vez a participação do complemento não seja relevante no processo inflamatório da aterosclerose em mulheres tratadas com estrogênios eqüinos conjugados, mais medroxiprogesterona ou raloxifeno.

**Palavras chave:** inflamação, complemento, raloxifeno, estrogênios eqüinos conjugados, medroxiprogesterona.

**L**a aterosclerosis es un proceso inflamatorio crónico de la pared vascular, que se vuelve agudo después de que se rompe la placa de ateroma; esto ocasiona el episodio trombótico.<sup>1</sup> La proteína C reactiva de alta sensibilidad (CRP) es un marcador de inflamación, como algunas citocinas y moléculas de adhesión. Al evaluar la relación entre proteína C reactiva de alta sensibilidad y la terapia hormonal con estrógenos solos o en combinación con progestinas, administrados a dos grupos de pacientes, se demostró incremento del 60% en el primer grupo y ninguno en el segundo.<sup>2</sup> Sin embargo, otros investigadores han

encontrado aumento similar en la proteína C reactiva de alta sensibilidad con estrógenos y estrógenos más progestinas.<sup>3</sup>

La proteína C reactiva de alta sensibilidad estimula la expresión de diversas moléculas de adhesión, como la molécula de adhesión celular vascular tipo 1 (VCAM-1), molécula de adhesión intracelular 1 (ICAM-1) y la proteína quimioatractante de monocitos tipo 1 (MCP-1) por las células endoteliales.<sup>4</sup> También activa el sistema de complemento y facilita la captura del colesterol de lipoproteínas de baja densidad por el macrófago.<sup>5</sup>

La proteína C reactiva de alta sensibilidad se sintetiza en sitios extrahepáticos, como las células musculares y los macrófagos en las lesiones ateroscleróticas. Su coexistencia en estas lesiones, junto con el complemento, apoya su estado proinflamatorio en la aterogénesis.<sup>6</sup> La proteína C reactiva de alta sensibilidad no sólo estimula la síntesis del complemento en los hepatocitos, sino que interactúa con los componentes del complemento en la periferia. De la misma manera, forma complejos con los polisacáridos y con la fracción C1 del complemento.<sup>7,8</sup> El complemento desempeña un papel intermedio entre la proteína C reactiva de alta sensibilidad y la ICAM-1, ya que la primera debe ser capaz de activar el com-

---

\* División de Investigación en Salud.

\*\* Departamento de Ginecología Endocrina.

Hospital de Ginecoobstetricia Luis Castelazo Ayala, IMSS, México, DF.

\*\*\* Unidad de Investigación en Biología del Desarrollo, Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI.

\*\*\*\* Unidad de Investigación en Medicina Reproductiva, Hospital de Ginecología y Obstetricia Luis Castelazo Ayala, IMSS, México, DF.

Correspondencia: Dr. Sebastián Carranza Lira. Puente de Piedra 150-422 torre I, col. Toriello Guerra, CP 14050, México, DF. Tel.: 5606-8301. Fax: 5528-4657. E-mail: scarranzal@mexis.com Recibido: mayo, 2005. Aceptado: julio, 2005.

La versión completa de este artículo también está disponible en internet: [www.revistasmedicasmexicanas.com.mx](http://www.revistasmedicasmexicanas.com.mx)

plemento.<sup>9</sup> Éste es parte del sistema inmunológico. Tiene tres actividades fisiológicas principales: *a)* defensa contra las infecciones bacterianas piógenas, *b)* "puente" entre la inmunidad innata y adaptativa y *c)* disponer de los complejos inmunitarios y de los productos del daño inflamatorio,<sup>10</sup> esta última se demostró mediante la observación de C3 y C4 en el daño postreperfusión.<sup>11</sup>

El estrógeno reduce las concentraciones de las moléculas de adhesión, como la selectina E, VCAM-1 e ICAM-1, lo que puede condicionar un efecto ateroprotector al reducir la adhesión de células blancas a la pared vascular. Se ha observado que también incrementan la expresión de las metaloproteasas de matriz 9, que puede digerir las cubiertas fibrosas vulnerables de la placa de ateroma, lo que resulta en trombosis.<sup>12</sup> El efecto antiinflamatorio del 17-β estradiol estabiliza la placa de ateroma, pero no inhibe su erosión.<sup>13</sup> El raloxifeno adolece del efecto modulador del estrógeno en la respuesta de las células T, así como en la inflamación en el ratón. Esta respuesta moduladora es dependiente de la dosis de estradiol.<sup>14</sup>

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de los estrógenos equinos conjugados (EEC) más acetato de medroxiprogesterona (MPA) o raloxifeno en las concentraciones séricas de las fracciones C3 y C4 del complemento en mujeres posmenopáusicas.

## PACIENTES Y MÉTODO

Se estudiaron 20 mujeres posmenopáusicas (un año después de su último periodo menstrual) que acudieron a la consulta externa del Departamento de Ginecología Endocrina del Hospital de Ginecoobstetricia Luis Castelazo Ayala, IMSS. En todas se registró la edad, el peso, la talla y se calculó el índice de masa corporal (IMC, peso en kg/talla en m<sup>2</sup>). Todas tuvieron concentraciones de hormona foliculoestimulante (FSH) > 30 mUI/mL y estradiol (E<sub>2</sub>) < 30 pg/mL.

Las pacientes se dividieron al azar en dos grupos, según el tratamiento que recibieron: grupo I, EEC a razón de 0.625 mg/día más MPA a dosis de 2.5 mg/día (n = 7); grupo II, raloxifeno a razón de 60 mg/día (n = 13), ambos se administraron de manera continua.

Se tomó una muestra de sangre de una vena antecubital al inicio y a los seis meses de tratamiento; se dejó coagular a temperatura ambiente y, posteriormente, se centrifugó. El suero se separó y congeló hasta el momento del análisis que, en el caso de la FSH, fue por análisis inmunoradiométrico (IRMA) con anticuerpos policlonales anti-FSH, se usó como marcador I<sup>125</sup>. Éste fue un análisis en fase sólida (DPC Coat-to-Count, USA), con coeficiente de variación intra e interensayo < 10%. El estradiol se midió por quimioluminiscencia con estuches comerciales (DPC, Diagnostic Products Corporation, USA), con coeficiente de variación intra e interensayo < 6%.

Las concentraciones de las fracciones C3 y C4 del complemento se determinaron por inmunonefelometría con estuches comerciales (Dade Behring Marburg GmbH, Marburg). El coeficiente de variación intra e interensayo fue < 6%.

## Análisis estadístico

Las diferencias entre los grupos se determinaron mediante la prueba de la t de Student para muestras independientes, y los valores iniciales y finales con la misma prueba para muestras pareadas.

## RESULTADOS

No hubo diferencias entre los grupos en relación con la edad, el peso, la talla y el índice de masa corporal (cuadro 1). No se encontraron diferencias entre los grupos al inicio o al final del tratamiento al analizar las concentraciones en suero de las fracciones C3 y C4 del complemento. Tampoco hubo diferencias al comparar los valores iniciales con los finales en los grupos I y II (cuadro 2).

**Cuadro 1.** Datos generales en los grupos de mujeres según el tratamiento

	Grupo I	Grupo II
Edad (años)	62.8 ± 5.4	59.1 ± 8.5
Peso (kg)	65.1 ± 6.2	60.6 ± 7.9
Talla (m)	1.48 ± 0.06	1.51 ± 0.06
Índice de masa corporal	29.8 ± 3.7	26.5 ± 3.0

Grupo I: estrógenos equinos conjugados a razón de 0.625 mg/día más acetato de medroxiprogesterona a dosis de 2.5 mg/día (n = 7). Grupo II: raloxifeno a razón de 60 mg/día (n = 13).

## DISCUSIÓN

En algunos estudios se ha observado que sólo los estrógenos utilizados en el tratamiento hormonal incrementan las concentraciones de la fracción C3 del complemento.<sup>15</sup>

**Cuadro 2.** Valores iniciales y finales en las fracciones del complemento sérico en los grupos de pacientes según el tratamiento

	Grupo I	Grupo II
C3 inicial (mg/dL)	177.9 ± 21.1	188.0 ± 30.6
C3 final (mg/dL)	170.1 ± 14.8	187.0 ± 25.3
C4 inicial (mg/dL)	40.0 ± 14.2	43.8 ± 13.2
C4 final (mg/dL)	35.9 ± 6.5	39.4 ± 10.7

Grupo I: estrógenos equinos conjugados a razón de 0.625 mg/día más acetato de medroxiprogesterona a dosis de 2.5 mg/día (n = 7). Grupo II: raloxifeno a razón de 60 mg/día (n = 13).

En este estudio, el grupo que recibió terapia hormonal tuvo disminución no significativa en las concentraciones de C3 y C4, mientras que el grupo tratado con raloxifeno no experimentó cambios en C3 ni disminución significativa en las concentraciones de la fracción C4 del complemento.

Estos resultados permiten suponer que la adición del progestágeno evita el incremento de las concentraciones de C3, observado en otros estudios en los que se utilizaron estrógenos solos.<sup>15</sup> El raloxifeno tiene efecto neutro en las concentraciones de C3.

Puesto que la muestra fue reducida, limitó la falta de resultados significativos. Ambos tipos de tratamiento no indujeron cambios importantes en las concentraciones del complemento. Al parecer, la participación del complemento en el proceso inflamatorio de la aterosclerosis no es importante en las mujeres que reciben terapia hormonal (estrógenos más progestinas), ni en las tratadas con raloxifeno.

## REFERENCIAS

- Ross R. Atherosclerosis an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-26.
- Cushman M, Meilahn EN, Psaty BM, et al. Hormone replacement therapy, inflammation, and hemostasis in elderly women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:893-9.
- Ridker PM, Hennekens CH, Rifai N, et al. Hormone replacement therapy and increased plasma concentration of C-reactive protein. *Circulation* 1999;100:713-6.
- Pasceri V, Willerson JT, Yeh ET. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation* 2000;102:2165-8.
- Torzewski J, Torzewski M, Bowyer DE, et al. C-reactive protein frequently colocalizes with the terminal complement complex in the intima of early atherosclerotic lesions in human coronary arteries. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:1386-92.
- Miller AP, Chen YF, Xing D, et al. Hormone replacement therapy and inflammation. Interactions in cardiovascular disease. *Hypertension* 2003;42(part 2):657-63.
- Volanakis JE. Complement activation by C-reactive protein complexes. *Ann NY Acad Sci* 1982;389:235-50.
- Deppisch RM, Beck W, Goehl H, Ritz E. Complement components as uremic toxins and their potential role as mediators of microinflammation. *Kidney Int* 2001;59(Suppl 78):S271-7.
- Lagrand WK, Niessen HWM, Nijmeijer R, Hack CE. Role for complement as an intermediate between C-reactive protein and intercellular adhesion molecule-1 expression. *Circulation* 2001;104:E46.
- Walport MJ. Advances in immunology. *N Engl J Med* 2001;344:1058-66.
- Barrington R, Zhang M, Fischer M, Carroll MC. The role of complement in inflammation and adaptive immunity. *Immunol Rev* 2001;180:5-15.
- Mikkola TS, Clarkson TB. Estrogen replacement therapy, atherosclerosis, and vascular function. *Cardiovasc Res* 2002;53:605-19.
- Burke AP, Farb A, Malcolm G, Virmani R. Effect of menopause on plaque morphologic characteristics in coronary atherosclerosis. *Am Heart J* 2001;141:58-62.
- Erlandsson MC, Gömöri E, Taube M, Carlsten H. Effects of raloxifene, a selective estrogen receptor modulator on thymus, T cell reactivity, and inflammation in mice. *Cell Immunol* 2000;205:103-9.
- Bustillos-Camacho O, Martínez-Chéquer JC. Efecto de la terapia estrogénica de reemplazo sobre los niveles séricos de complemento en la mujer posmenopáusica. [Tesis de posgrado] México: Hospital de Ginecología y Obstetricia Luis Castelazo Ayala - UNAM, 1998.