

**UNIVERSIDAD MOTOLINIA**  
INCORPORADA A LA  
**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**  
**ESCUELA DE QUIMICA**

**ESTUDIO COMPARATIVO DE LAS TECNICAS BIOLOGICA E INMUNOLOGICAS EN LA CUANTIFICACION DE GONADOTROPINA CORIONICA HUMANA**



**QUIMICA**

**T E S I S**  
**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE**  
**QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**  
**P R E S E N T A**

**MA. JOSEFINA PATIÑO NUÑEZ**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

A mis Padres con amor.

Con todo cariño a mi maestra

Srita. J.P.B Maria del consuelo Hidalgo M.

y mi agradecimiento.

- 1.- INTRODUCCION.
- 2.- GENERALIDADES.
- 3.- OBJETIVO DE LA INVESTIGACION.
- 4.- MATERIAL Y METODO.
- 5.- RESULTADOS.
- 6.- DISCUSION.
- 7.- RESUMEN.
- 8.- BIBLIOGRAFIA.

Este estudio se realizó en el Hospital  
de Gineco-Obstetricia No. I del Insti-  
tuto Mexicano del Seguro Social.

## 1.- INTRODUCCION.

La evolución del embarazo se acompaña de una activa producción de hormonas. Este aporte hormonal se realiza en forma progresivamente escalonada a lo largo del embarazo. Después de la anidación del huevo fecundado, el cuerpo amarillo menstrual, en lugar de entrar en regresión, persiste y se transforma en cuerpo amarillo gravídico. Al mismo tiempo la producción de hormonas sufre repentinamente modificaciones profundas cuasen débidas, por una parte, a dicha persistencia del cuerpo amarillo gravídico y por otra, a la entrada en juego de una nueva fuente hormonal, el tejido trofoblástico del huevo fecundado.

Los estudios histoquímicos practicados, así como el cultivo de tejidos placentarios, han demostrado que la placenta elabora la hormona - gonadotrópica del embarazo a nivel de las células de Langhans del citotrofoblasto, y su concentración corre paralela con la actividad y el desarrollo del mismo.

Se ha demostrado que la secreción de gonadotropina coriónica humana se inicia al quinceavo o diecisieteavo día después de la anidación - del huevo en el endometrio pregestacional, aumentando su concentración - progresivamente, en suero y orina, hasta alcanzar su máximo nivel cuando el citotrofoblasto ha llegado a su máximo desarrollo (octava semana del - embarazo), y desciende para estabilizarse en un nivel bajo, con la decli - nación de las células de Langhans. ( dieciséisava semana del embarazo). - La gonadotropina coriónica humana ( G.C.H.), también es excretada en ca - sos patológicos por las células de la mola hidatiforme y del coriocipite - lioma del útero, coriocarcinoma (teratoma) etc.

Debido a que la presencia de la G.C.H. en sangre u orina, indica un embarazo normal, molar o un tumor trofoblástico, su detección mediante procedimientos biológicos, químicos o inmunológicos, permitirá el diagnóstico de cualquiera de estas condiciones.

Una sustancia que represente el índice ideal específico del desarrollo del embarazo o de una tumoración maligna, deberá ser producida — por las células trofoblásticas y no por alguna otra célula del organismo — deberá estar presente en elevadas concentraciones en la sangre o deberá tener un elevado nivel de excreción renal, no debe ser rápidamente metabolizada, debe ser químicamente estable y por último detectable por métodos — simples. Todas estas cualidades son inherentes a la G.C.H.

La G.C.H. es una sustancia que proporciona un índice específico, ya sea en el desarrollo del embarazo o de la patología existente, puesto — que su presencia constituye:

- a) Una prueba diagnóstica precisa del embarazo o de su cesación.
- b) Una guía del progreso del embarazo y problemas que se presentan en el transcurso de él.
- c) Una guía del progreso de la neoplasia trofoblástica.
- d) Una guía de la efectividad de la terapéutica empleada.
- e) Una señal precisa de la completa destrucción tumoral.

Teniendo en cuenta que la detección de la G.C.H. en los tumores trofoblásticos permite una terapéutica radical, que muchas veces es la diferencia entre la vida y la muerte para el paciente, existen multitud de métodos para demostrar su presencia y también la cantidad que de ella existe en un momento determinado.



2.- GENERALIDADES.

COMPOSICION QUIMICA DE LAS GONADOTROPINAS CORIONICAS.

Human observó, mediante varios ensayos, que la gonadotropina es una proteína que contiene un polisacárido, unido por enlaces covalentes, que carece de ácidos urónicos, pentosas o cetonas. Posee alrededor de 10.7% de Galactosas, 5 % de hexosamina, 12.02% de Nitrógeno, 1.76 % de Azufre y radicales acetilo, por lo que parece ser una hexosamina acetil digalactosa con otro radical acetilo esterificado a un hidroxilo, en la relación de dos radicales acetilo por una unidad de hexosamina. Su punto isoelectrico se encuentra en el pH 3.2 - 3.3, por lo que supuso se debía a la presencia de aminoácidos cualitativamente demostrados: tirocina, arginina, histidina y triptofano. En 1955 Morris identificó cualitativamente, con ayuda de métodos electroforéticos, los aminoácidos: glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, fenil-alanina, serina, treonina, cistina, metionina, lisina, ácido aspártico, ácido glutámico y prolina.

PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS.

La gonadotropina coriónica es estable en forma pura liofilizada, durante tiempo indefinido, es soluble en glicerol, en agua; en soluciones acuosas al 0.2 % se puede conservar durante 18 hrs. a cero °C y a un pH variable de 3.0 a 10. Es insoluble en disolventes orgánicos usuales, precipita con alcohol al 75 %, con acetona neutra o ligeramente ácida y con ácidos fosfomolibdico y fosfotúngstico. Es inestable a temperaturas altas pero se puede llevar a 100 °C durante una hora en solución de glicerol.

En soluciones acuosas diluidas pierde su actividad rápidamente --

por calentamiento o por exceso de ácido o álcali.

Existen una variedad de profitos químicos que inactivan la hormona, como son los siguientes: alerobenzal isocianato de fenilo, dinitrofluorobenceno, dinitrobenzono, hipobromito de sodio, sulfato de diazobenceno, formaldehído, verde brillante, bicofito de sodio, ácido ascórbico, atropina y hidrocristalina. Es inactivada por enzimas como la tripsina y las que desdoblan los hidratos de carbono.

MEDIDA DE LA ACTIVIDAD DE LA GONADOTROPINA.

La unidad Aschheim-Zondek ( U.A-Z ó unidad ratón ) es aquella cantidad de gonadotropina coriónica necesaria para desencadenar en la ratona - infantil o prepúber una reacción en el ovario. La unidad rata o unidad Engle es la cantidad necesaria para obtener efecto similar en el ovario de la rata. La unidad rata es cinco veces mayor que la unidad ratón. Como la unidad A-Z varía según los distintos animales y también según los distintos preparados, hay la necesidad de adoptar una unidad estándar internacional - que se define como la actividad de una décima de miligramo de preparado secado de gonadotropina. La actividad específica gonadotrópica de la Unidad - Internacional, es la cantidad mínima suficiente para causar cornificación - en el epitelio vaginal de la rata inmadura.

PRUEBAS BIOLÓGICAS PARA LA DETECCIÓN Y CUANTIFICACION DE G.C.H.

Varias pruebas biológicas para el diagnóstico del embarazo se han desarrollado utilizando uno de los varios cambios producidos por la G.C.H. - en los órganos sexuales. La primera prueba fué descrita por Aschheim y Zondek y se basa en la habilidad de luteinización de la hormona en animales - normales. Desde entonces se han estudiado muchos procedimientos de laborato

rio, algunos basados en la detección de G.C.H., otros en la estimación de esteroides estrogénicos, progesterona, pregnanediol y hormona estimulante de los gónadotrofos. En la actualidad las pruebas más empleadas son la de Friedman, quien demostró en 1929 que la inyección intravenosa de orina de mujer embarazada, en conejas producía ovulación y formación de cuerpo amarillo; y la de Salomon. Se hará una descripción de las técnicas empleadas ya que se consideran las más representativas y precisas en esta clase de determinaciones.

#### MATERIAL DE FRIEDMAN - ANIMAL.

##### Obtención de la muestra:

Se requiere la primera orina matutina por micción espontánea, por vía ano vulvar o por sonda y 15 ml. de sangre sin anticoagulante, obtenida por punción venosa, colectada en dos tubos de ensayo. Las muestras deben ser obtenidas de preferencia en ayunas. La orina se refrigera hasta que se utiliza.

Se recomienda a la paciente que ingiera la cantidad mínima de líquidos en las últimas 18 hs. y no tome en este tiempo medicamentos que contengan ácido acetil salicílico o sus derivados.

##### Técnica:

- 1.- Se inyecta a la primera coneja a nivel de la vena marginal 17.5 ml. de orina filtrada mezclada con 2.5 ml. de solución glucosada concentrada.
- 2.- A la segunda coneja se inyecta una mezcla de 17.5 ml. de solución salina con 2.5 ml. de suero total.

- 3.- Para la tercera y cuarta coneja se hace una dilución 1:10 del suero, o sea 1 c.c. de suero en 9 c.c. de solución salina. A la tercera coneja se inyectan 4.0 c.c. de la dilución con 7.0 c.c. de solución salina y a la cuarta 2.0 c.c. de la dilución con 7.0 c.c. de solución salina; a las 48 hs., se laparatomizan y se ve la respuesta en los ovarios exclusivamente.
- 4.- Si la cuarta coneja presenta reacción positiva, se hace una dilución 1:100 partiendo de la dilución 1:10 y se inyectan a otras conejas 4.0, 2.0 y 1.0 c.c. de la dilución con 7.0 c.c. de solución salina.
- 5.- Si se desea saber si hay más cantidad de gonadotropinas se hace una dilución 1:1000 partiendo de la dilución 1:100, inyectando a las conejas iguales cantidades que las descritas, en el quinto número cuarto.

#### Interpretación de los Resultados.

La prueba es positiva cuando hay aparición de puntilleo hemorrágico en los ovarios, congestión intensa, aparición de folículos hemorrágicos, estallamiento y desarrollo de cuerpo amarillo. Es negativa cuando los folículos se encuentran sin cambios.

## UNIDADES DIFERENCIALES POR LITRO DE G.C.H.

1a. Coneja	17.5 c.c.	0.F +	2.5 c.c.	S.G	U.I 250
2a. Coneja	17.5 c.c.	S.S +	2.5 c.c.	S.T	2,000
3a. Coneja	7.0 c.c.	S.S +	4.0 c.c.	1:10	12,500
4a. Coneja	7.0 c.c.	S.S +	2.0 c.c.	1:10	25,000

## Dilución 1:100

5a. Coneja	7.0 c.c.	S.S +	4.0 c.c.	1:100	125,000
6a. Coneja	7.0 c.c.	S.S +	2.0 c.c.	1:100	250,000
7a. Coneja	7.0 c.c.	S.S +	1.0 c.c.	1:100	500,000

## Dilución 1:1000

8a. Coneja	7.0 c.c.	S.S +	4.0 c.c.	1:1000	1' 250,000
9a. Coneja	7.0 c.c.	S.S +	2.0 c.c.	1:1000	2' 500,000
10a. Coneja	7.0 c.c.	S.S +	1.0 c.c.	1:1000	5' 000,000

## METODO DE SAMPSON MODIFICADO.

### Obtención de la muestra:

Se requiere la primera orina de la mañana por micción espontánea o por sondas, filtrándolo y añadiéndole un preservativo.

### Material Biológico.

Se emplean ratas Wistar de 30 g.

### Técnica:

La orina se inyecta subcutáneamente a cada rata, y se hace la observación de los ovarios después de transcurridas 24 hs. de la inyección. Para hacer la observación, se abre la cavidad abdominal en un corte en "V" iniciándolo en la parte más baja de la región abdominal y prolongando la incisión hacia arriba y afuera en cada lado. Se rechazan hacia arriba las vísceras y se localizan ambos ovarios. La prueba es positiva si hay reacción hipertérmica. Deberá ser una coloración rojo brillante tendiendo hacia el carmesí. Cuando los ovarios se encuentran sin cambio la prueba es negativa.

Las pruebas más importantes para la detección y cuantificación de las gonadotropinas coriónicas en las que se emplean animales, han sido revisadas por varios autores entre los cuales se pueden citar los siguientes: — Tombhins y Parker (1948), Cowle (1948), Thorborg (1950), Heggson (1955), y — Lorraine (1958). Estas pruebas se resumen en el siguiente cuadro:

ANIMAL	SEXO	TIPO DE REACCIÓN.
<i>Mus musculus</i> (Ratón)	hembra	Cuerpo amarillo
<i>Rattus norvegicus</i> (Rata)	hembra	Hiperbúmia ovárica
<i>Lepus cuniculus</i> (Coneja)	hembra	Cuerpo amarillo
<i>Xenopus laevis</i>	hembra	Ovulación
<i>Rana pipiens</i>	macho	Espermación
<i>Rana esculenta</i>	macho	Espermación
<i>Bufo americanus</i>	macho	Espermación
<i>Rana temporaria</i>	macho	Espermación
<i>Bufo marinus</i>	macho	Espermación
<i>Bufo bufo</i>	macho	Espermación
<i>Bufo arenarum</i>	macho	Espermación
<i>Bufo viridis</i>	macho	Espermación
<i>Bufo melanostictus</i>	macho	Espermación

#### PRINCIPALES VEY DOS ENFERMEDADES.

Las desventajas que presentan los métodos biológicos, como son: la obtención de animales apropiados, su manutención y cuidados, la mortandad por la toxicidad de las muestras empleadas, el tiempo que transcurre antes de apreciar los resultados etc. han orientado a las investigaciones a establecer métodos o pruebas de tipo químico o inmunológico para medir los niveles de la hormona en líquidos biológicos, que no presentan las desventajas de los métodos biológicos. En 1960 se describieron tres distintas técnicas para la detección de G.C.H. en tales líquidos: la de fijación del complemento, desarrollada por Brody y Carlstrom, describiendo en 1962 el patrón de producción de G.C.H. durante el embarazo normal; las reacciones de precipitación por Mc Kean, y la prueba de inhibición a la hemaglutinación, empleada por Swierczynska y Sarnochowicz, posteriormente por

Wido y Campbell.

PRINCIPIOS DE LAS PRUEBAS.

Las pruebas de tipo inmunológico están basadas en la reacción antígeno-anticuerpo; es decir, se produce una reacción inmunológica cuando una proteína extraña o antígeno se introduce al organismo dando lugar a la formación de anticuerpos que son sustancias específicas, que reaccionan cuando son colocadas frente a frente, tanto in vivo como in vitro, resultando una sustancia de mayor peso molecular.

La reacción antígeno-anticuerpo se ha considerado como una reacción en dos fases; la primera consiste esencialmente en la unión del antígeno con el anticuerpo sin ninguna manifestación visible aparente, la segunda es la aprovechada con fines de aplicación práctica en la que se pueden observar manifestaciones como precipitación, neutralización, lisis y aglutinación.

La mayoría de las pruebas de aglutinación no son perceptibles a la vista humana de donde surge la necesidad de emplear acarreadores del antígeno que tengan determinadas características como tamaño o coloración y que permitan reconocer si la reacción se ha verificado. Para este fin pueden emplearse glóbulos rojos, lisados, de caballo y yegua, o partículas de látex, teniendo este método la ventaja de ser rápido.



PRUEBAS DE INHIBICIÓN A LA AGLUTINACIÓN CON REACTIVOS COMERCIALES;  
 TITULACIÓN DE UNIDADES DE CONADOIRIFINA CORIONICA ( UCG TITRATION )  
 Y PREDICCIÓN.

U C G TITRATION

Preparación de la orina.

- 1.- Filtrar 10 ml. de la muestra.
- 2.- Precipitar el material insoluble
- 3.- Resuspender y centrifugar a 2 500 r.p.m. durante cinco min.

Técnica:

Hacer una serie de diluciones en 8 tubos de la siguiente manera:

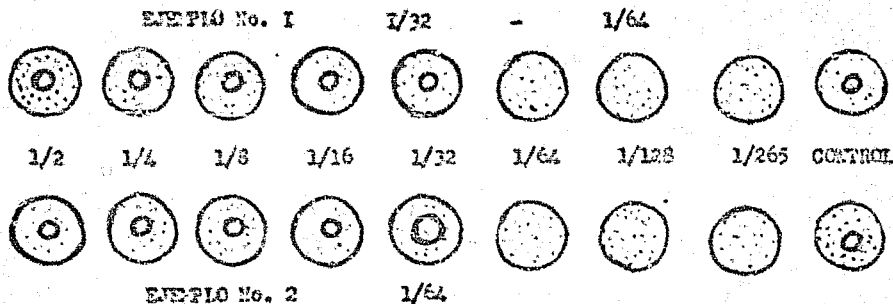
- 1.- Colocar en cada tubo 0.25 ml. de solución salina isotónica de cloruro de sodio.  
 Agregar 0.25 ml. de la orina preparada en el tubo No. 1, mezclar cuidadosamente y transferir 0.25 ml. de esta solución al tubo No. 2, mezclar cuidadosamente y transferir 0.25 ml. al tubo No. 3, y así sucesivamente. Del tubo No. 8, se pipeteán 0.25 ml. y se colocan en un tubo marcado con el número 9 que es el control.
- 2.- De la " Solución Control ", llene hasta la marca el gotero y vierta su contenido en el tubo No. 9
- 3.- Llene hasta la marca el gotero del " Antisuero GCH " y añádele a cada una de las ocho diluciones.
- 4.- Agite perfectamente la "Suspensión de Células " y ponga una gota en cada uno de los nueve tubos de ensayo.
- 5.- Sosteniendo al tubo entre el pulgar e índice golpee suave y repetidamente el fondo del tubo hasta obtener una mezcla homogénea del contenido. Hágase esta maniobra con cada tubo y colócuolos en la gradilla. De

se reposar los tubos durante dos horas a la temperatura ambiente.

### Interpretación de las Lecturas.

La dilución más alta que presente inhibición a la aglutinación, con la presencia de un anillo similar en tamaño e intensidad al del control se considera como punto final de la reacción. Ejemplo No. 1

Cuando la reacción se manifiesta con un anillo de mayor tamaño que el del control, de intensidad igual o menor, se toma como punto final. Ejemplo No. 2



### Cálculos:

Unidades Internacionales de GCH/l =  $1000 \times E \times S$

E = Recíproca de la dilución final

S = Sensibilidad de los reactivos.

### PREGNOSTICON.

La cuantificación de la gonadotropina coriónica se realiza empleando 0.1 ml. de orina filtrada de la primera micción de la mañana y practicando diluciones en igual forma a las del método "Titration" descrito anteriormente.

### Técnica

- 1.- Pipetear 4.0 ml. de Solución Amortiguadora dentro del frasco que contiene glóbulos rojos liofilizados.
- 2.- Bomper el cuello de las ampollitas que contienen suero anti-GCH liofilizado y colocarlas en una gradilla.
- 3.- Agregar 0.1 ml. de cada dilución en las ampollitas.
- 4.- En un tiempo no mayor de cinco minutos añadir 0.4 ml. de sus pensión de eritrocitos sensibilizados.
- 5.- Agitar en forma rotatoria durante un minuto.
- 6.- Dejar reposar las ampollitas a la temperatura ambiente sobre una superficie exenta de vibraciones y observar los resultados a las dos horas.

En esta técnica se emplean eritrocitos liofilizados sensibles a la GCH, que actúan como portadores del antígeno. Al mezclar los eritrocitos con suero de conejo inmunizados a la GCH, se produce una hemaglutinación difusa, observándose igual resultado al agregar orina de mujer no embarazada, pero cuando se agrega orina de mujer embarazada, ésta última se une al antisuero evitándose la aglutinación (inhibición a la aglutinación) y entonces los eritrocitos se sedimentan en forma de un anillo oscuro característico que señala una reacción positiva. Si se observa un precipitado difuso, la reacción será negativa.

### 3.- OBJETIVO DE LA INVESTIGACION:

El objeto del presente estudio es informar los resultados de la cuantificación de la gonadotropina coriónica humana por dos métodos comparativos:

- A) Prueba de inhibición a la aglutinación con los reactivos comerciales: Titulación de unidades de gonadotropinas coriónicas - ("TITRATION") (T), y "PREGNOSTIC" (P).
- B) Prueba biológica de Friedman.

### 4.- MATERIAL Y MÉTODOS:

Se practicaron determinaciones de los niveles de GCH, en 100 pacientes cuya edad fluctuó entre los 17 y 43 años, que cursaban con amenorrea de tiempo de evolución entre 3 y 22 semanas con embarazo normal o complicado. Además se clasificaron en 10 pacientes los niveles de eliminación de gonadotropina coriónica a distinta hora del día, así como el efecto de otros componentes como extractos de orina con títulos altos de gonadotropinas hipofisarias, glucosa y urea; previo al estudio se efectuaron pruebas de control de las técnicas de inhibición a la aglutinación con gonadotropina coriónica comercial.

Las determinaciones se llevaron a cabo por los métodos inmunológicos "Pregnosticon" y "Titration" ya descrito anteriormente y por el método biológico de Friedman.

A continuación se expresan los valores individuales obtenidos en cada uno de los métodos.

NO. DE ESTAD	" PRESUPUESTO LEYES "	N. BIOLÓGICO	" TERCERACION "
1.- S-211	‡ 12,500	‡ 25,000	‡ 25,000
2.- S-212	‡ 12,500	‡ 25,000	‡ 25,000
3.- S-213	‡ 12,500	‡ 12,500	‡ 12,500
4.- S-216	‡ 12,500	‡ 25,000	‡ 32,500
5.- S-236	‡ 2,000	‡ 2,000	‡ 2,000
6.- S-778	‡ 2,000	‡ 2,000	‡ 2,000
7.- S-780	0.000	‡ 12,500	‡ 12,500
8.- S-781	‡ 25,000	‡ 500,000	‡ 500,000
9.- S-797	‡ 12,500	‡ 12,500	‡ 25,000
10.- S-798	‡ 2,000	‡ 25,000	‡ 25,000
11.- S-817	‡ 2,000	‡ 25,000	‡ 25,000
12.- T-224	‡ 12,500	‡ 25,000	‡ 25,000
13.- T-225	‡ 2,000	‡ 2,000	‡ 2,000
14.- T-226	‡ 12,500	‡ 12,500	‡ 12,500
15.- T-227	‡ 25,000	‡ 25,000	‡ 25,000
16.- T-228	‡ 12,500	‡ 12,500	‡ 12,500
17.- T-229	‡ 12,500	‡ 12,500	‡ 12,500
18.- T-230	‡ 500	‡ 250	‡ 2,000
19.- T-338	‡ 500,000	‡ 500,000	‡ 500,000
20.- T-356	‡ 125,000	‡ 250,000	‡ 125,000
21.- T-406	‡ 2,000	‡ 2,000	‡ 2,000
22.- T-407	‡ 12,500	‡ 25,000	‡ 25,000
23.- T-409	‡ 12,500	‡ 25,000	‡ 25,000
24.- T-411	‡ 25,000	‡ 25,000	‡ 25,000
25.- T-973	‡ 12,500	‡ 12,500	‡ 25,000

No.	DESCRIPTION	"PREDICTION"	M. BIOLOGICO	"TERRAZION"
26.-	T-778	0,000	0,000	0,000
27.-	T-779	+ 2,000	+ 25,000	+ 25,000
28.-	U-15	0,000	+ 0,000	+ 0,000
29.-	U-16	0,000	0,000	0,000
30.-	U-20	0,000	0,000	0,000
31.-	U-353	+ 12,500	+ 25,000	+ 25,000
32.-	U-354	+ 2,000	+ 2,000	+ 12,500
33.-	U-355	0,000	0,000	0,000
34.-	U-359	+ 125,000	+ 125,000	+ 500,000
35.-	U-340	+ 2,000	+ 2,000	+ 2,000
36.-	U-408	+ 12,500	+ 12,500	+ 12,500
37.-	U-409	0,000	0,000	0,000
38.-	U-410	0,000	125,000	125,000
39.-	U-411	+ 25,000	+ 25,000	+ 25,000
40.-	U-412	+ 25,000	+ 125,000	+125,000
41.-	U-413	0,000	0,000	0,000
42.-	A-924	+ 500	+ 2,000	+ 12,500
43.-	B-5	+ 12,500	+ 2,000	+ 12,500
44.-	B-7	+ 25,000	+ 25,000	+ 25,000
45.-	B-13	+ 12,500	+ 25,000	+ 25,000
46.-	B-14	+ 25,000	+ 12,500	+ 25,000
47.-	B-15	+ 25,000	+ 25,000	+ 25,000
48.-	B-220	+ 12,500	+ 12,500	+ 12,500
49.-	B-220	+ 2,000	+ 2,000	+ 2,000
50.-	B-241	+ 2,000	+ 2,000	+ 2,000

NO. REGISTERED	"FERTILIZATION"	N. BIOLOGICO	"FERTILIZATION"
51.- B-242	0,000	0,000	0,000
52.- B-243	0,000	0,000	0,000
53.- B-244	+ 12,500	+ 25,000	+ 25,000
54.- B-245	+ 2,000	+ 2,000	+ 2,000
55.- B-246	0,000	0,000	0,000
56.- B-247	0,000	0,000	0,000
57.- B-248	+ 25,000	+ 125,000	+ 125,000
58.- B-249	+ 25,000	+ 125,000	+ 125,000
59.- B-250	+ 2,000	+ 250	+ 12,500
60.- B-257	+ 2,000	+ 250	+ 2,000
61.- B-260	+ 25,000	+ 25,000	+ 25,000
62.- B-269	+ 25,000	+ 25,000	+ 25,000
63.- B-270	+ 250	+ 250	+ 250
64.- B-271	+ 25,000	+ 25,000	+ 25,000
65.- B-272	+ 2,000	+ 2,000	+ 12,500
66.- B-287	0,000	0,000	0,000
67.- B-288	0,000	0,000	0,000
68.- B-289	+ 12,500	+ 2,000	+ 25,000
69.- B-290	0,000	0,000	0,000
70.- B-291	0,000	0,000	0,000
71.- B-292	0,000	0,000	0,000
72.- B-303	+ 25,000	+ 25,000	+ 25,000
73.- B-304	0,000	0,000	0,000
74.- B-305	0,000	0,000	0,000
75.- B-306	0,000	0,000	0,000

No. REGISTERED	"PREDICTION"	"BIOLOGICO"	"TITRATION"
76.- B-307	0,000	0,000	0,000
77.- B-321	+ 25,000	+ 25,000	+ 25,000
78.- B-325	+ 25,000	+ 25,000	+ 25,000
79.- B-326	+ 250,000	+ 500,000	+ 500,000
80.- B-335	+ 12,500	+ 12,500	+ 12,500
81.- B-337	+ 12,500	+ 12,500	+ 12,500
82.- B-338	0,000	0,000	0,000
83.- B-339	+ 500	+ 250	+ 2,000
84.- B-340	+ 12,500	+ 2,000	+ 25,000
85.- B-341	+ 12,500	+ 25,000	+ 25,000
86.- B-342	0,000	0,000	0,000
87.- B-343	0,000	0,000	0,000
88.- B-344	+ 2,000	+ 250	+ 12,500
89.- B-374	0,000	0,000	0,000
90.- B-375	+ 500	+ 250	0,000
91.- B-376	+ 25,000	+ 25,000	+ 25,000
92.- B-377	+ 12,500	+ 12,500	+ 12,500
93.- B-378	+ 2,000	+ 2,000	+ 2,000
94.- B-379	+ 12,500	+ 2,000	+ 12,500
95.- B-380	+ 250,000	+ 25,000	+ 500,000
96.- B-381	+ 25,000	+ 25,000	+ 25,000
97.- B-386	+ 12,500	+ 12,500	+ 12,500
98.- B-397	+ 25,000	+ 25,000	+ 25,000
99.- B-398	+ 125,000	+ 250,000	+ 250,000
100.- B-399	0,000	0,000	0,000



### 5.- RESULTADOS:

Todos los resultados se expresan en Unidades Internacionales.

El menor valor en el cuál se obtuvieron resultados fue de 0.310 U.I./ml. en el método de titulación de C.C.H. ("TITRATIUM") y de 0.5 U.I./ml. para el preparado Prognosticon.

Comparando los valores de los niveles de CCH entre los métodos inmunológicos y el de Friedman, se encontró que un 79% de pruebas (T) coincidieron con los títulos de la prueba de Friedman; del 21% restantes, en un 16% se obtuvieron títulos mayores y en un 5% menores.

Al tratamiento estadístico se encontró que el valor de P es mayor de 0.9.

En relación al preparado (F), coincidieron con la prueba de Friedman un 68% de los casos; en un 9% del resto se encontraron con títulos mayores y en un 23% con titulaciones menores.

En el análisis estadístico se encontró una P entre 0.03 y 0.025.

En el 59% de los casos tratados coincidieron las tres pruebas experimentales; en el 6% de las pruebas de inhibición a la aglutinación que no coincidieron con el Friedman, si coincidieron entre sí. Dos de las pruebas que se encontraron con títulos menores registraron un valor igual en las determinaciones inmunológicas. ( Figuras No. 1 y No. 2 ).

## FIGURA No. I

## RESULTADOS

B	=	P	68	%		
B	=	T	79	%		
P	=	T	65	%		
B	=	P	=	T	59	%

B = PRUEBA BIOLÓGICA

P = PRONÓSTICO

T = TITRACION

## FIGURA No: 2

## R E S U L T A D O S

B > P	23%	P > B	9%
B > T	5%	T > B	16%
P > T	1%	T > P	34%

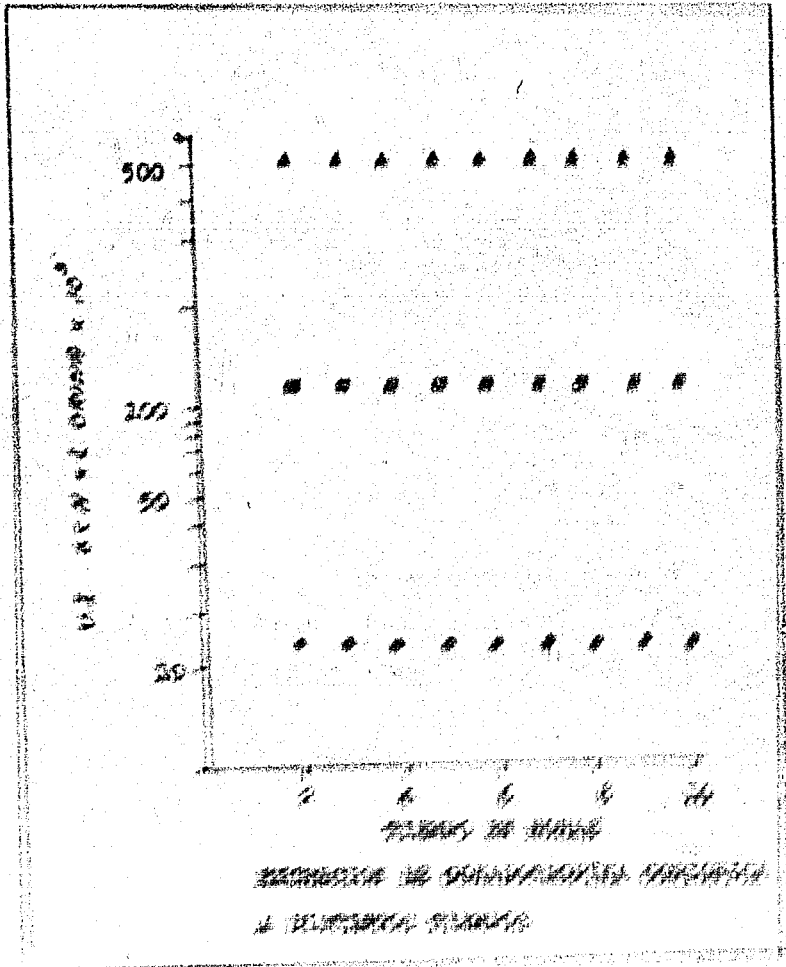
B = PRUEBA BIOLOGICA

P = PREGNOSTICON

T = TITRATION

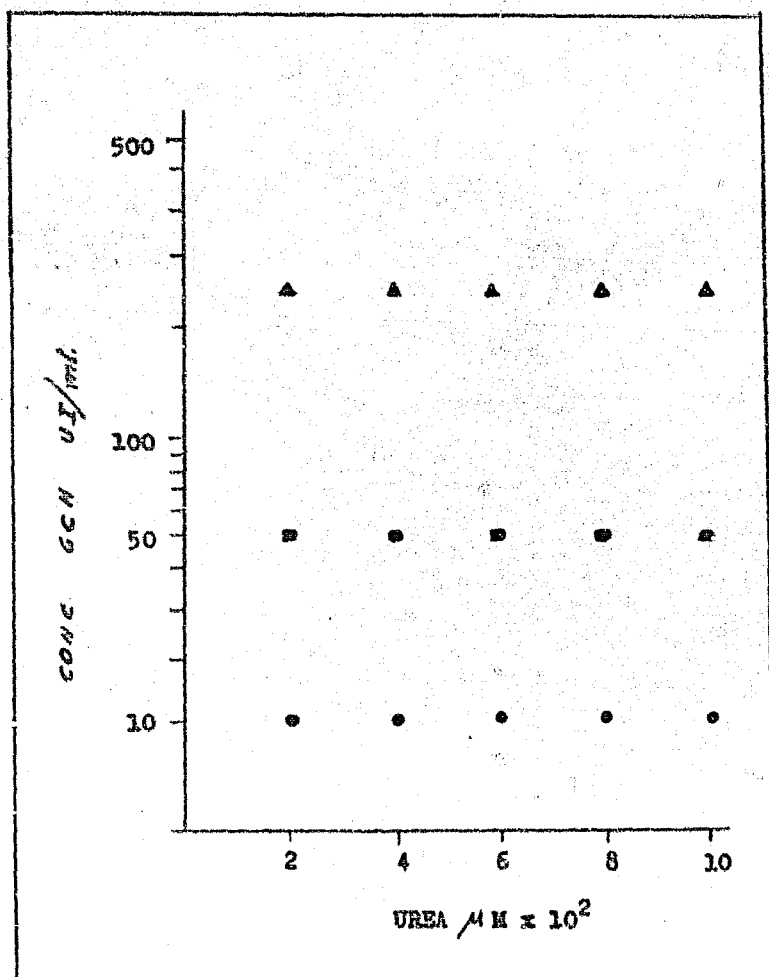
EN LAS PACIENTES EN QUE SE DETERMINARON LOS NIVELES DE ELECTROGENESIS DE GONADOTROPINA CORIONICA A DISTINTAS HORAS, NO SE OBSERVO VARIACION, ES DECIR, EXISTIO UNA ELECTROGENESIS CONSTANTE Y SOSTENIDA DURANTE EL DIA. ( FIGURA No. 3 )

FIGURA No. 3



NO SE OBSERVO EFECTO SOBRE LAS REACCIONES IMMUNOLOGICAS CON LA PRESENCIA DE UREA A CONCENTRACIONES DE 220 a 1000 MICROMOLAS/ml. (FIGURA # 4)

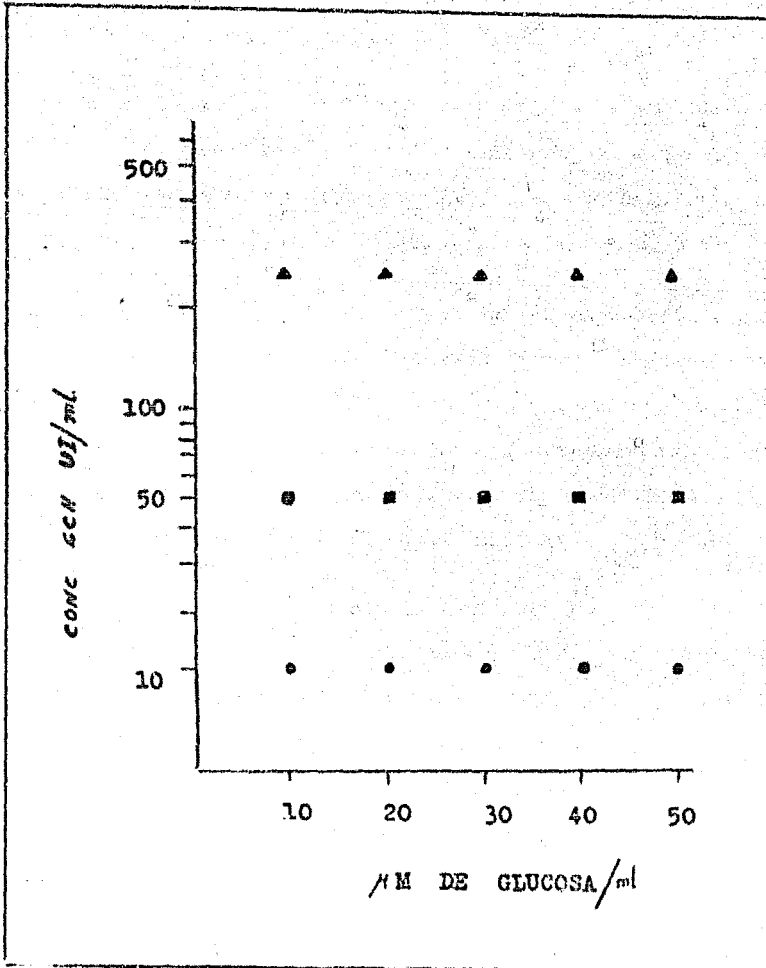
FIGURA No 4



NO SE OBSERVO EFECTO SOBRE LAS REACCIONES ENZIMATICAS CON LA PRESENCIA DE GLUCOSA A CONCENTRACIONES DE 10 a 50 MICROMOLAS/ml. (FIGURA No. 5 )



FIGURA No. 5



## 6.- DISCUSIÓN:

Los métodos inmunológicos para la determinación de los niveles de excreción urinaria de GCH tienen ventajas como son: Eliminación del problema de manejo de animales, los resultados son reproducibles, presentan una sensibilidad mayor y son más sencillos de realizar.

Se efectuaron las determinaciones en la primera orina de la mañana, apoyadas en el hecho probado por Ude y Condon de que no existen diferencias significativas entre los ensayos llevados a cabo en la orina de — 24 hs. y la de la colección de la primera orina de la mañana.

Al determinar las fluctuaciones de la excreción de GCH, distintas horas, se encontró que no existe variación en cuanto al horario en la toma de la muestra, dato que está de acuerdo con lo publicado por Wilson y colaboradores en 1949, quienes comunicaron que la fluctuación en la concentración de GCH eliminada durante las 24 hs., no depende de la velocidad de filtración renal, sino únicamente de su producción.

El producto (T) mostró mayor sensibilidad que el (P) coincidiendo con lo reportado con Benoit, Leduc y Guffrey. Estos autores publicaron una sensibilidad para (P) de 0.8 a 1 U.I./ml. de GCH, contra 0.5 a 0.62 U.I./ml. determinada en este estudio y de 0.5 U.I./ml. según Escobar y colaboradores y para el preparado (T) de 0.3 a 0.5 U.I./ml. de GCH, contra una sensibilidad de 0.310 obtenida en este trabajo, lo que nos indica, que existe una sensibilidad del doble para este último producto, es decir, detecta — concentraciones menores de GCH, si se trata de enfocar el empleo de las — pruebas con fines de diagnóstico, precoces del embarazo, se observa un estre-

cho paralelismo para las tres pruebas empleadas, aunque con mayores ventajas de las técnicas inmunológicas como lo publicó Tiets, datos que han sido corroborados clínicamente, Existe en el análisis de los resultados una mayor sensibilidad de las pruebas inmunológicas ya que detectan la GCH con actividad biológica, es decir íntegra estructuralmente, como la fracción de GCH con su determinante antigénico o derivado de la GCH; lo que explica el hecho que, en los valores encontrados, existe un 16% de pruebas con niveles mayores de GCH, datos que concuerdan con lo sospechado por Wido y Campbell, ya que con la determinación de GCH, por métodos inmunológicos, siempre se tendrán títulos mayores; así mismo, se podría sospechar que éstos títulos aumentados y mayor sensibilidad se debe a que durante el embarazo existen cambios en el metabolismo de las proteínas con modificaciones de su patrón sérico, que explica la aparición de ciertas proteínas en la orina. Estas podrían ser específicas o inespecíficas formarían parte del sistema inmunológico y no tendrían actividad biológica de GCH, sin embargo, producirían problemas, debidos a que en la preparación de los productos comerciales probablemente se presentan éstos antígenos en diferentes proporciones. Es bien conocido el hecho de que la separación y purificación de GCH es difícil, pero necesario para poder producir un anticuerpo específico para ella, que evitaría todo este tipo de reacción cruzada dando títulos más exactos.

Al tratar estadísticamente los resultados por medio de un análisis para muestras no independientes, se encontró al comparar la prueba de inhibición de la aglutinación (T) un valor de  $P > 0.9$ . Siendo claro que no hay diferencia estadística, es decir, los valores encontrados son confiables y reproducibles de acuerdo con lo reportado por Wido.



Al emplear los extractos urinaricos que tienen gonadotropinas hipofisarias, se encontró que no existía cruzar con ellas, dato que está de acuerdo con lo publicado por Tietz. Se probó la determinación de GCH con glucosa y urea, se vio que no tienen efecto a las concentraciones empleadas.

Con estos hallazgos se puede concluir que existe una sensibilidad mayor en el producto (P), aumento debido a mayor pureza de la GCH empleada para la producción de anticuerpos: además en la determinación clínica se emplea un volumen mayor de orina problema y con esto un título mayor de antígeno que al emplear (P).

Es posible que al avanzar las técnicas inmunológicas se llegue a encontrar una GCH pura y con ésta un anticuerpo específico, que haga posible un mejor empleo de éstas técnicas, sin embargo, en el momento actual no evita su utilización en la práctica clínica.

**7.- RESUMEN.**

- 1.- Se hacen algunas consideraciones respecto de la importancia de las gonadotropinas coriónicas en el embarazo .
- 2.- Se relatan las propiedades Físicas y Químicas de la gonadotropina coriónica humana.
- 3.- Se hace una breve exposición de los métodos tanto inmunológicos como — biológicos, para la cuantificación de GCH.
- 4.- Se estudiaron 100 pacientes a los que se cuantificó la GCH. encontrándose una mayor sensibilidad para el producto titulación = Titration, — debido a la mayor pureza del antígeno y al empleo de mayor volumen de — orina.
- 5.- En 10 pacientes se estudió el efecto sobre la reacción inmunológica de — sustancias como la urea y la glucosa, observándose que no interfieren — dicha reacción.

## 8.- BIBLIOGRAFIA .

- 1.- Aschheim , S.: An. J. Obst. y Gynec. 19:335,1930.
- 2.- Friedman, M.H. y Latham, H.D.: An. J. Obst. and Gynec. 21:405, 1931.
- 3.- Moto, T.A., Wiale, J.B. y Richers. H.: An. J. Obst. y Gynec. 90:859,1964
- 4.- Brody, S., y Carlstrom, G.: Clin. Endocrinol. 22:564,1962.
- 5.- Southam, A.L., Sultzer, B.J. y Cohen, H.: An. J. Obst. y Gynec. ———  
85:495,1963.
- 6.- Wide, L.: Acta Endocrinol Suppl. 70, 1962.
- 7.- Yahin, Co.: An. J. Obst. and Gynec. 23:547,1964.
- 8.- Arquilla, E.R., Stavitsky, A.B.J.: Clin. Invest. 35:458,1956.
- 9.- Read, C.H., Stone, B.D.: Amer J. Dis Child, 96:598,1958.
- 10.- Brody, S. y Carlstrom, G.: Lancet II, 99,1960.
- 11.- Brody, S. y Carlstrom, G.: Nature 189,841,1961.
- 12.- Brody, S. y Carlstrom, G.: J. Clin. Endocr. 22,564,1962.
- 13.- Mc Egan, C.M.: Amer. J. Obst. Gynec. 80,556,1960.
- 14.- Sziereczynska, Z. y Sanechowiec, E. Pol. Tyg. Lek. 15:1217,1960.
- 15.- Wide, L.: Acta Endocr. Suppl. 70, 1962.
- 16.- Wide, L. y Gansell, C.: Acta Endocr. Suppl. 35,261,1960.

- 17.- Wise, L. y Cassell, C.: Ciba Fdn. Colloq. Endocrin. 14, 296, 1962.
- 18.- Friedman, M.H. Am. J. Physiol 90:617, 1929.
- 19.- Gannon, A.F. Endocrin. 30, 79, 1944.
- 20.- Wilson, R.S. y Albert, A. y Randall, L.M.: Amer J. Obstet. Gynec. 55, 560  
1949.
- 21.- Bennett, H. Leduc, M. y Guffroy, R. d' Lille Medical No. 109, 552, Dec.  
1963.
- 22.- Tietz, M.S.: Obst. Gynec. Vol. 25 No. 2, 197, Feb. 1965.
- 23.- Turnbull, G.H.: Endocrinology 20, 311, 1936.
- 24.- Midgley, A.R., Jr.: Pierce, G.B. Jr.: J. Exptl. Med: 115, 289, 1962.
- 25.- Mc. Iaren, J.A.: Thomas, R.D.: Roby, C.G. y Reid D.E.: Am. J. Obst.  
Gynec. 63, 539, 1959.
- 26.- Hirschfeld, J. y Soderberg, V.: Nature 187, 332, 1960.
- 27.- Mansfield, R.E. y Shetlar, M.R.: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 112, 891,  
1963.
- 28.- Seal, U.S. y Doe, R.P.: Cancer Chemotherapy Rept. 16:329, 1962.
- 29.- Goss, D.A.: Taylor, M.L.: Fertility y Sterility. Vol. 16 No. 2, 1965.
- 30.- Lorraine A.J. Assays of HCG in relation to Clinical Practice J. Reprod  
Vert. 12, p. 23-31, 1966.
- 31.- Corral G.J. Zapinoza de los Reyes V., Rosiles R.M. Correlación Clínica  
de 657 determinaciones de CGH Memoria, Primera Jornada Médica Bienal,  
Tomo II, p. 427-433. 1964.