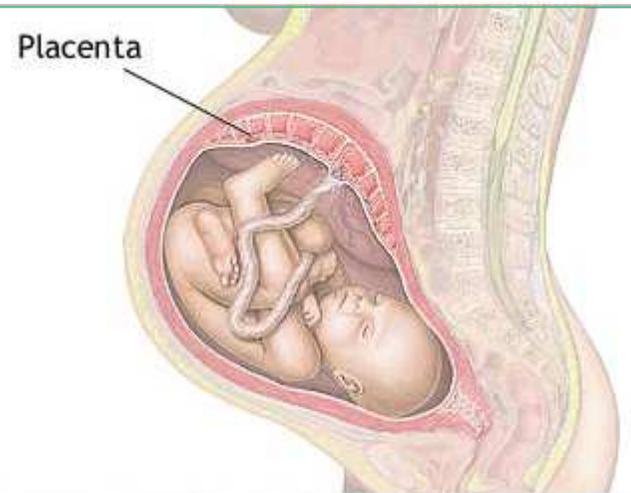


MECANISMOS NEUROENDÓCRINOS INVOLUCRADOS EN EL EMBARAZO Y EN EL PARTO

Bioquímica SILVANO LILIANA

HOSPITAL DE NIÑOS SANTÍSIMA
TRINIDAD DE CÓRDOBA



Introducción

- Los mecanismos involucrados en el mantenimiento del embarazo y desencadenantes del parto son complejos e involucran sistemas fetales y maternos.
- En estos eventos participan factores neuronales, hormonales e inmunológicos y las mismas funciones homeostáticas pueden ser activadas en el parto pretérmino y término.
- Durante la gestación el útero permanece en estado de quiescencia para asegurar la maduración completa del feto. Al final del embarazo, el cuello del útero se dilata y el útero cambia de estado quiescente al de contractilidad coordinada.
- Los mecanismos moleculares que sostienen estos eventos fisiológicos son complejos y permanecen sin elucidar.

Introducción

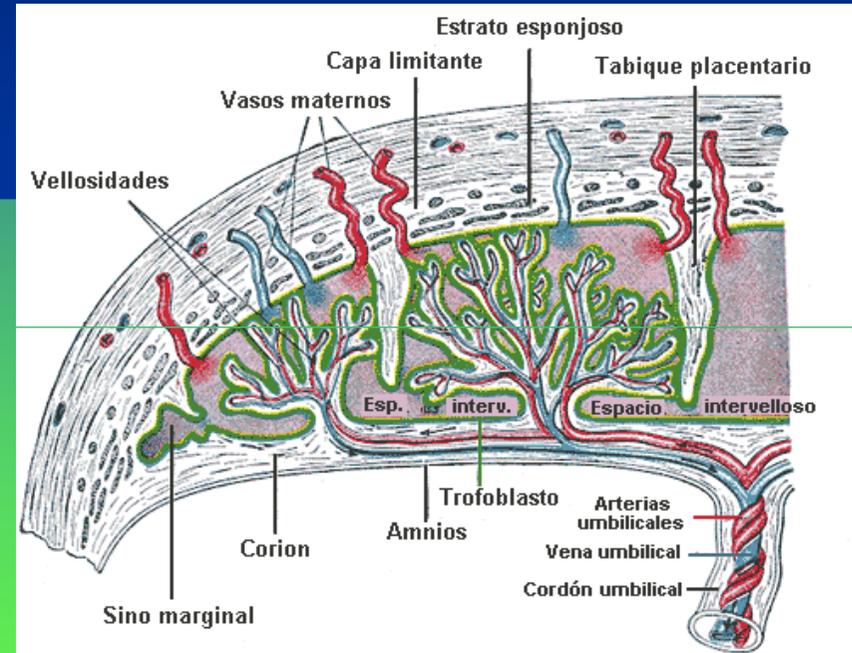
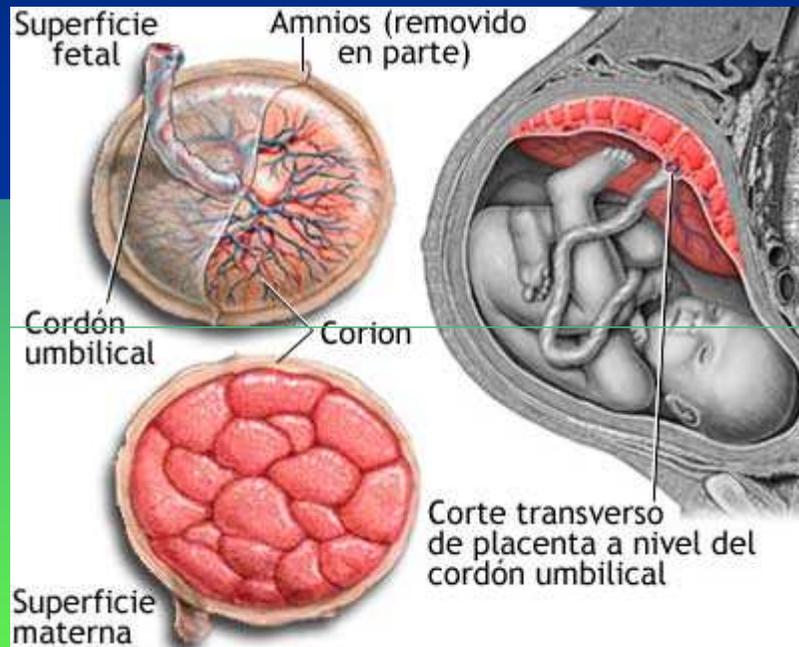
- Aproximadamente en un 10 % de los embarazos, los mecanismos que controlan estos procesos se alteran originando nacimientos prematuros que son la causa principal de muerte perinatal.
- Muchos estudios se han realizado sobre el crecimiento fetal, indicando que la salud intrauterina es importante para prevenir enfermedades en la vida adulta.

- Las actividades fundamentales del eje hipotálamo-hipofisis-adrenal son reproducidas en la placenta y en las membranas fetales durante la gestación.
- La placenta es una fuente importante de neurotransmisores y neuropéptidos, y junto con el hipotálamo de la madre y del feto son los principales órganos neuroendócrinos que controlan el embarazo.

Función de los neuropéptidos en el embarazo y el parto
focalizando sobre las hormonas que regulan
las vías clásicas del stress

Placenta

Representación esquemática de la placenta



Membranas fetales: amnios y corion

Decidua

Citotrofoblasto y sincitiotrofoblasto

Mecanismos neuroendócrinos del embarazo y parto

- Hormona liberadora de corticotrofina (CRH).
- Miembros de familia de CRH, urocortinas.
- Oxitocina.
 - Localización y expresión en diferentes tejidos
 - Mecanismos de acción-Receptores
 - Regulación de la secreción en la placenta
 - Acciones biológicas durante el embarazo y parto
- Otros mecanismos neuroendócrinos
 - Relaxina, opioides y neuropéptido I.

Hormona liberadora de corticotrofina- CRH y péptidos relacionados

- CRH es una neurohormona hipotalámica que regula la liberación de ACTH desde la glándula pituitaria anterior, la que estimula la secreción de cortisol desde la corteza adrenal.

Péptido	Longitud (aa)	Homología (%)
CRH humano	41	100
Urocortina (Ucn)	40	43
Ucn2 humano	38	34
Ucn3 humano	38	32
Sauvagina	40	48
Urotensina I	41	54

CRH y urocortinas

- CRH se localiza en SNC, corazón, adrenal, útero y páncreas.
- Ucn está localizado en órganos y tejidos periféricos (tiroides, adrenal, intestino, tejido adiposo, inmunológico, etc.)
- Placenta: CRH y Ucn están localizados en trofoblasto, decidua y membranas fetales.

TABLE 2. CRH and related peptide expression in human tissues and organs

	CRH	Ucn	Ucn2	Ucn3
Central nervous system 	•			
Thyroid 			•	•
Adrenal 	•		•	•
Uterus-ovary-testis 	•			
Lungs 	•			
Heart 		•	•	
Liver-pancreas-intestine 	•	•	•	
Pancreas 	•			•
Spleen 		•		
Skin 		•		•
Adipose tissue 		•		

CRH and related peptide mRNA and protein localization in human tissues and organs: central nervous system, thyroid, adrenal, uterus and ovaries, testis, lungs, heart, adrenal.

Localización de CRH y Ucn diferenciada en placenta

CRH: concentración durante la gestación

- CRH es sintetizado por tejidos feto-placentarios, siendo su estructura, inmunorreactividad y bioactividad idénticas al CRH hipotalámico.
- Es secretado a la circulación materna durante la gestación, donde las concentraciones aumentan exponencialmente hacia el final del embarazo.

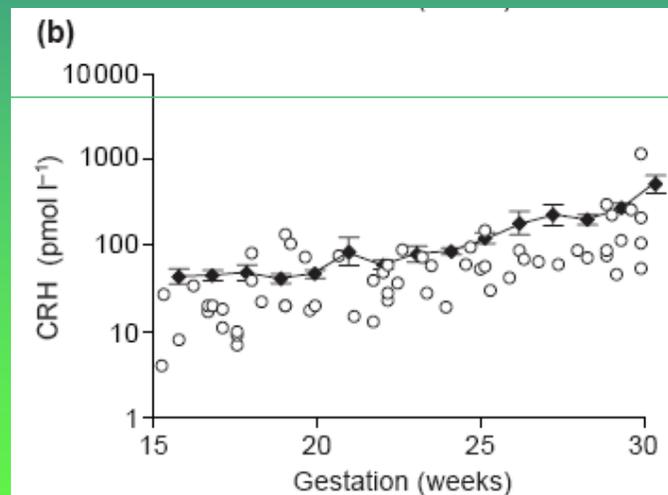
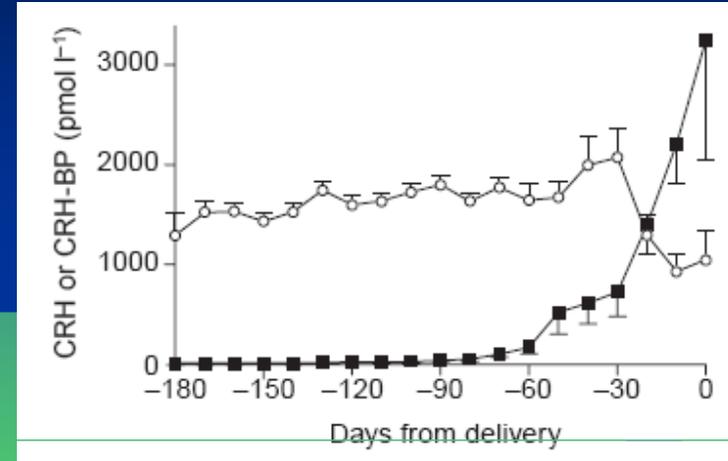
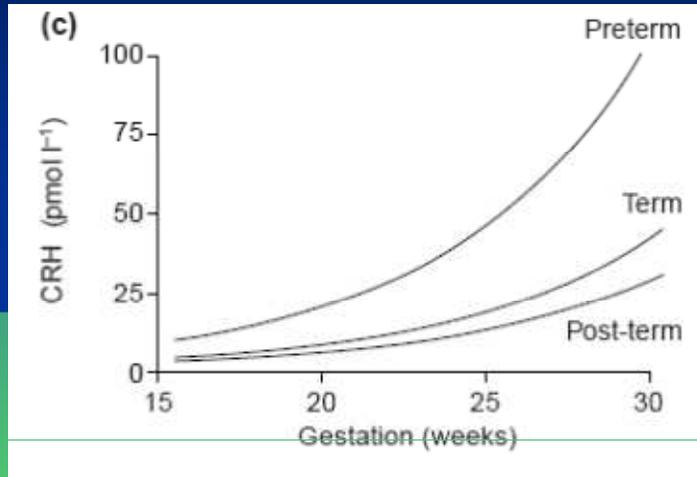


Fig. 3. Mean (\pm SEM) plasma corticotrophin-releasing hormone (CRH) (on log scale) in women with spontaneous term delivery (\blacklozenge ; $n = 308$) compared with individual samples from women with (a) spontaneous preterm delivery (\square , $n = 24$) or (b) post-term delivery (\circ , $n = 29$). (c) Regression curves of maternal plasma CRH (on linear scale) versus gestation fitted to data from the three groups. (Reproduced, with permission, from McLean *et al.*, 1995.)

CRH: reloj placentario



Patrones diferentes en la concentración de CRH en plasma materno son reconocidos hacia el segundo trimestre del embarazo en mujeres que tendrán partos tempranos, normales o tardíos.

DETERMINACIÓN TEMPRANA DEL TIEMPO DE GESTACIÓN

Implicancias clínicas?

The Utility of Plasma CRH as a Predictor of Preterm Delivery

WARRICK J. INDER*, TIMOTHY C. R. PRICKETT, M. JANE ELLIS, LOUISE HULL†, ROSEMARY REID, PETER S. BENNY, JOHN H. LIVESEY, AND RICHARD A. DONALD

J Clin Endocrinol Metab 2001

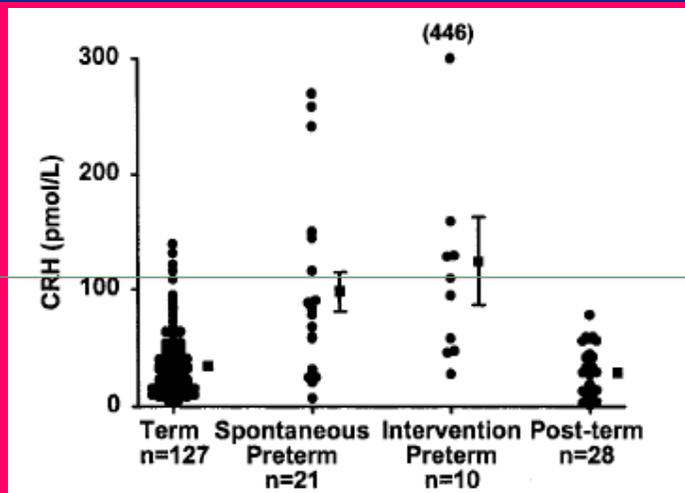


TABLE 1. The effect of changing the threshold for a 26-wk plasma CRH value on the prediction of preterm delivery

CRH (pM)	Sensitivity	Specificity	Positive predictive value
50	71%	76%	26%
70	55%	89%	37%
90	45%	94%	47%
110	36%	97%	55%
130	26%	98%	57%
150	19%	99%	75%

- Determinación de CRH en 297 mujeres en la semana 26 de gestación
- 10 % de partos pretérmino

Mecanismos de acción de CRH y Ucn: Receptores

	CRHR1	CRHR2
Cromosoma	17q21.31	7q14.3
Longitud (a.a)	415-446	397-438
Variantes por splicing	CRHR1A; CRHR1C, E, H CRHR1B, F; CRHR1G, D	CRHR2A; CRHR2B; CRHR2C
Ligandos endógenos	CRH, Ucn	Ucn, Ucn2, Ucn3
Distribución periférica	Placenta, ovario, piel, glándula adrenal, células endometriales	Placenta, vasos sanguíneos, corazón, músculo esquelético,

CRHR1

CRH, Ucn

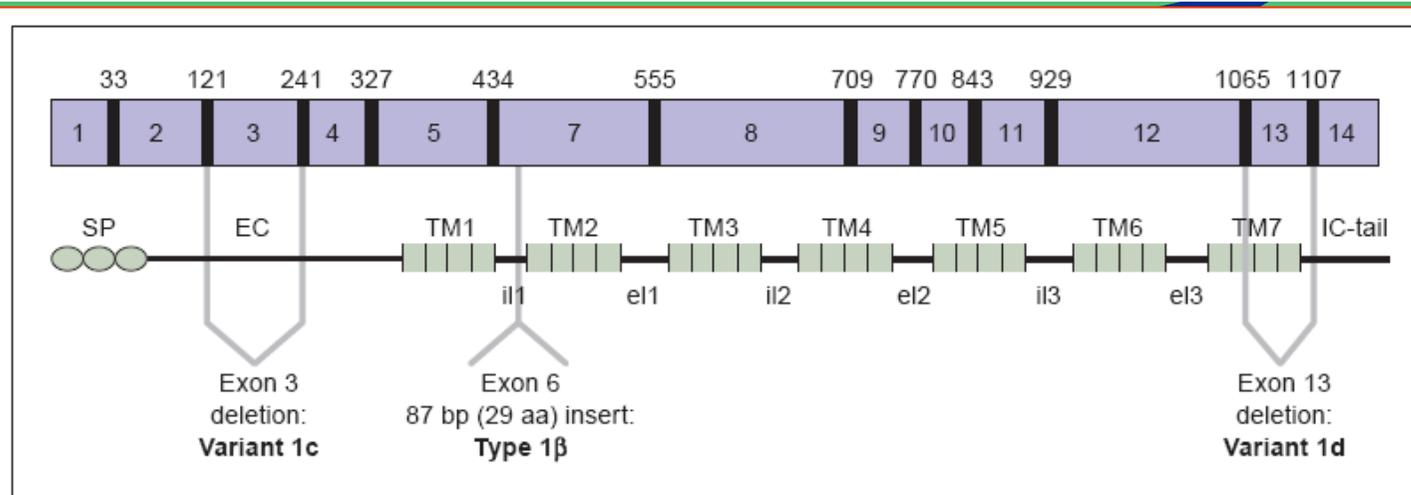


Fig. 1. Schematic representation of the mRNA encoding corticotrophin releasing hormone receptor 1 α (CRHR1 α). Different receptor isoforms are generated by alternative exon splicing. SP: signal peptide; TM: transmembrane domain; EC: extracellular domain; il: intracellular loop; el: extracellular loop; IC-tail: intracellular tail; aa: amino acids.

Mecanismos de acción de CRH y Ucn: Receptores

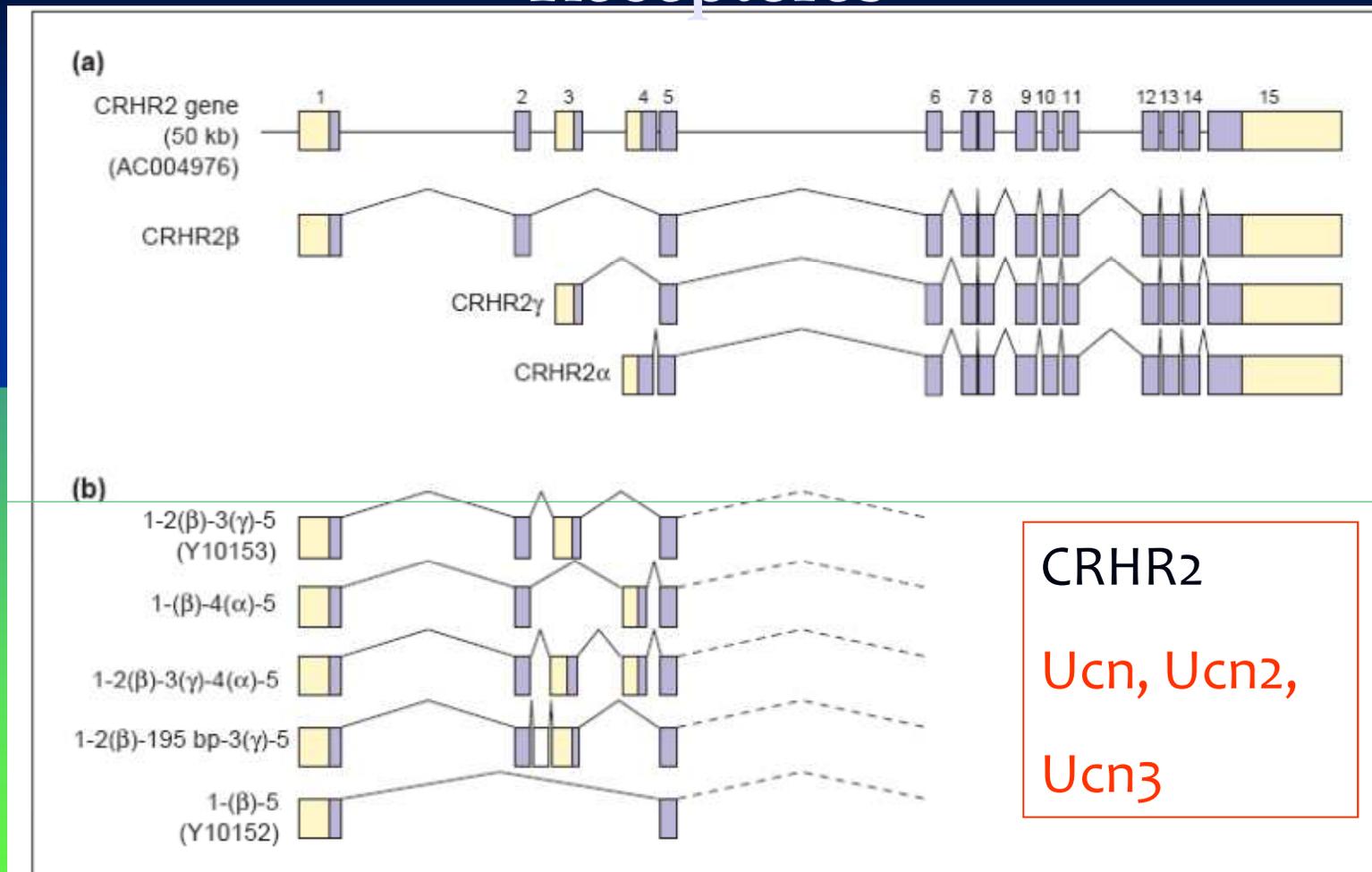


Fig. 2. (a) Schematic representation of the human corticotrophin releasing hormone receptor 2 (CRHR2) gene. Exons are indicated by purple boxes and 5'-3' untranslated regions are indicated by yellow boxes. The CRHR2 gene spans 50 kb and consists of 15 exons. The distances between the exons are drawn to scale but not in relation to exon size. Functional transcripts are indicated for the β , γ and α receptors. (b) Confirmed non-functional transcripts arising from aberrant splicing.

Mecanismos de acción de CRH y Ucn: Receptores

- Miometrio humano sin embarazo: CRHR1 α , 1 β , 2 β .
- Miometrio humano con embarazo: CRHR2 α .
- Miometrio con embarazo a término: CRHR1c y CRHR1d
- Sincitiotrofoblasto y membranas fetales: CRHR1 α , 1c, 1d y 2 β
- Glándula adrenal fetal: CRHR1 α , 2 α .

Efectos de CRH y Ucn

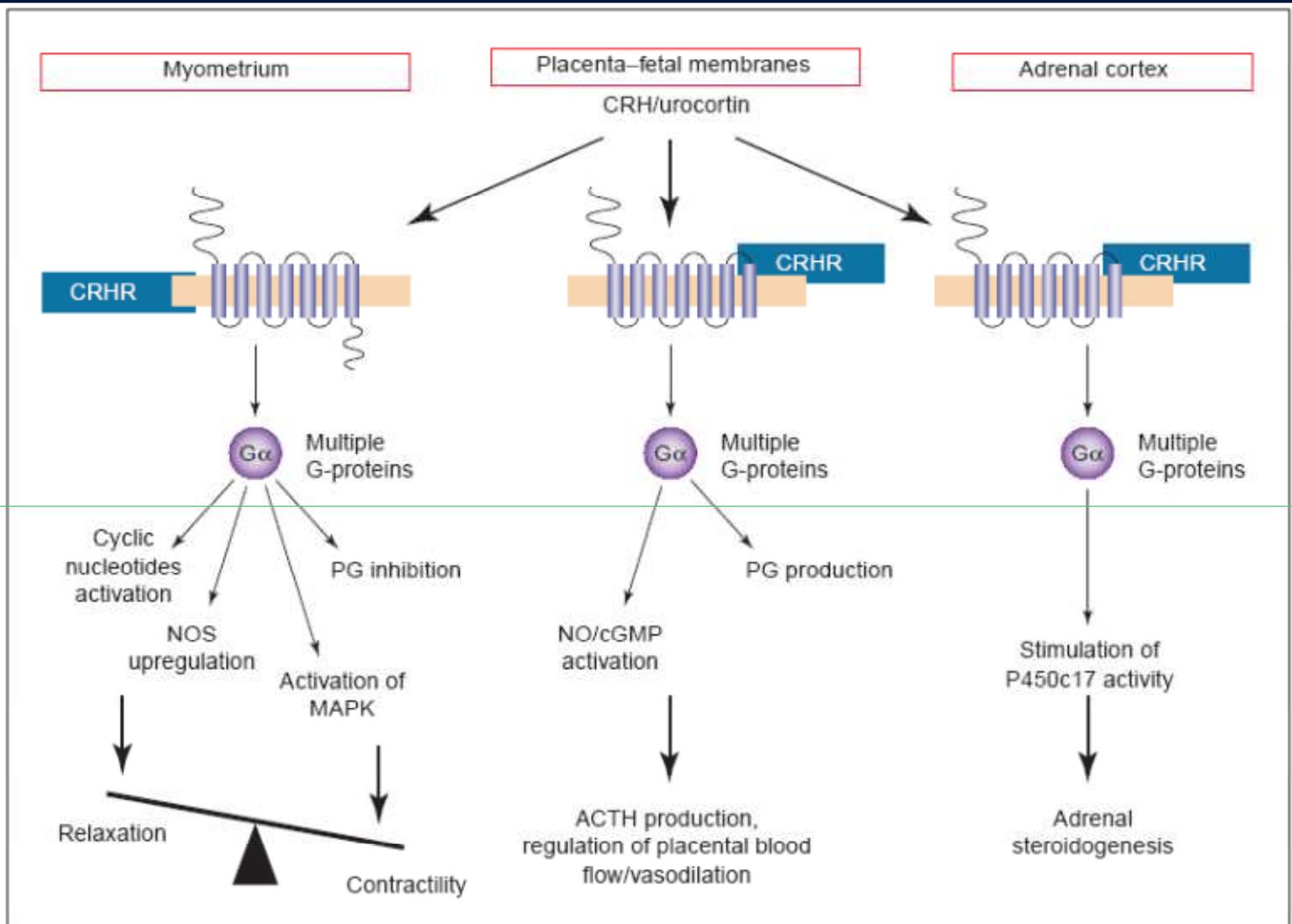
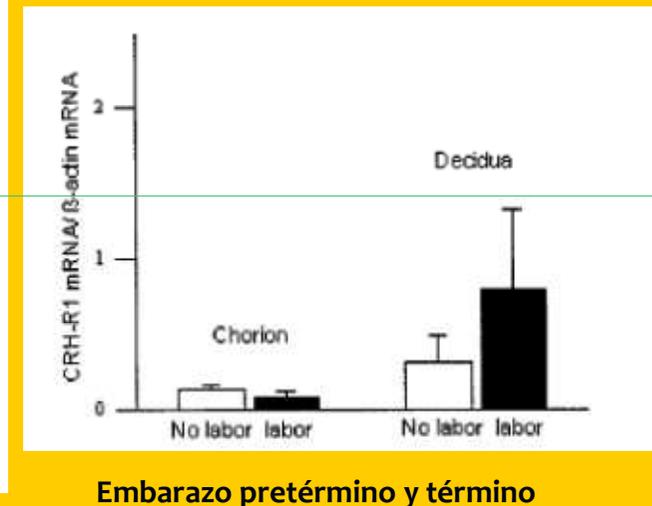
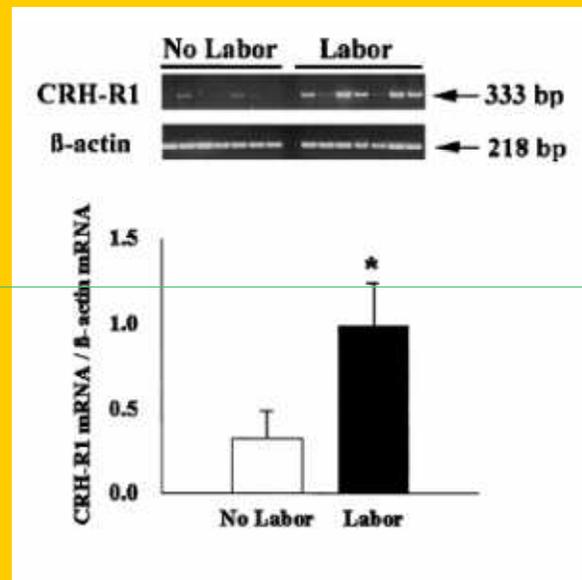
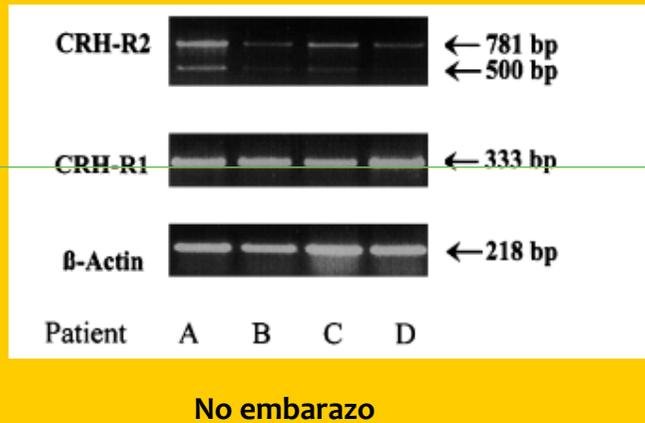


Fig. 3. Proposed signalling cascades activated by corticotrophin releasing hormone (CRH) ligands in fetomaternal tissues during human pregnancy. CRHR: CRH receptor; NOS: nitric oxide synthase; PG: prostaglandin; MAPK: MAP kinase; ACTH: adrenocorticotrophic hormone.

Corticotropin-Releasing Hormone Receptor Subtype 1 Is Significantly Up-Regulated at the Time of Labor in the Human Myometrium*

M. YVETTE STEVENS, JOHN R. G. CHALLIS, AND STEPHEN J. LYE

J ClinEndocrinol Metab 1998



Las acciones biológicas de CRH y Ucn en el miometrio durante los diferentes estadios de embarazo son regulados vía acción sobre diferentes subtipos de receptores.

Efectos de CRH y Ucn

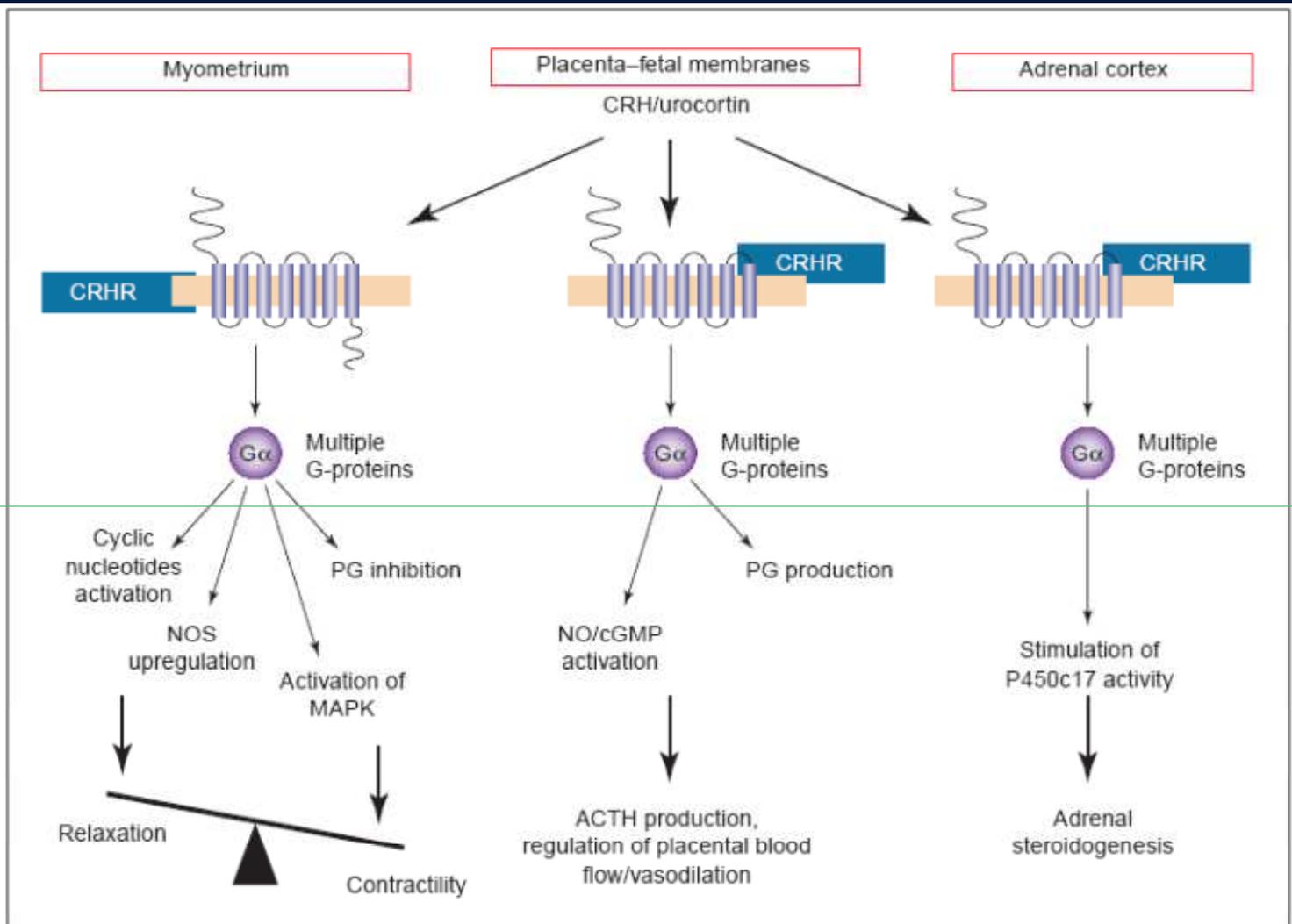


Fig. 3. Proposed signalling cascades activated by corticotrophin releasing hormone (CRH) ligands in fetomaternal tissues during human pregnancy. CRHR: CRH receptor; NOS: nitric oxide synthase; PG: prostaglandin; MAPK: MAP kinase; ACTH: adrenocorticotrophic hormone.

Control de la secreción placentaria de CRH

- La liberación de CRH hipotalámico está predominantemente regulado por control neuronal.
- La secreción de CRH placentario es regulada exclusivamente por factores humorales producidos localmente y provenientes de la circulación.
- Diferentes estudios realizados en tejido trofoblástico o de vellosidades placentarias muestran que la secreción de CRH in vitro puede ser **estimulada** por numerosos neurotransmisores, citokinas, polipéptidos y hormonas esteroideas como **PG**, **noradrenalina**, **interleukina 1** y **oxitocina**.

Control de la secreción placentaria de CRH

- Los **glucocorticoides** aumentan potentemente la producción de CRH en marcado contraste con su efecto sobre hipotálamo.

El efecto de feedback positivo de los glucocorticoides sobre el CRH placentario tiene gran importancia como mecanismo desencadenante del parto

- Progesterona y óxido nítrico inhiben la secreción de CRH placentario in vitro.

Regulación positiva e interacciones entre compartimientos fetales, placentarios y amnióticos

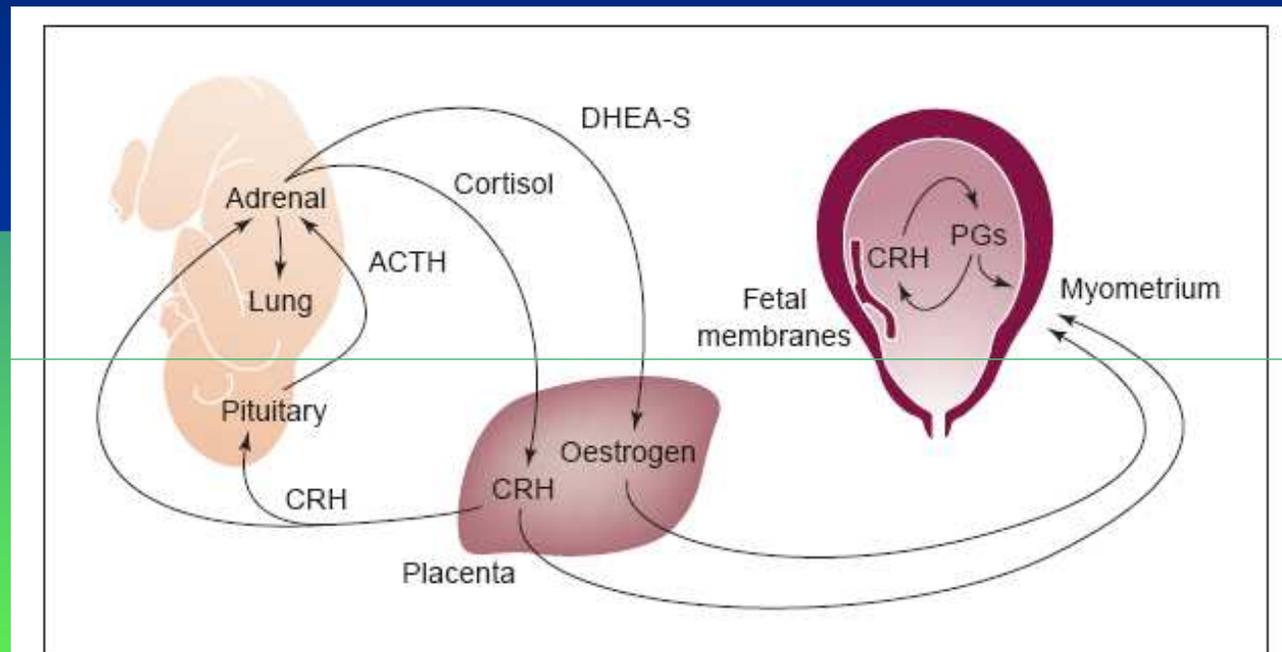


Fig. 1. Interacting positive-feedback hormonal loops in the fetal, amniotic and maternal compartments that may promote the progression of fetal maturation and initiation of parturition in humans. Each of the arrows represents a stimulatory action of the indicated hormone. ACTH: adrenocorticotrophin; CRH: corticotrophin-releasing hormone; DHEA-S: dehydroepiandrosterone sulphate; PGs: prostaglandins.

Oxitocina (OT)

- La oxitocina es una neurohormona expresada por las neuronas hipotalámicas magnocelulares y secretada por la pituitaria posterior. Sus acciones principales son desencadenar contracciones uterinas y la secreción de leche.
- Con la demostración de las propiedades contráctiles uterinas fisiológicas, específicas y potentes de la OT, se intentó establecer si era el factor principal desencadenante del parto. Las hipótesis indicaban que OT estaba relacionada a la expulsión del feto, de la placenta y de la involución del útero.
 - Oxitocina como hormona endócrina en el desencadenamiento del parto
 - Bajas concentraciones séricas
 - Variabilidad por secreción pulsátil
 - Vida media de pocos minutos

Oxitocina como hormona parácrina

- Expresión de OT en tejidos periféricos como en el cuerpo lúteo, tejido intrauterino humano (decidua, membranas fetales), endometrio, miometrio, etc.
- La decidua humana expresa niveles más elevados de RNAm de OT que las membranas fetales y trofoblasto. Estos niveles aumentan marcadamente con el comienzo del trabajo de parto y no correlacionan con los niveles de OT en circulación materna.

Chibbar R y col. J Clin Invest 1993.

- El contenido placentario de OT es aproximadamente cinco veces mayor que en el lóbulo pituitario posterior.

Lefebvre DL y col. Endocrinology 1994.

The importance of oxytocin mechanisms in the control of mouse parturition*

A. J. Douglas[†], G. Leng and J. A. Russell

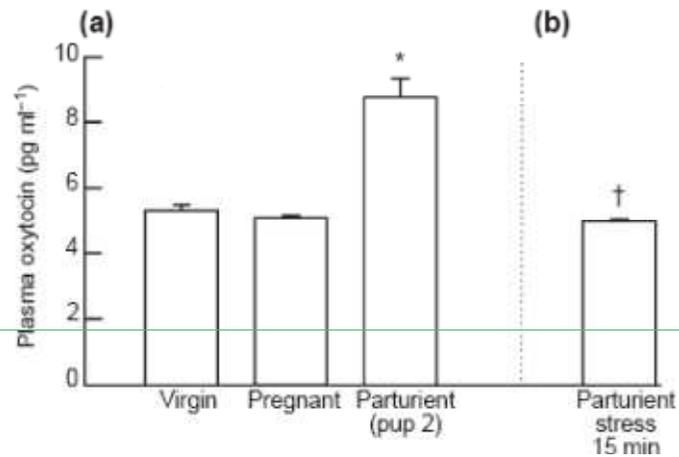


Fig. 2. Plasma oxytocin concentration during parturition in mice. Mice from each group were killed on the same day and trunk blood was collected. (a) Data are mean \pm SEM plasma oxytocin concentrations in virgin, late pregnant (day of expected parturition) and parturient (at the birth of the second pup) time-matched mice. One-way ANOVA, $P < 0.01$. * $P < 0.05$ versus other groups, *post hoc* test. (b) Data are mean \pm SEM plasma oxytocin concentration in stressed (glass jar for 15 min after the birth of the second pup) parturient mice. † $P < 0.05$ versus parturient mice killed at the birth of the second pup, *t* test (one-way ANOVA across all groups; $P < 0.05$, *post hoc* test versus pup two group).

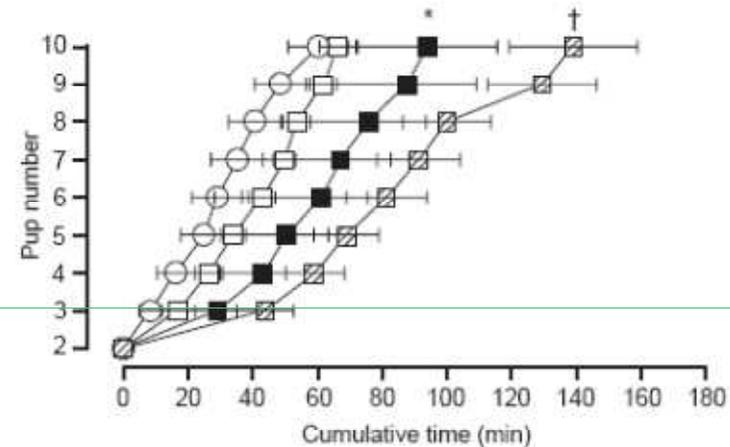


Fig. 1. Effect of oxytocin antagonist on the temporal profile of pup births. Mice were untreated (O), or were injected s.c. with oxytocin antagonist ($30 \mu\text{g kg}^{-1}$, ■; $300 \mu\text{g kg}^{-1}$, ▣) or with vehicle (□) at the birth of the second pup and returned to their home cages. Data are mean \pm SEM cumulative time to the births of subsequent pups. Two-way ANOVA for repeated measures, $P < 0.01$ across groups. * $P < 0.05$ all data from low dose oxytocin antagonist group versus untreated and vehicle control groups. † $P < 0.05$ all data from high dose oxytocin antagonist group versus all other groups, Student–Newman–Keuls' *post hoc* test.

*Aumento de las concentraciones de OT plasmática en el momento del parto

*Uso de antagonistas de OT retrasa el nacimiento

Activación de neuronas de OT en núcleos supraópticos durante el parto

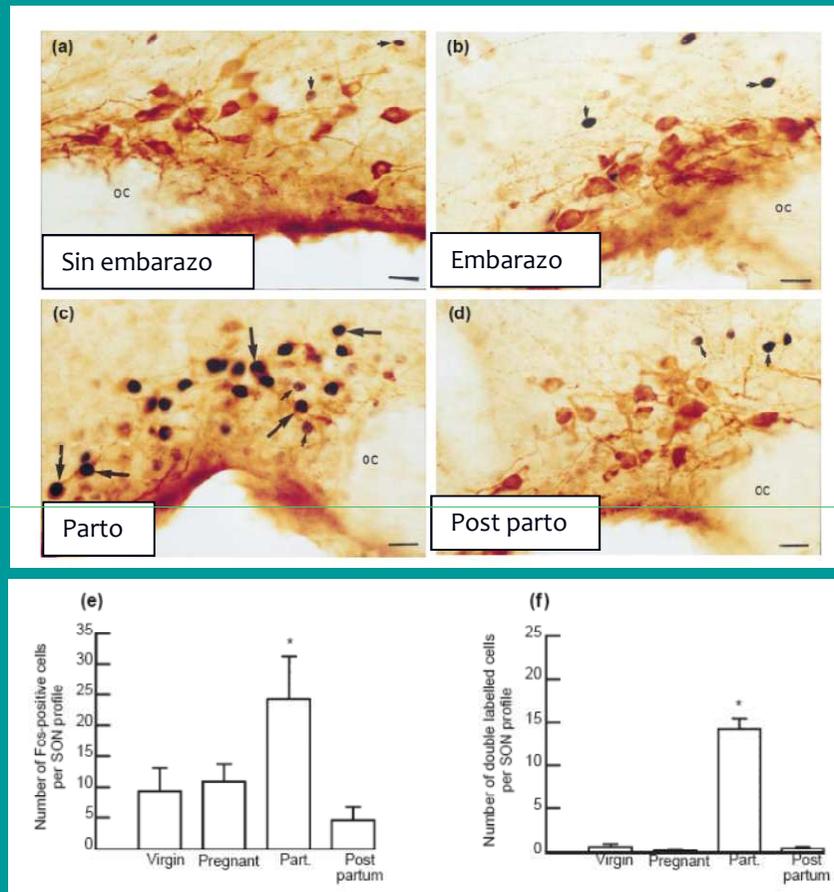


Fig. 4. Activation of oxytocin neurones in the supraoptic nucleus (SON) during parturition. Mice were perfused-fixed 90 min after the birth of the second pup (Part.), on the day of expected parturition (pregnant), 20–24 h post partum or were virgins. The brains were removed and double immunocytochemistry for Fos and oxytocin was performed on sections containing SON. Photomicrographs of the SON from (a) virgin, (b) pregnant, (c) parturient and (d) postpartum mice. OC: optic chiasm; long arrow: double labelled cell; short arrow: single labelled Fos-positive cell, including cells at the boundary of the SON. Scale bars represent 20 μ m. (e–f) Quantification of Fos: (e) number of Fos-positive cells per SON profile, one-way ANOVA, $P < 0.05$; * $P < 0.05$ versus all other groups, *post hoc* test; (f) number of cells containing both Fos and oxytocin per SON profile, one-way ANOVA, $P < 0.0001$; * $P < 0.05$ versus all other groups, *post hoc* test.

Mecanismo de acción de OT

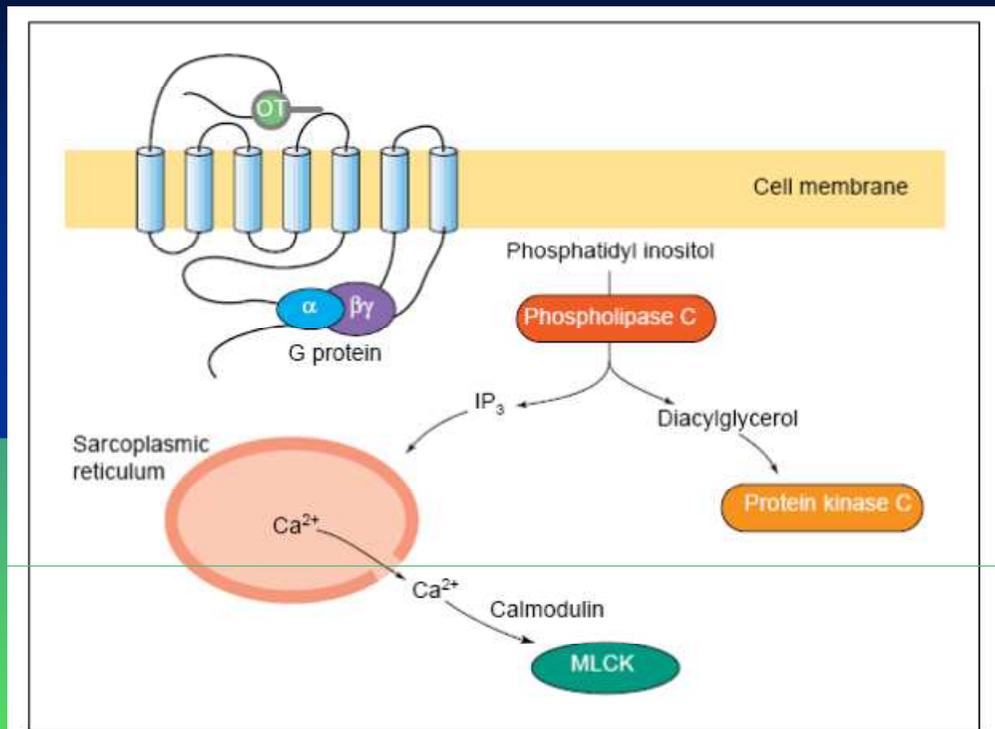


Fig. 1. Signal transduction mechanism for the oxytocin receptor in the myometrium. This receptor is a classic 7-transmembrane domain receptor linked through a G protein to phospholipase C. After receptor stimulation with oxytocin (OT), the α -subunit of the heterotrimeric G protein hydrolyses GTP to GDP and releases the $\beta\gamma$ -subunit to stimulate phospholipase C. This enzyme converts phosphatidyl inositides to diacylglycerol and inositol-1,4,5-trisphosphate (IP₃). Diacylglycerol stimulates protein kinase C activity causing phosphorylation of substrates which will characterize the response of the specific cell type. The IP₃ stimulates flux of Ca²⁺ into the cytoplasm through calcium channels, principally from the sarcoplasmic reticulum but also from the extracellular space. The increased Ca²⁺ will combine with calmodulin to stimulate myosin light chain kinase (MLCK) to produce myometrial contraction. In the decidua, a characteristic response would be synthesis and release of prostaglandins.

Aumento de la expresión de receptores de OT durante el parto en decidua y miometrio

Oxytocin: a paracrine hormone in the regulation of parturition? Mitchell B y col Reviews of Reproduction 1998

Metabolismo de Oxitocina

- El producto inicial de la traducción del gen de OT contiene oxitocina y neurofisisina I unidos covalentemente por un tripéptido.
- La molécula de OT es un nonapéptido con un puente disulfuro entre las cisteínas 1 y 6 originando un anillo en el extremo amino terminal que es esencial para su actividad biológica.

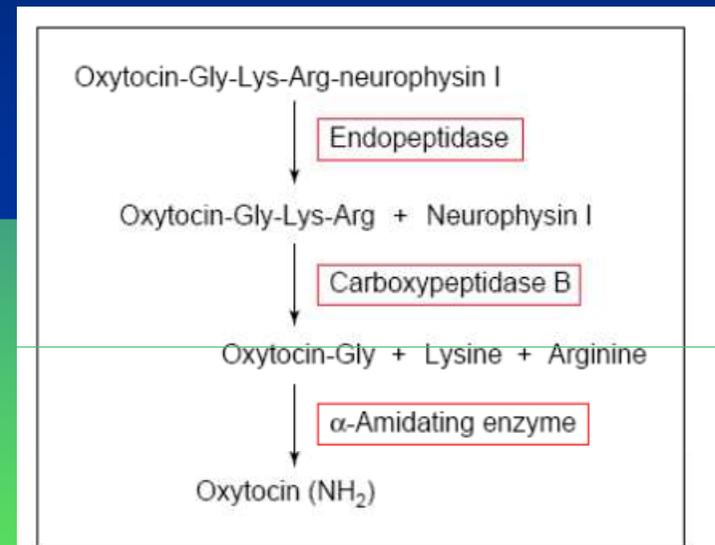
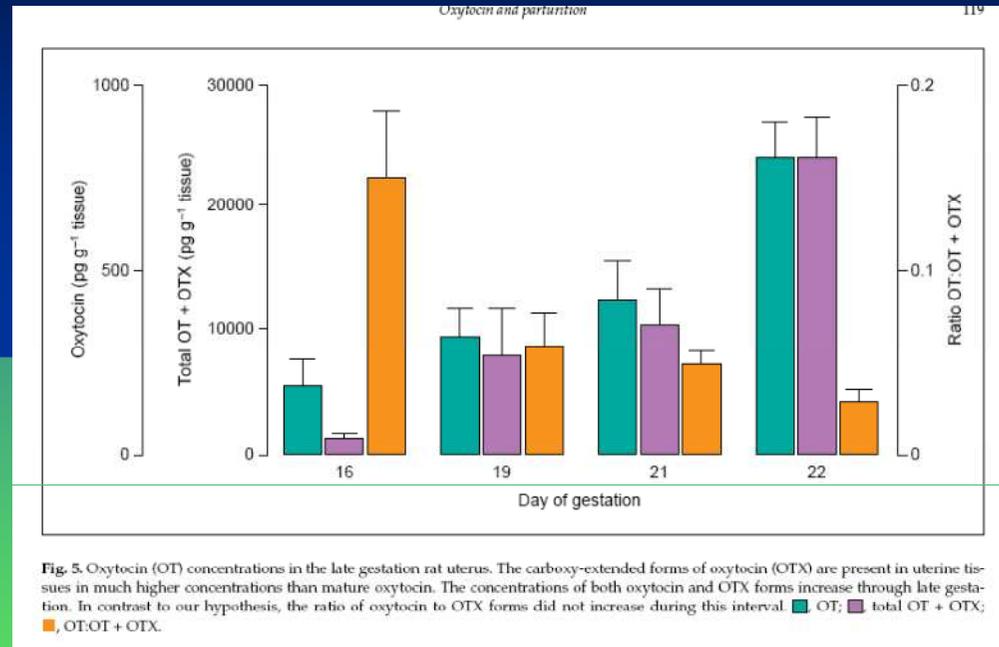


Fig. 4. Translation products from mRNA encoding oxytocin. The initial product contains oxytocin and neurophysin I linked covalently by the tripeptide Gly-Lys-Arg. The initial product is cleaved to yield neurophysin I and carboxy-extended prohormones of oxytocin which eventually are converted into mature, amidated oxytocin.

Niveles de OT en la gestación tardía



- OTX están presentes en tejido uterino en concentraciones mayores que OT madura.
- Las concentraciones de OTX y OT aumentan a través de la gestación.
- La relación de OT versus OTX disminuye a través de la gestación

Oxytocin: a paracrine hormone in the regulation of parturition?
Mitchell B y col Reviews of Reproduction 1998

Regulación de la secreción de OT placentario

- Los estrógenos son los principales reguladores de la secreción de OT en placenta.
- Cercano al tiempo del parto hay una up-regulación de la expresión de receptores de OT, indicando un efecto parácrino más que un aumento sistémico de OT.
- OT estimula la producción de PG (uterotónicas) y éstas estimulan la síntesis de OTR. Establecimiento de regulación positiva en el momento del parto.

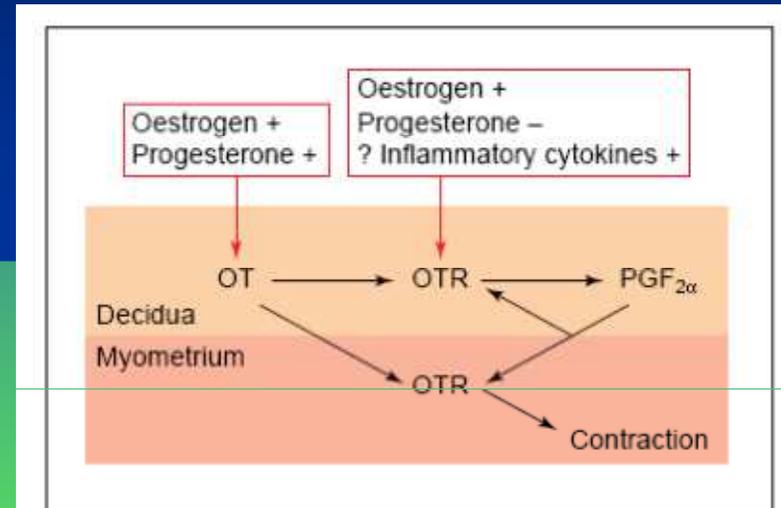


Fig. 2. The hypothesized positive feedback loop between oxytocin receptor (OTR) and prostaglandins (PG) in the decidua and myometrium. Oxytocin (OT) is synthesized locally within the decidua and stimulates oxytocin receptors in both decidua and myometrium. The decidual response is to produce prostaglandins, principally PGF_{2α}, which, in turn, will increase synthesis of oxytocin receptors in myometrium. Oxytocin synthesis is stimulated by both oestrogen and progesterone. Oxytocin receptor synthesis is stimulated by oestrogen and possibly by inflammatory cytokines but is strongly suppressed by progesterone.

Oxytocin: a paracrine hormone in the regulation of parturition?

Mitchell B y col. Reviews of Reproduction 1998

OT y OTR: regulación e implicancias biológicas

- Progesterona parece tener un efecto positivo sobre la síntesis de OT pero fuertemente negativo sobre la expresión de OTR, mientras que los estrógenos regulan positivamente tanto a OT como a la expresión de OTR.
- Los OTR de diferentes especies muestran elementos respondedores a diferentes citokinas inflamatorias, sugiriendo que éstos tienen una función importante en el proceso del parto.
- Existe evidencia que OT no es esencial para el desencadenamiento del parto pero si los OTR, indicando la posible existencia de otros ligandos del OTR o que éste pueda actuar estimulando las contracciones uterinas en ausencia de ligando.

Otros mecanismos neuroendócrinos

- **Relaxina:** es una hormona peptídica miembro de la familia de la insulina, es secretada por el cuerpo lúteo con un patrón similar a la gonadotropina coriónica humana.
 - Nacimientos prematuros están relacionados con un aumento de relaxina en la semana 30 de gestación.
- **Opioides:** endorfinas, encefalinas y dinorfinas.
 - Aumentan durante el trabajo de parto y parto en respuesta al estímulo del stress.
- **Neuropéptido Y:** nervios simpáticos y las células cromafines de la glándula adrenal.
 - Las concentraciones de NPY están aumentadas en mujeres embarazadas pero no se ha demostrado grandes cambios durante las gestación.

Resumen

- Los mecanismos que controlan el desarrollo del embarazo y desencadenan el parto son complejos e involucran diferentes interacciones entre tejidos maternos, fetales y placentarios.
- La placenta es una de las fuentes principales de neuropéptidos y neurohormonas que participan en la regulación del embarazo y del parto.
- CRH
 - Aumenta durante la gestación. CRH: reloj placentario
 - Aumento de la expresión de CRHR durante la gestación.
 - Regula las contracciones del miometrio, el flujo de sangre de la placenta y la concentración de PG y OT.
 - Fuente principal: placenta

Resumen

- OT:
 - Aumento de OT en el momento del parto.
 - Regulación positiva de OTR hacia el final de la gestación por estímulo de estrógenos y citokinas.
 - Fuentes principales: placenta y núcleos supraóptico
 - Regula contracciones uterinas, el desencadenamiento del parto y la involución del útero, estimulación de PG.
- Otros mecanismos neuroendócrinos
- Intervención múltiples eventos parácrinos, autócrinos, cambios hormonales fetales y mecanismos de control materno/fetal que se superponen.

Conclusión

La fisiología de la placenta es un modelo de interacción en y entre tejidos intrauterinos a través de neuropéptidos y neurohormonas que tienen efectos endócrinos, parácrinos y autócrinos y en donde se ponen de manifiesto diferentes mecanismos de control positivos tanto en la síntesis de estos péptidos como en la regulación positiva de sus receptores específicos.

Muchas gracias

