

11217.

7 20g



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA

LA SUB UNIDAD ALFA DE LA GONADOTROPINA  
CORIONICA HUMANA EN EL EMBARAZO  
NORMAL.

DR. SAMUEL KARCHMER K.  
DIRECTOR GENERAL  
PROFESOR TITULAR

DR. JUAN V. SEGURA  
SUBDIRECTOR GENERAL  
PROFESOR TITULAR

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE :  
ESPECIALISTA EN GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA  
P R E S E N T A :  
DR. ABEL BARRA URRUTIA

Titular de Tesis:  
DR. AQUILES AYALA RUIZ



México, D. F.

TESIS CON  
FALSA FECHA

Febrero 1987



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## I N D I C E

I. INTRODUCCION	1
II. JUSTIFICACION	11
III. OBJETIVOS	12
IV. MATERIAL Y METODOS	13
V. RESULTADOS	15
VI. DISCUSION	16
VII. CONCLUSIONES	17
TABLA I	18
TABLA I J	19
FIGURA J	20
FIGURA 2	21
FIGURA 3	22
VIII. BIBLIOGRAFIA	23

## I. INTRODUCCION

La hormona gonadotropina coriónica humana (hCG) es una hormona glucoprotéica producida en el cito y sinciciotrofoblasto, que en condiciones normales se detecta en mujeres durante el embarazo normal. Desde su descubrimiento hasta la fecha, ha tenido un proceso evolutivo en cuanto al conocimiento de su estructura molecular, propiedades químicas, inmunológicas, y biológicas, así como de sus efectos y ensayos clínicos. Con el advenimiento del radioinmunoensayo y el avance de la tecnología, se ha obtenido un alto grado de sensibilidad, y con ello, el desarrollo de mejores métodos inmunológicos para la cuantificación de hCG, lo que ha ampliado su aplicación clínica.

Los procedimientos de bioensayo para la cuantificación de la hCG en líquidos y tejidos, han variado sustancialmente en sensibilidad a través del tiempo (tabla 1).

### Historia:

En 1919 (1) Hirose, detectó la presencia de actividad gonadotrófica en extractos de placenta humana, con su bioensayo al implantarlos en tejido adiposo subcutáneo de conejos; observó crecimiento de los ovarios y formación de cuerpo lúteo.

Zondek, en 1930 (1), describió el efecto folículo estimulante y luteinizante que produjo la orina de mujeres postmenopáusicas y de mujeres embarazadas en bioensayo con ratas inmaduras y propuso los términos: Prolan A y prolan B al describir sus efectos.

En 1960, Wide y Gemzell (2), desarrollaron el inmunoensayo para la detección de la molécula intacta, utilizando un sistema de inhibición por aglutinación de hCG.

Con el advenimiento del radioinmunoensayo se ha obtenido un alto grado de sensibilidad, Odell y cols. (3) en 1966, realizaron el primer radioinmunoensayo para la cuantificación de hCG y su molécula intacta. Vaitukaitis y cols. en 1972 (4) llevaron a cabo un inmunanálisis detectando la subunidad beta de hCG con la obtención de un alto grado de especificidad y sensibilidad, posteriormente se elaboraron radioinmunoensayos para la subunidad alfa y al grupo carboxi-terminal (5) siendo éste último el más sensible (tabla II).

#### Propiedades químicas:

La gonadotropina coriónica humana (hCG) es una glucoproteína con peso molecular de 38,000 y un contenido de carbohidratos de 30 por 100. La vida media de la hCG es aproximadamente de 24 horas, en comparación con 2 horas para la hormona luteinizante, que obedece sobre todo al mayor contenido

de ácido siálico de la hCG. Como en el caso de otras glucoproteínas; hormona folículo estimulante (FSH), hormona luteinizante (LH) y hormona estimulante del tiroides (TSH),- la hCG consta de dos subunidades por fuerzas electrostáticas e hidrofóbicas no covalentes denominadas alfa y beta. Las subunidades alfa tienen 39 a 92 aminoácidos cada una y dos cadenas de carbohidrato unidas por asparagina. Existen mayores diferencias químicas entre la subunidad beta a otras hormonas glucoprotéicas. La actividad biológica única, así como la especificidad en los radioinmunoanálisis, debe atribuirse a las diferencias moleculares en las subunidades beta. (5,6)

Una comparación de los 110 primeros aminoácidos de las subunidades b-hCG y LH revela que los 94 son idénticos (83). Sin embargo, hLH tiene tan solo 115 aminoácidos residuales en la subunidad, mientras que hCG tiene 145. Excepto para una posición entre los residuos 111 a 115 con el mismo aminoácido, la secuencia de 35 aminoácidos del extremo carboxilo terminal de hCG no está representado en hLH. La subunidad b-hCG tiene cuatro cadenas de carbohidrato unidas por serina.

Las subunidades separadas de hCG no tienen actividad hormonal, pero las subunidades disociadas pueden recombinarse para restablecer el alto grado de actividad original de la

hormona. De hecho, la unidad alfa puede ser reasociada con la subunidad beta de otra hormona glucoprotéica, mientras que la subunidad beta es también reasociada con la subunidad alfa de otra. Cuando se forman tales moléculas híbridas, la actividad biológica expresada es aquella de la cual derivó la subunidad beta (Vaitukaitis, Ross y Reichert, 1973).

La molécula de hCG tiene un contenido de carbohidratos más alto que ninguna otra hormona humana. La cadena de carbohidrato, sobre las unidades alfa y beta, están compuestas de ácido siálico, galactosa, fucosa, galactosamina y manosa (Babi, 1977). La extracción del azúcar terminal (ácido siálico) de la molécula con enzimas específicas acelera notablemente el aclaramiento de la hCG en la circulación pero no afecta en forma apreciable su potencia biológica. La eliminación de los residuos adicionales (galactosa y galactosamina) reduce la capacidad de la hormona para estimular la esteroidogénesis pero no para unirse a los sitios receptores. La extracción completa del carbohidrato destruirá también esta última actividad.

#### Propiedades biológicas:

La primera actividad hormonal usada para describir hCG fué la capacidad para estimular el crecimiento uterino y ovárico en hembras inmaduras de ratones (Aschheim y Sordok,

1927). Se han obtenido pruebas de que hCG posee también un bajo nivel de actividad tipo hormonas folículo estimulante y de hormona estimulante del tiroides (Lyon, Simpson y Evans, 1953).

También como la hormona luteinizante (hLH), hCG puede inducir maduración folicular y ovulación cuando se administra por vía exógena a mujeres o hembras de animales. Es ya conocida la actividad biológica de esta hormona en producir ovulación y superovulación en ovarios de mujeres que previamente han sido condicionadas con hormona folículo estimulante, también produce efecto androgénico en hembras estimulando las células intersticiales testiculares, efecto atribuible a la sensibilidad con la hormona luteinizante (LH), (1,5,6).

Hasta el momento presente, la única función que se conoce con certeza para la hCG es el mantenimiento del cuerpo lúteo, relevando a la LH aproximadamente el 80. día después de la ovulación, cuando comienza a aparecer la B-hCG en la sangre materna.

La supervivencia continuada del cuerpo lúteo depende totalmente de la hCG, y a su vez, la continuidad del embarazo depende de los esteroides del cuerpo lúteo hasta la 7a. semana de gestación. De la 7a. a la 10a. semana, el cuerpo lúteo es relevado gradualmente por la placenta y, hacia



la 10a. semana, la eliminación del cuerpo lúteo no irá seguida de aborto por supresión de esteroides (6).

Es muy probable, aunque no se ha demostrado en forma concluyente, que la hCG estimula la esteroidogénesis en el testículo fetal con la consiguiente producción de andrógenos que permite llevar al cabo la diferenciación masculina.

La hCG es segregada por el trofoblasto y alcanza un nivel máximo de 50,000 a 100,000 mUI/ml aproximadamente a la 10a. semana de gestación.

Por otra parte, en aproximadamente un tercio de pacientes con enfermedad trofoblástica ocurre crecimiento exagerado de los ovarios, lo que sugiere un efecto combinado de actividad intrínseca de FSH y LH, aunque el efecto mencionado tiende a estabilizarse ahí en determinado grado de crecimiento a pesar de la elevación progresiva de la concentración en hCG; lo que arguye la posibilidad de que existe otro factor con actividad gonadotrópica en este efecto (1,5).

Algunos estudios evidencian que la hCG a concentraciones elevadas manifiesta actividad intrínseca de TSH, tal aseveración se ha demostrado *in vitro* e *in vivo* (1,6).

#### Propiedades inmunológicas:

La molécula intacta de hCG es altamente antigénica

e inmunológica cuando se inyecta a animales no humanos. Como la alteración química de la hormona convierte a hCG en inmunógena para la especie humana (Stevens y Crystle, 1973) bajo condiciones en que la hormona nativa no era inmunógena se cree que la hCG es normalmente tolerante al reconocimiento de linfocitos T humano pero algunos linfocitos B son capaces de fijarla. Los anticuerpos generados contra hCG nativa o alterada no se puede diferenciar bien entre hCG y hLH in vitro o in vivo. Si exceptuamos los 35 residuos del C-terminal de la subunidad Beta-hCG, hCG y hLH son químicamente muy similares a las inmunizaciones con hCG intacta producen muy pocos anticuerpos específicos. Además la fracción de carbohidratos de hCG apenas influyen al parecer en la inmunogenicidad y la especificidad de anticuerpos contra hCG.

Las subunidades de hCG son también antigénicas e inmunogénicas. Mientras que los anticuerpos a la subunidad alfa no discriminan bien entre hCG o a la subunidad alfa de hormona luteinizante (hLH), hormona estimulante del tiroides (hTSH) y hormona foliculo estimulante (FSH), los anticuerpos contra hCG muestran grados variables de especificidad a la hormona progenitora. La reactividad cruzada de la subunidad Beta-hCG con sueros anti-hLH puede ser todavía reducida con ruptura parcial de los enlaces disulfuro en la subun

dad hCG (Bahl, Pandian y Chai, 1976). Sin embargo, no se ha encontrado aún un antisuero Beta-hCG que no reaccione en cierto grado con la hLH. Esta observación se halla probablemente relacionada con las estrechas similitudes químicas entre las hormonas y, mientras la alteración estructural reduce la reacción cruzada por destrucción de algunos determinantes comunes de confirmación, tal reacción persiste por los determinantes de secuencia consistentes en cadenas idénticas de aminoácidos.

Los sueros contra hCG intacta y sus dos subunidades son capaces de neutralizar la acción biológica de la hormona in vivo. Ni los antisueros a hCG ni sus subunidades son específicas para neutralizar hCG y todos inhibirán, en cierto grado, la función de otras hormonas glucoprotéicas, particularmente hLH.

Los péptidos naturales y sintéticos del fragmento C-terminal de la subunidad beta-hCG son antigénicos e inmunógenos. Estas pequeñas moléculas (3,000-4,000 Daltones) son inmunógenos débiles; sin embargo los anticuerpos contra la misma, han sido generados y caracterizados. Los péptidos representantes de los 35 o más residuos del fragmento C-terminal de hCG tiene capacidad para inducir formación de anticuerpos que neutralicen el efecto biológico de hCG in vivo.

Los péptidos del fragmento C-terminal de Beta-hCG

no son haptenos.

La formulación de un péptido inmunógeno capaz de producir un alto nivel de anticuerpos específicos será sin duda importante para cualquier aplicación clínica potencial relacionada con la manipulación de hCG.

Distribución, metabolismo y cinética:

La distribución, metabolismo y excreción de hCG y sus subunidades ha sido bien caracterizada. Se han encontrado receptores de inmunoreactividad prácticamente en la mayor parte del organismo.

Para investigar el metabolismo de hCG y sus subunidades, se han empleado diversos modelos, los cuales incluyen la cuantificación de la misma después de la evacuación del trofoblasto y sus determinaciones después de haberse administrado fuera del embarazo hCG (7). Las curvas de aclaramiento presenta dos componentes exponenciales, uno rápido y uno lento, la vida media de hCG es aproximadamente de 24 horas para la molécula intacta, cerca de 10 veces más que la subunidad Beta-hCG y al rededor de 30 veces más que la subunidad alfa. La excreción se produce principalmente en la orina, durante el puerperio de un embarazo de término, se le puede detectar hasta la 6a. semana después de la interrupción del embarazo de un parto normal,

tal excreción es producto de los cambios en la compartimentalización de la hormona.

Brunner, en 1951 la encontró en el líquido amniótico. Las concentraciones en tejidos fetales han sido bajas comparadas a las maternas. La hCG cruza la barrera hematoencefálica con dificultad. McCormik (1954) no encontró hCG en el líquido cefalorraquídeo de mujeres embarazadas (punción lumbar).

Begshawe (1969) encontró inmunoreactividad a hCG en líquido cefalorraquídeo de mujeres con neoplasia trofoblástica.

#### Presencia de hCG en neoplasias:

La hCG y sus subunidades son secretadas en el cito y sinciciotrofoblasto, los niveles séricos de la hormona frecuentemente gestacional, también es detectada en otro tipo de neoplasias malignas y son ampliamente usadas como marcadores tumorales (9).

## II. JUSTIFICACION

Se ha caracterizado el patrón de secreción de la molécula intacta de hCG de la subunidad Beta-hCG por RIA durante el embarazo normal. La determinación de la subunidad alfa en el embarazo normal, ha sido caracterizado sobre todo al inicio de la gestación y en pocas ocasiones durante la 2da. mitad del embarazo.

Las modificaciones sustanciales de los niveles de alfa-hCG deben relacionar con alguna alteración tanto de origen materno como fetal, por lo que se realizó un rastreo sistemático de alfa-hCG en mujeres con embarazo normal. En nuestro medio cualquier información en este sentido es nula.

### III. OBJETIVOS

- a) Determinar un análisis cuantitativo prospectivo de las concentraciones en suero de la subunidad alfa-hCG a lo largo del embarazo normal.
  
- b) Correlacionar los niveles cuantitativos de la subunidad alfa-hCG con los de la subunidad Beta-hCG durante el embarazo normal.

#### IV. MATERIAL Y METODOS

##### Pacientes:

Se obtuvieron muestras de sangre en venopunción a 250 mujeres con embarazo no complicado y con diferente edad gestacional. La cantidad de sangre obtenida fué de 5 ml. Las muestras se centrifugaron a 1,500 x g, los sueros se separaron para su almacenamiento a  $-20^{\circ}\text{C}$ , hasta su cuantificación. Las muestras se etiquetaron utilizando como determinación de la edad gestacional, la fecha de la última menstruación (FUM) y la regla de Neagle. Cuando esta información no pudo precisarse, la fecha del espécimen se estableció de acuerdo a un análisis retrospectivo, considerando la edad gestacional detectada en el producto a su nacimiento por valoración de Capurro.

##### Laboratorio:

En la cuantificación de subunidad alfa y beta de hCG, se empleo el sistema de radioinmunoanálisis con doble anticuerpo, (10,11) para su determinación en suero.

Los antisueros específicos antialfa y antibeta hCG, así como hCG purificada, empleada como preparación de referencia, así como para su iodinación, fueron obsequiadas por la Agencia Nacional de la Pituitaria (National Institutes of Health, Bethesda Maryland, USA). La reacción



crucada de los antisueros con la hormona luteinizante de origen hipofisiario es mínima o nula (8). En el ensayo se utilizó hCG-I-125 como sustancia radiofodinada. El nivel de sensibilidad máximo para la detección de beta-hCG es superior a 1.0 ng/ml. (10 mIU/ml) mientras que el de alfa-hCG es de 5 ng/ml. (50,0 mIU/ml), los coeficientes de variación intra y extraensayo en ambos sistemas fueron inferiores al 10%. El análisis estadístico de los resultados, se hizo de acuerdo a SNEDECOR y COCHRAN (12). Las diferencias en los promedios fueron comparadas mediante la t de Student, así mismo se efectuó un análisis de regresión lineal de cuadrados mínimos para comparar los niveles obtenidos de hCG en los radioinmunoanálisis para subunidad alfa y beta.

## V. RESULTADOS

Los promedios de los valores obtenidos para las subunidades de hCG se hallan ilustradas en las figuras 1 y 2. En el sistema para determinar beta-hCG se obtuvo un incremento sensible entre la semana 9 y 14 con decremento progresivo después de este período que se estabilizó a partir de la semana 25 de gestación, con variaciones hasta el final del embarazo, La subunidad alfa de hCG exhibió un patrón muy diferente, ya que tendió a elevarse conforme se avanzaba en la edad gestacional y sus concentraciones se mantuvieron sistemáticamente por arriba de 15.0 UI/ML. En la figura 3 se han ilustrado curvas comparativas que demostraron tener una diferencia sensible sobre todo en la segunda mitad del embarazo ( $p < 0.001$ ). Sin embargo, entre la semana 35 y 37 se observó un descenso sensible en los niveles de alfa-hCG aunque siempre se mantuvieron por arriba de las cifras registradas en la semana 25. Las diferencias de concentración de hCG, alfa y beta-hCG fué clara y alfa-hCG se encontró siempre por arriba de su contraparte beta, sin llegarse a obtener correlación alguna.

## VI. DISCUSION

En el presente estudio se demuestra en el sistema para determinar beta-hCG, que se obtuvo un incremento sensible entre la semana 9 y 14 de gestación, con decremento progresivo después de este periodo que se estabilizó a partir de la semana 25 de gestación. La producción de la subunidad alfa, mostró un patrón diferente con una sobreproducción a partir de la semana 25 y que aumenta conforme se avanza en la edad gestacional, mostrando una diferencia sensible sobre todo en la segunda mitad del embarazo. Sin embargo, entre la semana 35 y 37 se observó un descenso sensible en los niveles de alfa-hCG, manteniéndose siempre por arriba de la semana 25, sin poderse precisar la causa.

No contamos con una explicación para este fenómeno. Por otro lado, desconocemos que la hipófisis de la embarazada pueda sufrir cambios en su tamaño, capaz de producir sustancias glucoproteicas que puedan reaccionar con el sistema de radioinmunoensayo. También se sabe de la producción por otros tejidos, de sustancias parecidas a la hCG que en determinado momento puedan estar reaccionando con el sistema empleado.

## VII. CONCLUSIONES

La subunidad alfa de hCG tiende a elevarse en la 2da. mitad del embarazo, hemos teorizado que esta elevación hasta el momento es inexplicable, no obstante puede deberse a:

- a) Otras formas de alfa-glucoproteínas sintetizadas en tejido hipofisiario materno.
- b) En base a que existe una relación inversa en cuanto a proporción del sinciotrofoblasto en relación al citotrofoblasto a medida que avanza el embarazo, es factible que esta elevación se asocie con mayor producción de la subunidad alfa-hCG en el sinciotrofoblasto.
- c) Es posible alguna contribución de la hipófisis fetal.
- d) Puede existir producción de la subunidad alfa en una fuente extra hipofisiaria fetal dado que se ha encontrado inmunoreactividad en otros tejidos, así como isómeros de la hormona que puede ser de origen placentario.

## BIOENSAYOS PARA hCG

ENSAYO	S I S T E M A	SENSIBILIDAD		AUTOR	
B I O E N S A Y O  I N V I V O	1) PESO UTERINO RATON	0.1	UI	KLINEFELTER Y COLS.	(1943)
	2) PESO UTERINO RATAS	0.25	UI	KLINEFELTER Y COLS.	(1943)
	3) PROSTATA VENTRAL DE RATA	0.25	UI	DICZFALUSY Y COLS.	(1950)
	4) DEPLECION AC. ASCOR BICO OVARIO DE RATAS	0.25	UI	PARLOW Y COLS.	(1961)
	5) HIPEREMIA OVARICA RATAS	0.5	UI	FARRIS E. J.	(1948)
	6) ESPERMIAACION (RANAS)	5.0	UI	SALVATIERRA V.	(1952)
	7) OVULACION (CONEJAS)	40	UI	FRIEDMAN H. H.	(1932)
I N V I T R O	1) PREPARACION CUERPO LUTEO BOVINO	3.0	mUI/ML.	SAXENA Y COLS	(1974)
	2) PREPARACION CELULAS INTERSTICIALES (TESTICULO RATA)	20	uUI/ML	DUFAU Y COLS	(1974)

TABLA 1 BIOENSAYOS PARA hCG, CRONOLOGIA Y SENSIBILIDAD

INMUNOENSAYOS PARA hCG

SISTEMA	SENSIBILIDAD	AUTOR
1) INHIBICION POR AGLUTINACION	0.3 UI/ML	WIDE Y GEMZELL (1960)
2) RADIOINMUNOENSAYO SUERO ANTI-hCG	10 mUI/ML	ODELL Y COLS. (1966)
3) RADIOINMUNOENSAYO SUERO ANTI-BETA-hCG	5 mUI/ML	VATTUKAITIS Y COLS. (1972)
4) RADIOINMUNOENSAYO SUERO ANTI-ALFA-hCG	50 mUI/ML	BIRKEN Y CANDFIELD (1977)
5) RADIOINMUNOENSAYO SUERO ANTI-COOH-BETA-hCG	5 NG/ML	BIRKEN Y CANDFIELD (1977)
6) RADIOINMUNOENSAYO SUERO ANTI-COOH-BETA-hCG EN EXTRACTO DE URINA (CONCAVALINA A)	50 ICG/ML	AYALA Y COLS. (1978)

TABLA 2 INMUNOENSAYOS PARA hCG, CRONOLOGIA Y SENSIBILIDAD OBTENIDA (2,3,10)

# HCG beta EN EL EMBARAZO NORMAL

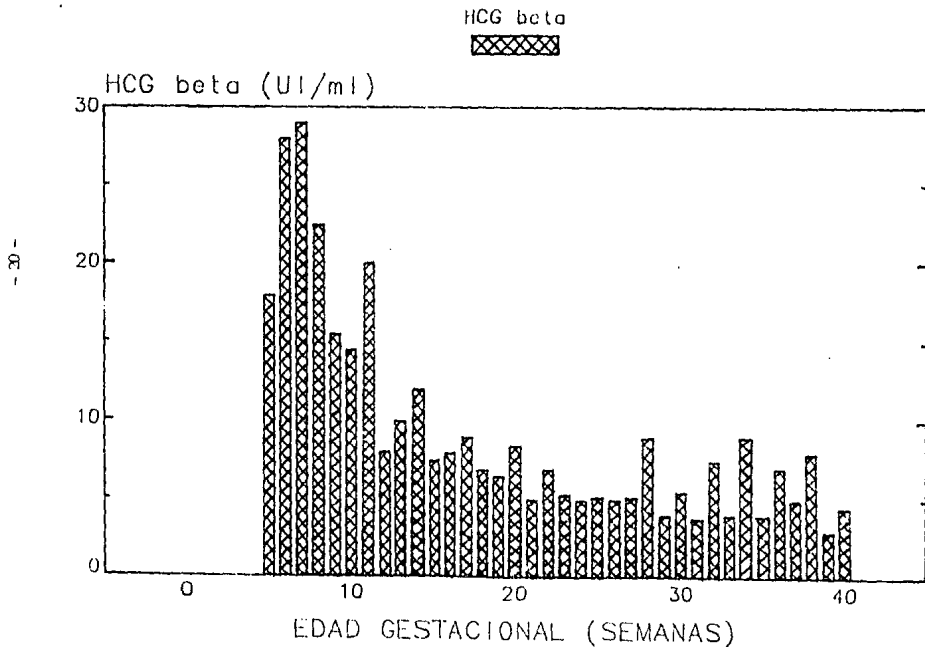


FIG. 1

# HCG alfa EN EL EMBARAZO NORMAL

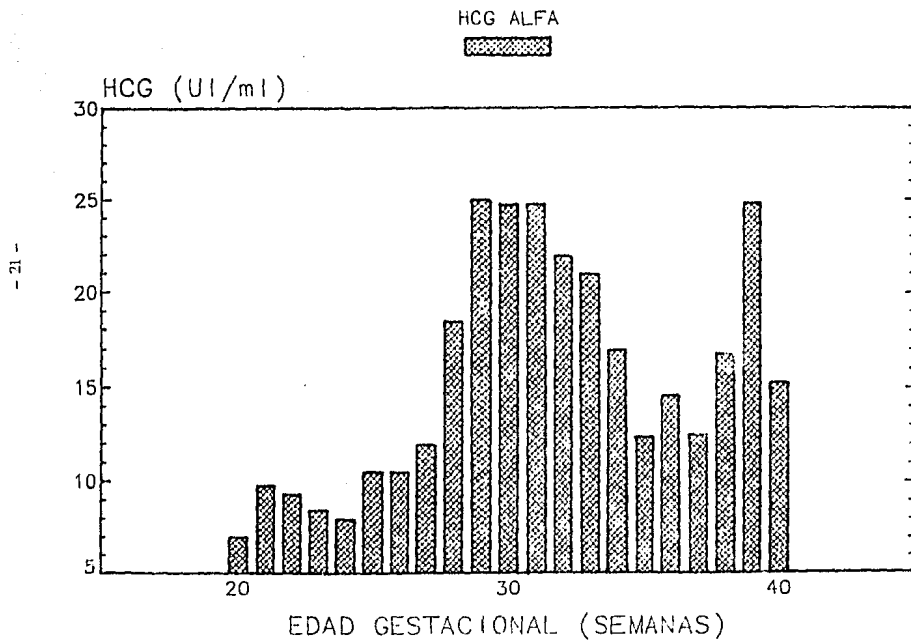


FIG. 2



# HCG EN EL EMBARAZO NORMAL

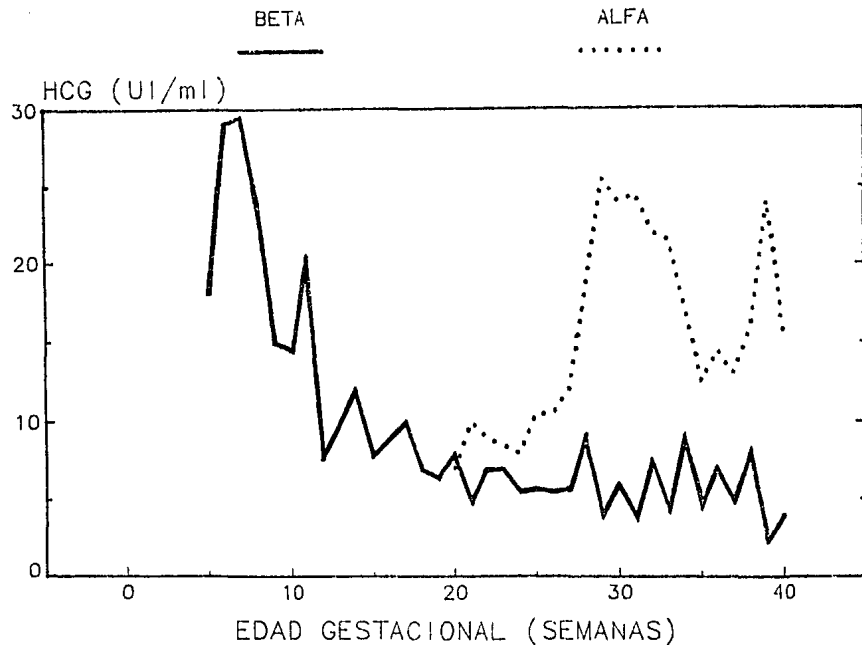


FIG. 3

VIII. BIBLIOGRAFIA

1. Hertz, R. Choriocarcinoma and related gestacional trophoblastic tumors in women. Raven Press. New York. Pag. 55. 1978.
2. Wide and Gemzell (1960). Acta endocrinológica. (Kbh) 35:261.
3. Odell et al. (1966) : Metabolism. 15:287.
4. Vaitukaitus et al. (1972) : Am. J. Obstet. Gynecol. 113:751.
5. Stevens, V.C. Gonadotropina coriónica humana: Propiedades potenciales de manipulacion inmunológica para la aplicación clínica. Ginecol y Obstet. Temas actuales 3:549, 1979.
6. Speroff, L. Glass, R.H., Kase, N G. Endocrinología ginecológica e infertilidad. Ed. Toray SA. 290:91. España. 1986.
7. Segal, S.J. Chorionic Gonadotropin: Plenum Press. 199:221, New York. 1980.
8. Valadez, F. González E. Fletcher, P. Ayala A. Disociación en la producción de subunidades alfa y beta de

- gonadotropina (hCG) en el embarazo normal. Ginec. Obstet. Mex. 54:76, 1986.
9. Hussa, R.O., Clinical utility of human chorionic gonadotropin and alfa-subunit measurements Obstet Gynecol 60:1, 1982.
  10. Ayala, A.R., Nisula, B.C., Chen, H.C., Hodgen, G.D. and Ross, G.T. : Highly sensitive radioimmunoassay for human chorionic gonadotropin in human urine. J. Clin. Endocrinol. Metab. 47:767. 1978.
  11. Braunstein, G.D., Rasor, J. Adlen, D. Panzer, H. Eade, M.E., Serum human chorionic gonadotropin levels -- throughout normal pregnancy. Am. J. Obstet Gynecol 126:678. 1976.
  12. Snedecor, G.W., Cochran, W: Statistical Methods. Ames the Iowa state University Press. pag. 91, 1974.