



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES  
IZTACALA**

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

**INTERRELACION NEUROHORMONAL CON EL  
ESTADO NUTRICIONAL MATERNO EN RECIEN  
NACIDOS CON BAJO PESO**

BO 1327/97  
g.2

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
**MAESTRIA EN BIOLOGIA  
DE LA REPRODUCCION**  
P R E S E N T A  
**BIOL. RAQUEL OCHOA RESENDIZ**

CON LA TUTORIA DEL:  
**DR. ARTURO ZARATE TREVIÑO**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 esta 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.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES  
IZTACALA**

**DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**INTERRELACION NEUROHORMONAL CON EL ESTADO  
NUTRICIONAL MATERNO EN RECIEN NACIDOS CON BAJO PESO**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRIA EN BIOLOGIA  
DE LA REPRODUCCION**

PRESENTA

**BIOL. RAQUEL OCHOA RESENDIZ**

CON LA TUTORIA DEL:

**DR ARTURO ZARATE TREVIÑO**

La elaboración de este trabajo se efectuó en la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Endocrinas del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS bajo la dirección del Dr. Arturo Zárate Treviño a quien le agradezco el apoyo, la confianza y las facilidades que me brindó para la realización de esta tesis.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES IZTACALA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
DEP AISC 673 97.

Los Reyes Iztacala, 7 de abril de 1997.

**LIC. ANTONIO DIAZ GARCIA**

Jefe de la Unidad de Registro e Información  
Coordinación General de Estudios de Posgrado  
Presente

Distinguido Lic. Díaz:

Por medio de la presente informamos a usted, la conformación del Jurado del Examen que la alumna: **Raquel Ochoa Reséndiz**, con número de cuenta **6808303-2**, sustentará con objeto de obtener el grado de Maestra en Biología de la Reproducción:

Presidente: M. en C. Martín Palomar Morales  
Vocal: M. en C. Carlos E. Morán Villalta  
Secretario: Dr. Arturo Zárate Treviño  
Suplente: Dra. Bertha Gloria Ortega Corona  
Suplente: Q.F.B. Ma. Eugenia Fonseca Yerena

Sin más por el momento, aprovechamos la ocasión para coviarle un cordial saludo.

Atentamente

"POR MI RAZA HABLA RARA EL ESPÍRITU"

~~MTRO. FELIPE VIRADO SEGURA~~  
Director de la UNEP Iztacala

  
DRA. MARIA SUAREZ CASTILLO  
Jefa de la División de Estudios de  
Posgrado

## INDICE

Resumen	1
Introducción	3
Planteamiento del Problema	23
Hipótesis	23
Objetivos	24
Método	24
Resultados	30
Discusión	38
Conclusiones	48
Bibliografía	49

## RESUMEN

El "bajo peso al nacer" constituye el principal factor de riesgo para la mortalidad infantil. En México, la prevalencia del bajo peso al nacer se encuentra alrededor del 12%, lo que constituye una de las cifras más altas para un país en desarrollo y se traduce en problemas socioeconómicos importantes así como en la necesidad de realizar estudios para identificar las causas del problema. Por otra parte, se sabe que existe una regulación hormonal para el crecimiento y desarrollo fetal. Las hormonas de mayor relevancia son la hormona de crecimiento (GH), la prolactina (PRL), el lactógeno placentario (hPL), la insulina, los factores insulinoideos (IGF-I e IGF-II), el cortisol y las hormonas tiroideas. Estas hormonas participan en esencia en la transferencia de nutrientes de la madre al feto, asimismo tienen una acción sobre los factores de crecimiento fetal que intervienen en la captación de nutrientes y en consecuencia promueven la somatogénesis. Los factores de crecimiento se sintetizan desde etapas tempranas de la embriogénesis, al igual que sus receptores celulares, en múltiples tejidos fetales en los que desarrollan amplias funciones como son la proliferación celular, la formación de la matriz extracelular, la migración celular y la síntesis de enzimas y proteínas que participan en el metabolismo fetal. Entre ellos se encuentra el factor de transformación  $\beta$  (TGF  $\beta$ ), el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), el factor de crecimiento epidérmico (EGF) y los factores de crecimiento insulinoideos. La síntesis de estos factores de crecimiento se encuentra modificada por el ambiente hormonal, estableciéndose cierta interdependencia funcional lo que repercute en el crecimiento y desarrollo intrauterino. **Método.** Se determinaron por RIA los niveles de hPL, insulina, GH, la proteína de unión 3 de el IGF (IGFBP-3) y EGF en suero materno. Por medio de un ensayo inmunoradiométrico, IGF-I. El ensayo

enzoinmunoanálisis fluorimétrico fue usado para determinar PRL, cortisol, TSH, T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub> y T<sub>4</sub>L y el ensayo enzimático inmunoabsorbente para TGFβ-2.

**Resultados.** Los niveles en suero materno de IGF-I en el grupo con productos normales fueron dos veces mas altos que en el grupo con retraso en el crecimiento intrauterino (RCIU) durante el transcurso del embarazo. La IGFBP-3 también estuvo disminuida en RCIU. No se encontraron diferencias entre grupos en los otros factores de crecimiento estudiados. En cuanto a los estudios hormonales T<sub>4</sub> y T<sub>4</sub>L se encontraron aumentadas durante el primero y segundo trimestre en el grupo con RCIU. Se encontró relación entre los valores de IGF-I con IGFBP-3, PRL, T<sub>4</sub> y el peso del producto al nacimiento.

**Conclusiones.** Existe una asociación entre niveles bajos de IGF-I y su proteína de unión con RCIU, además de una relación de IGF-I con el peso del recién nacido considerándose los niveles de IGF-I como marcadores tempranos de alteración en el crecimiento intrauterino.

## INTRODUCCION

El síndrome de "recién nacido de bajo peso" ha sido uno de los principales problemas en la obstetricia y perinatología debido a que se incrementa la morbimortalidad neonatal y también se determina una mayor mortalidad durante el primer año de vida. Además hay datos que relacionan problemas en el desarrollo neuronal e intelectual con el bajo peso al nacer. El bajo peso al nacer definido como un peso menor de 2500 g, independientemente de la edad gestacional, o como dos desviaciones estándar debajo del peso medio normal, es la causa principal de muerte en los niños durante el primer año de vida y la causa mas frecuente es el parto prematuro (de menos de 37 semanas). Asimismo en estudios recientes se ha sugerido que el impacto del retraso en el crecimiento intrauterino (RCIU) puede extenderse a la etapa adulta del individuo con un aumento al desarrollo de hipertensión, enfermedad isquémica cardíaca y enfermedades cerebrovasculares (1,2). En nuestro país constituye un problema importante ya que tiene una prevalencia de 12% mientras que en países considerados como desarrollados solo se presenta entre 6 a 7% (3). Por lo que es un problema importante de salud pública y por lo tanto es necesario realizar estudios para identificar y cuantificar los factores de riesgo.

De una manera convencional se han separado en tres grupos los factores condicionantes del RCIU. En el primer grupo se incluyen los agentes tóxicos que afectan la división celular

tanto fetal como placentaria así como la embriogénesis. El segundo grupo comprende las alteraciones cromosómicas que impiden el correcto desarrollo embrionario y fetal. En el tercer grupo se estudian los factores que determinan el aporte de nutrientes de la madre al feto como son la enfermedad cardiovascular, patología placentaria, desnutrición, anemia e hipertensión y por ello es el grupo en el que se podría intervenir ya que al conocer los elementos que regulan la transferencia de nutrientes a través de la placenta se mejoraría la función de la misma y de esta manera se diseñarían estrategias para establecer intervenciones terapéuticas en la última etapa del embarazo en el que existe RCIU (4).

El crecimiento fetal en el humano es un fenómeno complejo; involucra a la madre, a la placenta y al feto (1). En el comienzo de la gestación, el desarrollo embrionario se caracteriza por un desarrollo autónomo, en el que no están involucrados mecanismos endocrinos y el crecimiento se controla a nivel de la célula, tejidos u órganos por medio de nutrientes y "factores de crecimiento" que son activos localmente es decir autocrinos. En favor de esta hipótesis está el hecho de que tejidos fetales y embrionarios tienen un crecimiento autónomo. Durante esta etapa un gran número de hormonas y factores de crecimiento actúan sobre el crecimiento y diferenciación por mecanismos autocrinos o paracrinos. Conforme las células embrionarias maduran, se desarrollan receptores hormonales y el feto es capaz de regular la captación de substratos dentro de sus tejidos. Al mismo tiempo se establece la unidad

fetoplacentaria y es entonces cuando el crecimiento fetal depende esencialmente de la cooperación maternoplacentaria a través del suplemento de nutrientes hacia el feto (5). De aquí la importancia de la madre, ya que un exceso o carencia de nutrientes distorsiona el crecimiento conduciendo a malformaciones, productos pequeños o demasiado grandes y desproporcionados (6). En el humano se ilustra la dependencia materna por el peso reducido de los productos de embarazos múltiples. Por consiguiente, las hormonas y factores de crecimiento durante el crecimiento intrauterino aparecen como los mediadores de la utilización del substrato materno disponible para el feto (5).

Los "factores de crecimiento" comprenden un grupo de péptidos que interactúan con receptores membranales específicos, iniciando determinadas señales intracelulares que dan como resultado la división celular. Pueden actuar por mecanismos autocrinos, paracrinos o endocrinos. Además de su acción mitógena algunos factores de crecimiento también promueven la diferenciación celular o por el contrario pueden actuar como inhibidores; el mecanismo de esta última acción es menos entendido (7). Los factores de crecimiento han sido detectados desde los primeros estados de la embriogénesis, al igual que sus receptores, en múltiples líneas celulares de los tejidos fetales, donde realizan un amplio espectro de funciones, como son inducir o regular la proliferación de células de origen ectodérmico y mesodérmico, la formación de la matriz extracelular, la migración celular y la síntesis de

enzimas y proteínas. Algunos de estos factores son específicos en su acción y otros de amplio espectro, es decir que tienen funciones específicas durante el ciclo celular, siendo los responsables de que las células dejen el estado llamado de reposo (Go) y pasen a través de la fase G1 a la fase de síntesis de DNA de la fase S (7,8). La identificación de factores de crecimiento como inductores, (acción de un tejido que induce a responder a otro alterando su desarrollo) indica que tienen una función en el desarrollo de los tejidos fetales, ya que también presentan la función de morfogénesis y la respuesta a estos factores de crecimiento dependerá del estado o el tipo de la célula efectora. Los factores de crecimiento pueden ser detectados desde los primeros estadios de la embriogénesis, cuando el desarrollo y la organogénesis comienzan, sin embargo para que realmente tengan una acción morfogenética, no sólo deben estar presentes en la embriogénesis temprana, sino que también deben estar distribuidos de una manera heterogénea. Su deficiencia puede provocar retardo en el crecimiento intrauterino o pérdida fetal. Los factores de crecimiento se han agrupado en familias y dentro de cada familia los miembros están relacionados estrechamente en su estructura y algunos pueden interactuar con receptores similares (9). Los factores de crecimiento que se consideran de mayor importancia para el crecimiento fetal y el mantenimiento del embarazo son los siguientes:

I.- Los factores de crecimiento semejantes a insulina (IGF-I e IGF-II). Son péptidos de bajo peso molecular (7 kDa)

que promueven la mitosis y la diferenciación celular en gran variedad de tejidos. Tienen homología en cuanto a su estructura con la insulina con una actividad biológica similar, como son el efecto agudo anabólico y los efectos promotores del crecimiento a largo plazo. Se unen a receptores específicos de tipo I y II (8). Los principales reguladores de la síntesis y secreción de IGF-I son la hormona del crecimiento (GH) y los nutrientes mientras que su acción y bioactividad son moduladas por una familia de seis proteínas de unión conocidas como IGFBP-1 a IGFBP-6 que tienen un peso molecular de 23 a 31 kDa (excluyendo la glicosilación), conservan considerablemente la estructura primaria y tienen 16 residuos de cisteína homólogos. Sus concentraciones en el suero cambian dependiendo del estado fisiológico y situaciones patológicas tales como edad, nutrición, niveles séricos de GH, diabetes, pubertad, embarazo etc. La IGFBP-1 parece ser el principal regulador de la biodisponibilidad de IGFs en respuesta a los cambios en el nivel de insulina circulante mientras que la IGFBP-3 responde a los cambios de los niveles de GH, además de que muestra una correlación altamente significativa con el peso al nacimiento y posteriormente, se incrementa con la edad, llegando a su máximo nivel en la pubertad. En la circulación aproximadamente un 75% de los IGFs están unidos con IGFBP-3, que es la única proteína de unión que se combina con una glicoproteína, la subunidad ácido-lábil (ALS), para formar un complejo ternario con IGF-I o IGF-II. Cada componente de este trímero es dependiente de la hormona del crecimiento (GH) y los IGFs en el

complejo aumentan su vida media y su estabilidad (10-12). Otro factor que modula la acción de IGFs son los estrógenos (7). La función de IGFs sobre el crecimiento fetal se basa en sus acciones mitógenas sobre las células de los tejidos fetales en cultivo de varias especies de mamíferos, por la presencia de receptores específicos y la observación de que se sintetizan en muchos tejidos fetales (13,14). En la vida postnatal, el IGF-I es el principal responsable del crecimiento y es controlado predominantemente por GH. Hay datos de que el IGF-I tiene una función predominante como indicador del crecimiento somático del feto ya que su concentración en el plasma materno se correlaciona positivamente con el tamaño y peso del producto, habiéndose demostrado que su deficiencia es causa de retardo en el crecimiento intrauterino (15-17). Recientemente se ha descrito una delección parcial del gen de IGF-I en el humano; en un recién nacido que tuvo RCIU con peso de 1370 g, así como falla en el crecimiento postnatal, sordera neurosensorial y retardo mental moderado, presentaba una delección homocigótica parcial de los exones 4 y 5 del gen de IGF-I. Esta alteración producía un péptido truncado de 70 a 25 aminoácidos de IGF-I, el cual no era biológicamente activo. Por lo que se puede inferir que una delección parcial del gen de IGF-I en humanos es compatible con la vida, que el IGF-I tiene una función importante en el crecimiento pre y postnatal y que puede estar implicado en el desarrollo del sistema nervioso central (18). La concentración de IGF-I no parece depender de la GH hipofisaria durante la etapa fetal, ya que los productos que

tienen deficiencia de GH presentan talla normal. Por otra parte niños prematuros y de bajo peso pueden tener cifras normales o elevadas de GH hipofisaria (15) por lo que el mecanismo para la regulación de la síntesis de IGFs en el feto no está claro y por ello se ha pensado que durante el embarazo, el lactógeno placentario (hPL) pudiera funcionar como GH en la regulación de la síntesis y secreción de IGFs. Por lo anterior se ha encontrado una estrecha relación entre los niveles de hPL materno y el peso placentario desde la semana 12 de la gestación. Es posible que el hPL regule, por lo menos parcialmente, la síntesis de IGFs en la placenta, lo que a su vez podría regular tanto el crecimiento placentario como fetal (19). Otra teoría se basa en la caracterización de una variante de GH codificada por el gen GH-V y expresada específicamente por el sinciciotrofoblasto. Esta GH placentaria tiene una gran homología con la GH hipofisaria, se une con gran afinidad a receptores hepáticos y es secretada de manera constante en la circulación materna a diferencia de la GH hipofisaria, que se secreta en "pulsos". Se distingue de la hormona de origen hipofisario por su patrón de inmunoreactividad específico detectado a través de un anticuerpo monoclonal. Los valores de IGF-I se correlacionan positivamente con la GH placentaria y los niveles bajos de GH placentaria se acompañan de concentraciones bajas de IGF-I (20-21). El IGF-I no cruza la barrera placentaria pero podría regular la transferencia de nutrientes al feto, lo que a su vez podría incrementar la secreción y bioactividad de la IGF-I

fetal y de esta forma promover el crecimiento fetal, así el IGF-I de origen materno podría ejercer una acción trófica sobre el desarrollo fetal (21).

II.- El factor de transformación  $\beta$  (TGF  $\beta$ ). Es miembro de una familia que incluye potentes reguladores de la proliferación y diferenciación celular. Se purificó originalmente de plaquetas y placenta humana y se identificó como un péptido homodimérico de 25 kDa (22), puede funcionar como inhibidor de la proliferación celular y tiene una homología estructural con otros inhibidores del crecimiento como la inhibina (7). En humanos se han encontrado tres isoformas de TGF- $\beta$ : TGF- $\beta$ 1, 2 y 3. Los TGF $\beta$ s regulan numerosos procesos fisiológicos incluyendo hematopoyesis, angiogénesis, función inmune, inflamación, miogénesis, osteogénesis, reparación de tejidos y esteroidogénesis y de hecho casi todas las células tienen receptores a TGF- $\beta$  con interacción fisiológica. Los TGFs se secretan como parte de un complejo inactivo incapaz de interactuar con sus receptores, pero exponiéndose a pH extremo (<4 o >9) o a algunas enzimas *in vitro* puede liberarse la forma activa del complejo latente (23). En el feto humano tienen patrones de expresión distintos en espacio y tiempo según el evento morfológico predominante. Estas tres isoformas cuando son probadas en cultivos celulares son similares en cuanto a su acción y potencia, pero en algunos casos muestran diferencias marcadas (24). Los niveles se incrementan aproximadamente cinco veces en la decidua del

embarazo temprano, se ha sugerido que puede contribuir a la inhibición de la proliferación celular, durante los períodos en los que la diferenciación celular domina, ya que el TGF  $\beta$  puede antagonizar las acciones mitógenas de otros factores de crecimiento que actúan a través del receptor de tirosín cinasa como el factor de crecimiento epidermal (EGF), el factor de crecimiento derivado de plaquetas, el factor de crecimiento de fibroblastos y el IGF-I (22). En el caso de IGF-I, el TGF  $\beta$  se opone a su acción indirectamente aumentando la secreción de IGFbps en cultivos de células de estroma endometrial humano, inhibiendo la proliferación estromal, lo que se debe a que esta proteína al unirse a IGF inhibe su acción. Por lo tanto un aumento en la IGFbps puede inhibir la proliferación estromal inducida por IGF. También es posible que TGF  $\beta$  induzca la diferenciación celular durante los períodos de baja actividad mitótica, además de que inhibe la secreción de la gonadotropina coriónica (hCG) (7,8). Otra función que se ha sugerido para el TGF  $\beta$ , es en el mantenimiento del embarazo, ya que existen datos de que el TGF  $\beta$  inhibe la producción de prostaglandina E2 alfa inducida por Interleucina-1 en el amnios, inhibiendo las contracciones uterinas y jugando así una función importante que favorece la continuación del embarazo; su deficiencia puede condicionar un parto prematuro (25). Otro dato importante relacionado con el mantenimiento del embarazo es que en pacientes con aborto espontáneo recurrente se ha encontrado una deficiencia de "células supresoras" productoras

de TGF- $\beta$ 2 en el tejido uterino, cerca del sitio de unión con la placenta (26).

III.- El Factor de Crecimiento Epidermal (EGF). Está considerado como primordial para el crecimiento y desarrollo. Es un péptido de 53 aminoácidos con un peso molecular de 6 kDa, se genera a partir de un precursor de 128 kDa por rompimiento proteolítico. En roedores, la administración de E2 promueve este rompimiento (27). Inicialmente se aisló de la glándula submaxilar del ratón y de la orina humana. El EGF y su receptor se expresan en la placenta, el útero y diversos tejidos fetales humanos, después de la administración de estrógenos, El EGF se puede detectar en el plasma, la orina fetal y el líquido amniótico. Se sabe que puede inducir la proliferación celular, pero también tiene efecto sobre la diferenciación celular (28). Los receptores de EGF han sido identificados en la mayoría de los tipos celulares con excepción de las células hematopoyéticas y es un potente mitógeno para una gran variedad de tejidos de origen ectodérmico y mesodérmico. Otro de los efectos del EGF es que estimula la secreción de hormonas hipofisarias como GH, prolactina (PRL), corticotropina (ACTH); también estimula la secreción placentaria de hCG y hPL. Otra observación es que al administrar antisuero contra EGF a ratonas embarazadas desprovistas de glándulas salivales, se puede provocar abortos y en los neonatos se reduce el peso en un 40%, mientras que la administración de EGF previene tales efectos (29).

#### LA ACCION DE LAS HORMONAS EN EL SINDROME DE BAJO PESO.

La placenta ha sido motivo de numerosos estudios, es un órgano endocrino y fuente de hormonas esteroides y polipeptídicas siendo las siguientes hormonas las mas estudiadas para el crecimiento fetal:

1).- El lactógeno placentario (hPL), es una hormona, sintetizada por el sinciciotrofoblasto, tiene actividad tanto mamotrófica como promotora del crecimiento y podría indicar de manera indirecta el grado de la función placentaria (30). Tiene 191 aminoácidos con un peso molecular de 22 kDa y presenta una homología con GH en el 96% de aminoácidos y con PRL en el 67%. Se comienza a secretar después del día 18 de la concepción y puede detectarse en la circulación materna desde la tercera semana de gestación: la concentración aumenta durante el primer trimestre en forma logarítmica y después en forma lineal hasta el término del embarazo (31). En el feto las concentraciones circulantes disminuyen después de la semana 20 hasta el nacimiento. En el líquido amniótico se detecta desde la semana 14 y la concentración es similar a la de sangre materna: después los niveles de HPL en el líquido amniótico aumentan ligeramente durante el segundo trimestre disminuyendo en el tercer trimestre (32). Se ha estudiado el efecto de algunos factores de crecimiento producidos por la misma placenta sobre su secreción, observándose que EGF e IGF-I estimulan la producción de hPL mientras que TGF- $\beta$ 1 la inhibe, por otra parte se ha informado que las hormonas tiroideas

estimulan la secreción de hPL solo en el embarazo temprano pero no al final; sin embargo la concentración de triyodotironina ( $T_3$ ) y tiroxina libre ( $T_4L$ ) en sangre materna, así como del receptor de hormonas tiroideas en placenta, disminuyen después de la mitad del embarazo(31). La hPL tiene diversas actividades: es lipolítica, anabólica y diabétogénica durante el embarazo avanzado, potenciando la movilización de grasas y reduciendo la utilización materna de glucosa y el desdoblamiento de las proteínas de modo que aumenta la cantidad de glucosa y aminoácidos disponibles para el feto, estas características sugirieron que la función principal de hPL en el crecimiento fetal era la regulación del metabolismo materno, para asegurar un suplemento adecuado de nutrientes al feto (30,31). También se cree que el hPL tiene adicionalmente una función directa en la regulación de procesos asociados con el crecimiento fetal ya que se ha observado que durante el primero y segundo trimestres de gestación estimula la captación de aminoácidos, la incorporación de timidina y producción de IGF-I en múltiples tejidos fetales humanos (33). Sin embargo, no hay datos clínicos directos de que hPL sea indispensable para el mantenimiento del embarazo, ya que hay varios informes en la literatura de mujeres con embarazo normal a pesar de presentar niveles muy bajos o no detectables de hPL debido a una ausencia parcial o total de los dos genes HCS-A y HCS-B que codifican para hPL. Estas mujeres con dicho defecto genético presentaron prueba de tolerancia a la glucosa normal, con concentraciones normales de hCG, PRL, GH, E2 y progesterona

asi como una lactancia normal; además los recién nacidos fueron normales (34).

2).- Una variante de hormona de crecimiento (GH-V) se ha encontrado en la placenta humana, se expresa por el gen GH-V, responsable de la producción de GH placentaria cuya proteína madura contiene 191 aminoácidos y está glicosilada en asn<sup>141</sup>. La secuencia aminoacídica de la GH placentaria difiere de la GH hipofisaria (GH-N) en trece residuos aminoacídicos. Puede ser detectada en sangre materna, como ya se mencionó, por un anticuerpo específico para hGH-V que no detecta hGH-N, desde la semana 21 a 26 del embarazo aumenta su concentración hasta la semana 36 y entonces permanece mas o menos constante hasta el término del embarazo (31). El aumento de GH placentaria se asocia con un aumento progresivo de los niveles de IGF-I. No ha sido detectada en líquido amniótico ni en el feto (35), en sangre materna al igual que GH-N se une a la proteína de unión de GH (GHBP) (36). Se ha probado el efecto de T<sub>3</sub> y GHRH sobre la secreción de GH-V, así el tratamiento de células con T<sub>3</sub> causa un aumento de RNAm para de GH-V y por el contrario GHRH no tiene efecto (31). Se piensa que la GH placentaria sustituye a la GH hipofisaria en la regulación de la síntesis y secreción de IGF-I materno (20). Además de que este aumento en los niveles de GH placentaria en la circulación materna se asocia con hipoglucemia y un aumento de la secreción de insulina y de la lipólisis de las grasas maternas acumuladas, las que al ingresar al hígado, en presencia de altas concentraciones de

insulina, aumentan la síntesis de triglicéridos lo que aunado al incremento de los niveles de lipoproteín-lipasa placentaria promueve hidrólisis de triglicéridos, transfiriéndose los productos de la hidrólisis a la circulación fetal. De tal forma que el incremento de GH placentaria e insulina en la circulación materna regula la disponibilidad del sustrato materno a la placenta (6). En el RCIU se ha observado una disminución de los niveles de GH-V que correlacionan con los niveles de IGF-I, pero la función precisa de la GH placentaria durante el embarazo todavía no está entendida, se le ha asignado una función metabólica, por su capacidad de estimular IGF-I, y se piensa que está involucrada en el mantenimiento de altos niveles de energía en la madre para ser transferidos a la unidad fetoplacentaria (5). Sin embargo, la presencia de GH-V no es un requerimiento absoluto para el mantenimiento del embarazo puesto que se han reportado embarazos normales con ausencia del gen que codifica para GH-V (37).

3).- Prolactina. Su secreción aumenta gradualmente con el embarazo, hasta alcanzar su máximo en el parto. También se produce PRL en la decidua de mujeres embarazadas y se cree que es la fuente de la hormona que existe en altas concentraciones en líquido amniótico. La secreción decidual de PRL no se correlaciona con la que existe en sangre materna y fetal. La caracterización bioquímica y el análisis de la secuencia aminoacídica indica que la PRL decidual es muy similar a la PRL hipofisaria y que ambas tienen la misma secuencia de aminoácidos. La PRL decidual también contiene 199 aminoácidos

y tres puentes disulfuro (31). La regulación de la PRL decidual difiere de la de hipófisis ya que se ha observado *in vitro* que la dopamina, la bromocriptina y la hormona liberadora de hormonas tiroideas (TRH) no tienen efecto sobre su producción (38). Aparece en las células deciduales del estroma en los días 23 al 26 del ciclo menstrual, haya ocurrido o no la concepción (39). En líquido amniótico aparece en la novena semana de embarazo, su concentración se mantiene baja hasta la semana 14 y entonces aumenta su nivel a valores máximos entre la semana 18 y 20, después de la semana 28 su concentración baja hasta que en la semana 34 permanece constante hasta el momento del parto. En el líquido amniótico la proporción de PRL glicosilada y no glicosilada muestra cambios, ya que esta última disminuye después del segundo trimestre, mientras que la glicosilada permanece siempre constante y parte de ella se encuentra unida covalentemente a inmunoglobulinas de tipo G. La secreción de PRL decidual es estimulada por progesterona y por estrógenos combinados con progesterona, pero no por estrógenos solos. Varias sustancias producidas por el trofoblasto y/o decidua han mostrado *in vitro* estimular la secreción de PRL como IGF-I y EGF. IGF-I es activo en las células deciduales del embarazo a término pero no en las endometriales a través del ciclo menstrual. De manera contraria EGF estimula la secreción de PRL decidual en las células endometriales de todas las fases del ciclo menstrual en presencia de progesterona pero las inhibe en la decidua del primer trimestre de embarazo con o sin progesterona (31).

descrito que niveles anormales de PRL se relacionan con preeclampsia e hipertensión y correlacionan con la concentración de IGF-1 en líquido amniótico (14). Se ha encontrado que concentraciones fisiológicas de IGF-I estimulan la síntesis de PRL en cultivos celulares deciduales (40). Niveles disminuidos de PRL en la sangre del cordón umbilical y aumentados en el líquido amniótico se han visto relacionado con algunas anomalías fetales (41). En cuanto a la función que desempeña la PRL decidual se sabe que regula la composición y el volumen del líquido amniótico, estimula la producción de surfactante en el pulmón fetal, inhibe la producción de prostaglandina E2 en el embarazo tardío, sugiriendo que pudiera estar involucrada en regular el momento del parto. Otras acciones que se le han asignado incluyen una función en la implantación, supresión local de la respuesta inmune contra antígenos fetales y la regulación de la secreción de hormonas y factores de crecimiento por el trofoblasto y el útero (31).

4).- Cortisol. Las glándulas suprarrenales no cambian su morfología durante el embarazo, pero los niveles de cortisol aumentan al doble o triple en las mujeres embarazadas conforme avanza la gestación y esto se debe a que se produce un aumento en los niveles de globulina fijadora de cortisol, aunque también aumenta la concentración de cortisol libre (30). El índice de secreción de cortisol por la suprarrenal materna no aumenta con el embarazo, pero sí disminuye la depuración, de modo que la vida media plasmática de las hormonas se prolonga.

Es probable que los niveles altos de cortisol maternos sean importantes para el feto porque existe una considerable transferencia trasplacentaria. La mayor parte del cortisol materno se convierte en cortisona al atravesar la placenta, pero se cree que por lo menos la cuarta parte del cortisol plasmático fetal proviene de esta fuente; el resto sería secretado por la suprarrenal del feto bajo el control de la hipófisis fetal (42). El cortisol fetal cumple una función importante en la maduración del pulmón, páncreas, hígado e intestino: además tiene una función importante en el transporte de aminoácidos al hígado y afecta la replicación celular. Se sabe que niveles altos de glucocorticoides inducen retardo del crecimiento, mediado por cambios en la expresión génica de IGFs y/o sus receptores o bien de los moduladores de su acción (proteínas de unión), inhibiendo la proliferación celular estimulada por IGFs, mediando así el retardo en el crecimiento fetal que ha sido asociado a tratamiento con glucocorticoides (43). Los niveles de ACTH se encuentran suprimidos en las mujeres embarazadas, tal vez por la acción de los estrógenos y la progesterona. Los niveles mas bajos de ACTH ocurren al comienzo del embarazo, pero luego ascienden hasta un máximo entre las 26 semanas y el término del embarazo (44).

5).- Hormonas tiroideas.- Durante el embarazo la glándula tiroides aumenta de tamaño como resultado de un incremento en vascularidad con una leve hiperplasia glandular, aumentando el

consumo de oxígeno en forma secundaria a los requerimientos fetales. En suero materno la tiroxina total ( $T_4$ ) y la triyodotironina ( $T_3$ ) aumentan sin alcanzar un estado clínico de hipertiroidismo (30). La concentración de  $T_4$  aumenta en el primer mes de embarazo a valores comprendidos entre 7 y 12  $\mu$ g/dL y se mantiene así hasta después del parto. La  $T_3$  sérica también aumenta durante la gestación, pero en menor medida. El incremento en las concentraciones de  $T_4$  y  $T_3$  se debe en particular a la mayor concentración de la globulina transportadora de hormonas tiroideas (TBG) en el plasma, como resultado del incremento de estrógenos (45). En el embarazo hay una correlación temporal entre la concentración máxima de hCG y  $T_3$  y  $T_4$  libres en la circulación: por otra parte como también existe una disminución en la concentración de la hormona estimulante de la tiroides (TSH) durante el primer trimestre (31,46), la estimulación de la función tiroidea por hCG se ha explicado por que esta hormona se une al receptor de TSH *in vitro* (31). En el segundo y tercer trimestre la concentración de TSH no difiere mayormente respecto de la que existe fuera del embarazo. En suero de cordón umbilical del neonato normal, la concentración de  $T_4$  sólo es ligeramente menor que en el suero materno, pero a causa de un incremento mas pequeño de la TGB, la concentración de  $T_4$  libre es mayor que la de la madre. Además, en virtud de la inactividad general de la enzima fetal que convierte  $T_4$  en  $T_3$ , las concentraciones de  $T_3$  total y libre son mas bajas que en el suero materno (44). Se han identificado receptores para hormonas tiroideas en células del

trofoblasto disminuyendo su número después del primer trimestre de embarazo, también se ha descrito que en el embarazo temprano, estimulan la síntesis de estradiol y progesterona (31). En vista de que toda hormona tiroidea que atraviese la placenta lo haría en la forma libre, éstas diferencias de concentración indican que el paso trasplacentario de  $T_3$  y  $T_4$  es limitado en ambas direcciones. La concentración de TSH también es mayor en el suero de cordón umbilical que en el materno (44). Se piensa que las hormonas tiroideas estimulan el metabolismo basal así como la síntesis y degradación de proteína; la glucogenólisis y gluconeogénesis, además de potenciar la acción de la insulina sobre la síntesis del glucógeno y la utilización de la glucosa. Las hormonas tiroideas afectan casi todos los tejidos y han sido consideradas como factores de crecimiento, ya que no se presenta un crecimiento normal en su ausencia a pesar de que las concentraciones de GH sean normales (33). Experimentos en ratas han mostrado que si es extirpada la glándula tiroidea fetal, se produce una disminución en el peso corporal y se reduce la respiración. El contenido de RNA y proteína tanto del cerebro como del cerebelo se reduce considerablemente y disminuye la concentración de GH en la hipófisis (33).

6).- Insulina. En la mujer embarazada los niveles circulantes de glucosa y aminoácidos disminuyen, los ácidos grasos y los cuerpos cetónicos aumentan, así también la secreción de insulina como respuesta a la glucosa esta

aumentada, lo que se ha descrito como una "inanición acelerada" que se caracteriza por tendencia a la hipoglucemia en ayunas, se dice que el paso de glucosa a la célula es por "difusión facilitada", en contraste con el rápido desplazamiento de glucosa hacia el feto. También se considera que la utilización fetal de glucosa no depende de la acción de la insulina materna (47). En el feto la insulina aparece a partir de la semana 12 de gestación y la síntesis se estimula por la glucosa y parece que con mayor respuesta a los aminoácidos (48). Las concentraciones de insulina en el plasma varían según el índice o ritmo de entrada de insulina a la circulación y el índice o ritmo de eliminación de la insulina del plasma. La teoría de que el catabolismo de la insulina se aumenta sobre todo al final de la gestación se basa en la observación de que se necesita una dosis adicional de insulina por la noche para obtener un control adecuado en mujeres con diabetes durante el embarazo (49).

El número y la afinidad de receptores de insulina son afectados por las concentraciones de insulina en la circulación, de tal modo que una caída en la concentración de insulina provoca un aumento en la unión de la insulina y recíprocamente un aumento en la concentración de insulina conduce a una disminución en la unión, estas relaciones nos indican que la capacidad de unión de la insulina va disminuyendo durante el embarazo, al aumentarse progresivamente las concentraciones de insulina en el plasma (50).

Estos estudios ponen de manifiesto que la etiología del RCIU es indudablemente multifactorial involucrando factores maternos, fetales y del medio ambiente y que en cualquier embarazo complicado con RCIU el transporte neto de nutrientes de la madre hacia el feto claramente está disminuído este flujo de nutrientes entre la madre, la placenta y el feto tiene una regulación endocrina poco entendida hasta el momento; de aquí la importancia de los factores de crecimiento y su relación con las hormonas, para permitir un mejor entendimiento de los factores biológicos que determinan las alteraciones del crecimiento fetal durante la gestación.

#### **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Los factores de crecimiento además de ser los principales reguladores de la proliferación celular, pueden determinar el grado de transferencia de nutrientes de la madre al feto, los cuales a su vez son modulados por hormonas. El presente estudio se diseñó para estudiar la relación entre los factores de crecimiento en la génesis del retraso en el crecimiento intrauterino.

#### **HIPOTESIS**

El estado hormonal y en particular los factores de crecimiento pueden determinar el grado de transferencia de nutrientes de la madre al feto lo que en consecuencia puede modificar el crecimiento y desarrollo uterino.

## OBJETIVOS

Cuantificar durante el embarazo los factores de crecimiento IGF-I, TGF $\beta$ -2 y EGF en mujeres que presentan un producto con retraso del crecimiento intrauterino.

Estudiar la interrelación de los factores de crecimiento con las hormonas (GH, HPL, PRL, insulina, E<sub>2</sub>, P<sub>4</sub>, cortisol y hormonas tiroideas) que participan en el proceso de crecimiento y desarrollo fetal.

## METODO

Pacientes. El estudio incluyó 22 mujeres gestantes de 28 a 32 años, que fueron seguidas en consulta prenatal mensualmente, con exámenes de laboratorio y ultrasonido bimestrales haciéndose la valoración del producto al nacimiento. Se asignaron a dos grupos, el primer grupo tenía crecimiento fetal intrauterino normal (CFN) y el segundo RCIU, valorado por clínica y somatometría ultrasonográfica, el peso de estos productos fue inferior a 2500 g al momento del nacimiento. El estudio fue aprobado por el Comité de Etica del Instituto Mexicano de Seguro Social, las características clínicas de las pacientes se encuentran en la tabla 1. A todas las pacientes se les tomaron muestras de 10 mL de sangre venosa en ayunas entre las 7 y las 8 h, en cada trimestre del embarazo para las determinaciones de factores de crecimiento y hormonas, la sangre fue depositada en tubos de vidrio que contenían 50 uL de aprotinina (Trasylol, Bayer, Leverkusen, Germany) equivalente a 500 UIK/mL de sangre y el plasma se

Tabla I.- Características clínicas de las pacientes

	CFN	RCIU
Edad*	26.9 ± 6	26.4 ± 4
Nivel socioeconómico bajo	89	77.8
Peso materno*	67.7 ± 7.8	63.3 ± 10
Talla*	1.62 ± 0.06	1.70 ± 0.05
Primigestas (%)	57	33.3
Nuliparas (%)	57	55.6
Abortos (%)	0	77.8
Cesàreas (%)	0	88.9

\* M ± DE

% (por ciento de sucesos en la historia clínica)

separó mediante centrifugación a  $1500 \times g$  a  $4^\circ\text{C}$ , los plasmas así obtenidos después de centrifugar fueron fraccionados en alícuotas y almacenados a  $-35^\circ\text{C}$  hasta su procesamiento. Las determinaciones bioquímicas se hicieron por cuatro inmunoensayos diferentes y usando estuches comerciales cuyo control de calidad se describe en la Tabla 2.

#### Técnicas analíticas.

1) Radioinmunoensayo (RIA), ensayo de competencia utilizando como marcador  $\text{I}^{125}$  con técnica de doble anticuerpo y de acuerdo al protocolo proporcionado por cada una de las diferentes casas comerciales, con esta técnica se determinaron: hPL e insulina, con equipos proporcionados por Cis bio international (Sorin, Francia), GH, con equipos de Diagnostic Products Corporation (DPC, Los Angeles, California), IGFBP-3 con Diagnostic Systems Lab (DSL, Webster, Texas, USA) y EGF por Amersham International plc (Amersham, UK).

2) Ensayo inmunoradiométrico de dos sitios (IRMA), se empleó para la determinación de IGF-I con equipos proporcionados por DSL, (Webster, Texas, USA) el cual sigue el método de Daughaday et al (51), que incluye una extracción con una solución alcohol-ácida (EA), en la que el IGF-I es separado de sus proteínas de unión y consiste en incubar  $100 \mu\text{L}$  de plasma con  $400 \mu\text{L}$  de una solución de 87.5% de etanol y 12.5 % de HCl 2N, por 30 min, después esta muestra fue centrifugada a  $1850 \times g$  por 30 min a  $4^\circ\text{C}$ , el sobrenadante se separó y

Tabla 2.- Control de calidad de los estuches empleados

Estuche	Hormona	Sensibilidad	CV Intraensayo (%)	CV Interensayo (%)	Recuperación
Sorin	hPL	0.2 ug/mL	4,1	4,56	101,6
DPC	GH	0.9 ng/mL	2,7	4,25	100.2
Sorin	Insulina	3.6 uU/mL	5,7	8,36	99
DSL	IGFBP-3	0.01 pg/mL	6,06	6,4	93.3
Amersham	EGF	0.1 ng/mL	4,6	6,2	101
DSL	IGF-I	0.8 ng/mL	2,63	4,46	82
Baxter	PRL	0.4 ng/mL	2,4	3,2	107.6
Baxter	Cortisol	0.3 ug/dL	4,5	5,4	107.6
Baxter	TSH	0.05 uU/mL	1,77	3,9	101
Baxter	T3	0.25 ng/mL	3,98	5,62	100.4
Baxter	T4	0.5 ug/dL	3,36	4,13	101
Baxter	T4L	0.2 ng/mL	4,02	5,76	100.2
R&D Systems	TGFB-2	7 pg/mL	5,76	7,6	91.5

neutralizó con 500 uL de una solución amortiguadora de Tris base 0.85 M pH 9.0, después se realizó el IRMA, que es un ensayo no competitivo en el que el analito problema es atrapado entre dos anticuerpos, el primer anticuerpo se encuentra inmovilizado en la pared interna de los tubos en donde se lleva a cabo la reacción y el otro anticuerpo que lleva la marca radiactiva se agrega en forma soluble y es el que permite la cuantificación directamente proporcional del antígeno presente. Los materiales no unidos se decantaron y los tubos fueron lavados.

3) Enzimoimmunoanálisis fluorimétrico (Stratus). Es un método automatizado rápido y sensible de tipo competitivo tipo "sandwich", en el que el analito que va a ser medido, presente en el plasma del paciente (antígeno), se mezcla con el mismo antígeno pero marcado con una enzima, esta mezcla se añade a un papel de fibra de vidrio que contiene anticuerpos inmovilizados contra el analito a ser determinado, compitiendo con los sitios de fijación de las moléculas del anticuerpo. Después de una corta incubación los materiales no ligados son eliminados del campo de visión del analizador fluorimétrico, aplicando una solución sustrato de lavado conteniendo 4 metil umbeliferil fosfato e iniciando la actividad enzimática simultáneamente al lavado. La actividad enzimática de la fracción ligada al anticuerpo se valora por un sistema óptico que determina la fluorescencia de la reacción. Todas las funciones de análisis de datos los lleva a cabo el

microprocesador del propio analizador. Con esta técnica se midieron: PRL, cortisol, TSH, T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub> y T<sub>4</sub>L con reactivos de Baxter Diagnostics Inc (Baxter, Deerfield, USA).

4) Ensayo enzimático inmunoabsorbente (ELISA). Este inmunoensayo también es de tipo competitivo pero se emplean microplacas de plástico cubiertas con anticuerpo por el que compiten el antígeno del plasma o del estándar que se agregan, un segundo anticuerpo marcado con una enzima permite cuantificar el analito a ser determinado al agregar el sustrato específico. Esta técnica fue usada para cuantificar TGF $\beta$ -2, con estuche comercial de Quantikine (R&D Systems, Minneapolis USA). Previamente se separó la forma activa del complejo latente exponiendo 100 uL del plasma a un pH ácido con 400 uL de una solución 2N de HCl durante 30 min, después de lo cual se centrifugó a 1850 g por 30 min, se separó el sobrenadante y se neutralizó con 500 uL de un amortiguador Tris 0.85 M para poder efectuar el inmunoensayo (22).

Los coeficientes de variación intra e interensayo en todos los inmunoensayos empleados siempre fueron menores de 10%.

#### Análisis Estadístico.-

Se emplearon las medidas de estadística descriptiva, la comparación de los resultados de cada uno de los grupos se hicieron mediante análisis de varianza de 2 vías seguido por comparaciones múltiples de Tukey y la asociación de las

variables por el análisis de correlación múltiple, con el programa SYSTAT.

## RESULTADOS

Los niveles de IGF-I estuvieron aumentados en el embarazo aunque en menor proporción para el RCIU y la diferencia entre grupos fue significativa desde el primer trimestre de embarazo ( $p < 0.001$ ), los niveles de IGF-I durante el segundo trimestre fueron significativamente mayores ( $p < 0.001$ ) que en el primer trimestre, mientras que el aumento en el tercer trimestre ya no fue significativo en ambos grupos (Figura 1). La proteína de unión-3 circulante mostró una tendencia igual a la anterior durante el embarazo (fig. 1), con un incremento mayor en el grupo con productos de peso normal y la diferencia entre grupos tuvo menor significancia que la observada para IGF-I. Los valores de otros factores de crecimiento tuvieron un patrón diferente como se observa en la fig. 2 que muestra que los niveles de EGF se mantuvieron sin cambios durante el embarazo y no se encontró diferencia entre grupos. En cambio los niveles de TGF $\beta$ -2 tuvieron una distribución irregular, en el grupo con RCIU los niveles se elevaron durante el primer trimestre disminuyendo gradualmente, pero la diferencia no tuvo significancia estadística.

En cuanto a los estudios hormonales, hPL aumentó progresivamente en el grupo de embarazo normal aunque en el grupo de productos de bajo peso no hubo cambio en los dos

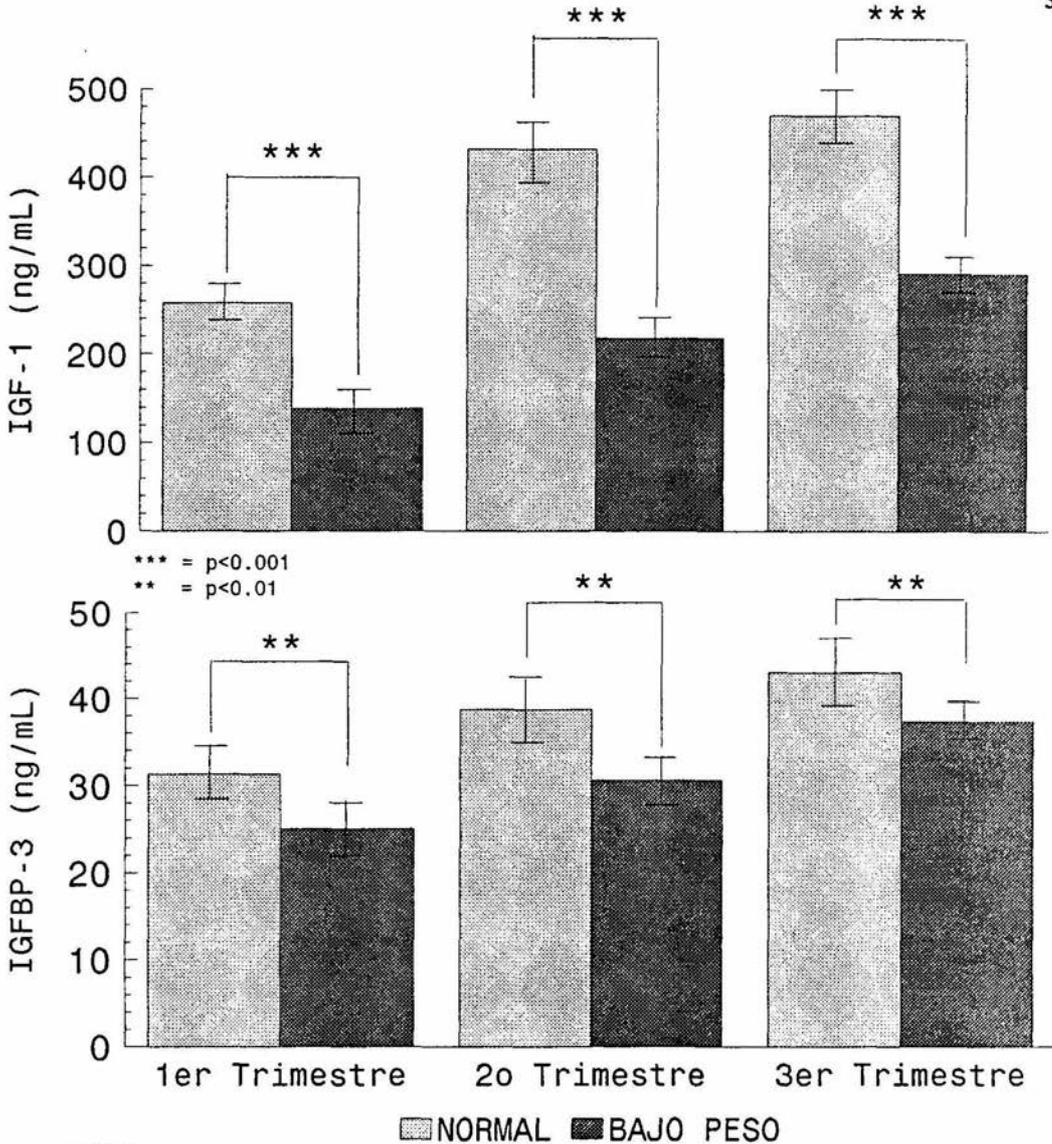


Fig 1

En la parte superior de la gráfica se muestra la media + el error estándar de los resultados obtenidos en la determinación del factor de crecimiento insulinoide (IGF-I) y en la parte inferior los valores de la proteína de unión (IGFBP-3) correspondientes a los tres trimestres del embarazo en el suero de embarazadas con productos de crecimiento normal y embarazadas con fetos de bajo peso. Se puede observar un aumento progresivo de los valores a lo largo del embarazo, de mayor proporción en las madres con productos normales.

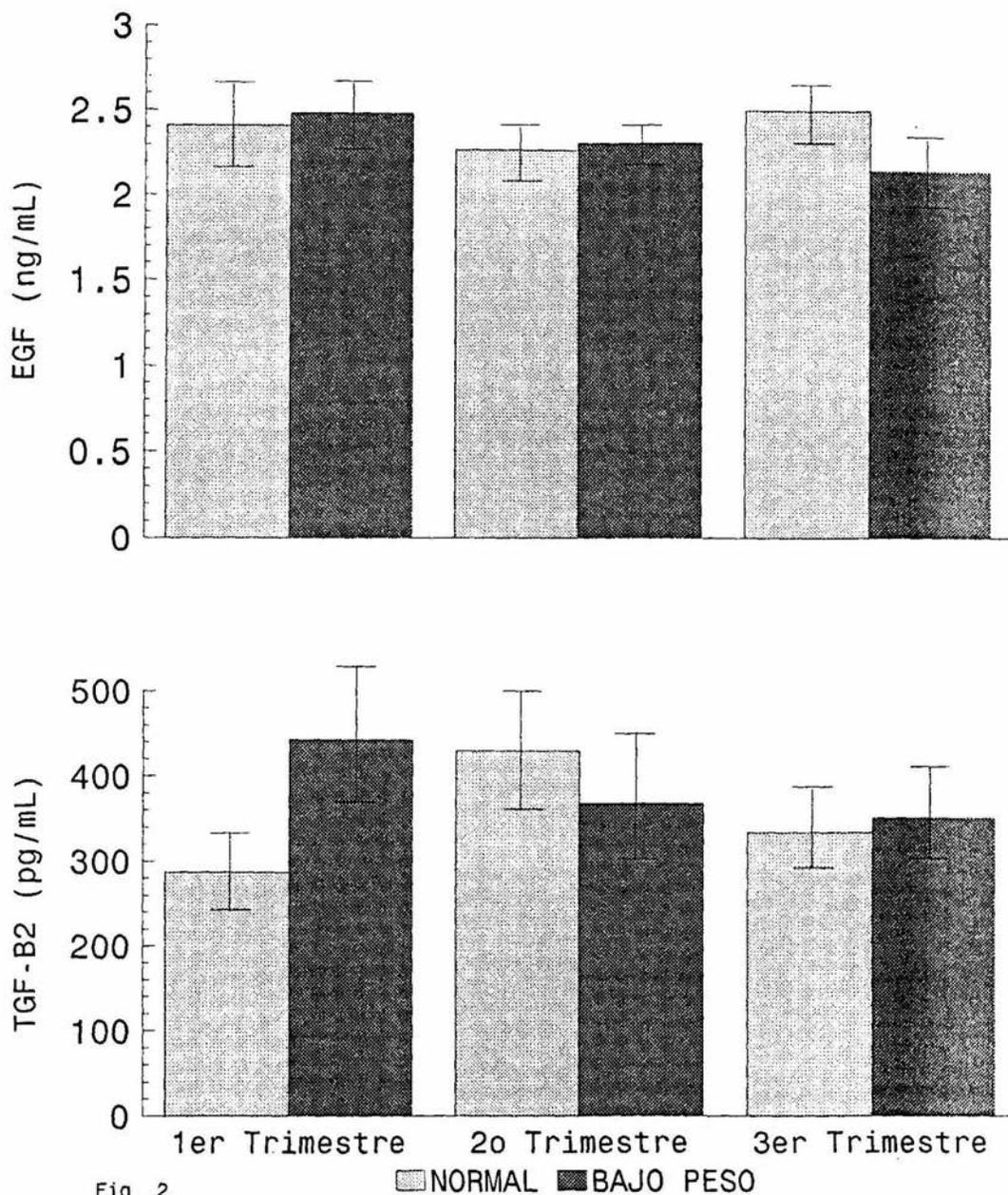


Fig 2

Los valores correspondientes al factor de crecimiento epidermal (EGF) y del factor de crecimiento transformante (TGF $\beta$ -2) no mostraron diferencias entre los dos grupos de estudio, aunque el TGF $\beta$ -2 presentó un aumento en el grupo con bajo peso en el primer trimestre mientras que embarazadas con producto normal el aumento se observó en el segundo trimestre.

últimos trimestres, la diferencia entre grupos no fue significativa (fig 3). La insulina mostró un patrón diferente, la concentración en el grupo normal aumentó en el segundo trimestre y en cambio el grupo con RCIU después del aumento se mantuvo sin modificaciones, (figura 3). En cuanto a la PRL, se notó una tendencia semejante a lo observado con las cifras de insulina observándose un aumento en el segundo trimestre en el embarazo normal, pero en el grupo de bajo peso el aumento solo se registró en el tercer trimestre (fig 4). La concentración de GH aumentó en el curso del embarazo, pero en RCIU se mantuvo constante durante los dos primeros trimestres aumentando ligeramente en el tercer trimestre (fig 4). La concentración de cortisol a través del embarazo mostró una curva irregular, aumentando y disminuyendo, pero en el embarazo complicado con bajo peso la media se encontró siempre aumentada durante la gestación, (fig 4).

Las hormonas tiroideas circulantes no mostraron cambios en el embarazo normal, pero en el grupo con RCIU aumentaron durante el primer trimestre y después bajaron paulatinamente hasta el término del embarazo, siendo esta diferencia significativa ( $p < 0.001$  y  $0.005$ ) para para la  $T_4$  y la  $T_4L$  respectivamente (figura 5) y los niveles de TSH en el grupo normal disminuyeron durante el embarazo en cambio en el grupo de RCIU tuvieron un comportamiento opuesto (fig 6).

Se hicieron estudios de correlación entre los valores individuales de IGF-I e IGFBP-3, hPL, GH, PRL y hormonas

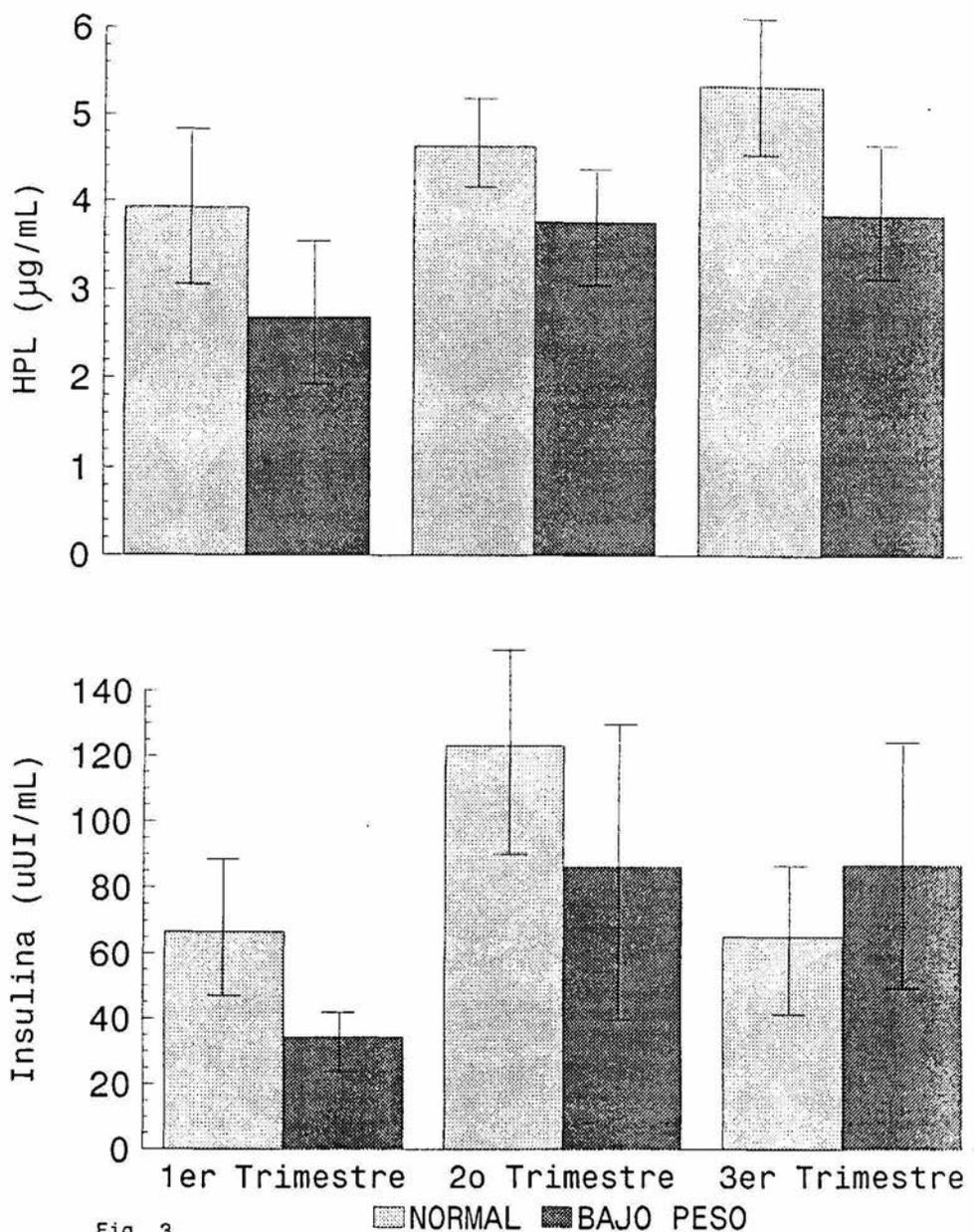


Fig 3

En el grupo de embarazo normal los valores del lactógeno placentario (hPL) mostraron un continuo incremento, pero en el otro grupo solo se registró un aumento en el segundo trimestre. Por otra parte la insulina tuvo valores irregulares encontrándose disminuidos en la sangre de mujeres del grupo con productos de bajo peso.

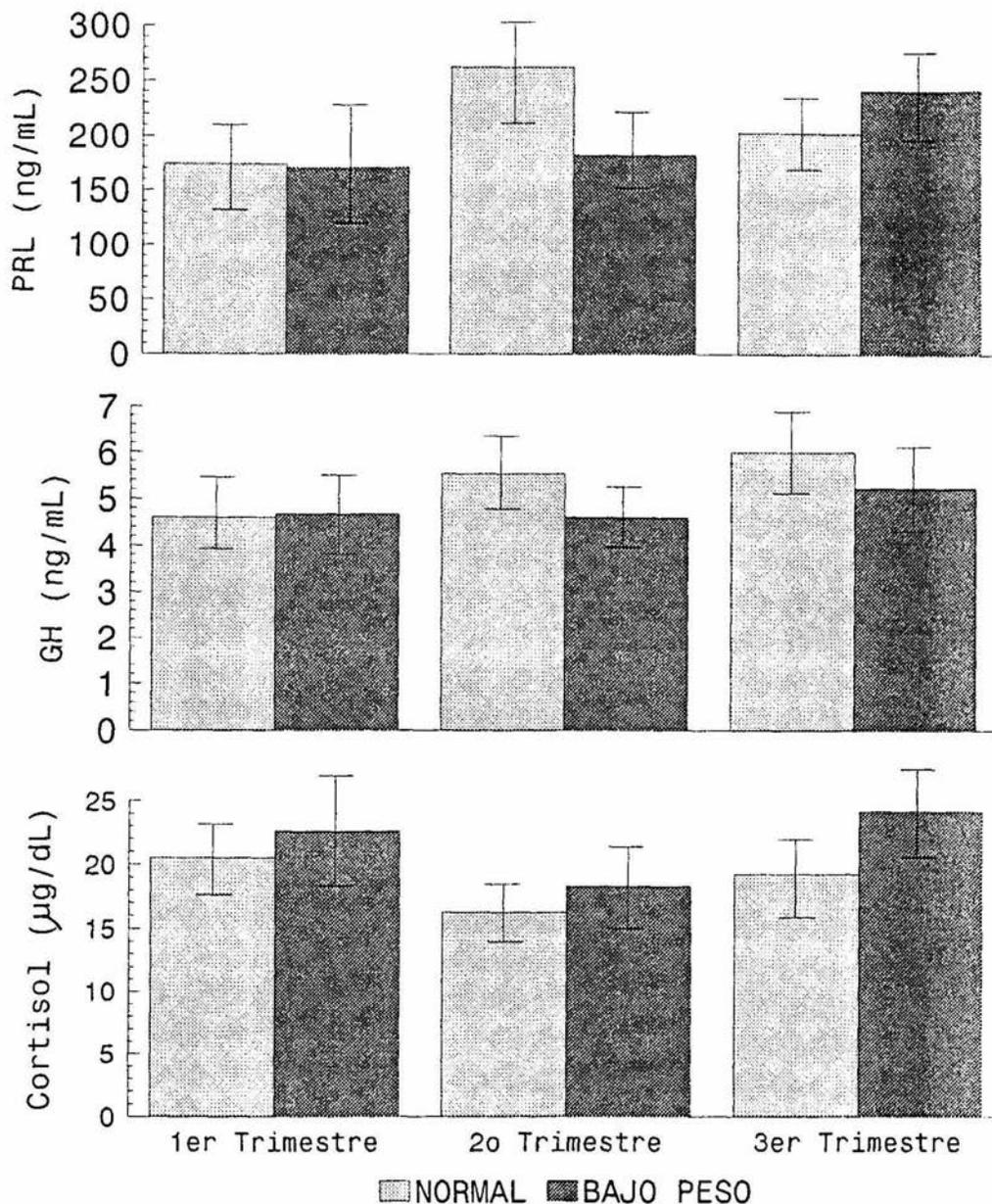


Fig 4

El nivel más alto de prolactina (PRL) se presentó en el segundo trimestre en el embarazo normal; en cambio en el otro grupo se observó en el tercer trimestre. En cuanto a hormona de crecimiento (GH) los niveles aumentaron progresivamente durante el embarazo normal; en el otro grupo el aumento solo se observó en el último trimestre de la gestación. Las concentraciones de cortisol presentaron un perfil irregular; sin embargo en el embarazo normal los valores siempre se mantuvieron más bajos en comparación con el grupo de embarazo con bajo peso.

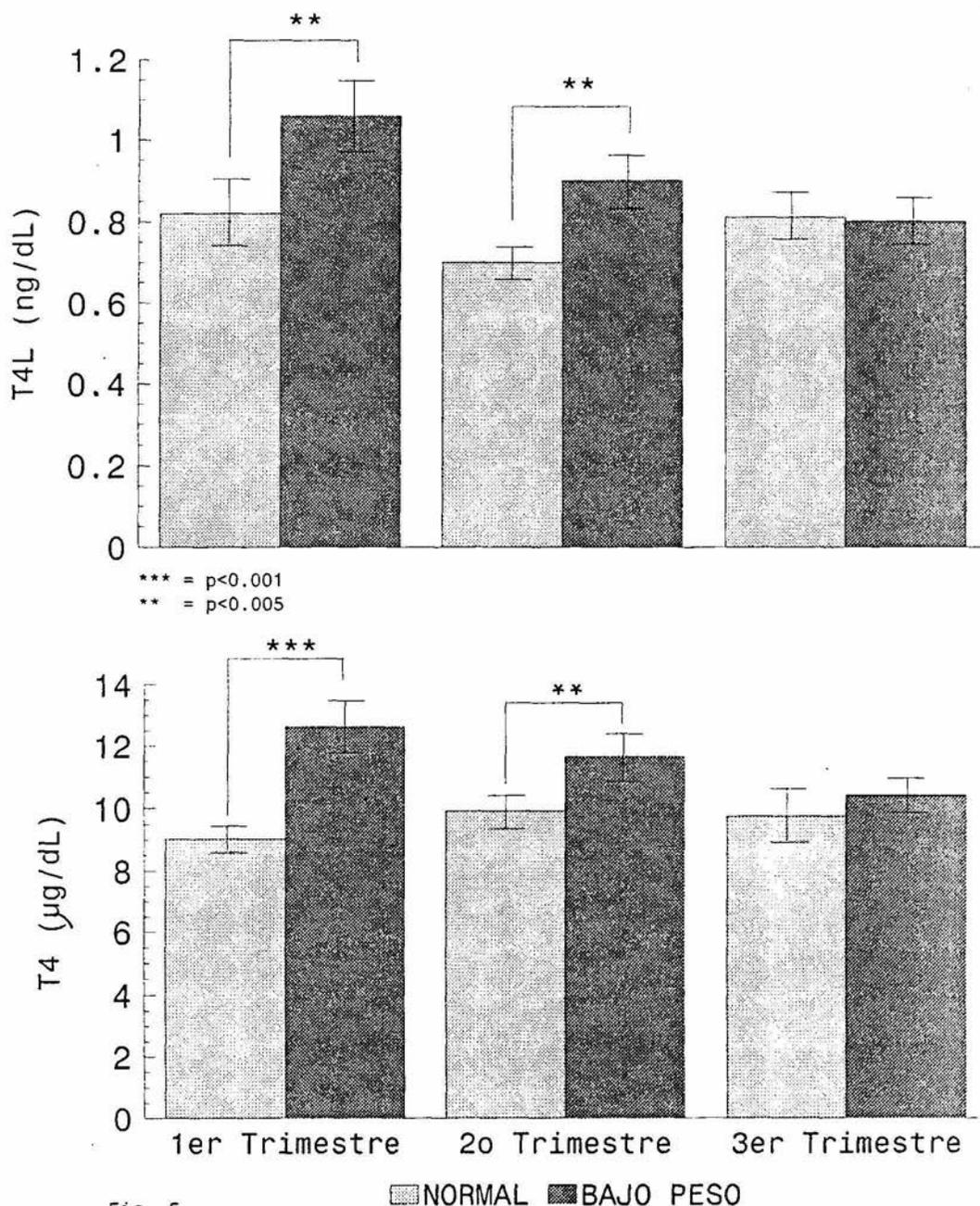


Fig 5

Los niveles de tiroxina libre (T4L) y total (T4) en el grupo con productos de bajo peso fueron significativamente mas altos que en el grupo de embarazo normal durante el primero y segundo trimestre

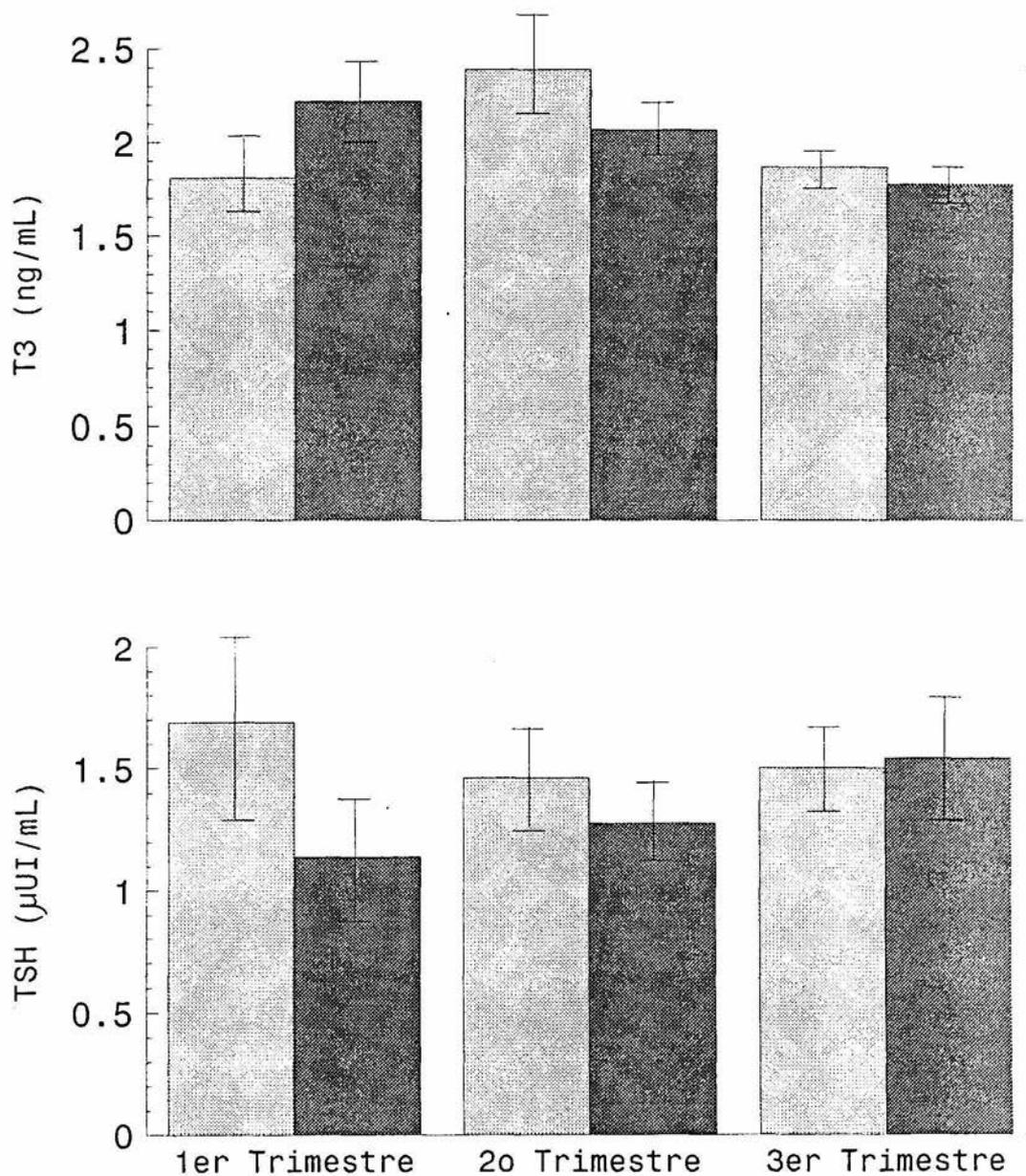


Fig 6

■ NORMAL ■ BAJO PESO

Los valores de triyodotironina (T3) y de la hormona estimulante de la tiroides (TSH) no mostraron sensiblemente diferencias significativas entre ambos grupos.

tiroideas, usando análisis de correlación múltiple. Incluyendo todos los valores en los tres trimestres de embarazo los valores de IGF-I correlacionaron positivamente con IGFBP-3 ( $r = 0.70$   $p < 0.001$ ). Cuando se consideraron cada trimestre por separado, se encontraron correlaciones positivas entre IGF-I con PRL y GH ( $r = 0.5, 0.46$  y  $p < 0.01, 0.05$  respectivamente) durante el segundo trimestre de embarazo (Fig 7) mientras que con T4 y T4L fueron negativas en el primero y segundo trimestre (Fig 8), para EGF y E2 una  $r = 0.55, p < 0.01$ .

Con relación al peso del recién nacido, se encontró una correlación entre valores de IGF-I y HPL en el último trimestre de gestación y el peso del producto al nacimiento (Fig 9).

#### DISCUSION

Varios estudios han mostrado que las concentraciones de IGF-I en la madre aumentan durante el embarazo y que los valores máximos se observan en el tercer trimestre, encontrándose una disminución de sus niveles en el RCIU(4,5,15,17) y estos resultados fueron semejantes en este estudio. Además de que se encontró una relación positiva entre IGF-I y el peso del bebé al nacimiento, como ha sido demostrado por numerosos autores (5,15,20,21,55) aunque con excepción de dos (53,56). Los resultados del presente trabajo están de acuerdo con la hipótesis de que el IGF-I materno puede ser un factor determinante en la distribución de nutrientes entre la madre y la placenta y aunque el IGF-I no cruza la barrera placentaria, regula la transferencia de nutrientes al

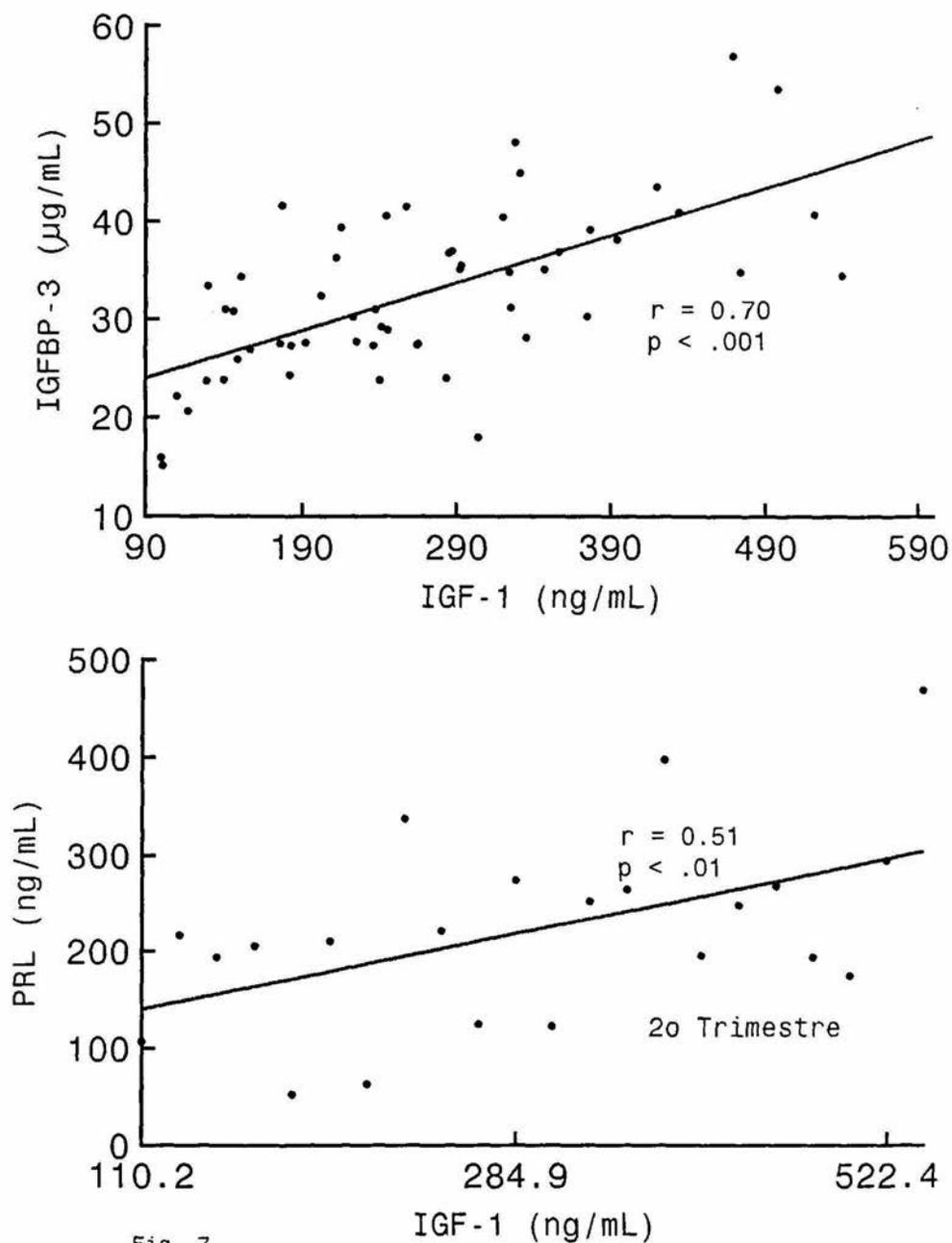


Fig 7

Se demostró una correlación positiva entre valores individuales de IGF-I e IGFBP-3. La correlación entre IGF-I y PRL fue positiva durante el segundo trimestre.

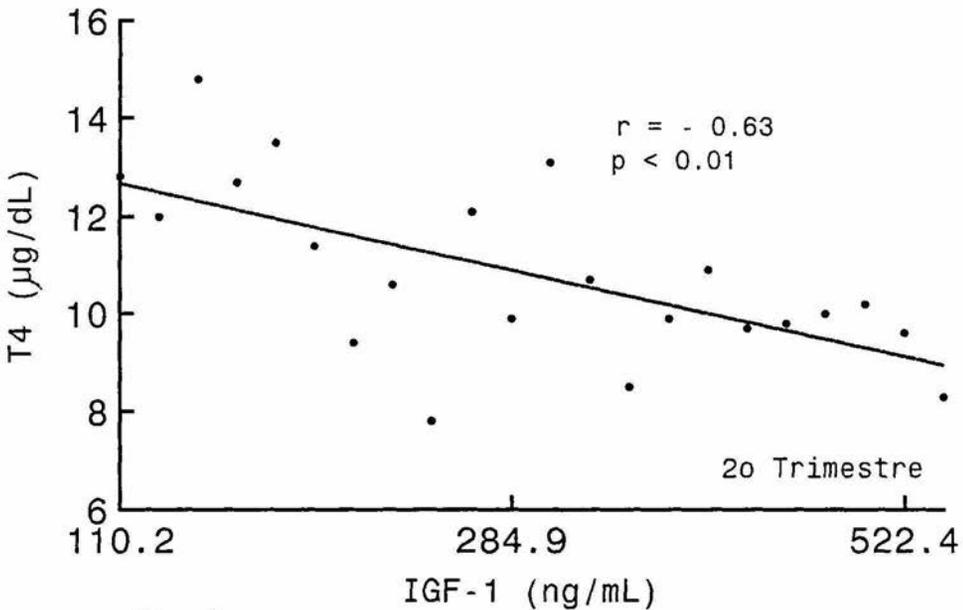
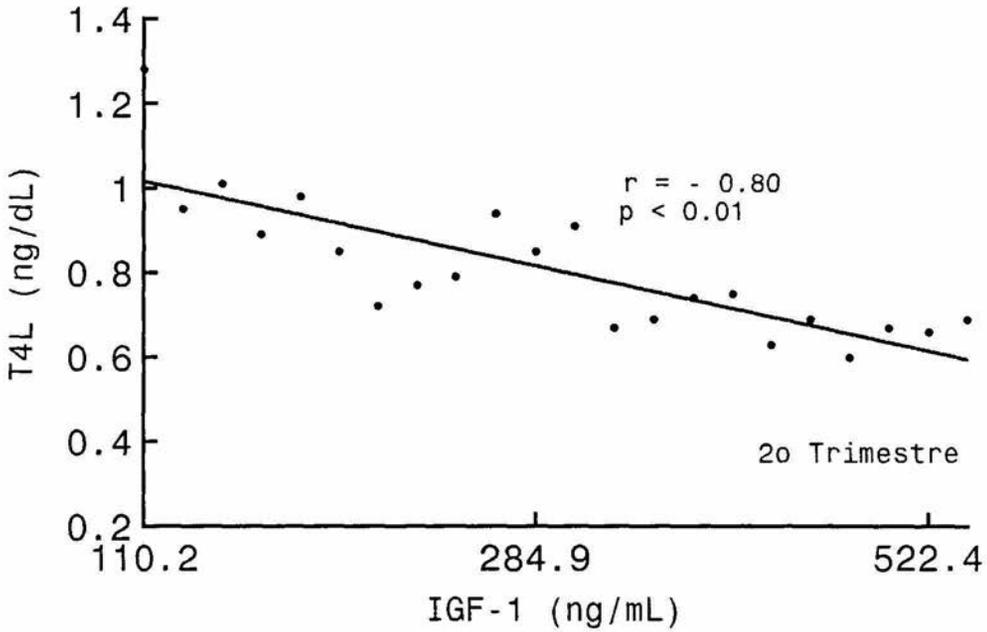


Fig 8

Se puede observar la correlación negativa entre T4L y el IGF-I así como con T4 durante el segundo trimestre.

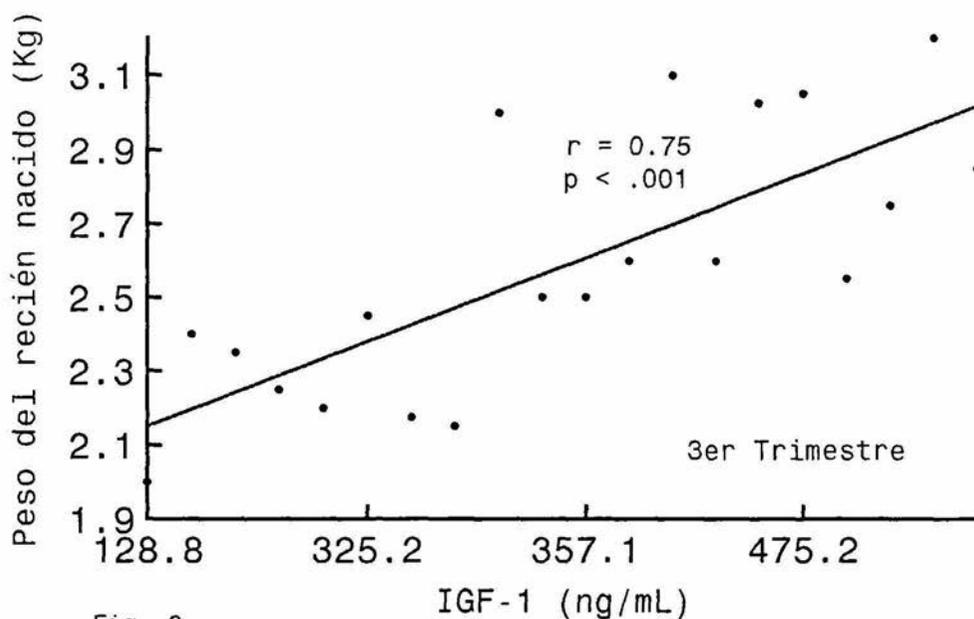
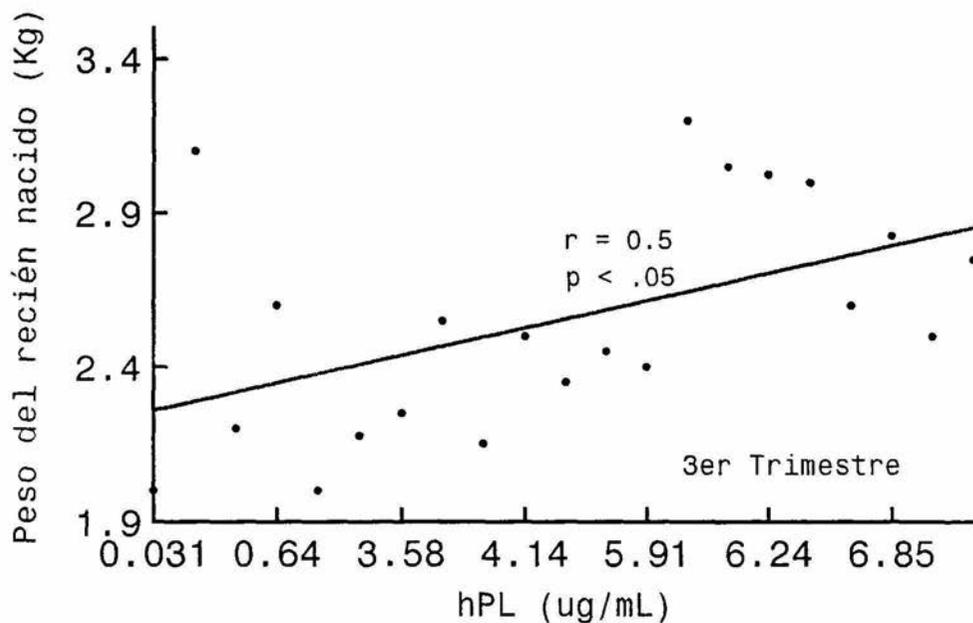


Fig 9

Los niveles en suero materno de hPL y del IGF-I obtenidos durante el tercer trimestre de embarazo tuvieron una relación positiva con el peso del recién nacido.

feto. Esto último podría a su vez incrementar la secreción y biodisponibilidad de las IGF-I fetales y en consecuencia promover el crecimiento fetal (4,21).

Esta elevación de los valores de IGF-I durante el embarazo se ha encontrado también en ratas hipofisectomizadas y en mujeres embarazadas deficientes en GH hipofisaria indicando que después del primer trimestre del embarazo los niveles de IGF-I no dependen de la GH hipofisaria, ya que se ha demostrado que la GH hipofisaria materna se suprime después de la mitad del embarazo (54). Estas observaciones sugieren que algunas hormonas placentarias remplazan a la GH de origen hipofisario en la regulación de IGF-I. En mujeres embarazadas se ha encontrado una correlación significativa moderada entre niveles maternos de HPL e IGF-I (9) pero otros autores no lo han confirmado (15,21). En el presente estudio se encontró tal correlación, y además se demostró una correlación positiva también entre IGF-I e IGFBP-3, GH y PRL.

Con la reciente caracterización de la variante de GH placentaria surge la posibilidad de que esta hormona sola o junto con otras hormonas placentarias sustituya a la GH hipofisaria materna en la regulación de IGF-I durante el embarazo. Se encontró una correlación de IGF-I con GH en el segundo trimestre como ya ha sido señalada previamente (54). En el estudio se usó un anticuerpo policlonal que reconoce tanto a la GH placentaria como a la hipofisaria (57) encontrándose una correlación de 0.46 ( $p < 0.05$ ).

Los valores de IGFBP-3 fueron bajos en RCIU, y mostraron una correlación significativa alta con IGF-I; estos resultados son similares a los informados previamente (4,5). Se ha pensado que la medición de IGFBP-3 en sangre materna pudiera reflejar mejor el crecimiento intrauterino que el IGF-I ya que en casos de desnutrición se encuentra baja y más que impedir o bloquear a IGF-I en la promoción del crecimiento es necesaria para dicho crecimiento (10). Los niveles de IGFBP-3 se encontraron bajos en RCIU y la diferencia entre grupos tuvo una  $p < 0.01$ , mientras que en IGF-I se obtuvo una  $p < 0.001$ ; además, no hubo correlación con el peso del producto al nacimiento, por lo que se concluye que IGFBP-3 no ofrece mayor información que la que se obtiene con IGF-I en RCIU.

En cuanto a la correlación encontrada con PRL, anteriormente se ha informado que IGF-I estimula la síntesis y liberación de PRL en las células de la decidua humana (40) y esto se interpreta como un efecto sobre la osmoregulación del líquido amniótico, la maduración fetal y la contractilidad del útero. Por otra parte el embarazo induce cambios en la función tiroidea, los estrógenos causan un aumento de TGB debido principalmente a una glicosilación alterada y a una reducida degradación de TGB, lo que hace que aumente las concentraciones de  $T_4$  total y  $T_3$  (46). La  $T_4$  materna puede cruzar la barrera placentaria desde el primer mes de embarazo y alcanzar al embrión vía el saco vitelino (31), lo que indica la posibilidad de que el aumento de la  $T_4$  materna durante el primer trimestre pueda ser funcionalmente importante para el

desarrollo del embrión cuando su tiroides todavía no funciona. Los niveles altos de hCG del primer trimestre se asocian con una reducción de niveles de TSH y probablemente con un ligero aumento de los niveles de  $T_4$  libre (46). Los resultados obtenidos en este trabajo con respecto a las hormonas tiroideas están de acuerdo con lo anterior. En suma la tiroxina total y libre así como la  $T_3$  se encontraron aumentadas, mientras que la TSH se encontró disminuída y hubo diferencia entre los dos grupos de estudio en cuanto a la  $T_4$  total y  $T_4$  libre, las cuales se encontraron más aumentadas en el grupo con RCIU durante el primer y segundo trimestre del embarazo. Esta diferencia pudiera resultar del efecto inhibitorio de la GH sobre dichas hormonas, ya que la GH y las hormonas tiroideas actúan en forma simultánea en el crecimiento y desarrollo. Las hormonas tiroideas ejercen un mecanismo de retroalimentación para suprimir la secreción de GH y esta a su vez disminuye los niveles de  $T_4$  por un lado e incrementa por otro las concentraciones plasmáticas de  $T_3$ , debido al aumento en la actividad de la 5'-monodeiodinasa y/o por la inhibición de la conversión de  $T_3$  a su metabolito inactivo, deiodotirosina. A este respecto se ha demostrado que tratamientos con concentraciones crecientes de GH en aves induce en el plasma un aumento de  $T_3$  y una disminución de  $T_4$  con relación a la dosis de GH (59).

Se ha observado que durante el embarazo aumentan los niveles de IGF-BPs, pero la interferencia de estas proteínas con la determinación de IGF-I total ha sido un problema: la

separación de IGFBPs de IGF-I se obtiene con la filtración en gel a un pH bajo (52), pero existen métodos alternos que son sencillos y rápidos (51) y por ello es indispensable asegurar que los procedimientos de separación de IGF-I de las proteínas de unión sean válidos para la estimación total real de IGF-I. En este estudio se comparó el método de extracción ácida con el de filtración en columna de gel (tabla 3) y ambos métodos alcanzaron una precisión, paralelismo y recuperación similares, por lo que el método de extracción alcohol-ácido usado en el presente trabajo parece ser adecuado.

Se ha sugerido que el EGF está estrechamente relacionado con el crecimiento fetal (29), en nuestro trabajo el EGF no mostró cambios significativos a través del embarazo, encontrándose solo en el tercer trimestre una ligera diferencia entre los grupos ( $p = 0.16$ ).

Estos resultados parecen diferir de lo informado previamente (60) lo que probablemente se explique por que solo se analizaron sueros de embarazadas después de la semana 37. Tampoco se observó una asociación entre EGF y crecimiento fetal, aunque si entre EGF y E2 durante el primer trimestre ( $r = 0.55$ ,  $p < 0.01$ ) como ya ha sido descrito (7). Los resultados del TGF $\beta$ -2, parecen apoyar que este factor puede funcionar como un inhibidor de la proliferación celular ya que durante el primer trimestre sus niveles en el grupo con RCIU se encontraron aumentados en comparación con el grupo de crecimiento fetal normal, aunque la diferencia tuvo una  $p = 0.09$ . Es necesario ampliar los grupos de análisis para poder

Tabla 3.- Control de calidad de los diferentes métodos comparados en la determinación de IGF-I

Estuche	Coeficiente de variación (%)		Recuperación (%)	Paralelismo (%)	Sensibilidad
	intraensayo	interensayo			
Extracción ácida	5,7	9,5	89,4 - 106	88,3	0,3
Cromatografía	2,93	9	93 - 102	93	15

determinar si la medición de TGF $\beta$ -2 es útil como indicador de inhibición del crecimiento.

**CONCLUSIONES**

- 1.- Existe asociación entre niveles bajos de IGF-I y su proteína de unión con RCIU.
- 2.- Existe correlación positiva entre IGF-I con el peso del recién nacido.
- 3.- EGF no se relaciona con RCIU.
- 4.- Los niveles de IGF-I son marcadores tempranos de alteración en el crecimiento intrauterino.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Pollack RN, Divon MY. (1992) Intrauterine Growth Retardation: Definition, classification and etiology. Clin Obst Gynaecol 35:99
- 2.- Barker DJ. (1994) Outcome of low birthweight. Horm Res 42:223
- 3.- Estadísticas vitales. 1995. Secretaría de Salud. Dirección General de Información y Estadística
- 4.- Gluckman PD. (1995) The endocrine regulation of fetal growth in late gestation: The role of insulin-like growth factors. J Clin Endocrinol Metab 80:1047
- 5.- Evain-Brion D. (1994) Hormonal regulation of fetal growth. Horm Res 42:207
- 6.- Lowy C. (1994) Regulation of Intrauterine Growth: The role of maternal Health. Horm Res 42:203
- 7.- Giudice LC. (1994) Growth factors and growth modulators in human uterine endometrium: their potential relevance to reproductive medicine. Fertil Steril 61:1
- 8.- Giudice LC, Saleh W. (1995) Growth factors in reproduction. Trends Endocrinol Metab 6:60
- 9.- Withman M, Melton DA. 1989 Growth factors in early embryogenesis. Annu Rev Cell Biol 5;93
- 10.- Baxter RC. (1994) Insuline-like growth factor binding proteins in the human circulation: A review. Horm Res 42:140

11.- Underwood LE, Thissen JP, Lemozy S, Ketelslegers JM, Clemmons DR. (1994) Hormonal and nutritional regulation of IGF-I and its binding proteins. *Horm Res* 42:145

12.-Mohan S, Baylink DJ, Pettis JL. (1996) Editorial: Insulin-like growth factor (IGF)-binding proteins in serum- Do they have additional roles besides modulating the endocrine IGF actions ? *J Clin Endocrinol Metab* 81:3817

13.- Han VKM, D'Ercole AJ, Lund PK. (1987) Cellular localization of somatomedin (insulin-like growth factor) messenger RNA in the human fetus. *Science* 236:193

14.- Smith FP, Sadler TW, D'Freole AJ. (1987) Somatomedins insulin like growth factors their receptors and binding proteins are present during embryogenesis. *Development* 101:73

15.- Hall K, Hansson U, Lundin G, Luthman M, Persson B, Póvoa, Stangenberg M, Ofverholm U. (1986) Serum levels of somatomedins and somatomedin-binding protein in pregnant women with type I or gestational diabetes and their infants. *J Clin Endocrinol Metab* 63:1300

16.- Mirlesse V, Frankenne F, Alsat E, Poncelot M, Hennen G, Evain-Brion D. (1993) Placental growth hormone levels in normal pregnancy and in pregnancies with intrauterine growth retardation. *Pediatr Res* 34:439

17.- Kubota T, Kamada S, Taguchi M, Aso T. (1992) Determination of insulin-like growth factor-2 in feto-maternal circulation during human pregnancy. *Acta Endocrinol* 127:359

18.- Woods KA, Camacho-Hubner C, Savage MO, Clark AJ. (1996) Intrauterine growth retardation and postnatal growth failure associated with deletion of the insulin-like growth factor I gene. N Engl J Med. 333:1093

19.- Shen SJ, Wang ChY, Nelson KK, Jansen M, Ilan J. (1986) Expression of insulin-like growth factor II in human placentas from normal and diabetic pregnancies. Proc Natl Acad Sci 83:9179

20.- Caufriez A, Frankenne F, Hennen G, Copinschi G. (1993) Regulation of maternal IGF-I by placental GH in normal and abnormal human pregnancies. Am J Physiol 265:E572

21.- Caufriez A, Frankenne F, Hennen G, Copinschi G. (1994) Regulation of maternal IGF-I by placental GH in pregnancy. Possible action of maternal IGF-I on fetal growth. Horm Res 42:62

22.- Sporn MB, Roberts AB, Wakefield LM, Crombrughe B. (1987) Some recent advances in the chemistry and biology of transforming Growth Factor-beta. J Cell Biol 105:1039

23.- Massagué J. (1990) The transforming growth factor-B family. Annu Rev Cell Biol 6:597

24.- Hill DJ. (1992) Peptide growth factor interactions in embryonic and fetal growth. Horm Res 38:197

25.- Bry C, Halman M. (1992) Transforming growth factor- $\beta$  opposes the stimulatory effects of interleukin 1 and tumor necrosis factor on amnion cell prostaglandin E2 production. Implications for preterm labor. Am J. Obstet Gynecol 167:222

26.- Lea RG, Underwood J, Flanders KC, Hirte H, Banwatt D, Finotto S, Ohno Y, Daya S, Harley C. (1995) A subset of patients with recurrent spontaneous abortion is deficient in transforming growth factor beta-2 producing "suppressor cells" in uterine tissue near the placental attachment site. *Am J Reprod Immunol* 34:52

27.- Diagustine RP., Petrusz P, Bell GI, Brown CF, Korach KS, Mc Lachlan JA, Teng CT. (1988) Influence of estrogens on uterine epidermal growth factor precursor protein and messenger ribonucleic acid. *Endocrinology* 122:2355

28.- Fisher DA, Lakshmanan J. (1990) Metabolism and effects of Epidermal Growth Factor and related growth factors in mammals. *Endocrin Rev* 11:418

29.- Kamei Y, Tsutsumi O, Kawabara Y, Taketani Y. (1993) Intrauterine grown retardation and fetal losses are caused by epidermal growth factor deficiency in mice. *Ann J Physiol* 256:597

30.- Griffin JE, Ojeda SR. (1992) Textbook of endocrine physiology. Oxford University Press. 198.

31.- Knovill E, Neill JD. (1994) The physiology of reproduction. Raven Press, Ltd. New York. 878.

32.- Crosignani PG, Nencioni T, Brambati B. (1982) Concentration of chorionic gonadotrophin and chorionic somatomammotrophin in maternal serum, amniotic fluid and cord blood serum at term. *J Obstet Gynaecol Br Common* 79:122

33.- Hill DJ, Crace CJ, Milner RD. (1985) Incorporation of [<sup>3</sup>H] thymidine by isolated fetal myoblasts and fibroblasts in

response to human placental lactogen (HPL): Possible mediation of HPL action by release of immunoreactive SM-C. J Cell Physiol 125:337

34.- Parks JS, Nielsen PV, Sexton LA, Jorgensen EH. (1985) An effect of gene dosage on production of human chorionic somatomammotropin. J Clin Endocrinol Metab 60:994

35.- Frankenke F, Closset J, Gomez F, Scippo ML, Smal J. (1988) The physiology of growth hormones (GHs) in pregnant women and partial characterization of the placental GH variant J Clin Endocrinol Metab 66:1171

36.- Baumann G, Dávila N, Shaw MA, Ray J, Liebhaber SA, Cooke EN. (1991) Binding of human growth hormone (GH)-variant (placental GH) to GH-binding proteins in human plasma. J Clin Endocrinol Metab 73:1175

37.- Goosens M, Brauner R, Czernichow P, Duquesnoy P, Rappaport R. (1986) Isolated growth hormone (GH) deficiency type 1A associated with a double deletion in the human GH gene cluster. J Clin Endocrinol Metab 62:712

38.- Golander E. (1979) Dopamine, bromocriptine, and TRH have no effects on the decidual production of prolactin in vitro. J Clin Endocrinol Metab 49: 787

39.- Kauma S, Shapiro SS. (1986) Immunoperoxidase localization of prolactin in endometrium during normal menstrual, luteal phase defect, and corrected luteal phase defect cycles. Fertil Steril 46:37

40.- Thrailkill KM, Golander A, Underwood LE, Handwerker S. (1988) Insulin-like growth factor Y stimulates the synthesis

and release of prolactin from human decidual cells.  
Endocrinology 123:2930

41.- Lagerstrom M, Bremme K, Eneroth P. (1990) Maternal serum levels of estriol, prolactin, human placental lactogen and Chorionic Gonadotropin related to fetal sex in normal and abnormal pregnancies. Gynecol Obstet Invest 30:98

42.- Carr BR, Parker CRP, Madden JD. (1981) Maternal plasma adrenocorticotropin and cortisol relationships throughout human pregnancy. Am J Obstet Gynecol 139:416

43.- Price WA, Stiles AD, Moats-Staats BM, D'Ercole AJ. (1992) Gene expression of insulin like growth factors (IGFs). The type IGF-1 receptor and IGF Binding Proteins in dexamethasone induced fetal growth retardation. Endocrinology 130:1424

44.- Wilson JD, Foster DW. Endocrinología. 1989. Editorial Médica Panamericana S.A. Buenos Aires Argentina. 1:625-627.

45.- Yamamoto T, Amino N, Tanizawa. (1979) Longitudinal study of serum thyroid hormones, chorionic gonadotropin and thyrotrophin during and after normal pregnancy. Clin Endocrinol 10:459

46.- Hershman JM. (1996) Pregnancy and thyroid disease. In 10th International Congress of Endocrinology (abstract)1:37

47.- Felig P, Lynch V. (1970) Starvation in human pregnancy: hypoglicemia, hipoinsulinemia and hiperketonemia. Science 170:990

- 48.- Obenshaim S, Adam P. (1970) Human fetal insulin response to sustained maternal hyperglycemia. *N Eng J Med* 283:566
- 49.- Knopp R. (1981) Ajustes metabólicos durante el embarazo normal y diabético. *Clin Obstet Ginecol* 1:21
- 50.- Felig P, Somari V. (1979) Insulin receptors in diabetes and other conditions. *Am J Med* 67:913
- 51.- Daughaday WH, Mariz IK, Blethen SL. (1980) Inhibition of access of bound somatomedin to membrane receptor and immunobinding sites: a comparison of radioreceptor and radioimmunoassay of somatomedin in native and acid-ethanol-extracted serum. *J Clin Endocrinol Metab* 51:781
- 52.- Blum WF, Breier BH. (1994). Radioimmunoassay for IGFs and IGFEBPs. *Growth Regulation*. 4:11
- 53.- Hills FS, English J, Chard T. (1996) Circulating levels of IGF-I and IGF-binding protein -1 throughout pregnancy: relation to birthweight and maternal weight. *J Endocrinol* 148:303
- 54.- Caufriez A, Frankenne F, Engelrt Y, Golstein J, Cantraine F, Hennen G, Copinschi G. (1990) Placental growth hormone as a potential regulator of maternal IGF-I during human pregnancy. *Am J Physiol* 258:E1014
- 55.- Sara VR, Hall K, Rodeck CH, Wetterberg L. (1981) Human embryonic somatomedin. *Proc Natl Acad Sci USA*. 78:3175
- 56.- Wang HS, Perry LA, Kainisius J, Iles RK, Holly JMP, Chard T. (1991) Purification and assay of insulin-like growth

factor-binding protein-1: measurement of circulating levels throughout pregnancy. J Endocrinol 128:161

57.- Dinesen B. (1991) Immunochemical aspects of growth hormone assays. Horm Res 36(Suppl 1):11

58.- Furlanetto RW, Underwood JJ, Van Wyk, Handwerger S. (1978) Serum immunoreactive somatomedin-C is elevated late in pregnancy. J Clin Endocrinol Metab 41:695

59.- Hull KL, Janssens WCJ, Baumbach WR, Harvey S. (1995) Thyroid glands: novel sites of growth hormone action. J Endocrinol 146:449

60.- Shigeta K, Hiramatsu Y, Eguchi K, Sekiba K. (1992). Urinary and plasma epidermal growth factor levels are decreased in neonates with intrauterine growth retardation and in their mothers. Biol Neonate 62:76