



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD  
EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA No.4  
"LUIS CASTELAZO AYALA"

Significancia clínica de la Prolactina Urinaria en la  
Enfermedad Hipertensiva del Embarazo.

TESIS DE POSTGRADO PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN  
GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

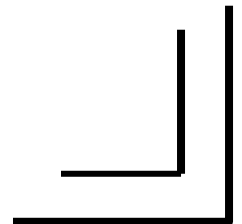
**PRESENTA:**

***DRA. JANETH MÁRQUEZ ACOSTA***

**ASESOR:**

***DR. ALFREDO LEAÑOS MIRANDA***

MÉXICO, D.F. AGOSTO 2007





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**

---

**DR. GILBERTO TENA ALAVEZ**

Director General de la Unidad Médica de Alta Especialidad de Ginecología y  
Obstetricia No 4 “Luis Castelazo Ayala”

---

**DR. SEBASTIÁN CARRANZA LIRA**

Director de Educación e Investigación en Salud

---

**DR. ALFREDO LEAÑOS MIRANDA**

Investigador Titular A. Unidad de Investigación Médica en Medicina  
Reproductiva. UMEA Hospital de Ginecología Y Obstetricia No. 4 “Luis

Castelazo Ayala”

Asesor de Tesis

## DEDICATORIAS

A mi madre por ser mi mejor amiga, por su inagotable fuerza, su incondicional apoyo y su inmenso amor. Gracias Mayelita, no solo por haberme dado la vida, si no por vivirla cada día a mi lado como mi mayor luz e inspiración.

A mi padre, por el gran amor con que forjo a su familia, por darnos siempre el mayor ejemplo de constancia y tenacidad. Gracias por creer en mí y por no permitir nunca que la distancia nos separara.

A mis hermanos, por su apoyo y confianza por ser mis compañeros y colegas más queridos y cercanos.

A Susanita por haber aparecido en mi vida y cambiarla 180 grados, Nicta.

A mi mejor amigo, porque has estado todos estos años orbitando cerca.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Dr. Alfredo Leños Miranda por aceptarme en su equipo de trabajo, por darme siempre un punto de vista diferente, crítico y certero, por su apoyo constante desde que lo conocí y por ser quien hizo posible este trabajo. Gracias por mostrarme otros caminos.

A la Dra. María Guadalupe Cárdenas Mondragón por su optimismo y sonrisa constante, por su enseñanza y paciencia, por hacerme tan grata mi estancia en el trabajo.

A todas las pacientes, protagonistas anónimas de este trabajo, gracias por contribuir a la ciencia.

A todo el personal del hospital que me apoyo en la realización de este trabajo, en especial a todos el personal del piso de Enfermedades Hipertensivas asociadas al embarazo, el laboratorio y la UCIA .

## CONTENIDO

	Página
Contenido .....	5
Abreviaturas .....	6
Resumen .....	7
Introducción .....	9
Justificación .....	25
Planteamiento del problema .....	25
Hipótesis .....	27
Objetivos .....	27
Pacientes, material y métodos .....	28
Lugar del estudio .....	28
Diseño de la investigación .....	28
Diseño de la muestra .....	29
Definición de las variables .....	30
Análisis estadístico .....	35
Resultados .....	36
Discusión .....	54
Referencias .....	60
Anexos .....	64

## **ABREVIATURAS**

<b>Abreviatura</b>	<b>Significado</b>
<b>DPPNI</b>	<b>Desprendimiento prematura de placenta Normoinserta</b>
<b>EAP</b>	<b>Edema agudo de pulmón</b>
<b>GH</b>	<b>Hormona del crecimiento</b>
<b>hPL</b>	<b>lactógeno placentario humano</b>
<b>HG</b>	<b>Hipertensión gestacional</b>
<b>PE</b>	<b>Preeclampsia</b>
<b>PRL</b>	<b>Prolactina</b>
<b>RCIU</b>	<b>Restricción del crecimiento intrauterino</b>
<b>SDG</b>	<b>Semanas de gestación</b>

## **RESUMEN**

**Título.** Significancia clínica de la prolactina urinaria en la enfermedad hipertensiva del embarazo

**Objetivos.** 1) Determinar la concentración de prolactina (PRL) urinaria en mujeres embarazadas sanas y con enfermedad hipertensiva del embarazo y 2) determinar el rendimiento diagnóstico de la PRL urinaria en la preeclampsia (PE) y sí su concentración se asocia con la severidad de la PE, el curso clínico, complicaciones y resultado perinatal.

**Pacientes y Métodos.** Bajo un estudio comparativo y transversal, la concentración de PRL urinaria fue determinada en 207 mujeres embarazadas sanas y en 339 pacientes con enfermedad hipertensiva del embarazo (124 con hipertensión gestacional, 48 con PE leve y 167 con PE severa). La concentración de PRL urinaria fue normalizada a la concentración de creatinina urinaria. Se determinó el mejor punto de corte de la PRL urinaria, por medio de curvas características operantes del receptor COR, para determinar su utilidad diagnóstico en la PE leve y severa. Se compararon las concentraciones de PRL urinaria entre las pacientes con PE y sin PE, así como el curso clínico, severidad y resultado perinatal.

**Resultados.** La concentración de PRL urinaria fue mayor en las mujeres con PE que en las mujeres embarazadas sanas o con hipertensión gestacional ( $p < 0.001$ ). En adición, la concentración de PRL urinaria fue más alta en las mujeres con PE severa que en las mujeres con PE leve ( $p < 0.001$ ). De entre las pacientes con PE severa, aquellas que cursaron con síndrome de HELLP y/o eclampsia, así como las que presentaron desprendimiento prematuro de placenta normoinsera (DPPNI), insuficiencia renal aguda o edema agudo de



pulmón (EAP) tuvieron concentraciones de PRL urinaria más elevadas que las que no presentaron dichas complicaciones ( $p \leq 0.028$ ). La concentración de PRL urinaria normalizada a un punto de corte  $>0.994$  tuvo una sensibilidad del 100% y una especificidad del 100% para identificar a las mujeres con PE leve o severa, y a un punto de corte  $>3.94$  tuvo una sensibilidad de 97% y una especificidad de 97.9% para identificar a las pacientes con PE severa. El análisis por Western blot de las muestras urinarias mostró que la principal isoforma de la PRL fue la PRL monomérica de 23 kDa (PRL no glicosilada) y la de 25 kDa (PRL glicosilada), además otras dos bandas de menor peso molecular (14 y 16 kDa) sólo fueron detectadas en algunas pacientes con PE severa, principalmente en aquellas que cursaron con síndrome de HELLP y/o eclampsia ( $p < 0.001$ ). En contraste, en el suero de las mujeres embarazadas sanas como en las pacientes con enfermedad hipertensiva del embarazo sólo fue detectada la PRL no glicosilada de 23 kDa y en mucha menor frecuencia la PRL glicosilada de 25kDa.

**Conclusiones. La PE esta asociada a un incremento en la excreción de PRL urinaria. La prolactinuria es un método rápido y no invasivo para identificar a las mujeres con PE, así como de su severidad. La presencia de la PRL urinaria de 14 y/o 16 kDa se asoció a la PE severa y algunas manifestaciones clínicas y de laboratorio mas graves dentro del espectro clínico de la PE severa. Estos hallazgos noveles sugieren que la elevada concentración de PRL urinaria y sus isoformas son marcadores del grado de daño endotelial y pueden tener importantes implicaciones diagnósticas y pronosticas. Finalmente, las diferentes isoformas de la**

**PRL en las mujeres con PE pueden jugar un papel patogénico o regulador en la enfermedad**

## INTRODUCCIÓN

Los desordenes hipertensivos son la complicación médica más frecuente durante el embarazo, constituyen un problema grave de morbi-mortalidad perinatal y se presentan en 6-8% de todos los embarazos (1). Pueden tener un curso clínico variado, desde un trastorno leve hasta llegar a ser una enfermedad mortal. De acuerdo al National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy (2) se clasifican en los siguientes grupos: a) Hipertensión gestacional, b) Preeclampsia / Eclampsia, c) Preeclampsia sobreimpuesta a hipertensión crónica y d) Hipertensión crónica.

La preeclampsia (PE) es un síndrome específico del embarazo caracterizado por la disminución de la perfusión de los órganos secundaria a disfunción endotelial (3). La hipertensión arterial después de la semana 20 de gestación y la proteinuria son los criterios mínimos necesarios para el diagnóstico de PE (2,4). La frecuencia de PE se estima en 5–8% de todos los embarazos y puede poner en riesgo la vida del binomio materno-fetal (5,6). Las complicaciones potencialmente mortales tanto a nivel materno o fetal ocurren generalmente cuando la PE es severa y se presenta antes de las 35 semanas de gestación (SDG) (7,8). La PE es responsable de 200,000 muertes maternas a nivel mundial (9). En EUA provoca el 15% de las muertes maternas y es la segunda causa de muerte materna (2,7). En México, el Instituto Mexicano del Seguro Social reportó que en el periodo de 1987–1996 ocurrieron 1,033 muertes maternas y el 25% de las muertes fueron atribuidas a la PE-eclampsia, siendo las tres principales causas de defunción la hemorragia cerebral (46.2%), síndrome de HELLP (12.7%) y la coagulación intravascular

diseminadas (10.7%) (10). Desde el punto de vista perinatal, la PE es responsable del 20–25% de todas las muertes, con una tasa de mortalidad perinatal de 134 por 1000. Los principales riesgos fetales asociados a la PE son debidos fundamentalmente a insuficiencia uteroplacentaria, ya sea por alteraciones agudas o crónicas de la función placentaria. Estos fetos tienen riesgo de desarrollar restricción del crecimiento intrauterino (RCIU), oligohidramnios, desprendimiento prematuro de placenta normoinsera (DPPNI), asfixia crónica y muerte fetal (2,7).

La etiología de la preeclampsia se desconoce, sin embargo su patogénesis involucra factores genéticos, endocrinológicos, nutricionales, vasculares y autoinmunes (11). La preeclampsia es un estado de marcada vasoconstricción generalizada, secundario a una disfunción del endotelio, activación de la cascada de la coagulación y diversas sustancias que provoca isquemia y disfunción y daño multisistémico; durante los últimos años se han propuesto diversas teorías para explicar los eventos fisiopatológicos que llevan a su desarrollo, las más importantes son: una mala adaptación inmunológica de la invasión del citotrofoblasto a las arterias espirales (intolerancia inmunológica al aloinjerto fetal), falta de remodelación de las arterias y activación de fenómenos inflamatorios que incrementan la formación de radicales libres y la peroxidación de lípidos, desequilibrio en la producción de sustancias presoras (tromboxano) y vasodilatadores así como pérdida de la refractariedad vascular a sustancias presoras. Varias publicaciones recientes han sugerido que la PE puede ser causada por un imbalance de factores angiogénicos lo cual provoca disfunción endotelial. Estos estudios han concluido que el exceso de factor de crecimiento endotelial soluble (sFIt-1), también conocido como sVEGFR1 (receptor

1 del factor de crecimiento vascular endotelial soluble) producido por placentas de mujeres con PE, es una proteína anti-angiogénica que es capaz de unir factores pro-angiogénicos, tales como VEGF y al factor de crecimiento placentario (P[GF), inhibiendo su interacción con los receptores de las células endoteliales y ocasionando una disminución de VEGF y P[GF, creando un estado anti-angiogénico y los signos característicos del síndrome materno de la PE, es decir la hipertensión y la proteinuria (12–16).

La PE ocurre solo en presencia de placenta con o sin feto, como en la mola hidatidiforme (8). Los factores de riesgo para desarrollar PE son: Nuliparidad, edad materna >35 años, PE en embarazo previo, primipaternidad, hipertensión crónica, enfermedad renal, diabetes mellitus, obesidad, familiares directos con antecedente de PE, embarazo múltiple, infecciones maternas, síndrome de anticuerpos antifosfolípidos, trombofilias, lupus eritematoso sistémico, entre otros (17, 18).

El único tratamiento curativo conocido para la PE es la remoción de la placenta mediante la interrupción del embarazo. Sin embargo, sí los signos y síntomas de la PE se desarrollan antes de que el feto logre su maduración, el riesgo de morbi-mortalidad neonatal debido al parto prematuro está marcadamente incrementado.

Una gran variedad de marcadores bioquímicos han sido estudiados con el fin de diagnosticar y/o predecir la PE. Los intentos para identificar marcadores tempranos de defectos en la placentación, reducción en la perfusión placentaria, disfunción endotelial, activación de la coagulación, entre otros han dado resultados con baja sensibilidad para el diagnóstico y/o predicción de la PE, o en aquellos con utilidad clínica adecuada pero debido a

sus altos costos hace que su implementación en la práctica clínica diaria sea limitada, por lo tanto, hasta hoy ninguna prueba de escrutinio para la PE es costo-efectiva (18–21).

Debido a lo anterior, un abordaje diferente y un método no invasivo puede enfocarse al estudio de las proteínas en orina (proteómica urinaria).

En condiciones normales, la pared capilar glomerular limita el filtrado de las proteínas plasmáticas en relación a su tamaño molecular y su carga eléctrica, el estado hemodinámico también influye en la filtración. Las proteínas de gran tamaño prácticamente no aparecen en el filtrado glomerular o lo hacen en mínima cantidad. La filtración de la albúmina está muy limitada por su tamaño mediano y su carga aniónica. Las proteínas de bajo peso molecular se filtran con mayor facilidad y para algunas de las proteínas de este grupo heterogéneo, la concentración en el filtrado es superior al 50% de la concentración plasmática. La carga protéica filtrada total es importante pero sólo una mínima fracción aparece en orina, ya que la mayor parte se reabsorbe en el túbulo proximal por procesos endocíticos y degradación lisosomal (22).

En ciertas situaciones puede aparecer proteinuria que no indica patología glomerular, sino condiciones especiales de filtración, tal es el caso del embarazo y esto está determinado por los diversos cambios anatómicos y funcionales que se desarrollan en la gestación (4).

Debido a todos los cambios fisiológicos durante la gestación, la proteinuria durante el embarazo debe ser evaluada de modo diferente y considerar otros parámetros de normalidad. Se considera normal en la mujer embarazada una excreción total de proteínas de  $\leq 300$ mg en 24 horas. Cuando hay una alteración de la reabsorción tubular en el embarazo se puede evaluar

midiendo la excreción urinaria de moléculas de bajo peso que tengan concentraciones idénticas en mujeres no embarazadas y embarazadas sanas y que se filtren libremente por el glomérulo (22).

Existen grandes cambios a nivel renal en las pacientes con PE. Con el desarrollo de esta patología, se reduce la perfusión renal y la filtración glomerular, esto parece ser el resultado del menor volumen plasmático que conduce a valores de creatinina plasmática elevados. Es probable que esto pueda ser secundario a cambios renales intrínsecos causados por vasoespasmo grave. Comúnmente se encuentran en el riñón cambios identificables mediante microscopia electrónica; se observan glomérulos agrandados, asas capilares dilatadas y con contracción variable. Las células endoteliales del capilar glomerular se encuentran tumefactas y se depositan fibrillas (material protéico) dentro y debajo de ellas a lo que se le llama endoteliosis del capilar glomerular (Spargo). Las células endoteliales a menudo están tan tumefactas que bloquean total o parcialmente las células capilares. Se observan depósito homogéneos de una sustancia electrodensa entre la lámina basal y las células endoteliales y dentro de las células propiamente dichas. (23)

Como sucede con cualquier otra glomerulopatía, hay mayor permeabilidad a la mayoría de las proteínas de gran peso molecular; por lo tanto la excreción anormal de albúmina se acompaña de otras proteínas, como hemoglobina, globulinas y transferrina. Normalmente, estas moléculas no son filtradas por el glomérulo y su aparición en la orina significa un proceso glomerulopático. Estos cambios morfológicos observados en el glomérulo de la mujer con PE se empiezan a resolver a partir de las 48 horas posteriores al

parto y tienen una resolución completa comúnmente entre 4 a 6 semanas postparto (23).

En principio, los cambios en la tasa de excreción urinaria de proteínas específicas pueden tener un valor diagnóstico y/o predictivo en el campo clínico de la PE, esto es, en el diagnóstico temprano de la enfermedad, en la clasificación o severidad de la enfermedad e incluso de utilidad clínica en la toma de decisiones para dar un manejo conservador o definitivo de la PE. Este abordaje es razonable debido a que la PE es una enfermedad sistémica en donde debido a la repercusión renal (endoteliosis renal y defectos tubulares) muchas proteínas de mediano y bajo peso molecular pueden pasar al filtrado glomerular. Además, debido a que el embarazo se acompaña de un estado de hiperprolactinemia fisiológica, pensamos que la prolactina (PRL) puede ser un candidato potencial como biomarcador urinario de PE.

### ***PROLACTINA***

La PRL fue descubierta en 1928 en la hipófisis de vaca y es considerada filogenéticamente, la hormona más antigua del reino animal. Ha sido detectada en insectos, anfibios, peces y mamíferos, también se le conocía como hormona lactotrófica. En un principio fue difícil su aislamiento pues su estructura es semejante (en un 16%) a la hormona de crecimiento (GH) y ambas se localizan en la hipófisis, solamente que la GH en mayor concentración. (24). La PRL guarda alta homología estructural con la GH y la hormona lactógeno placentario (hPL), comparten una estructura tridimensional común de cuatro alfa-hélices caracterizada por estar en forma anti-paralela. El gen de la PRL se localiza en el cromosoma 6 y se piensa que fue derivado de



un gen precursor común somatomamotrófico (hGH-hPRL-hPL) hace unos 300 millones de años.

La PRL es una hormona polipeptídica constituida por 198 aminoácidos, con una leucina NH<sub>2</sub> terminal, tres puentes disulfuro y un peso molecular de 23 000 daltons. Es sintetizada por los lactotrofos en la hipófisis anterior en todos los vertebrados, pero otros órganos y tejidos también la producen, como la placenta, algunas áreas del cerebro y en forma ocasional, en ciertos tejidos malignos. Las células productoras de PRL son fácilmente distinguibles por inmunohistoquímica y a la microscopía electrónica, son alargadas y con gránulos densos. Estos constituyen hasta el 40-50% de las células del lóbulo anterior de la hipófisis. La transcripción del gen de la prolactina da como resultado la producción de RNA mensajero, y luego es sintetizada en el retículo endoplásmico rugoso como un péptido precursor más grande. Luego es clivada y almacenada en gránulos. Hay pools de depósito como pools de PRL neosintetizada. Los lactotrofos contienen iones de calcio. Ciertos cambios en la membrana celular dan como resultado el aumento del calcio ionizado libre dentro de las células, lo cual activa la exocitosis, dando como resultado la expulsión de los gránulos de PRL (25- 27)

Los niveles séricos de PRL tiene variaciones diarias y circadianas, su secreción es pulsátil, como lo describió Sassin JF y colaboradores (28). Hay una secreción continua de PRL, a la cual se superpone una secreción episódica, pulsátil (cada 8-10 minutos) durante todo el día, más marcada luego de la ingestión de alimentos y aumentos o picos secretorios durante la etapa de sueño, iniciando entre los 10 minutos y poco más de 1 hora de iniciado el sueño y alcanzando los valores mas altos principalmente en las etapas mas

profundas. Dichos valores no descienden sino hasta una o dos horas después de haber despertado y poco a poco disminuyen hacia el final de la tarde (el nivel antes de las 8 a.m. puede ser un 20% más elevado que más tarde durante el día, alcanzando el máximo entre las 3 y las 5 a.m.) sin una tendencia a repetirse en el mismo sujeto en días posteriores. Una vez en circulación la vida media de la prolactina se estima en 10 a 14 minutos. Al parecer las variaciones por horario y durante el sueño se deben a que el estímulo dopaminérgico del hipotálamo se va modificando (28).

Varias isoformas de la PRL han sido identificadas en suero y otros líquidos biológicos. La mayor isoforma circulante es un polipéptido de una sola cadena conocida como prolactina monomérica (little PRL) con un peso molecular de 23 KDa que corresponde alrededor del 85% del total de PRL en el suero de sujetos normales y en la mayoría de los pacientes con hiperprolactinemia, incluyendo las mujeres embarazadas. Además existen otras dos isoformas con alto peso molecular, la big PRL (45–50 kDa), y la big big PRL o macroprolactina (>100 kDa) las cuales se originan por agregados de PRL monomérica o por su unión a otras proteínas; otras isoformas de la PRL con menor peso molecular (14 y 16 kDa) también se han descrito, las cuales son el resultado del rompimiento proteolítico de la PRL monomérica (29,30). Hay además una forma de PRL glicosilada (PRL nativa) con un peso molecular de 25 KDa. Estas modificaciones de la PRL pueden afectar sus propiedades biológicas independientemente de la inmunoreactividad.

Se encuentra PRL en la sangre del feto humano hacia la semana 12 y su nivel aumenta en forma marcada a partir de la semana 25 hasta el término.

Disminuye a los niveles prepuberales hacia el segundo mes de vida. Durante la pubertad, los niveles séricos de la hormona aumentan en las niñas en asociación con el aumento del estradiol. Por tanto, las mujeres tienen niveles más elevados que los hombres. Durante el ciclo menstrual, los niveles más elevados son en fase ovulatoria y lútea. En el embarazo, los niveles séricos de PRL aumentan desde el primer mes de la gestación hasta el término, en paralelo con el aumento del estradiol sérico y la hiperplasia continua de los lactotrofos del lóbulo anterior de la hipófisis. Durante el embarazo y la lactancia, el contenido de PRL puede aumentar 10 a 20 veces y los lactotrofos pueden corresponder al 70% de las células en la glándula. La hipófisis en el embarazo avanzado aumenta dos veces su tamaño normal, debido a hiperplasia e hipertrófia de lactotrofos, con gran actividad secretora. Los niveles de PRL caen después del parto, retornando a valores basales pre-embarazo aproximadamente en 3 semanas en mujeres no lactantes; en las mujeres lactantes disminuyen en un lapso de 3 meses a un año. La hiperplasia de los lactotrofos desaparece varios meses después del parto (22,31,32).

Las variaciones de las formas circulantes de la PRL y de su secreción episódica durante todo el día dan como resultado un espectro de niveles séricos que tienen una distribución no gaussiana en la población normal. Si no se toma en cuenta esto pueden hallarse niveles séricos elevados de prolactina en el 5 al 8% de las mujeres, lo cual da como resultado sobrediagnóstico (33).

La frecuencia secretora de PRL es de aproximadamente 400  $\mu\text{g}/\text{día}$ . La hormona se depura a través del hígado (75%) y del riñón (25%) y su vida media plasmática es de alrededor de 50 min. Los valores basales de PRL en adultos varían considerablemente, con un promedio de 13 ng/ml en mujeres y 5

ng /ml en varones. El valor superior normal en la mayor parte de los laboratorios es de 20 a 22 ng/ml. No hay acuerdo sobre cual es el nivel superior normal de la hormona. Las discrepancias entre los laboratorios se han debido a diferencias no sólo de la interpretación sino también de los métodos de ensayo (34). Los límites de referencia también cambian de acuerdo a la población estudiada presentando variaciones individuales muy marcadas, incluso por grupos de edad y sexo donde la media reportada va desde 8 ng/ml en varones prepúberes, hasta 10 ng/ml en varones púberes y 13 ng/ml en varones adultos. De forma semejante en el sexo femenino se ha observado un incremento desde los 7 ng/ml en la etapa prepúber y los 13 ng/ml en la pubertad. En las mujeres fértiles los niveles denotan una ligera elevación durante la ovulación y la fase luteínica, con respecto a la fase folicular, correspondiendo con los niveles de estrógenos endógenos liberados por el ovario (26). En mujeres posmenopáusicas y hombres de edad avanzada, los niveles descienden, no está claro si por deficiencia hipofisiaria o por insuficiencia gonadal, demostrando cierto papel en la función gonadal y del envejecimiento.

La presencia de diferentes estímulos inespecíficos, como pueden ser el coito, el ejercicio, situaciones de estrés como una cirugía, curso de hipoglucemia insulínica, etc. provocan variaciones en la secreción de PRL, pudiendo ser algunas de naturaleza adaptativa como la ocurrida en hipoglucemia (26).

El control de la secreción de prolactina es complejo e involucra diversos factores inhibidores y estimuladores. El sistema nervioso central es el que regula la secreción de prolactina mediante un mecanismo de inhibición, vía conexiones hipotálamo-hipófisis. El hipotálamo ejerce una función importante

inhibitoria para establecer el nivel normal de secreción de prolactina, a través de un factor no identificado llamado factor PIF (Prolactin Inhibitor Factor) su efecto tónico inhibitorio es predominante, y cuando se presenta una desconexión hipotálamo-adenohipofisiaria por sección del tallo hipotalámico o por lesiones destructivas hipotalámicas lleva consigo una hipersecreción de PRL (35).

La L-Dopa es el precursor de la formación en grandes cantidades de dopamina, a esta última se le atribuye ser el verdadero factor PIF fisiológico (26), ya que presenta un control importante inhibiendo la liberación de la PRL, por la presencia de un tracto tuberoinfundibular-intrahipotalámico dopaminérgico, que lleva dopamina a las regiones pericapilares de la zona externa de la eminencia media. Al igual que la dopamina, la apomorfina y bromoergocriptina, otras drogas agonistas que utilizan las vías dopaminérgicas, tienen control inhibitorio sobre la PRL.

Por otro lado las catecolaminas y los alcaloides muestran su efecto inhibitor tanto *in vitro* como *in vivo* (29), actuando directamente sobre la hipófisis por las vías catecolaminérgicas aumentando el contenido hipotalámico de PIF.

En otros reportes sobre el factor liberador de PRL (PRF) que es producido por el hipotálamo, en ellos se presupone que puede ser la Hormona liberadora de tirotropina (TRH), ya que en situaciones con hipersecreción de tripéptido TRH (hipotiroidismo primario) se manifiesta en forma conjunta una secreción aumentada de PRL. De igual forma se hace mención de varias sustancias que han presentado la función de PRF como el Polipéptido Intestinal Vasoactivo (VIP), presente en el hipotálamo y en la sangre del tallo hipofisiario,

el ácido gamma-hidroxi-butírico (metabolito del GABA, ácido gamma aminobutírico), la prostaglandina E<sub>2</sub>, la serotonina, los estrógenos y algunos extractos de la glándula pineal (26,27,35).

Algunas sustancias que bloquean a los receptores dopaminérgicos aumentan la secreción de prolactina, como sucede cuando bajan las catecolaminas por efecto de medicamentos como pueden ser las fenotiazinas, reserpina, metil-Dopa, el triptofano, clorpromacina, y el sulpiride que es un anti-psicótico (36).

Existe la probabilidad de una retroalimentación negativa (feedback) en lo que podríamos llamar un circuito cerrado hipofiso-hipotalámico, a través de la misma hormona, llegando al hipotálamo por conexiones vasculares o por flujo axonal retrógrado, es probable que su acción repercuta con un aumento de la secreción del PIF hacia los vasos portales inhibiendo así su propia secreción (26).

Algunos casos por efectos de medicamentos como neurolépticos, diversos esteroides, pentobarbital sódico (durante la anestesia) producen una disminución del contenido hipotalámico del factor inhibidor de prolactina (PIF) por vía serotoninérgica, estimulando la secreción de la hormona.

### ***Acciones de la Prolactina***

La principal acción de la PRL es sobre el desarrollo mamario y secreción láctea. Sin embargo se han descrito más de 300 acciones biológicas diferentes para PRL (27). La PRL en la mujer estimula y mantiene la lactancia, acción directa sobre las células acidofílicas conocidas como lactotrofas de la glándula mamaria. Para que aumente el sistema ductal se requiere también de estrógenos, hormona del crecimiento, corticoides y lactógeno placentario. Para

el desarrollo del sistema lóbulo alveolar se requiere de estrógenos, progesterona y PRL. En específico en la glándula mamaria la PRL estimula las células secretoras alveolares induciendo la síntesis y secreción de leche, pero también se requiere de insulina e hidrocortisona para que las hormonas corticoesteroides trabajen sinérgicamente estimulando el sistema lactosa-sintetasa (37). Las cinasas protéicas dependientes del AMP cíclico inducen la síntesis de caseína por producción de RNA mensajero específico. A la PRL se le relaciona también con la regulación del ciclo reproductivo, el mantenimiento del embarazo y el crecimiento fetal, mediante un efecto sobre el metabolismo materno actuando sobre diferentes órganos efectores para facilitar sus funciones por sinergia con otras hormonas o bien por inhibición de ellas (27,32), también se ha relacionado con efectos sobre estructuras ectodérmicas y sinergia con hormonas estroides. Durante la gestación los niveles de PRL en el líquido amniótico llegan hasta 1000 ng/mL., mayor concentración que en cualquier otro fluido orgánico, esto sucede entre la 15<sup>a</sup> y 20<sup>a</sup> semana de gestación y desciende poco a poco hasta el final del embarazo a 450 ng/mL. Se presupone que es producida por la hipófisis fetal y la materna así como la decidua placentaria, con una posible función de osmorregulación del feto, para la supervivencia en el medio acuático intrauterino, ayudando contribuyendo así a la maduración pulmonar con aumento en el contenido de fosfolípidos y cambios en la relación lecitina-esfingomielina. También se le asocia con una función osmorreguladora, evitando las pérdidas urinarias de agua y electrolitos, con posible relación con el síndrome de tensión premenstrual (27). En el ser humano las otras funciones atribuidas se presentan en sinergismo con las hormonas esteroideas gonadales, como es la permanencia de la estructura del

cuerpo lúteo y su producción de progesterona, con acción en los procesos reproductivos, cediéndole parte de la función progestogénica; que entre otras funciones estimula la formación de receptores de membrana para la hormona folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH) para el crecimiento del folículo y la síntesis de estradiol. En los folículos antrales pequeños se demostró una concentración de PRL casi de 6 veces mayor que en circulación, cuando el folículo alcanza los 6 a 8 mm de diámetro los niveles descienden, aproximándose a los niveles sanguíneos basales cerca de la ovulación (27). Se han reportado funciones secundarias o de menor potencia, relacionándola con la andrógenesis que se lleva a cabo en la zona reticular de la corteza suprarrenal, pues se han encontrado receptores específicos para PRL, la unión con dichos receptores estimula la secreción de dehidroepiandrosterona y su sulfato.

### ***Niveles de prolactina durante el embarazo***

Durante la gestación las concentraciones de PRL aumentan gradualmente a partir de la implantación y siguen en ascenso casi lineal hasta el parto. Preparando a la glándula mamaria para la lactancia. Las células lactotrofas se ven aumentadas en número y tamaño considerablemente, tal vez inducidas por el aumento de estrógenos hasta 10 veces más que en la etapa pregestacional. El mayor estímulo para su producción refleja es la succión y estimulación del pezón, efectuada por las vías neurales desde la mama hasta los centros cerebrales (38).

Durante la gestación normal en el primer, segundo y tercer trimestre los niveles están alrededor de 75, 116 y 216 ng/mL. respectivamente. El nivel máximo lo alcanza en la semana 25 y empieza a disminuir hacia la 38ª



semana. El ritmo circadiano y su secreción por pulsos se mantiene durante todo el embarazo.

Observaciones en animales se ha detectado secreción láctea en los alvéolos mamarios durante el embarazo, cuando la PRL aún no ha alcanzado sus máximos niveles, asumiendo el efecto lactogénico a hormonas placentarias. En contraparte cuando una mujer en el tercer trimestre de embarazo tiene la PRL elevada mas no está secretando realmente leche, lo que sucede es que hay un bloqueo de la lactación por acción inhibitoria periférica de los esteroides sexuales, actuando sobre el epitelio mamario mas que inhibiendo la secreción de PRL, como pueden ser los andrógenos, que compiten por los receptores de PRL del epitelio alveolar. En el trabajo de parto, sus niveles descienden un poco para volver a elevarse inmediatamente después del nacimiento. La lactación se inicia de 1 a 5 días después del parto una vez que los esteroides sexuales han vuelto a sus valores pregestacionales (22,26).

La lactación continuará durante el puerperio a pesar de que la PRL vuelve a niveles basales considerados normales durante las 3 a 6 semanas del posparto, la succión provocará aumento en la secreción de PRL que puede ser de 6 a 20 veces el valor basal entre la segunda y sexta semana, aproximadamente como a la doceava semana no se percibe elevación durante la succión del pezón, aunque la lactación continua, la galactopoyesis se mantiene por el efecto succión-vaciamiento de la glándula mamaria (38).

La secreción continua de la PRL pos-parto depende por completo del estímulo de succión en los pezones, la inervación de éstos conduce el estímulo a la médula espinal y al tallo cerebral hasta llegar al hipotálamo, donde se

inhibe la liberación en la eminencia media del Factor Inhibidor de la Prolactina (PIF).

Debido a su bajo peso molecular, la PRL monomérica puede ser filtrada libremente a través de la membrana basal de los glomérulos renales y ser reabsorbida por las células del túbulo proximal, como ha sido descrito para la  $\alpha$ 1-microglobulina, una proteína con un peso molecular semejante a la PRL monomérica (39). La PRL se ha detectado en varios líquidos biológicos, incluyendo líquido cefalorraquídeo, líquido sinovial, leche y líquido de ascitis. Pocos estudios se han enfocado a determinar la concentración de PRL urinaria, con resultados que van desde la ausencia de PRL en orina (40), hasta concentraciones de 2.4–4.08 ng/24 horas (en muestras de orina concentrada 40 veces) en sujetos sanos o con prolactinomas, pero sin enfermedad renal (41). En niños con glomerulonefritis, la PRL urinaria se ha reportado de 0.0034–10.9 ng/ml (42) y en adultos con nefropatía lúpica de 0.23–0.90 ng/ml (43). Al momento actual no hay estudios reportados de la concentración de PRL urinaria en el embarazo normal ni en los trastornos hipertensivos del embarazo.

## ***JUSTIFICACIÓN***

La PE es un desorden específico del embarazo que representa un problema importante de salud para las madres y sus productos. Esta condición se presenta aproximadamente en el 5–8% de todos los embarazos. La importancia de la PE es relevante debido a que esta dentro de las causas más comunes de morbi–mortalidad materna y perinatal. Por consiguiente, la necesidad de mayor investigación en esta área es más que necesaria.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Al momento actual se han estudiado varios marcadores bioquímicos y biofísicos para el diagnóstico o predicción de la PE, sin embargo, ninguno de ellos ha mostrado tener un alto valor diagnóstico o predictivo en la PE, por lo tanto, con poca utilidad clínica.

Durante el embarazo ocurre un estado fisiológico de hiperprolactinemia debido a un aumento de secreción de PRL monómerica tanto por fuentes maternas (adenohipófisis anterior) como de la unidad feto-placentaria como ya se expuso previamente en la introducción. La activación endotelial que ocurre en la PE provoca daño endotelial sistémico, de hecho, tanto la hipertensión y la proteinuria son el reflejo del daño endotelial. A nivel renal, se producen alteraciones glomerulares (tumefacción endotelial del capilar glomerular y depósito subendotelial de material proteico) las cuales son conocidas como endoteliosis renal. El daño renal provoca incremento de la permeabilidad capilar glomerular, permitiendo el paso masivo de proteínas de alto peso molecular como la albúmina, así como de otras proteínas, como globulinas y transferrina entre otras. Normalmente, estas proteínas de alto peso molecular no son filtradas por el glomérulo, por lo tanto, su presencia en la orina significa un proceso glomerulopático. De igual forma, otras proteínas de bajo peso molecular que normalmente son filtradas pero reabsorbidas por los túbulos también están presentes en la orina en grandes cantidades. La albúmina es la proteína más abundante presente en la orina de las mujeres con PE, así como de los pacientes con otras glomerulopatías. La albúmina tiene un peso molecular de 66 kDa, es decir, casi tres veces el tamaño de la PRL monomérica (23 kDa).

Dada la presencia de hiperprolactinemia en el embarazo, como del bajo peso molecular de la PRL monomérica en relación al alto peso molecular de la albúmina, nos hizo pensar que la concentración de PRL urinaria puede ser un marcador de la PE, incluso debido a su bajo peso molecular su presencia puede preceder a la aparición de la proteinuria francamente anormal, dada por proteínas de mayor peso molecular como la albúmina (criterio para establecer el diagnóstico de PE), por lo tanto el grado de prolactinuria puede servir como un marcador diagnóstico temprano de PE.

Al momento actual, no existe ningún estudio publicado sobre la concentración de PRL urinaria en el embarazo y en la PE, por lo tanto, no se conoce si la prolactinuria puede ser un marcador útil en el diagnóstico o predicción de PE, motivo por el cual es importante determinar la utilidad clínica de la prolactinuria en la PE. El propósito de esta investigación fue determinar la prolactinuria en el embarazo normal y en la PE.

Con base a lo anterior el estudio se dirigió a contestar las siguientes preguntas:

1. ¿Cuál es el rendimiento diagnóstico de la PRL urinaria en la preeclampsia?
2. ¿Cuál es la utilidad de la PRL urinaria en la severidad de la preeclampsia?

## **HIPOTESIS**

1. El rendimiento diagnóstico de la PRL urinaria en PE tiene una sensibilidad y especificidad mayor a 80%.
2. La concentración de PRL urinaria es un marcador de severidad en PE, encontrándose concentraciones más elevadas en pacientes con PE severa.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

Determinar el rendimiento diagnóstico y la utilidad de la PRL urinaria en la preeclampsia y su severidad.

### **Objetivos Específicos**

1. Determinar la sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos de la concentración de PRL urinaria en la PE.
2. Determinar si la concentración de PRL urinaria en pacientes con PE además de ser un marcador diagnóstico, se asocia a la severidad, así como a las diversas complicaciones y al resultado perinatal.

## **PACIENTES, MATERIAL Y MÉTODOS**

### **1. Lugar donde se realizó el estudio.**

El estudio se llevó a cabo en la Unidad de Investigación Médica en Medicina Reproductiva y en el Servicio de Complicaciones Hipertensivas del Embarazo del Hospital de Ginecología y Obstetricia No. 4 "Luis Castelazo Ayala" del Instituto Mexicano del Seguro Social.

### **2. Diseño de la Investigación.**

#### **Tipo de estudio**

- a) Por el control de la maniobra experimental por el investigador: Observacional
- b) Por la captación de la información: Prolectivo.
- c) Por la medición del fenómeno en el tiempo: transversal
- d) Por la presencia de un grupo control: Comparativo.
- e) Por la dirección del análisis: Sin dirección.
- f) Por la ceguedad en la aplicación y evaluación de las maniobras: Ciego

Diseño:

Estudio transversal comparativo para evaluar una prueba diagnóstica

### **3. Diseño de la muestra**

**3.1 Población de estudio.** Mujeres embarazadas atendidas en el Hospital de Ginecología y Obstetricia No. 4 "Luis Castelazo Ayala" del Instituto Mexicano del Seguro Social.

**3.2 Muestra.** Mujeres embarazadas sin o con preeclampsia consecutivas (muestreo no aleatorio) que fueron atendidas en el periodo comprendido entre julio de 2006 a julio de 2007.

**Grupo de estudio.** A partir de la muestra se identificaron a dos grupos, uno sin preeclampsia y otro con preeclampsia.

### **3.4. Criterios de selección**

#### **a) Criterios de inclusión para la muestra.**

1. Mujeres embarazadas con o sin preeclampsia.
2. Derechohabiente al Instituto Mexicano del Seguro Social.
3. Haber aceptado colaborar en el estudio previo consentimiento informado.
4. Embarazo de 20 semanas de gestación o más

#### **b) Criterios de eliminación.**

1. No haber obtenido en forma completa la información clínica y los resultados de las pruebas de laboratorio y gabinete.
2. Contaminación con sangre de la muestra de orina.

### ***TAMAÑO DE LA MUESTRA***

Se estudiaron un total de 546 pacientes (207 mujeres embarazadas sanas y 339 mujeres con enfermedad hipertensiva del embarazo).

### ***DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES.***

#### **1. Pacientes con preeclampsia (Estándar de Oro)**



Definición operacional: La clasificación de enfermedad hipertensiva del embarazo se hizo de acuerdo a los criterios establecidos por el Colegio Americano de Ginecología y Obstetricia (ACOG) (2,44).

La PE fue definida como el inicio reciente de hipertensión en la segunda mitad del embarazo ( $\geq 20$  SDG) con una presión diastólica de  $\geq 90$  mmHg o una sistólica  $\geq 140$  mmHg en por lo menos dos ocasiones con 6 horas de diferencia y una proteinuria  $\geq 300$  mg/24 hrs o una relación proteína/creatinina urinaria  $\geq 0.3$  en una muestra de orina al azar (45). Se clasifica en preeclampsia leve y severa de acuerdo a sus manifestaciones clínicas y al daño sistémico manifiesto.

La preeclampsia leve se define como presión arterial sistólica mayor a 140 mmHg pero menor a 159 mmHg y presión arterial diastólica mayor a 90mmHg pero menor a 109 mmHg, y proteinuria  $\geq 300$ mg pero menor de 5 gr en 24 horas (2,44).

La PE severa fue definida como una presión arterial diastólica  $\geq 110$  mmHg o una sistólica  $\geq 160$  mmHg en por lo menos dos ocasiones con 6 horas de diferencia o por proteinuria severa  $\geq 5$  g/24 hrs o una relación proteína/creatinina urinaria  $\geq 3.87$  (45). Otros criterios de PE severa incluyeron síndrome de HELLP (hemólisis, elevación de enzimas hepáticas y trombocitopenia), RCIU (peso menor a la percentila 10 de acuerdo a las SDG), oligohidramnios, cefalea o alteraciones visuales persistentes, epigastralgia, edema agudo de pulmón (EAP), oliguria ( $< 500$  ml/24 hrs), creatinina sérica  $> 1$  mg/dL, enzimas hepáticas elevadas (mayor de dos veces lo normal), trombocitopenia  $< 100,000/\mu\text{l}$  y eclampsia (crisis convulsivas).

**2. Pacientes con Hipertensión Gestacional:** Es cuando se presenta después de las 20 semanas de gestación hipertensión arterial (presión arterial sistólica mayor a 140 mmHg y/o presión arterial diastólica mayor a 90mmHg) al menos en dos ocasiones tomadas en un periodo separado de 6 horas y hasta 7 días de separación, en ausencia de proteínuria (2).

**3. Pacientes con Hipertensión crónica:** Es cuando la hipertensión arterial está presente o diagnosticada antes del inicio del embarazo o se establece su diagnóstico antes de las 20 semanas de gestación o persiste después del nacimiento. Esta puede ser esencial o primaria (cuando es idiopática) o secundaria (cuando es consecuencia de alguna alteración anatómica o funcional conocida, por ejemplo a nivel renal, suprarrenales, hipertiroidismo, etc.)

**4. Pacientes con Preeclampsia sobreimpuesta a hipertensión crónica:** es cuando en pacientes con diagnóstico de hipertensión crónica en las cuales se exacerba la hipertensión, hay daño renal (incremento de la proteinuria previa al embarazo o aparición en novo de la misma), así como manifestaciones sistémicas de severidad y deterioro multisistémico.

Para fines de este estudio las pacientes con Hipertensión crónica e Hipertensión gestacional se incluirán en el grupo de pacientes sin preeclampsia.

Escala de medición: Nominal

Categorías de la variable: 1. Con preeclampsia

2. Sin preeclampsia

## 5. Niveles de Prolactina urinaria

Se tomó una muestra de orina que no estuviera contaminada de sangre, y se guardó a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento en tubos conteniendo albúmina sérica bóvina y azida de sodio a una concentración final de 0.1%. Con fines de normalizar los resultados de acuerdo a las concentraciones de creatinina, se determinó la concentración de creatinina urinaria y se tomó una muestra de sangre para determinar la PRL sérica. La concentración de PRL sérica y urinaria se determinaron por un ensayo inmunoenzimático ultrasensible desarrollado en nuestro laboratorio el cual ha sido previamente descrito (46). La cantidad mínima detectada por este ensayo es de 18 pg/ml (0.018 ng/ml) y los coeficientes de variación intra- e interensayo fueron de 4.5% y 6.8%, respectivamente. La PRL urinaria no normalizada fue expresada en pg/ml y su concentración normalizada a la concentración de creatinina urinaria fue expresada como una relación (ng de PRL/mg de creatinina). Debido a que la creatinina es excretada en la orina a una tasa relativamente constante, permite ser usada para normalizar la excreción urinaria de una particular proteína en lugar de su medición por algún periodo de tiempo dado. La concentración de creatinina sérica y urinaria fue determinada por la reacción cinética modificada de Jaffe. La fracción excretada de PRL (FE PRL) fue calculada usando la siguiente fórmula:  $([O_{\text{PRL}}] \times [S_{\text{Cr}}]) / ([O_{\text{Cr}}] \times [S_{\text{PRL}}]) \times 100 (\%)$ , en donde O se refiere a la concentración en orina y S a la concentración en suero. La fracción excretada de una sustancia representa la proporción de la sustancia excretada en la orina, comparada con la filtrada por el glomérulo y es

generalmente reportada relativa a la depuración de creatinina porque esta sustancia no se reabsorbe ni se secreta significativamente.

Escala de medición: cuantitativa continua.

***Análisis de la PRL urinaria y sérica por Western blot.*** El procedimiento utilizado fue similar al reportado previamente en suero (47,48). Brevemente, la PRL de las muestras de orina (600 µl) en 100 µl de PBS con 1.4% de azida de sodio fueron inmunoprecipitadas con antisuero de conejo anti-hPRL (anti-hPRL-IC-5, National Hormone and Pituitary Program of the NIDDK, Harbor–UCLA Medical Center) a una dilución final de 1:250 por 72 horas a 4 °C en agitación continua y posteriormente con antisuero de cabra anti-gammaglobulinas de conejo (DAKO, Carpintería, CA) por 24 horas más a 4 °C en agitación continua. El suero de conejo normal sin PRL humana fue usado como control negativo. Los precipitados fueron resuspendidos y solubilizados en buffer de Laemmli y calentadas a 95 °C por 5 minutos. Las muestras fueron separadas en un gel de poliacrilamida al 15% con SDS bajo condiciones reductoras. Después de la electroforesis, las proteínas fueron electrotransferidas a una membrana de PVDF. La membrana fue bloqueada con amortiguador de fosfatos salino, pH 7.4/5% de leche descremada por una hora a 37 °C y después incubada la membrana toda la noche a 4 °C con el mismo anti-hPRL usado en la inmunoprecipitación a una dilución final de 1:1,000, luego la membrana fue lavada con PBS/0.05% Tween 20 e incubada con una dilución final 1:2,000 de antisuero de cabra anti-gammaglobulinas de conejo conjugado a peroxidasa (DAKO). Los inmunocomplejos fueron

detectados con el ECL Western Blotting Substrate (Pierce) en una película radiográfica ultrasensible (Kodak).

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los datos fueron expresados como media  $\pm$  DE o mediana (amplitud). La significancia de la diferencia entre dos variables continuas fue determinada con la prueba *t* de student no pareada (o la prueba de U de Mann-Whitney para variables con distribución no normal). La significancia de la diferencia entre variables categóricas fue determinada con la prueba de  $\chi^2$  con corrección de continuidad de Yates (o con la prueba exacta de Fisher para muestras pequeñas). Las diferencias entre  $\geq 3$  grupos para variables continuas fueron comparadas con el análisis de varianza de una vía (ANOVA) seguido por el procedimiento de comparación múltiple (método de Scheffe para muestras no pareadas) o por la prueba de Kruskal-Wallis para variables sin distribución normal (usando la prueba de U de Mann-Whitney para comparaciones múltiples). La relación lineal entre variables continuas fue evaluada con el coeficiente de correlación de Pearson. Una  $p < 0.05$  a dos colas fue considerado estadísticamente significativo. Para determinar la independencia de la concentración de PRL urinaria con otras variables se hizo un análisis de regresión múltiple logístico. Se construyeron curvas características operantes del receptor (COR) para estimar el mejor punto de corte de la concentración de PRL urinaria en el diagnóstico de PE para determinar la sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivos y negativos

## **RESULTADOS**

**Descripción general.** Se estudiaron un total de 546 pacientes (207 mujeres embarazadas sanas y 339 mujeres con enfermedad hipertensiva del embarazo). De las 339 mujeres con enfermedad hipertensiva del embarazo, 124 tenían HG, 48 PE leve y 167 PE severa. En comparación a las mujeres embarazadas sanas, las mujeres con enfermedad hipertensiva del embarazo tuvieron significativamente mayor edad, mayor frecuencia de antecedentes de PE en embarazos anteriores, mayor índice de masa corporal, mayor presión arterial sistólica y diastólica y un gran proporción de sus embarazos fueron de pretérmino. De forma similar, entre las mujeres con enfermedad hipertensiva del embarazo, las mujeres con PE severa tuvieron mayor presión arterial sistólica y diastólica ( $p < 0.001$ ), menor edad gestacional al parto ( $p < 0.001$ ), mayor porcentaje de partos pretérmino, de RCIU, de oligohidramnios y de pérdidas maternas (9 muertes in útero y 9 muertes poco después del nacimiento [ $p < 0.001$ ]). Otros eventos graves que ocurrieron solo en mujeres con PE severa, incluyeron DPPNI (5.4%), ruptura hepática (1.2%), insuficiencia renal aguda (IRA, 11.4%), EAP (4.2%) y una muerte materna (eclampsia con hemorragia cerebral, 0.6%). Todo lo anterior y otros detalles más están resumidos en la Tabla 1. Los hallazgos de laboratorio en cada grupo de estudio se muestran en la Tabla 2.

**Tabla 1.** Comparación de las características clínicas y demográficas entre las mujeres embarazadas sanas y con enfermedad hipertensiva del embarazo.

Variable	Embarazadas sanas (n=207)	Hipertensión Gestacional (n=124)	Preeclampsia Leve (n=48)	Preeclampsia Severa (n=167)	Valor de p
Edad en años (media ± DE)	26.4 ± 5.5 <sup>a</sup>	29.5 ± 6.2	27.5 ± 6.8	28.7 ± 6.0	< 0.001 *
Gestas, mediana (amplitud)	2 (1 – 5)	2 (1 – 5)	2 (1 – 5)	2 (1 – 7)	0.895 **
Nulípara (%)	85 (41.7)	52 (41.9%)	23 (47.9%)	74 (44.3%)	0.45 ***
Abortos, mediana (amplitud)	0 (0 – 3)	0 (0 – 4)	0 (0 – 3)	0 (0 – 3)	0.126 **
Antecedente de PE (%)	5 (2.4%) <sup>b,c</sup>	18 (14.5%)	11 (22.9%)	23 (13.8%)	< 0.001 ***
Peso materno, Kg (media ± DE)	70.3 ± 12.1 <sup>d</sup>	81.3 ± 15.0 <sup>e</sup>	76.6 ± 12.3	72.0 ± 12.4	< 0.001 *
IMC (media ± DE)	28.79 ± 4.41 <sup>d</sup>	33.00 ± 6.23 <sup>e</sup>	31.34 ± 5.23	29.97 ± 4.60	< 0.001 *
SDG al reclutamiento (media ± DE)	31.6 ± 3.2 <sup>d</sup>	34.1 ± 4.0 <sup>f</sup>	36.0 ± 3.8 <sup>g</sup>	32.2 ± 4.4	< 0.001 *
SDG al parto (media ± DE)	38.8 ± 1.1 <sup>h</sup>	37.2 ± 2.0 <sup>e</sup>	36.7 ± 2.4 <sup>g</sup>	32.5 ± 4.3	< 0.001 *
Peso al nacer, g (media ± DE)	3,140 ± 337 <sup>h</sup>	2,783 ± 443 <sup>e</sup>	2,704 ± 522 <sup>g</sup>	1,629 ± 769	< 0.001 *
Parto pretérmino < 37 SDG (%)	2 (1.0%) <sup>b,c</sup>	31 (25%) <sup>i</sup>	18 (37.5%) <sup>j</sup>	138 (82.6%)	< 0.001 ***
Parto pretérmino < 34 SDG (%)	0 (0.0%) <sup>k,l</sup>	8 (6.5%) <sup>i</sup>	5 (10.4%) <sup>j</sup>	96 (57.5%)	< 0.001 ***
RCIU (%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	102 (61.1%) <sup>m</sup>	< 0.001 ***
Oligohidramnios (%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	26 (15.6%) <sup>m</sup>	< 0.001 ***
DPPNI (%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	9 (5.4%) <sup>n</sup>	< 0.001 ***
Ruptura hepática (%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (1.2%)	0.059 ***
Insuficiencia renal aguda (%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	19 (11.4%) <sup>o,p</sup>	< 0.001 ***
Edema agudo de pulmón (%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	7 (4.2%) <sup>n</sup>	< 0.001 ***
Muerte materna (%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (0.6%)	0.183 ***
Pérdidas maternas (%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	18 (10.8%) <sup>o,p</sup> †	< 0.001 ***
TA sistólica mmHg (media ± DE)	106.6 ± 9.5 <sup>a</sup>	143.9 ± 12.1	143.1 ± 8.5	164.1 ± 20.5 <sup>q</sup>	< 0.001 *
TA diastólica mmHg (media ± DE)	69.4 ± 6.4 <sup>a</sup>	97.7 ± 8.2	96.8 ± 4.9	109.3 ± 12.5 <sup>q</sup>	< 0.001 *

IMC = Índice de masa corporal. SDG = semanas de gestación. DPPNI = Desprendimiento prematuro de placenta normoinserta.

\*ANOVA, \*\* Kruskal-Wallis, \*\*\* Chi cuadrada de tendencia lineal.

<sup>a</sup> p<0.002 vs. Hipertensión gestacional y PE severa. Prueba de Scheffe

<sup>b</sup> p<0.001 vs. Hipertensión gestacional y PE severa. Chi cuadrada con corrección de Yates

<sup>c</sup> p<0.001 vs. PE leve. Prueba exacta de Fisher (a dos colas)

<sup>d</sup> p<0.027 vs. Hipertensión gestacional y PE leve. Prueba de Scheffe

<sup>e</sup> p<0.001 vs. PE severa. Prueba de Scheffe

<sup>f</sup> p<0.043 vs. PE leve y severa. Prueba de Scheffe

<sup>g</sup> p<0.001 vs. PE severa. Prueba de Scheffe

<sup>h</sup> p<0.001 vs. Hipertensión gestacional, PE leve y severa. Prueba de Scheffe

<sup>i</sup> p<0.001 vs. PE severa. Chi cuadrada con corrección de Yates

<sup>j</sup> p<0.001 vs. PE severa. Chi cuadrada con corrección de Yates

<sup>k</sup> p<0.001 vs. Hipertensión gestacional y PE leve. Prueba exacta de Fisher (a dos colas)

<sup>l</sup> p<0.001 vs. PE severa. Chi cuadrada con corrección de Yates

<sup>m</sup> p<0.007 vs. Sanas, Hipertensión gestacional y PE leve. Chi cuadrada con corrección de Yates

<sup>n</sup> p<0.021 vs. Sanas e Hipertensión gestacional. Prueba exacta de Fisher (a dos colas)

<sup>o</sup> p<0.001 vs. Sanas e Hipertensión gestacional. Chi cuadrada con corrección de Yates

<sup>p</sup> p<0.015 vs. PE leve. Prueba exacta de Fisher (a dos colas)

<sup>q</sup> p<0.001 vs. Hipertensión gestacional y PE leve. Prueba de Scheffe

† 9 muertes in útero y 9 muertes en el postparto inmediato



**Tabla 2.** Comparación de los estudios de laboratorio entre las mujeres embarazadas sanas y con enfermedad hipertensiva del embarazo.

Variable	Embarazadas sanas (n=207)	Hipertensión gestacional (n=124)	Preeclampsia leve (n=48)	Preeclampsia severa (n=167)	Valor de p
Relación proteína/creatinina urinaria (mg/mg), mediana (amplitud)	0.15 (0.05 – 0.28) <sup>a</sup>	0.18 (0 – 0.29) <sup>b</sup>	0.79 (0.30 – 4.7) <sup>c</sup>	1.48 (0.31 – 22.78)	< 0.001 *
Plaquetas, µl (media ± DE)	194,223 ± 69,846	210,427 ± 57,382	186,234 ± 42,398	149,342 ± 70,458 <sup>d</sup>	< 0.001 **
AST U/L, mediana (amplitud)	ND	30 (5 – 79)	32.5 (9 – 85)	38 (5 – 1,445) <sup>e</sup>	< 0.001 *
ALT U/L, mediana (amplitud)	ND	18 (3 – 71)	17 (7 – 88)	23 85 – 1,430) <sup>e</sup>	< 0.001 *
DHL U/L, mediana (amplitud)	ND	221 (81 – 479)	249 (107 – 577)	274 (80 – 5,140) <sup>f</sup>	< 0.001 *
Acido úrico, mg/dL (media ± DE)	5.1 ± 1.4 <sup>g</sup>	5.5 ± 1.6 <sup>h</sup>	6.1 ± 1.6	6.5 ± 1.9	< 0.001 **

ND = No determinado

\* Kruskal-Wallis, \*\* ANOVA de una vía

<sup>a</sup> p<0.007 vs. Hipertensión gestacional, PE leve y severa. Prueba de U de Mann-Whitney

<sup>b</sup> p<0.001 vs. PE leve y severa. Prueba de U de Mann-Whitney

<sup>c</sup> p<0.001 vs. PE severa. Prueba de U de Mann-Whitney

<sup>d</sup> p<0.037 vs. Sanas, Hipertensión gestacional y PE leve. Prueba de Scheffe

<sup>e</sup> p<0.003 vs. Hipertensión gestacional y PE leve. Prueba de U de Mann-Whitney

<sup>f</sup> p<0.001 vs. Hipertensión gestacional. Prueba de U de Mann-Whitney

<sup>g</sup> p<0.003 vs. PE leve y severa. Prueba de Scheffe

<sup>h</sup> p<0.001 vs. PE severa. Prueba de Scheffe

La determinación de la relación proteína/creatinina urinaria confirmó la adecuada clasificación de las pacientes, siendo la relación proteína/creatinina urinaria mayor en las pacientes con PE leve que en las mujeres sanas y con HG ( $p \leq 0.007$ ) y aún mayor para las pacientes con PE severa que en los tres grupos antes mencionados ( $p < 0.007$ ). Aunque la relación proteína/creatinina urinaria fue significativamente mayor en las pacientes con HG comparada con las sanas, ninguna tuvo un valor  $\geq 0.3$ , lo que indica que en ninguna de ellas tenía una proteinuria mayor a 300 mg/día. El conteo plaquetario fue menor en las pacientes con PE severa que en las mujeres sanas, con HG y PE leve ( $p \leq 0.003$ ), en contraste, los niveles de AST, ALT y DHL fueron mayores ( $p \leq 0.003$ ). La concentración de ácido úrico fue más alta en las mujeres con PE leve y severa que en las mujeres sanas y con HG ( $p \leq 0.003$ ).

***Mediciones séricas y urinarios de PRL.*** La concentración sérica y urinaria de PRL para los diferentes grupos de estudio son mostrados en la Tabla 3. Las mujeres con PE leve y severa tuvieron concentraciones séricas de PRL mas elevados que las mujeres sanas ( $p \leq 0.006$ ) y la concentración de PRL sérica fue mayor en las mujeres con PE severa que en las mujeres con HG ( $p < 0.001$ ). La concentración de PRL urinaria fue significativamente incrementada en las mujeres con PE leve y severa comparada a la de mujeres sanas y con HG ( $p < 0.001$ ), y la concentración de PRL urinaria fue aún mayor en la PE severa que en la PE leve ( $p < 0.001$ ). Resultados similares a la concentración de PRL urinaria fueron obtenidos al comparar la concentración de PRL urinaria normalizada y la FE PRL.

Aunque los tres parámetros de la PRL urinaria evaluados fueron mas altos en las mujeres con PE, solamente la concentración de PRL urinaria normalizada a la concentración de creatinina urinaria mostró tener la mayor discriminación para identificar claramente a las mujeres con PE de las mujeres sanas y con HG, esto es, el valor máximo de la PRL urinaria normalizada tanto en mujeres sanas como con HG fue mucho menor al valor mínimo encontrado en las mujeres con PE ( $\leq 0.94$  vs.  $\geq 1.97$  ng/mg) (Tabla 3). Dado que las diferencias encontradas de la concentración de PRL urinaria normalizada en las pacientes con PE pudiera haber sido influenciada por el grado de proteinuria, la concentración de PRL sérica y las SDG a la toma de la muestra hicimos una correlación entre estas variables y la concentración de PRL urinaria normalizada, este análisis mostró que la concentración de PRL urinaria normalizada tuvo una correlación moderada con la relación proteína/creatinina urinaria ( $r=0.452$ ,  $p<0.001$ ) y una baja correlación con los niveles de PRL sérica ( $r=0.228$ ,  $p<0.001$ ), pero no con la edad gestacional a la toma de la muestra ( $r=-0.024$ ,  $p=0.572$ ). Finalmente, para determinar sí la concentración de PRL urinaria normalizada es un marcador de PE en forma independiente a estas variables que pudieran explicar o estar asociadas a las diferencias encontradas en la concentración de PRL urinaria normalizada en las mujeres con PE, realizamos un análisis de regresión múltiple logístico (Tabla 4).

**Tabla 3.** Comparación de la concentración sérica de PRL, PRL urinaria no normalizada y normalizada a creatinina urinaria, la fracción excretada de PRL y de las isoformas de la PRL de 14 y/ 16 kDa en orina entre mujeres embarazadas sanas y con enfermedad hipertensiva del embarazo.

Variable	Embarazadas sanas (n=207)	Hipertensión gestacional (n=124)	Preeclampsia leve (n=48)	Preeclampsia severa (n=167)	Valor de p
PRL sérica, ng/ml, mediana (amplitud)	139.0 (44.2 – 472.9) <sup>a</sup>	148.6 (47 – 449.3) <sup>b</sup>	162.6 (64.8 – 697.1)	190.5 (15.5 – 522.9)	< 0.001 *
PRL urinaria, pg/ml, mediana (amplitud)	195.3 (0 – 2,419.5)	229.1 (0 – 1,416.2)	1,342.8 (329.0 – 7,222.0) <sup>c</sup>	9,830.0 (766.2 – 599, 880.0) <sup>d</sup>	< 0.001 *
PRL urinaria, ng/mg de creatinina, mediana (amplitud)	0.20 (0.0 – 0.94)	0.19 (0.0 – 0.87)	2.77 (2.1 – 31.4) <sup>c</sup>	21.2 (1.97 – 596.0) <sup>d</sup>	< 0.001 *
FE PRL, mediana (amplitud)	0.001 (0.000 – 0.01)	0.001 (0.000 – 0.007)	0.011 (0.003 – 0.13) <sup>c</sup>	0.111 (0.005 – 4.646) <sup>d</sup>	< 0.001 *
Isoforma de la PRL de 14 y/o 16 kDa en orina (%)	ND	0/124 (0.0%)	0/48 (0%)	12/167 (7.2%) <sup>e</sup>	< 0.001 **

FE PRL = Fracción excretada de PRL. ND = No determinada.

\*Kuskal Wallis, \*\* Chi cuadrada de tendencia lineal.

<sup>a</sup> p<0.006 vs. PE leve y severa. Prueba de U de Mann-Whitney

<sup>b</sup> p<0.001 vs. PE severa. Prueba de U de Mann-Whitney

<sup>c</sup> p<0.001 vs. Sanas e Hipertensión gestacional. Prueba de U de Mann-Whitney

<sup>d</sup> p<0.001 vs. Sanas, Hipertensión gestacional y PE leve. Prueba de U de Mann-Whitney

<sup>e</sup> p<0.005 vs. Hipertensión gestacional. Prueba de chi cuadrada con corrección de Yates.

**Tabla 4.** Variables asociadas a preeclampsia (Modelos de regresión logístico).

Variable	PREECLAMPSIA LEVE O SEVERA			PREECLAMPSIA SEVERA		
	Coefficiente de regresión	EE	Valor de p	Coefficiente de regresión	EE	Valor de p
Constante	14.6465			-0.1003		
SDG a la toma	-0.8712	0.5097	0.087	-0.1630	0.0659	0.013
PRL sérica (ng/ml)	-0.0058	0.0169	0.731	0.0053	0.0024	0.032
Relación proteína/Cr urinaria	9.4874	9.8946	0.338	0.6403	0.2404	0.008
PRL urinaria (ng/mg)	8.0751	3.3573	0.016	0.6916	0.0876	<0.001

EE = Error estándar.

% de casos correctamente clasificados: PE leve o severa 99.82% y para PE severa 96.70%

Este análisis mostró que la concentración de PRL urinaria normalizada mantuvo significancia estadística una vez que fue ajustada y controlando a las demás variables incluidas en los modelos multivariados, concluyendo que la concentración de PRL urinaria normalizada es una variable asociada tanto a la PE leve o severa y que es independiente a la concentración de PRL sérica, grado de proteinuria o SDG. En adición, en el modelo para PE severa, las otras tres variables incluidas se mantuvieron significativas, esto puede ser explicado en el caso de la relación proteína/creatinina urinaria debido a que la mayor intensidad de la proteinuria es un criterio para clasificar la severidad de la PE, en el caso de las SDG a la toma de la muestra puede ser explicado porque la media de SDG a la

toma de la muestra fue menor que en los otros grupos de pacientes estudiadas. Finalmente, la concentración más elevada de PRL sérica en las mujeres con PE severa independientemente a las SDG sugiere una asociación entre la PRL sérica y la PE severa, debido a que lo esperado por la menor edad gestacional de estas pacientes estudiadas era haber encontrado concentraciones de PRL sérica menores al resto de los grupos.

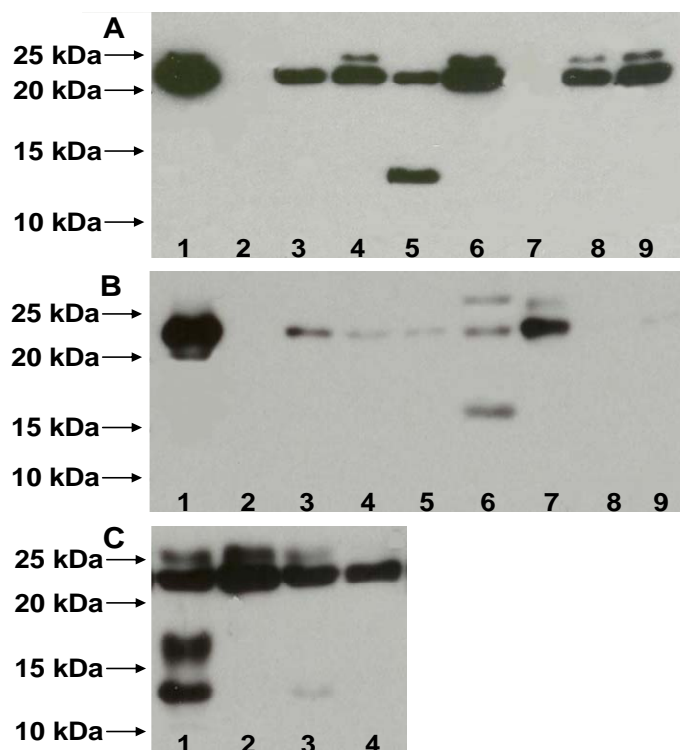
***Concentración de PRL urinaria normalizada como prueba diagnóstica de preeclampsia.*** Para determinar la utilidad diagnóstica de la prolactinuria en la PE, se generaron curvas ROC para la concentración de PRL urinaria normalizada para determinar su utilidad diagnóstica para la PE leve o severa, así como para PE severa. Este análisis mostró una área bajo la curva de 0.996 (IC 95% 0.987–0.999,  $p < 0.001$ ) para identificar a las pacientes con PE leve o severa y de 0.994 (IC 95% 0.983–0.999,  $p < 0.001$ ) para identificar a las pacientes con PE severa. El punto de corte ideal para el diagnóstico de PE leve o severa fue de  $>0.94$  y para el diagnóstico de PE severa fue de  $>3.49$ . La sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivos y negativos se muestran en la Tabla 5. La concentración de PRL urinaria normalizada tuvo una sensibilidad de 99.5% y una especificidad de 100% para diagnosticar PE leve o severa, y para el diagnóstico de PE severa la sensibilidad fue de 97% y especificidad de 97.9%.

**Tabla 5.** Utilidad diagnóstica de la concentración de PRL urinaria normalizada en la PE leve o severa y en la PE severa

	PE leve o severa	PE severa
Punto de corte (ng/mg) *	> 0.994	> 3.94
Sensibilidad, % (IC 95%)	100 (97.4–99.9)	97.0 (93.2 – 99.0)
Especificidad, % (IC 95%)	100 (98.9 – 100)	97.9 (95.9 – 99.09)
Valor predictivo positivo	100	95.3
Valor predictivo negativo	99.7	95.3
Tasa de verosimilitud positiva	328.5	45.8
Tasa de verosimilitud negativa	0.001	0.03

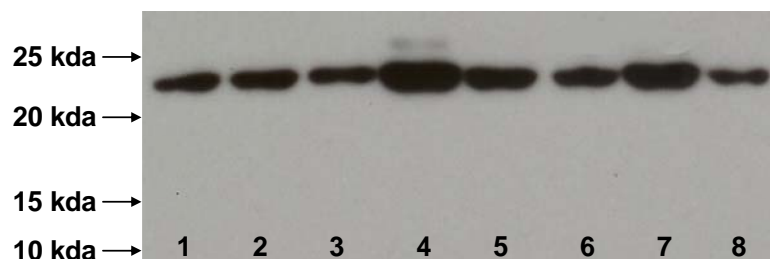
\* Una prueba positiva fue definida como tener un valor mayor al punto de corte

**Análisis de la PRL urinaria por Western blot.** En todas las muestras de orina de las pacientes con HG y PE leve no se observaron bandas en el Western blot, en contraste, en 80 pacientes (47.9%) con PE severa se detectaron diferentes patrones de bandas. En todos los casos se observó una banda constante representando una proteína de 23 kDa, en adición otras bandas inconstantes fueron de 25, 16 y 14 kDa. La banda de 16 y/o 14 kDa se observaron en 12 muestras (Tabla 3). La PRL humana hipofisiaria (NIDDK, la cual no fue inmunoprecipitada) sólo mostró la banda de 23 y 25 kDa. Las muestras controles conteniendo suero de conejo normal no mostraron bandas (Figura 1). En contraste, el suero de todas las pacientes con HG, PE leve y severa se observó la banda constante de 23 kDa y en el 1–4% otra banda de 25 kDa (Figura 2).



**Figura 1.** Análisis por Western blot de la PRL inmunoreactiva en orina. Las muestras de orina fueron inmunoprecipitadas con un anticuerpo específico a la PRL humana y sujetas a electroforesis en gel de poliacrilamida–dodecil sulfato de sodio bajo condiciones reductoras. Las moléculas de PRL fueron identificadas por análisis por Western blot. Los diferentes patrones electroforéticos encontrados en orina son mostrados. **A y B:** Carril 1. PRL hipofisiaria humana (NIDDK-hPRL) 200 ng; Carril 2. Suero normal de conejo (control negativo); Carril 3 al 9. Orinas de mujeres con preeclampsia. **C:** Carril 1 al 4. Orinas de mujeres con preeclampsia. La posición de los marcadores de peso molecular se muestra a la izquierda. A7 y B8. Negativos; A3, B3, B4, B5, B9 y C4. Presencia exclusiva de PRL no glicosilada (23 kDa); A4, A6, A8, A9, B7 y C2. Presencia de PRL no glicosilada y de PRL glicosilada (25 kDa); A5. Presencia de PRL no glicosilada y PRL de 14 kDa; C3. Presencia de PRL de 23, 25 y 14 kDa; B6. Presencia de PRL de 23, 25 y 16 kDa; y C1. Presencia de PRL de 23, 25, 16 y 14 kDa. Para mas detalles ver sección de resultados.





**Figura 2.** Análisis por Western blot de la PRL inmunoreactiva en suero. Las muestras de suero fueron inmunoprecipitadas con un anticuerpo específico a la PRL humana y sujetas a electroforesis en gel de poliacrilamida–dodecil sulfato de sodio bajo condiciones reductoras. Las moléculas de PRL fueron identificadas por análisis por Western blot. Los diferentes patrones electroforéticos encontrados en suero de mujeres embarazadas sanas o con enfermedad hipertensiva del embarazo son mostrados. Carril 1 al 3 y del 5 al 9. Presencia exclusiva de PRL no glicosilada (23 kDa); Carril 4. Presencia predominante de PRL no glicosilada y en menor cantidad de PRL glicosilada (25 kDa). La posición de los marcadores de peso molecular se muestra a la izquierda

***Relación entre la concentración de PRL urinaria e isoformas de la PRL en la severidad de la preeclampsia.***

Dada la observación que la excreción urinaria de PRL esta incrementada en la PE leve y aun más en la PE severa procedimos a investigar si la concentración de PRL urinaria podría diferenciar la severidad de la PE, para este propósito, dividimos a las pacientes con PE severa en aquellas que cursaron sin o con síndrome de HELLP y/o eclampsia. De las 167 mujeres con PE severa, 56 (33.5%) cursaron con síndrome de HELLP y/o eclampsia. Las comparaciones se muestran en la Tabla 6.

La concentración de PRL sérica no mostró diferencia entre los grupos de pacientes. La concentración de PRL urinaria sin normalizar y normalizada y la FE de PRL fueron mayores en las mujeres con PE severa sin síndrome de HELLP y/o eclampsia que las pacientes con PE leve ( $p < 0.001$ ) y aún mayores en las pacientes con PE severa con síndrome de HELLP y/o eclampsia que las mujeres con PE leve y PE severa pero sin síndrome de HELLP y/o eclampsia ( $p < 0.001$ ). La presencia de la isoforma de la PRL de 14 y/o 16 kDa en orina fue mas frecuente en las mujeres con PE severa con síndrome de HELLP y/eclampsia que en su ausencia (17.9% vs. 1.8%,  $p \leq 0.001$ ).

Por los resultados anteriores, a continuación comparamos la PRL urinaria en las pacientes con PE severa que cursaron con síndrome de HELLP o eclampsia en forma aislada y aquellas que presentaron ambas condiciones. De las 56 mujeres que presentaron estas manifestaciones graves, 42 pacientes solo

tuvieron síndrome de HELLP, 8 eclampsia y 6 ambas condiciones. Los niveles de PRL sérica, la concentración de PRL urinaria no normalizada, la FE de PRL y la presencia de la isoforma de la PRL urinaria de 14 y/o 16 kDa no fueron diferentes, en cambio, la concentración de PRL urinaria normalizada fue mucho mayor en las pacientes que presentaron síndrome de HELLP y eclampsia que en las pacientes que cursaron solamente con síndrome de HELLP ( $p=0.021$ ) (Tabla 7).

**Tabla 6.** Comparación de la concentración sérica de PRL, PRL urinaria no normalizada y normalizada a creatinina urinaria, la fracción excretada de PRL y de las isoformas de la PRL de 14 y/o 16 kDa en orina entre mujeres con preeclampsia leve y severa de acuerdo a la presencia o no de síndrome de HELLP y/o eclampsia.

Variable	Preeclampsia leve (n=48)	PE severa sin Síndrome de HELLP o Eclampsia (n=111)	Preeclampsia severa con Síndrome de HELLP y/o Eclampsia (n=56)	Valor de p
PRL sérica, ng/ml, mediana (amplitud)	162.6 (64.8 – 697.1)	200.4 (21.6 – 522.9)	161.9 (15.5 – 511.6)	0.053 *
PRL urinaria, pg/ml, mediana (amplitud)	1,342.8 (329.0 – 7,222.0)	7,456.9 (766.2 – 325,390.0) <sup>a</sup>	24,396.7 (3,150.4 – 599,880.0) <sup>b</sup>	< 0.001 *
PRL urinaria, ng/mg de creatinina, mediana (amplitud)	2.77 (2.1 – 31.4)	12.5 (1.97 – 319.0) <sup>a</sup>	72.1 (8.42 – 596.0) <sup>b</sup>	< 0.001 *
Fracción excretada de PRL	0.011 (0.003 – 0.13)	0.06 (0.005 – 3.029) <sup>a</sup>	0.403 (0.034 – 4.646) <sup>b</sup>	< 0.001 *
Isoformas de la PRL de 14 y/o 16 kDa en orina (%)	0/48 (0.0%)	2/111 (1.8%)	10/56 (17.9%) <sup>c</sup>	< 0.001 **

\*Kuskal Wallis, \*\* Chi cuadrada de tendencia lineal.

<sup>a</sup> p<0.001 vs. PE leve. Prueba de U de Mann-Whitney

<sup>b</sup> p<0.001 vs. PE leve y PE severa sin síndrome de HELLP y/o Eclampsia. Prueba de U de Mann-Whitney

<sup>c</sup> p≤0.001 vs. PE leve y PE severa sin síndrome de HELLP y/o Eclampsia. Prueba exacta de Fisher (a dos colas)

**Tabla 7.** Comparación de la concentración sérica de PRL, PRL urinaria no normalizada y normalizada a creatinina urinaria, la fracción excretada de PRL y de las isoformas de la PRL de 14 y/o 16 kDa en orina entre mujeres con preeclampsia severa de acuerdo a la presencia o no de síndrome de HELLP o eclampsia.

Variable	Síndrome de HELLP (n=42)	Eclampsia (n=8)	Síndrome de HELLP mas Eclampsia (n=6)	Valor de p
PRL sérica, ng/ml, mediana (amplitud)	176.4 ± 82.1	180.1 ± 92.2	238.2 ± 185.8	0.358 *
PRL urinaria, pg/ml, mediana (amplitud)	23,653.2 (3,150.4 – 599,880.0)	20,251.8 (8,567.9 – 63,873.9)	58,814.2 (7,967.6 – 301,050.0)	0.297 **
PRL urinaria, ng/mg de creatinina, mediana (amplitud)	57.1 (8.42 – 596.0)	85.1 (21.42 – 237.2)	259.5 (51.1 – 395.0) <sup>a</sup>	0.038 **
FE PRL	0.330 (0.034 – 4.646)	0.390 (0.136 – 902.0)	1.175 (0.364 – 3.845)	0.069 **
Isoformas de la PRL de 14 y/o 16 kDa en orina (%)	7/42 (16.7%)	2/8 (25.0%)	1/6 (16.7%)	0.824 ***

\* ANOVA de una vía, \*\* Kruskal Wallis, \*\*\* Chi cuadrada de tendencia lineal.

<sup>a</sup> p=0.021 vs. Síndrome de HELLP. Prueba de U de Mann-Whitney

***Relación entre la concentración de PRL urinaria normalizada e isoformas de la PRL en el curso clínico materno y parámetros de laboratorio en la preeclampsia severa.***

La concentración de PRL urinaria con parámetros de laboratorio y el curso clínico en las mujeres con PE severa se muestran en la Tabla 8. La concentración de PRL urinaria normalizada fue mayor en las pacientes con trombocitopenia ( $<100,000/\text{ul}$ ), como en aquellas con transaminasemia (definida como la elevación de por lo menos dos veces el valor normal de AST, ALT y DHL) ( $p<0.001$ ). De las 167 pacientes con PE severa, 9 presentaron DPPNI, 19 desarrollaron insuficiencia renal aguda y 7 edema agudo de pulmón, en todos estos casos la concentración de PRL urinaria fue mayor que en las pacientes que no presentaron estas complicaciones ( $p\leq 0.028$ ). En todos los casos, la toma de la muestra de orina se hizo antes de la sospecha o el diagnóstico de estas complicaciones.

La presencia de la isoforma de la PRL de 14 y/o 16 kDa fue mas frecuente en pacientes con trombocitopenia severa ( $<50,000/\text{ul}$ ), comparada con aquellas con un conteo plaquetario normal. En las pacientes con transaminasemia, la banda de 14 y/o 16 kDa fue mas frecuente ( $p<0.001$ ). Aunque la banda de 16 y/o 14 kDa en orina fue mas frecuente en la pacientes con DPPNI, IRA y EAP no se encontraron diferencias significativas ( $p\geq 0.141$ ) (Tabla 9).

**Tabla 8.** Relación de la concentración de PRL urinaria normalizada con los parámetros de laboratorio y curso clínico en mujeres con preeclampsia severa.

Variable					Valor de p
Plaquetas $\mu\text{l} \times 10^3$	<b><math>\geq 150</math></b> (n = 95)	<b>100 – 149</b> (n = 26)	<b>50 – 99</b> (n = 33)	<b>&lt; 50</b> (n = 13)	< 0.001 *
	12.52 (1.97 – 319.01) <sup>a</sup>	18.84 (4.38 – 596.02) <sup>b,c</sup>	53.10 (8.42 – 394.98)	120.45 (11.28 – 528.99)	
Transaminasemia	<b>SI</b> (n = 52)	<b>NO</b> (n = 115)			< 0.001 **
DPPNI	69.72 (8.42 – 596.02) (n = 9)	12.96 (1.97 – 319.01) (n = 158)			0.003 **
Insuficiencia renal aguda	98.70 (40.94 – 528.99) (n = 19)	17.55 (1.97 – 596.02) (n = 148)			< 0.001 **
Edema agudo de pulmón	127.16 (6.00 – 596.02) (n = 7)	17.23 (1.97 – 528.99) (n = 160)			0.028 **
	225.90 (8.60 – 500.00)	21.05 (1.97 – 596.02)			

DPPNI = Desprendimiento prematuro de placenta normoinserta

\* Kruskal Wallis, \*\* Prueba de U de Mann-Whitney

<sup>a</sup>  $p \leq 0.001$  vs. 50-99 y < 50. Prueba U de U de Mann-Whitney

<sup>b</sup>  $p = 0.038$  vs. 50-99 y < 50. Prueba U de U de Mann-Whitney

<sup>c</sup>  $p = 0.005$  vs. <50. Prueba U de U de Mann-Whitney

**Tabla 9.** Relación de las isoformas de PRL de 14 y/o 16 kDa con los parámetros de laboratorio y curso clínico en mujeres con preeclampsia severa.

Variable					Valor de p
Plaquetas $\mu\text{l} \times 10^3$	<b><math>\geq 150</math></b> (n = 95)	<b>100 – 149</b> (n = 26)	<b>50 – 99</b> (n = 33)	<b>&lt; 50</b> (n = 13)	
	3/95 (3.2%)	2/26 (7.7%)	4/33 (12.1%)	3/13 (23.1%) <sup>a</sup>	0.004 *
	<b>SI</b>	<b>NO</b>			
Transaminasemia	(n = 52)	(n = 115)			
	10/52 (19.2%)	2/115 (1.7%)			< 0.001 **
DPPNI	(n = 9)	(n = 158)			
	1/9 (11.1%)	11/158 (7.0%)			0.498 **
Insuficiencia renal aguda	(n = 19)	(n = 148)			
	3/19 (15.8%)	9/148 (6.1%)			0.141 **
Edema agudo de pulmón	(n = 7)	(n = 160)			
	1/7 (14.3%)	11/160 (6.9%)			0.413 **

DPPNI = Desprendimiento prematuro de placenta normoinserta

\* Chi cuadrada de tendencia lineal, \*\* Prueba exacta de Fisher (a dos colas)

<sup>a</sup> p = 0.022 vs.  $\geq 150$ . Prueba exacta de Fisher (a dos colas)



## ***DISCUSIÓN***

Nuestro estudio demostró que la excreción de PRL urinaria esta significativamente incrementada en las mujeres con PE. Previamente ha sido reportado que la PRL en orina es indetectable en sujetos sanos sin hiperprolactinemia, en cambio, en sujetos con estados hiperprolactinémicos y función renal normal como en el embarazo o con adenomas hipofisarios productores de PRL la presencia de PRL en orina es posible detectarla a muy bajas concentraciones solo después de someter las muestras de orina a concentración (40,41). Dos estudios previos en pacientes sin embarazo y con alteración renal, principalmente debido a glomerulonefritis la detección de PRL urinaria también se ha reportado como indetectable o a muy bajas concentraciones después de haber sido concentrada la orina (42,43). En contraste, en este estudio usando una prueba ultrasensible fue posible detectar la presencia de PRL urinaria sin la necesidad de concentrar la orina. Este estudio demostró en un gran número de mujeres con embarazo normal a diferentes etapas de la gestación que la concentración de PRL en orina esta en un rango de indetectable a 2,419.5 pg/ml y los valores normalizados van de 0–0.94 ng/mg de creatinina. Nuestra hipótesis fue que el grado de prolactinuria, la cual no había sido estudiada previamente en pacientes con PE podría ser un marcador de PE y de su severidad. Dentro del espectro clínico de la enfermedad hipertensiva del embarazo, encontramos que la excreción de PRL urinaria en mujeres con HG es semejante a la excretada por mujeres con un embarazo no complicado con hipertensión, en cambio, en la PE leve esta incrementada y en la PE severa aún es mucho mayor, incluso en algunos casos la concentración de PRL urinaria fue mayor a los valores encontrados en

el suero. En adición, la concentración de PRL urinaria normalizada puede discriminar con una alta sensibilidad y especificidad a las pacientes con PE, así como su severidad entre PE leve y severa, por consiguiente nuestra hipótesis de trabajo fue demostrada. Por análisis de regresión múltiple logístico, demostramos que tanto en PE leve o severa como en la PE severa la concentración de PRL urinaria normalizada permaneció con significancia estadística después de haber sido ajustada al grado de proteinuria, SDG y concentración sérica de PRL, sugiriendo que el grado de prolactinuria en la PE es un reflejo de la intensidad del daño del endotelio glomerular. Con respecto a esto, las manifestaciones más graves de la PE pueden ser el resultado de la disfunción y daño endotelial más severo o generalizado, en relación a esto, la prolactinuria fue mayor en la PE severa que en la PE leve e incluso el mayor incremento de la prolactinuria entre las pacientes con PE severa fue asociado con la ocurrencia de complicaciones más graves dentro del espectro clínico de la PE severa, tales como el síndrome de HELLP y la eclampsia.

El análisis por Western blot de la orina de todas las mujeres con HG y PE leve fue imposible detectar bandas positivas a la PRL, lo cual puede ser explicado por la baja sensibilidad de nuestra técnica empleada para detectar concentraciones muy bajas de la PRL inmunoprecipitada en 600 µl de orina. En contraste, en 80 muestras de orina de pacientes con PE severa con concentraciones de PRL urinaria no normalizada mayor a 10–15 ng/ml se detectó la presencia de por lo menos una banda constante de 23 kDa que corresponde a la PRL monomérica no glicosilada, otra banda inconstante detectada en el 60% de las muestras positivas fue de 25 kDa que corresponde a la PRL monomérica glicosilada y otras bandas detectadas en el 15% de las

muestras positivas fueron de 14 y 16 kDa. La PRL monomérica puede romperse proteolíticamente generando fragmentos de 14 o 16 kDa, este evento post-transduccional es uno de los mecanismos descritos que dan origen a la diversidad de las funciones biológicas de la PRL, dado que la PRL de 14 y 16 kDa muestran efectos biológicos diferentes a la molécula que les dio origen. Los efectos específicos de estos fragmentos incluyen la inhibición de la angiogénesis tanto *in vitro* como *in vivo* al inhibir el crecimiento endotelial, las interacciones célula-célula o célula- matriz extracelular, y promoviendo la apoptosis de las células endoteliales (49-51). Las acciones biológicas sobre el endotelio de la PRL de 14 y 16 kDa son mediados por un receptor diferente al receptor de la PRL monomérica (52). En el suero de humanos y principalmente de ratas se ha detectado la PRL de 16 kDa y se considera que puede tener un origen hipofisario o ser generada por proteasas presentes en el suero (53). En adición, la actividad de rompimiento de la PRL monomérica se ha demostrado en varios homogenados titulares, tales como de mama, hígado, bazo y riñón (53,54). Por otro lado, varios tipos celulares extrahipofisarios expresan el gene de la PRL (55). Las células endoteliales de vena umbilical humana expresan el RNAm de la PRL y producen una PRL de 16 kDa detectada por Western blots (56). Aunque la PRL de 16 y 14 kDa se han detectado en varias condiciones fisiológicas y patológicas, la identificación de la(s) enzima(s) proteolíticas para estas modificaciones post-transduccionales de la PRL aún están por determinarse. Sin embargo, varias evidencias sugieren que la catepsina D (una proteasa aspartil lisosomal) puede ser la principal enzima responsable del rompimiento de la PRL monomérica que da origen a los fragmentos de 16 y 14 kDa (57). El hecho de que las células endoteliales produzcan y liberen PRL

sugiere que las diferentes isoformas de la PRL puedan funcionar como reguladores autocrinos o paracrinos de la angiogénesis. Interesantemente, en este estudio demostramos por Western blots que la orina de algunas pacientes con PE severa contienen PRL de 16 y/o 14 kDa. La fuente de estos fragmentos de la PRL en la orina no pudo determinarse en este estudio, sin embargo, debido a que en el análisis por Western blots de la PRL circulante en suero no detectamos en ningún caso la presencia de la PRL de 16 o 14 kDa, así como también al hecho de que la detección de PRL glicosilada de 25 kDa en suero fue mucho menor a la encontrada en orina, nos hizo pensar que tanto la PRL de 14, 16 y 25 kDa presentes en la orina no proviene de la PRL sérica filtrada por el glomérulo renal o bien que la PRL monomérica sérica filtrada sufriera estas modificaciones en la orina o alternativamente que estas isoformas fueran originadas en el endotelio glomerular y eventualmente escapar a la orina. Con este razonamiento y debido a que ha sido demostrado que en el síndrome nefrótico experimental en ratas la actividad de catepsina D (la principal proteasa implicada en las modificaciones post-transduccionales de la PRL) urinaria se incrementa con el inicio de la proteinuria (58) y dado que el pH óptimo de la actividad enzimática de la catepsina D es ácido como el de la orina, entonces para determinar si el rompimiento de la PRL monomérica pudiera suceder en la orina debido o no a la presencia de la actividad de catepsina D, incubamos muestras de orina procedentes de mujeres con PE severa con PRL humana hipofisiaria marcada con  $^{125}\text{I}$  (el marcaje de PRL con  $^{125}\text{I}$  ha sido descrito previamente, 59) a 37 C por 4 y 24 horas, usando esta técnica encontramos que la PRL marcada no fue fragmentada (datos no mostrados), sugiriendo que las modificaciones de la PRL no ocurren en la orina

y que mas bien pueden ser originados en el endotelio glomerular, como ha sido demostrado en otras células endoteliales humanas (56), en acuerdo a esto último, los niveles séricos de PRL fueron significativamente mas altos en las mujeres con PE severa independientemente de las SDG, sugiriendo que el exceso de PRL sérica en PE severa puede ser debido a la contribución de la PRL producida por células endoteliales. Finalmente, aunque sólo en un grupo de mujeres con PE severa se detectaron las isoformas de 14 y/o 16 kDa, no podemos descartar que sea un fenómeno que ocurra con mucha mayor frecuencia de lo que nosotros encontramos debido a la baja sensibilidad de nuestro método empleado. Un abordaje para dilucidar esta cuestión sería concentrar las muestras de orina y/o determinar la actividad anti-angiogénica *in vitro* de la orina de mujeres con PE.

Por otro lado, la comparación de la concentración de PRL urinaria entre mujeres con PE severa de acuerdo a la ocurrencia de complicaciones dentro del espectro de la PE mostraron que las pacientes con trombocitopenia severa, transaminasemia, DPPNI, IRA, EAP tuvieron altas concentraciones de PRL urinaria que aquellas que no cursaron con dichas complicaciones graves. En contraste, la isoformas de la PRL de 16 y/o 14 kDa fue mas frecuente en mujeres con trombocitopenia severa (<50,000/ $\mu$ l) y transaminasemia, Aunque la frecuencia de las isoformas de la PRL de 16 y/o 14 kDa fueron mas frecuentes en las pacientes que tuvieron DPPNI, IRA y EAP no hubo diferencias debido al reducido tamaño de muestra de las pacientes con dichas complicaciones.

En conclusión, nuestros resultados basados en un gran número de mujeres embarazadas sanas y con enfermedad hipertensiva del embarazo muestran

que las mujeres con PE tienen un marcado incremento de la concentración de PRL urinaria. En adición, la concentración de PRL urinaria tiene un alto valor diagnóstico en diferenciar a las mujeres con PE de las mujeres con HG. La determinación de la prolactinuria es un método rápido y no invasivo que puede ser usado como escrutinio en mujeres con enfermedad hipertensiva del embarazo para definir el diagnóstico y la severidad de la PE, así como para predecir la aparición o la ocurrencia de complicaciones graves como el DPPNI, IRA, EAP, síndrome de HELLP y eclampsia. El hallazgo de que la prolactinuria es un novel biomarcador de daño endotelial en la PE es de gran importancia para el obstetra debido a que el monitoreo de la prolactinuria en mujeres con riesgo puede minimizar la morbilidad materna y perinatal y otros riesgos asociados a la PE. La PRL de origen endotelial puede contribuir a los niveles de PRL circulante en mujeres con PE severa. La generación de fragmentos de 16 y/o 14 kDa (con actividad biológica anti-angiogénica y pro-apoptótica) a partir de la PRL monomérica por las células endoteliales, ya sea por una actividad incrementada de la catépsina D o por otros mecanismos puede contribuir al daño endotelial y por lo tanto al desarrollo de las manifestaciones más severas en el espectro de la PE, las cuales pueden reflejar la intensidad del daño endotelial. Finalmente, se requieren más estudios encaminados a esclarecer el origen de las diferentes isoformas de la PRL presentes en la orina, así como evaluar el papel patogénico de la PRL y de sus isoformas en la PE y de su contribución en el espectro de la enfermedad.

## REFERENCIAS

1. Sibai BM, Dekker G, Kupferminc M. Pre-eclampsia. *The Lancet* 2005;365:785-98.
2. National High Blood Pressure Education Program: Working Group Report on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183: S1–S22.
3. Roberts JM, Endothelial dysfunction in preeclampsia. *Semin Reprod Endocrinol* 1998;16:5–15.
4. Chesley LC. Diagnosis of preeclampsia. *Obstet Gynecol* 1985;65:423–425.
5. Cunningham FG, Gant NF, Leveno KJ, Gilstrap LC III, Hauth JC, Wenstrom KD. Hypertensive disorders in pregnancy. In: *Williams obstetrics*. 21st ed. New York: McGraw-Hill, 2001: 567–618.
6. Hauth JC, Ewell MG, Levine RJ, Esterlitz JR, Sibai B, Curet LB, et al. Pregnancy outcomes in healthy nulliparas who developed hypertension. Calcium for Preeclampsia Prevention Study Group. *Obstet Gynecol* 2000; 95: 24–28.
7. Sibai BM. Diagnosis and management of gestational hypertension and preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2003;102:181–192.
8. Sibai BM, Caritis S, Hauth J. What we have learned about preeclampsia. *Semin Perinatol* 2003;27:239-245.
9. Myers JE, Baker PN. Hypertensive diseases and eclampsia. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2002;14:119-125.
10. Velasco V. Mortalidad materna por preeclampsia-eclampsia en el Instituto Mexicano del Seguro Social 1987-1996. *Rev Med IMSS* 1997;35:451–456.
11. Dietl J. The pathogenesis of pre-eclampsia: new aspects. *J Perinat Med* 2000; 28: 464–471.
12. Ferrara N. Role of vascular endothelial growth factor in regulation of physiological angiogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001;280:C1358–C1366.
13. Kendall RL, Thomas KA. Inhibition of vascular endothelial cell growth factor activity by an endogenously encoded soluble receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:10705–10709.
14. He Y, Smith SK, Day KA, Clark DE, Licence DR, Charnock-Jones DS. Alternative splicing of vascular endothelial growth factor (VEGF)-R1 (FLT-1) pre-mRNA is important for the regulation of VEGF activity. *Mol Endocrinol* 1999;13:537–545.
15. Maynard SE, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li J, Mondal S, Libermann TA, Morgan JP, Sellke FW, Stillman IE, Epstein FH, Sukhatme VP, Karumanchi SA. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest* 2003;111:649–658.
16. He H, Venema VJ, Gu X, Venema RC, Marrero MB, Caldwell RB. Vascular endothelial growth factor signals endothelial cell production of nitric oxide and prostacyclin through Flk-1/KDR activation of c-Src. *J Biol Chem* 1999;274:25130–25135.
17. Dekker G. Risk Factors for preeclampsia. *Clin Obstet and Gynecol* 1999; 42: 422
18. Conde-Agudelo A, Villar J, Lindheimer M. World Health Organization systematic review of screening test for preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2004; 104:1367-91
19. Friedman SA, Lindheimer MD. Prediction and Differential Diagnosis. In Lindheimer MD, Roberts JM, Cunningham FG, eds. *Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy*, 2nd ed. Stanford, CT, Appleton & Lange, 1999: 201–227;., p 201.
20. Stamilio DM, Sehder HM, Morgan MA, Propert K, Macones GA. Can antenatal clinical and biochemical markers predict the development of severe preeclampsia? *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182: 589–594.

21. Helewa ME, Burrows RF, Smith J, Williams K, Brain P, Rabkin SW. Report of the Canadian Hypertension Society Consensus Conference: 1. Definitions, evaluation and classification of hypertensive disorders in pregnancy. *CMAJ* 1997; 157: 715–725.
22. Creasy R, *Maternal-Fetal Medicine*. Saunders 2004; 111-118
23. Chesley. *Hipertensión en el Embarazo*. Mc Graw Hill. 2002.
24. Riddle O, Bates RW, Dykshorn SW. The preparation, identification and assay of prolactin- a hormone of anterior pituitary. *Am L Physiol* 1933; 105: 191-216.
25. Sinha YN. Structural variants of prolactin: occurrence and physiological significance. *Endocr Rev* 1995; 16: 354–369.
26. Freeman ME, Kanyicska B, Lerant A, Nagy G. Prolactin: structure, function, and regulation of secretion. *Physiol Rev* 2000; 80: 1523–1631.
27. Bole-Feysot C, Goffin V, Edery M, Binart N, Nelly PA. Prolactin (PRL) and its receptor: actions, signal transduction pathways and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice. *Endocr Rev* 1998; 19: 225–268.
28. Sassin JF, Frantz AG, kapen S, Weitzman ED. The nocturnal rise of human prolactin is dependent on sleep. *J Clin Endocrinol Metab* 1973; 37:436-440.
29. Fraser IS, Lun ZG. Polymers of prolactin and their clinical significance. *Obstet Gynecol Surv* 1990; 45: 515–520 --- Sinha YN. Structural variants of prolactin: occurrence and physiological significance. *Endocr Rev* 1995;16:354–369.
30. Pascoe-Lira D, Duran-Reyes G, Contreras-Hernández I, Manuel-Apolinar L, Blanco-Favela F, Leños-Miranda A. Frequency of macroprolactin due to autoantibodies against prolactin in pregnant women. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:924–929.
31. Soares MJ. The prolactin and growth hormone families: Pregnancy-specific hormones/cytokines at the maternal-fetal interface. *Reprod Biol Endocrinol* 2004; 2:1477-7827-2-51.
32. Soares MJ, Faria TN, Roby KF, Deb S. Pregnancy and the prolactin family of hormones: coordination of anterior pituitary, uterine, and placental expression. *Endocr Rev* 1991;12:402–423
33. Serri O, Chik C, Ur E, Ezzat S. Diagnosis and management of hyperprolactinemia. *CMAJ* 2003; 169(6): 575–581.
34. Greenspan FS. *Endocrinología básica y clínica*. Manual Moderno 1999;123-125.
35. Thorner MO. Disorders of prolactin secretion. *J Clin Pathol Suppl (Assoc Clin Pathol)*. 1976; 7: 36–41.
36. Wieck A, Haddad P. Hyperprolactinaemia caused by antipsychotic drugs : This common side effect needs more attention *BMJ*. 2002; 324(7332): 250–252.
37. Stringer BM, Rowson J. Effect of raised serum prolactin on breast development. *J Anat*. 1989; 162: 249–261.
38. Anderson SM, Rudolph M, McManaman J. Key stages in mammary gland development. Secretory activation in the mammary gland: it's not just about milk protein synthesis! *Breast Cancer Res* 2007; 9(1): 204. Published online
39. Kido T, Honda R, Yamada Y, Tsuritani I, Ishizaki M, Nogawa K:  $\alpha$ -1-Microglobulin determination in urine for the early detection of renal tubular dysfunctions caused by exposure to cadmium. *Toxicol Lett* 1985;24:195–201.
40. Gala RR, Singhakowinta A, Brennan MJ. Studies on prolactin in human serum, urine and milk. *Horm Res* 1975;6:310–320.
41. Keely EJ, Faiman Ch. Measurement of Human Urinary Prolactin as a Noninvasive Study Tool. *Clin Chem* 1994;40:2017–2021.



42. De Felice C, Tanaka T, Hayakawa K, Itoh K, Watanabe T, Katsumata N, Hibi I. Urinary prolactin excretion in children with renal disease. *Acta Paediatr Jpn* 1994;36:623–626.
43. Miranda JM, Prieto RE, Paniagua R, Garcia G, Amato D, Barile L, Jara LJ. Clinical significance of serum and urine prolactin levels in lupus glomerulonephritis. *Lupus* 1998;7:387–391.
44. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. ACOG Practice Bulletin No. 33. American Collage of Obstetricians and Gynecologists. *Obstet Gynecol* 2002;99:159–1677.
45. Leños-Miranda A, Márquez-Acosta J, Romero-Arauz F, Cárdenas-Mondragón G, Rivera-Leños R, Isordia-salas I, Ulloa-Aguirre A. Protein to creatinine ratio in random urine samples is a reliable marker of significant proteinuria in women with hypertensive disorders of pregnancy. *Clin Chem*. En prensa.
46. Leños-Miranda A, Contreras-Hernández I. Anti-prolactin autoantibodies are associated with hyperprolactinemic status in men infected with human immunodeficiency virus. *Endocrine* 2002;19:139–146.
47. Leños-Miranda A, Chávez-Rueda KA, Blanco-Favela B. Biologic activity and plasma clearance of prolactin-IgG complex in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2001;44:866–875.
48. Leños-Miranda A, Pascoe-Lira D, Chávez-Rueda K, Blanco-Favela F. Persistence of macroprolactinemia due to antiprolactin autoantibody before, during, and after pregnancy in a woman with systemic lupus erythematosus. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:2619–2624.
49. Ferrara N, Clapp C, Weiner R. The 16K fragment of prolactin specifically inhibits basal or fibroblast growth factor stimulated growth of capillary endothelial cells. *Endocrinology* 1991;129:896–900.
50. Clapp C, Martial JA, Guzman RC, Rentier-Delrue F, Weiner RI. The 16-kilodalton N-terminal fragment of human prolactin is a potent inhibitor of angiogenesis. *Endocrinology* 1993;133:1292–1299.
51. Clapp C, Torner L, Gutiérrez-Ospina G, Alcántara E, López-Gómez FJ, Nagano M, Kelly PA, Mejía S, Morales MA, Martínez de la Escalera G. The prolactin gene is expressed in the hypothalamic–neurohypophyseal system and the protein is processed into a 14-kDa fragment with activity like 16-kDa prolactin. *PNAS* 1994;91:10384–10388.
52. Clapp C & Weiner RI. A specific, high affinity, saturable binding site for the 16-kilodalton fragment of prolactin on capillary endothelial cells. *Endocrinology* 1992;130:1380–1386.
53. Baldocchi RA, Tan L, Nicoll CS. Processing of rat prolactin by rat tissue explants and serum in vitro. *Endocrinology* 1992;130:1653–1659.
54. Clapp C. Analysis of the proteolytic cleavage of prolactin by the mammary gland and liver of the rat: characterization of the cleaved and 16K forms. *Endocrinology* 1987;121:2055–2064.
55. Ben-Jonathan N, Mershon JL, Allen DL, Steinmetz RW. Extrapituitary prolactin: distribution, regulation, functions, and clinical aspects. *Endoc Rev* 1996;17:639–669.
56. Corbacho AM, Macotela Y, Nava G, Torner L, Dueñas Z, Noris G, Morales MA, Martínez de la Escalera, Clapp C. Human umbilical vein endothelial cells express multiple prolactin isoforms. *J Endocrinol* 2000;166:53–62.
57. Baldocchi RA, Tan L, King DS, Nicoll CS. Mass spectrometric analysis of the fragments produced by cleavage and reduction of rat prolactin: evidence that the cleaving enzyme is cathepsin D. *Endocrinology* 1993;133:935–938.

58. Baricos WH, Shah SV. Increased cathepsin-D like activity in cortex, tubules, and glomeruli isolated from rats with experimental nephrotic syndrome. *Biochem J* 1984;223:393–399.
59. Leños-Miranda A, Cárdenas-Mondragón G, Rivera-Leños R, Ulloa-Aguirre A, Goffin V. Application of new homologous in vitro bioassays for human lactogens to assess the actual bioactivity of human prolactin isoforms in hyperprolactinemic patients. *Clin Endocrinol* 2006;65:146–153.

## ANEXO

Durante mi rotación de cuarto año de la residencia en Ginecología y Obstetricia dentro de la Unidad de Investigación en Medicina Reproductiva, participe en realización del artículo titulado: Protein:Creatinine Ratio in Random Urine Samples Is a Reliable Marker of Increased 24-Hour Protein Excretion in Hospitalized Women with Hypertensive Disorders of Pregnancy, el cual fue aceptado en la Revista Internacional ***Clinical Chemistry***, actualmente se encuentra en imprenta y será publicado en el mes de septiembre.

## ***Protein:Creatinine Ratio in Random Urine Samples Is a Reliable Marker of Increased 24-Hour Protein Excretion in Hospitalized Women with Hypertensive Disorders of Pregnancy***

Alfredo Leños-Miranda <sup>1\*</sup>, Janeth Márquez-Acosta <sup>1</sup>, Fernando Romero-Arauz <sup>2</sup>, Guadalupe M. Cárdenas-Mondragón <sup>1</sup>, Roxana Rivera-Leños <sup>1</sup>, Irma Isordia-Salas <sup>1</sup>, Alfredo Ulloa-Aguirre <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Research Unit in Reproductive Medicine, México, D.F. México

<sup>2</sup> Department of Hypertensive Diseases of Pregnancy Clinic, Hospital de Ginecología y Obstetricia "Luis Castelazo Ayala", Instituto Mexicano del Seguro Social, México, D.F. México

\* To whom correspondence should be addressed. E-mail: [alfredolm@yahoo.com](mailto:alfredolm@yahoo.com) .

**Background:** The protein:creatinine ratio in random, untimed urine samples correlates with 24-h protein excretion in pregnant women with and without hypertension. Nevertheless, whether this ratio is appropriate as a screening test for proteinuria is still unclear, in part because of the paucity of large studies.

**Methods:** We measured protein:creatinine ratios in random urine samples and protein contents of 24-h urine samples in a cross-sectional study of 927 hospitalized pregnant women at  $\geq 20$ -weeks of gestational age and in a 2nd cohort of 161 pregnant women. In the 2nd group, urine specimens were obtained before and after completion of the 24-h collections, avoiding 1st-morning void specimens.

**Results:** Protein excretion was  $\geq 300$  mg/24 h in 282 patients (30.4%). The urine protein:creatinine ratio and the 24-h protein excretion were significantly correlated ( $r = 0.98$ ,  $P < 0.001$ ). The protein:creatinine ratio as an indicator of protein excretion  $> 300$  mg/24 h was  $\geq 0.3$ . The sensitivity and specificity were 98.2% and 98.8%, respectively. Positive and negative predictive values were 97.2% and 99.2%, respectively, and positive and negative likelihood ratios were 79.2 and 0.02, respectively. The diagnostic accuracy of the urinary protein:creatinine ratio was corroborated in the 2nd cohort of patients, which also showed no statistically significant difference in protein:creatinine ratio between samples obtained  $> 24$  h apart.

**Conclusions:** Random urinary protein:creatinine ratio is a reliable indicator of significant proteinuria ( $> 300$  mg/day) in nonambulatory pregnant women, irrespective of sampling time during the daytime. The protein:creatinine ratio may be reasonably used as an alternative to the 24-h urine collection method