

11262

IMP. DE LA UNIV. NAC. DE MEX. 2 ej 4
DISTRIBUCION AL IN PER



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
Instituto Nacional de Perinatología
S. S. A.

DEPURACION DE SUBUNIDADES ALFA Y BETA HCG EN
RECIENTE NACIDOS

T E S I S

Que para obtener el grado de
MAESTRIA EN CIENCIAS MEDICAS

presenta

DRA. HORTENSIA HERNANDEZ ORTEGA



INPer México, D. F.

1988

FALLA DE ORIGEN



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.

C O N T E N I D O

PAG.

1.- ANTECEDENTES	1
1.1.- INTRODUCCION	
1.2.- CARACTERISTICAS MOLECULARES	2
1.3.- ACTIVIDAD BIOLOGICA	4
1.4.- CUANTIFICACION DE hCG	5
1.5.- METABOLISMO Y EXCRECION	6
1.6.- hCG EN EL RECIEN NACIDO	7
2.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	10
3.- HIPOTESIS	10
4.- OBJETIVOS	10
5.- MATERIAL Y METODOS	11
6.- RESULTADOS	14
7.- DISCUSION	16
8.- CONCLUSIONES	23
9.- BIBLIOGRAFIA	24

1.- ANTECEDENTES:

1.1.- INTRODUCCION

Los estudios que llevaron al descubrimiento de la hormona gonadotropina coriónica (hCG), se iniciaron en Japón en 1917, cuando Hirose (1,2) implantó extractos de placenta humana de término en ovario y útero de conejos -- mostrando que había luteinización; diez años después Murati y Adachi (1,2) señalaron que la luteinización era mayor con extractos de trofoblasto de embarazadas del primer trimestre; en forma independiente también en 1927, -- Aschheim y Zondek (1,2) en Alemania, reportaron que la orina de mujer embarazada, originaba desarrollo folicular sobre el ovario de roedores, hemorragia ocasional y formación de cuerpo lúteo. Por su doble acción folicular y luteinizante Zondek consideró que eran dos sustancias a las que nombró Prolán A y Prolán B. Posteriormente se demostró que existían claras diferencias biológicas entre la hormona hipofisiaria y la urinaria, concluyéndose que era un solo producto que por su actividad sobre las gónadas y su origen placentario se denominó gonadotropina coriónica.

El interés por esta hormona se hizo expansivo cuando se constató su utilidad en la práctica clínica para el diagnóstico de embarazo; actualmente se conoce además que es producida en otras especies y que es muy antigua en la

Hernández, O.H.

por inhibidores de la síntesis de DNA, en forma inicial son glucosiladas con oligosacáridos que contienen manosa, glucosa y N-acetil glucosamina, después es modificada por adición de moléculas carbohidratadas de tipo terminal como galactosa y ácido siálico (7-10). hCG se interrelaciona estrechamente con otras moléculas glucoproteicas constituidas por dos subunidades semejantes como la hormona luteinizante (LH), la hormona folículoestimulante (FSH) y la hormona estimulante del Tiroides (TSH) con las que tiene semejanzas estructurales, en especial con la subunidad alfa, donde su secuencia de aminoácidos es casi idéntica. La subunidad beta tiene 97 aminoácidos idénticos en su secuencia a los de LH, de la que difiere por la presencia de un péptido de 30 aminoácidos en el extremo carboxiterminal, ausente en LH.

En la estructura de las subunidades para las 4 hormonas proteicas homólogas, se encuentran 3 regiones variables y dos constantes. Para hCG las regiones constantes residen en los residuos 16-38 y 56-100, estos dominios proporcionan la estructura para la unión de subunidades, Las regiones variables corresponden a los residuos 1-15; 39-55 y 101-145. Al purificar la hormona se encuentra heterogeneidad tanto en su contenido de carbohidratos como en su porción aminoterminal. Se ha sugerido que la síntesis de la subunidad beta, puede ser el factor limitante de su producción (10-15).

1.3. ACTIVIDAD BIOLÓGICA

La actividad biológica conocida de hCG, yace en la subunidad beta de la molécula íntegra, interviene en la esteroidogénesis fetal por acción directa sobre el colesterol y su conversión a pregnenolona y progesterona; en la hidroxilación de c-19 y por acción directa sobre los receptores de la zona fetal de suprarrenales y de testículo, con el consecuente incremento de dehidroepiandrosterona y testosterona respectivamente, además de la actividad luteinizante que llevó a su descubrimiento. En la subunidad alfa se ha encontrado que existe un sitio a través del cual activa adenilato ciclasa que media la actividad tirotrópica de hCG (9-15). En el feto existen receptores para la subunidad beta hCG en glándulas suprarrenales y testículos, se producen subunidades alfa y beta en hígado y riñón fetales donde se sintetiza hormona biológicamente activa, siendo más bioactiva in vitro, la de riñón que la de placenta y otros tejidos fetales. El que el feto sintetice hormona bioactiva hace suponer que tenga un papel regulador. En el caso del timo donde se encuentran concentraciones elevadas de la hCG, se ha postulado su conexión con el desarrollo de la respuesta inmune. Se han encontrado también en otros tejidos como intestino y pulmón, aunque no se ha establecido hasta el momento su papel (24-28).

Hernández, O.H.

El hecho notable de que la producción de la subunidad alfa se incrementa en el segundo semestre y que la hipófisis fetal sea responsable en gran parte de su producción así como que en el último trimestre en el feto existe incremento de la subunidad alfa hipofisiaria y pequeñas cantidades de subunidad beta-hCG, sugiere que la subunidad alfa puede tener actividad biológica.

1.4 CUANTIFICACION DE hCG

Aunque se han empleado métodos biológicos para estudiar la actividad biológica y anticuerpos monoclonales anti hCG intacta o contra las subunidades libres de hCG, lo que ha permitido reconocer sitios antigénicos e indirectamente algunos receptores (13-18) sigue siendo de interés cuantificar la hormona; para ello se empleó primero la técnica de hemaglutinación (29) posteriormente el radioinmunoanálisis (RIA) éste último es el más eficaz para su cuantificación, porque permite detectarla en pequeñas cantidades en circulación (30-33). El RIA es un método de análisis cuantitativo que introdujeron Yalow, R. y Berson, S. en 1959 (32), está dado por una reacción antígeno-anticuerpo cuya base es la inhibición competitiva de la unión de la hormona marcada al anticuerpo, por la hormona no marcada contenida en estándares o muestras desconocidas. Se determina en tubo de ensayo, puede efectuarse en varias muestras al mismo tiempo y en cualquier laboratorio equipado para medir radioactividad. Desde su -

Hernández, O.H.

introducción ha demostrado ser confiable y es el más aceptado por su accesibilidad, disponibilidad y especificidad. El RIA es altamente específico cuando el antisuero reacciona únicamente con la hormona en estudio y no con otras de características similares, sin embargo como el RIA es una técnica determinada por la antigenicidad de su molécula, la presencia de moléculas de estructura similar puede afectar la exactitud de los resultados (34)

1.5.- METABOLISMO Y EXCRECION

En estudios de cinética y depuración de la hormona, tanto en varones como en mujeres embarazadas a los que se les administra la hormona en forma exógena, con cálculos de volumen inicial de distribución y vida media de sus componentes, así como en mujeres durante el postparto a las que se mide la hormona endógena, se ha encontrado -- que la curva de desaparición tiene dos componentes que se designan como rápido y lento, con una vida media más prolongada que la mayoría de las hormonas glucoproteicas por su contenido de ácido siálico. Cuando se compara la desaparición de la molécula íntegra de hCG y sus subunidades, la subunidad alfa es la que desaparece más rápidamente, después de su contraparte la subunidad beta y al final la molécula íntegra, vinculando la mayor lentitud en su degradación con la cantidad proporcional de áci

do siálico en su molécula. A mayor cantidad de ácido siálico, menor velocidad de desaparición plasmática. Al metabolizarse la hormona, se encuentran en orina moléculas más pequeñas e híbridos de ambas subunidades de hCG (35-38). Sin embargo en la subunidad α libre y la subunidad α disociada de hCG intacta se encuentran cifras similares de desaparición a pesar de sus diferencias en el contenido de ácido siálico (39).

1.6. - hCG EN EL RECIEN NACIDO

Los primeros datos obtenidos corresponden a la década de los sesenta, donde se cuantificaron valores séricos de la hormona íntegra en cordón umbilical, observándose una diferencia significativa entre los valores de arteria y vena, con ligero incremento venoso, lo que no se confirmó en estudios posteriores (40-42). Además se encontró que la administración parenteral de hCG condicionaba incremento urinario de dehidroepiandrosterona con excreción media urinaria de 3 a 6% de la dosis administrada reportando que también se excretó en meconio y heces durante el primer día de vida. Al estudiar las unidades alfa y beta en cordón, se encontraron niveles más altos de alfa hCG que beta hCG y hCG íntegra mayores que de LH y FSH sin correlación con los niveles maternos. Al estudiarse la hipófisis fetal, destacó una mayor producción de subunidades alfa que beta con incremento sérico propor

Hernández, O.H.

cional, en suero fetal y líquido amniótico se ha reportado una elevación clara de hCG antes de las 12 semanas de edad gestacional en contraste con niveles muy bajos de FSH y LH por lo que se ha sugerido que sea responsable del estímulo primario para las células de Leydig, el incremento de testosterona y la consecuente diferenciación masculina (20,21). El análisis de hormonas en los primeros siete días de vida reflejó incremento de hCG a las 2 horas de vida postnatal y el análisis cromatográfico mostró que las subunidades alfa, incluyendo el estudio de LH eran principalmente de hCG (42-48). En cultivos de tejidos al estimularse testículos fetales humanos con hCG, éstos son capaces de responder a altas dosis y por largos períodos de tiempo sin ser desensibilizados como en el adulto, lo que refleja el papel que puede tener hCG en su regulación durante la vida intrauterina (49). En niños de un año o mayores destacó la ausencia sérica de subunidades alfa y cierta diferencia en la concentración de gonadotropinas durante los primeros 4 años de vida (22) habiéndose relacionado también el inicio de la pubertad con un incremento de la sensibilidad testicular a hCG (23).

Recientemente se encontró un incremento significativo de alguna de las dos subunidades en relación con patología específica; así por ejemplo se observó un incremento de subunidades alfa en embarazadas con aborto inevitable, embarazo ectópico, diabetes, eclampsia y retar-

Hernández, O.H.

do en el crecimiento intrauterino (50) y se ha encontrado incremento de la subunidad beta y testosterona en hijos de madres diabéticas (51) habiéndose reportado previamente incremento de los niveles séricos de hCG en cordón umbilical en casos de isoimmunización; (41) falta sin embargo descifrar cual es el significado de las alteraciones señaladas.

Sobre la desaparición del suero de las subunidades hCG beta en el recién nacido, sólo encontramos en el trabajo de Reyes y col. (52), en él se reporta una depuración biexponencial en neonatos y sus madres, con un componente rápido de 4.75 ± 0.58 H. para las madres y un componente lento de 32.2 ± 1.35 H; con cifras de 1.32 H y - 55.2 H. para los componentes respectivos en el recién nacido. No se tiene una explicación clara sobre esta disociación.

2.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Aunque existe información sobre la producción de la gonadotropina coriónica en el neonato, no existen reportes sobre la depuración de sus subunidades ni de sus curvas de desaparición en suero, lo que indirectamente proporciona información sobre su producción y excreción; ésto se considera de importancia para llegar a entender el posible papel de hCG en el recién nacido.

3.- HIPOTESIS

Si en el recién nacido las subunidades α y β hCG se metabolizan y excretan en forma independiente su curva de desaparición del suero debe diferir entre sí y ser diferente a las ya conocidas para otras edades.

4.- OBJETIVOS

- 1.- Analizar las curvas de desaparición en suero de las subunidades alfa y beta hCG inmunoreactiva endógena en recién nacidos, considerados clínicamente sanos durante las primeras 36H. de vida.
- 2.- Obtener cifras de depuración para las subunidades de hCG inmunoreactiva endógena.

5.- MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron 82 recién nacidos clínicamente sanos, de término por fecha de última menstruación (FUM) y Capurro, (53) eutróficos con valoración de Apgar al minuto y 5 minutos de 8 ó más, que procedían de madres clínicamente sanas, con embarazo de evolución normal y parto eutócico; se tomaron muestras de sangre de cordón y horarias por punción venosa, se les fué acumulando hasta ir cubriendo los diferentes espacios de tiempo diseñados para el estudio (1,2,3,4,6,8,10,12,18,24 y 36 Horas). Se centrifugaron a 1500 rpm. (226.39 g). se separaron y almacenaron a -20°C hasta su análisis.

Inmediato al nacimiento, se colocó una bolsa comercial de plástico, colectora de orina. Al obtenerse la primera muestra se cuantificó, centrifugó, separó y almacenó. Se colocó otra bolsa al niño con una sonda de alimentación K-731 en su interior para extraer la orina, cuantificarla y colocarla en frasco de recolección 24 horas, que se separó en dos alícuotas. Al cumplir el niño 24 horas se le tomó muestra de sangre en dos tubos. Las muestras de sangre y orina se centrifugaron, separaron y una se procesó para determinación de creatinina y la otra se almacenó para cuantificación de hCG.

En todos los casos se verificó el estado de salud -

Hernández, O.H.

del neonato y su evolución. Sólo se incluyeron en el estudio los neonatos que fueron autorizados por sus madres a las que se les explicó en que consistía dicho estudio.

RADIOINMUNOANALISIS: Las muestras se procesaron por RIA, con el método del doble anticuerpo, usando el 2-IRP como estándar de referencia. Para la cuantificación de la subunidad beta, hCG-125, los estándares y el anticuerpo anti-beta fueron obtenidos de Amersham, USA, que tiene una sensibilidad aproximada de 1.0 ng/ml (5.0mUI/ml). La hormona de Amersham mostró una discreta reactividad cruzada con LH, como se observa en la Tabla 1. Para la cuantificación de la subunidad alfa, la gonadotropina coriónica purificada utilizada como preparación de referencia así como para su iodación y el antisuero anti-alfa, fueron un obsequio de la Agencia Nacional de la Pituitaria, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, U.S.A.: la sensibilidad del ensayo fué de 5.0 ng/ml (50.0 mUI/ml) con una actividad específica de 70mci/mg. Para esta subunidad se efectuaron evaluaciones de reacción cruzada empleando las hormonas más parecidas estructuralmente a hCG, como LH, FSH y TSH (54). El anticuerpo se tituló empleando diluciones que variaron de 1:200 a 1:10.000 donde se obtuvo el 50% de precipitación. Al terminar cada ensayo para ambas unidades se efectuó transformación matemática logit-log (34) y los valores se obtuvieron por traspolación a la curva estándar correspondiente. Los resultados se so-

Hernández, O.H.

metieron a análisis estadístico obteniéndose coeficiente de variación intra e interanálisis, coeficiente de correlación para la evaluación de linealidad logit-log y la prueba de F.

Los cálculos efectuados para la determinación de depuración plasmática de subunidades de hCG, se hicieron aplicando el modelo matemático de dos compartimentos después de linearizar los valores y aplicar regresión lineal para obtener el intercepto y la pendiente. La fórmula empleada fué: $CD = Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t}$, en la que A y alfa se refieren a los valores que integran el componente rápido, B beta a los valores que integran el componente lento, CD a la concentración en suero y t es igual a tiempo. Las tasas de depuración renal se calcularon como sigue: $CR = U / 240 (C) dt$, donde U es la cantidad de subunidades de hCG excretadas por orina durante 1440 minutos y C es la concentración de subunidades en suero, descrita por la ecuación de la curva de desaparición del suero. La determinación de creatinina se efectuó por el método colorimétrico de Bartels (55); todas las muestras se incluyeron por duplicado.

Para el control de calidad se empleó suero control de referencia en el rango de una desviación estándar, además se determinó la reproducibilidad de algunas muestras al azar, al día siguiente de su análisis y se obtuvo el coeficiente de variación interanálisis y del observador.

6.- RESULTADOS:

La unión del 50% de la hormona radiactiva, se obtuvo con una dilución de 1:1000 que fué con la que se trabajó durante los RIA. Los datos se metieron a computadora para obtener la curva estándar para cada RIA y se utilizó la representación logit-log. Los coeficientes de variación intra e interensayo para todos los RIA en ambas subunidades fueron menores del 10%. Las cifras obtenidas para valores individuales de alfa y beta hCG se muestran en las gráficas 1A y B donde es evidente que las concentraciones de alfa hCG son mayores que las de beta hCG; también se muestra la rápida disminución de las concentraciones séricas de beta hCG, alcanzando los niveles de sensibilidad del estudio de 5 mUI/ml, desde las 4 horas de vida. Los niveles séricos de alfa hCG disminuyen en la primera hora y se mantienen por arriba de los niveles de sensibilidad del estudio de 50mUI/ml aún a las 36 horas de vida.

La depuración promedio calculada para creatinina de las muestras del estudio fué de 1.43 ml/min de estas mismas muestras la depuración calculada para alfa hCG fué de 1.32 ml/min. No se obtuvo beta hCG en las muestras de orina, por no ser suficiente la sensibilidad del ensayo para detectarla. Para la determinación de creatinina el coeficiente de variación del observador fué menor del 5%.

Hernández, O.H.

En la gráfica número 2 A se muestra el promedio y desviación estándar (d.s.) del peso y talla de los recién nacidos en estudio donde se observa que el peso promedio de los recién nacidos fué de 3,100 g con una d.s. de 400 gramos y talla de 50 cms. con d.s. de 2 cms. que corresponden a los valores promedio considerados como normales en nuestra población.

7.- DISCUSION:

Aunque se refiere que algunos recién nacidos normales no presentan micción durante las primeras 24 a 48 horas de vida (56), en el estudio se obtuvo diuresis en los recién nacidos, probablemente por el esquema de alimentación temprana establecido, con inicio de soluciones en cavidad gástrica desde las 2 horas de vida; al corregir por peso y edad gestacional el volumen urinario fué normal, - al igual que las características reportadas por tira reactiva en el momento de recoger la muestra. Se efectuó la depuración de creatinina para valorar función renal del grupo de estudio y comparar con cifras previamente establecidas para grupos de características similares, obteniéndose cifras dentro del rango de referencia establecido como normal (57).

Existe poca información sobre el papel de la hCG en el feto y el recién nacido ya que se ha tendido a diferir su estudio al considerar la actividad biológica conocida de la hormona, aún cuando desde hace tiempo se relaciona con la diferenciación sexual. Existen algunas hipótesis - que relacionan la presencia de hCG en el timo con el inicio de la respuesta inmune, atribuyéndole un papel regulador (26). Se acepta que las subunidades alfa de hCG no tienen actividad biológica, sin embargo es relevante el que la hipófisis fetal aumente su producción en el tercer

Hernández, O.H.

trimestre, lo que orienta a pensar que tiene un significado biológico aún no descifrado con base a que la naturaleza no produce nada que no necesite, al igual que la presencia en suero de hCG en sujetos normales sin embarazo y el incremento de sus subunidades en sujetos con tumores trofoblásticos (58-61), no se ignora la hipótesis que apoya que puede tratarse de un fenómeno de "memoria ancestral" aún no demostrado y la influencia genética racial.

En trabajos clínicos se facilita el estudio de hCG por la gran estabilidad que tienen la hormona y sus subunidades (62). Por otra parte es difícil el estudio de la subunidad alfa por su semejanza estructural con otras moléculas alfa como TSH, LH, FSH, lo que requiere de estudios posteriores para obtener técnicas con mayor especificidad, con escasa reacción cruzada. En el grupo de recién nacidos del estudio, se encontró mayor concentración de subunidades alfa que beta lo que va acorde con la relación encontrada en la madre para ambas subunidades (54,63, 65). Se encontró una vida media mayor para alfa hCG que beta hCG en contraste con lo descrito para madres en el postparto y en adultos a los que se les administra exógenamente. La media y desviación estándar de los grupos estudiados muestran heterogeneidad horaria que está dada por un rango muy amplio que también observamos en la literatura para la subunidad beta y que puede corresponder al

rango normal de la población. Tabla 2 y 3.

No tenemos una explicación adecuada para el hallazgo de vida media más prolongada para la subunidad alfa en el neonato, aunque ello puede deberse a:

A).- Que el recién nacido curse con alguna deficiencia enzimática para metabolizar las subunidades alfa. - Existe la evidencia en el recién nacido pretérmino, término y postérmino, que una deficiencia hepática transitoria de la glucuroniltransferasa 6 de las proteínas Y ó Z - originan aumento de las bilirrubinas en el suero, que se presenta por falta de madurez adecuada de esta vía metabólica (66-67). Al considerar que las subunidades de hCG - tienen diferente cantidad de oligosacáridos, que están -- unidas en forma no covalente, esto es, que fácilmente se pueden separar dichas subunidades y por tanto puede metabolizarse cada subunidad independientemente, sin tener - que hacerlo como hormona íntegra; que su degradación extracelular por hepatocitos se relaciona con la cantidad de carbohidratos en las moléculas, mismos que protegen a las subunidades ensambladas y no ensambladas dándole una variación en su conformación, por la que pueden, o no, - estar sujetas a la acción de algunas enzimas y a que la disminución de estos carbohidratos, puede representar menor activación de los receptores de la membrana que permite la internalización al hepatocito (68-69). Es posible -

Hernández, O.H.

que existan diferencias metabólicas para cada una de las dos subunidades y que por falta de madurez sea menor el metabolismo en la subunidad alfa.

B).- Las moléculas de alfa hCG en recién nacido son más largas o híbridos con mayor cantidad de ácido siálico y mayor lentitud para degradarse. Además de las especies conocidas de hormonas glucoproteicas existen otras más largas con propiedades químicas y físico-químicas diferentes que se han encontrado en líquidos biológicos (70 - 72). Aunque pueden producirse especies -- moleculares más largas de hCG en tejido placentario, también pueden producirse subunidades alfa más largas que las subunidades alfa correspondientes, que normalmente forman la molécula íntegra de hCG biológicamente activa. Estas subunidades se producen tanto en su tejido de origen como es el trofoblasto, como en otros tejidos distintos al de origen como intestino, pulmón, etc., por lo que se les denomina a las primeras eutópicas y a las segundas ectópicas (73 - 74). Se ha demostrado que las sub-unidades alfa son más largas por exceso de glucosilación, más que por residuos de aminoácidos. En la glucosilación predomina el ácido siálico y éste es el responsable de la mayor lentitud para degradarse que tiene hCG con respecto a otras hormonas glucoproteicas (75 - 80). Por otra parte, también se ha demostrado que si se unen las moléculas alfa más largas con beta normal para formar la molécula ín

Hernández, O.H.

tegra, tiene menor actividad biológica; que las características fisiológicas de hCG en el recién nacido difiere de las otras edades y que existe microheterogeneidad molecular de la subunidad alfa tanto por algunos residuos de aminoácidos como por algunos oligosacáridos, por lo que parece lógico que si en el recién nacido las subunidades alfa se degradan con mayor lentitud, se deba a que existen moléculas alfa más largas por mayor cantidad de ácido siálico.

Podría objetarse que en el tercer trimestre, el recién nacido produce por la hipófisis una mayor cantidad de subunidades alfa que beta, al igual que en la madre al final del embarazo, es más abundante la subunidad alfa - que la beta, lo que ha llevado al descubrimiento de un origen génico diferente para ambas subunidades, que puede apoyarse por trabajos experimentales, donde se ha demostrado que mientras la producción de subunidad alfa requiere un solo gen que reside en el cromosoma 18, la subunidad beta hCG es codificada por 8 genes distintos (68), siendo más abundante la subunidad α podría sugerir que el incremento de producción de un gen, llevaría al aumento de subunidad α circulante y por tanto a mayor lentitud en su eliminación, sin embargo esto no puede sustentarse ya - que se insiste que en la madre, al final del embarazo, es más abundante la subunidad alfa que beta y al estudiar la depuración de la hCG reactiva endógena, el comportamiento

Hernández, O.H.

de dichas subunidades en el puerperio es diferente al del neonato, como se ha comentado previamente.

C).- La distribución por compartimientos de las subunidades beta difiere por una mayor utilización tisular y la consecuente desaparición del suero. En estudios estructurales con anticuerpos monoclonales contra la gonadotropina coriónica y sus subunidades, se ha señalado -- la influencia de residuos específicos sobre los pliegues de proteínas que participan en la unión con el receptor -- ó la interacción entre subunidades, que los sitios anti--génicos de una proteína son localizados más probablemente sobre regiones muy móviles de la estructura de la proteína, que dichas regiones se presentan en la superficie de las proteínas y corresponden a las partes más accesibles de la molécula (81). Por otra parte se refiere que la subunidad alfa lleva determinantes antigénicos especie-específicos y la subunidad beta-hormona-específicos. En total se han definido 9 epítopes, 3 de ellos en la subunidad alfa, 4 sobre beta y 2 epítopes conformacionales que sólo -- se encuentran en la molécula intacta (68); además al estudiar la estructura de los oligosacáridos de subunidades -- alfa, se concluye que hCG tiene grupos sulfatados diferentes a los que tienen otras moléculas glucoproteicas. (82) y probablemente carece de fucosa. Estas propiedades estructurales confieren características conformacionales -- que sin duda influyen en su actividad antigénica y en su

Hernández, O.H.

estimulación a receptores para lograr la internalización y utilización celular; dado que se ha comprobado que la actividad biológica conocida de la hormona reside en la subunidad beta (83-85) y puesto que existen residuos específicos de influencia prominente en la unión al receptor o la interacción de subunidades, no es remoto considerar que puede utilizarse más rápidamente una subunidad que otra y ésto puede explicar los resultados obtenidos en este trabajo.

D).- Que exista reacción cruzada con otras subunidades alfa como la de TSH que se incrementa al nacimiento. Esto es remoto por la especificidad del anticuerpo empleado y por los estudios cromatográficos de Geiger quien al estudiar las subunidades alfa de las glucoproteínas encontró que en el recién nacido eran principalmente α hCG (43).

Hernández, O.H.

8.- CONCLUSIONES:

En los recién nacidos estudiados, la subunidad alfa mostró mayor lentitud para desaparecer en suero que la subunidad beta hCG. La explicación para este hallazgo puede residir en la alteración enzimática propia de esta edad, para metabolizar las subunidades alfa o en cambios estructurales propios de la misma subunidad que impidan su internalización o generen mayor lentitud para su degradación.

**TABLA 1.-ACTIVIDAD CRUZADA DE ANTI B-hGC
CON OTRAS HORMONAS GLUCOPROTEICAS**

HORMONA	% DE ACTIVIDAD CRUZADA
LH	1.58
FSH	0.71
TSH	0.44

DEPURACION DE SUBUNIDADES BETA EN R.N. VALORES INDIVIDUALES Y PROMEDIOS

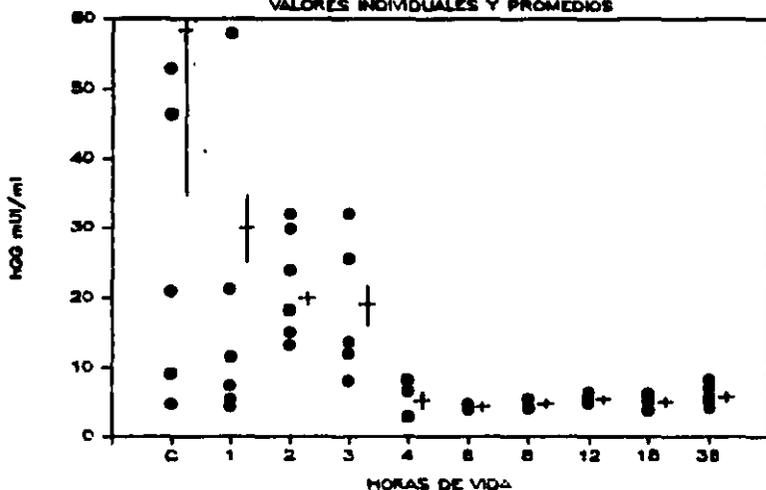


fig. 1 A El comportamiento de desaparición de los niveles - plasmáticos de subunidad beta, muestra un componente bifásico de eliminación, que después de aplicar el modelo matemático - correspondiente fué de 30 min. para el componente rápido y de 6 hs para el componente lento. Los niveles de sensibilidad del ensayo se alcanzan desde las 4 hs.

† media y error estandard

DEPURACION DE SUBUNIDADES ALFA EN R.N.

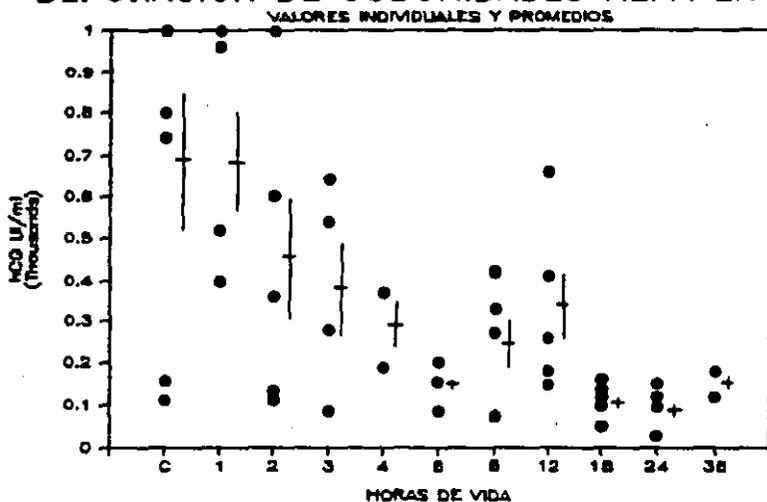


fig.1 B El comportamiento de desaparición de los niveles plasmáticos de subunidad alfa hCH, muestra un componente bifásico de eliminación. Es notorio que a las 36 hs no se ha alcanzado el nivel de sensibilidad del ensayo y que en general la eliminación de la subunidad alfa del plasma es más lenta que la subunidad beta.

+ media y error estándar

PESO Y TALLA DE RECIEN NACIDOS

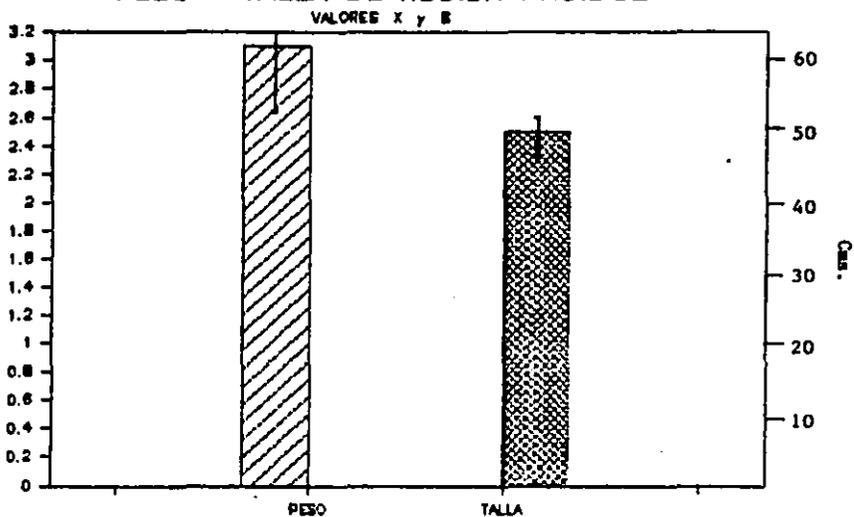


fig 2 El \bar{x} y s del estudio muestran homogeneidad de la muestra en cuanto a indicadores de peso y talla.

TABLA 2.
CUANTIFICACION POR RIA DE LA MOLECULA
INTEGRA DE hCG Y SUS SUBUNIDADES ALFA
Y BETA DE ACUERDO A DIFERENTES AUTORES.

AÑO	AUTOR	MUESTRA	hCG	VALORES \bar{x}	RANGO
				mIU/ml	mIU/ml
1968	MIDLEV	CORDON	mol.INTEGRA	51	—
1972	CRASIGNANI	CORDON	mol.INTEGRA	27	—
1975	WINTER	TALON 7 dias	mol.INTEGRA	52	20-800
1975	NAGEN	CORDON	sub.ALFA		43-114
			sub.BETA		4.3
1985	NEVES	CORDON	sub.BETA		5-4700
			TALON		sub.BETA
1987	HERNANDEZ	CORDON	sub.ALFA	607	110- 1000
			sub.BETA	54.6	5-445
			sub.ALFA		27-1000
			sub.BETA		5-12.9

**Tabla 3.
COMPARACION DE VALORES DE DEPURACION DE
hCG EN MUJERES POSTPARTO Y EN RECIEN
NACIDOS DE ACUERDO A DIFERENTES AUTORES.**

I. POSTPARTO

AUTOR AÑO hCG COM.RAP. COM.LEN. VIDA MEDIA

MIDDLEY	1968	*	8.4h	37.8h	
REYES	1985	®	4.75h	32.0h	
RYALA R.	1987	()	2.65h ± 0.83	41.0h ± 23.4	23.5h ± 12.7

II. RECIEN NACIDOS

MIDDLEY	1968	*	8.1	15.7h	
REYES F.	1985	®	1.35 h	55.0h	
NEDEZ.	1987	®	0.8 h	10.0h	12.0h
		®	0.3 h	0.8h	2.0h
() EN PRENDA		* PML. INTEGRAL		® SUB.ALFA	® SUB.BETA

B I B L I O G R A F I A

- 1).- Hertz R: Early studies of chorionic gonadotropin and antihormones in Chorionic Gonadotropin. Plenum Press New York and London. 1-15.1980.
- 2).- Hertz R: Choriocarcinoma and related gestational trophoblastic tumors in women. Raven Press 1978.
- 3).- Acevedo HF, Slifkin M, Pouchet GR, Pardo M. Immuno--histochemical localization of a choriogonadotropin - like protein in bacteria isolated from cancer patients. Cancer 1978, 41:1217.
- 4).- Maruo T, Segal SJ, Koide SS: Studies on the apparent human chorionic gonadotropin like factor in the crab *Ovalipes o cellatus*. Endocrinology 1979, 104: 932.
- 5).- Koide SS, Maruo T, Cohen H, Segal SJ: Gonadotropin - produced by a microorganism in Chorionic Gonadotropin. Plenum Press New York and London.421-433.1980.
- 6).- Ulloa A, August A; Golos T.G; Kaos LCH; Sakuragi N, Kli man H, Strauss III J:8-Bromo-adenosine 3'5 - monophos fate regulates expression of chorionic gonadotropin and fibronectin in human cytotrophoblasts. Jof Clin Endoc and Metab, 1987, 64:5,1002-1008.
- 7).- Kourides IA; Hofman BJ; Landon MB:Difference in Glycosylation between secreted and pituitary free subunit of the glycoprotein hormones. Jof Clin Endocri nol. 1980; 51:1372- 1377.

Hernández, O.H.

- 8).- Maruo T: Studies on in vitro synthesis and secretion of human chorionic gonadotropin and its subunits. Endocrinol. Japon 1976, 23:2;119-128
- 9).- Ross GT: Clinical Relevance of Research on the structure of human chorionic gonadotropin. Obstet Gynecol. 1977, 129: 7; 795-808.
- 10).- Hussa R.O.: Biosynthesis of human chorionic gonadotropin. Endocrine Review. 1980; 1:3; 268-294.
- 11).- Landefeld T., Boguslawskis, Coras HL, Boime I: The cell-free synthesis of the alfa subunit of human chorionic gonadotropin. Endocrinology 1976,98:5; 1220-1227.
- 12).- Birken S. Canfield R: Chemistry and Immunochemistry of hCG in Chorionic Gonadotropin. Segal SL.edit. Plenum Publishing New York and London. 65-68. 1980.
- 13).- Poulton NT, Gard T. and Chard T.: Monoclonal antibodies to human chorionic gonadotropin. Implications - for antigenic mapping, immunoradiometric assays and clinical applications. J. of Clin Endoc and Metab. 1985 61; 1031-1038.
- 14).- Stuart MC. Underwood PA, Harman DF, Payne KL, Rathjen DA, Razziudins, Von Sturmer SR, Vines K.: The production of monoclonal antibodies to human chorionic gonadotropin and its subunits. J. Endoc. 1983,98:323-330.

- 15).- Amr D, Shimohigashi Y, Carayon P. Chia Chen H, Nisu la B.: Sialic acid and residues of the alfa subunit are requerided for the thyrothropic activity of hCG Biophys Res Comm, 1982, 109, 1; 146-151.
- 16).- Catt KJ, Dufau ML, Tsuruhara T: Radioligand receptor Assay of luteinizing hormone and chorionic gonadotropin, J. Clin Endocr 1972, 33:123-132.
- 17).- Catt KJ, Dufau ML, Tsuruhara T: Studies on a radioligand-receptor assay system for luteinizing hormone and -- chorionic gonadotropin. J. Clin Endocr 1971, 32:860-863.
- 18).- Lee CY, Ryan RJ: Radioceptor assay for human chorionic gonadotropin. J Clin Endocr Metab. 1975,40:2; - 228-233.
- 19).- Tulchinsky and Ryan: Maternal Fetal and endocrinology, Saunders. 17-26, 1980.
- 20).- Clemente JA; Reyes FI; Winter SD; Faiman C: Studies on human sexual development III fetal pituitary and serum, and amniotic fluid concentrations of LH CG - and FSH. J. Clin Endoc Metab 1976; 42: 1,9-19.
- 21).- Reyes FI, Boroditsky RS, Winter JS, Faiman C: Studies on human sexual development II. Fetal and maternal serum gonadotropin and sex steroid concentrations, J Clin Endocr Metab, 1974, 38:4, 612-617.

ESTA NO HAY TESIS EN LA BIBLIOTECA

Hernández, O.H.

- 22).- Penny R, Olambiwonnu NO, Frasier D: Serum gonadotropin concentrations during the first four years of life. *J. Clin Endocr Metab* 1974, 38:2,320-321.
- 23).- Forest MG: Pattern of the response of testosterone and its precursors to human chorionic gonadotropin stimulation in relation to age in infants and children. *J. Clin Endocr Metab* 1979, 1:49, 132-140.
- 24).- Kaplan SI, Grumbach MM, Aubert ML: Alfa and beta glycoprotein hormone subunits (hLH,hFSH,hCG) in the serum and pituitary of the human fetus. *J. Clin Endocr Metab*. 1976. 42:995, 998.
- 25).- Mc Gregor WG, Kuhn RW, Jaffe RB: Biologically active chorionic gonadotropin: Synthesis by the human fetus. *Science* 1982. 220: 306-308.
- 26).- Huhtaniemi IT, Korenbrot CC, Jaffe RB: Content of chorionic gonadotropin in human fetal tissues. *J. Clin Endocr and Metab* 1978, 46:6;994-997.
- 27).- Mc. Gregor WG, Raymoure WJ, Kuhn RW, Jaffe RB: Fetal tissue can Synthesize a placental hormone. *J. Clin Invest*. 1981, 68:306-309.
- 28).- Huhtaniemi IT, Korenbrot CC, Jaffe RB: hCG binding and stimulation of testosterone biosynthesis in the human fetal testis. *J. Clin Endocr Metab* 1977, 44: 963: 963-967.

Hernández, O.H.

- 29).- Mishell DR, Wide LBM, Gemzell CA: Immunologic determination of human chorionic gonadotropin in serum. Clin Endocr and Metab 1963,23:2; 125-131.
- 30).- Píklér GM: El Radioinmunoensayo Rev. Inv Clínica - 1973,25:1; 51-66.
- 31).- Bedolla TN, Ulloa A; Landeros VS; Pérez PG: Análisis de datos y control de calidad en el radioinmunoanálisis I guía para la evaluación de resultados. Rev. Inv. Clin (Méx) 1984,36:179-192.
- 32).- Radioinmunoassay. ED Freeman and Blaux. Grune and - Stratton 1975.
- 33).- Vaitukaitis JL: Radioinmunoassay of human choriogonadotropin. Clin Chem 1985,31:10, 1749-1754.
- 34).- Manual de Radioinmunoanálisis Instituto Nacional de Nutrición.
- 35).- Wehmann RE, Nisula BC: Metabolic and renal clearance rates of purified human chorionic gonadotropin. J. - Clin Invest 1981 68: 184-194.
- 36).- Wehmann RE, Nisula BC: Renal clearance rates of the subunits of human chorionic gonadotropin in man J. Clin Endocrinologyc Metab 1980, 50: 674-679.
- 37).- Wehmann RE, AMR S, Rosa C, Nisula BC: Metabolism, - distribution and excretion of purified human chorionic gonadotropin and its subunits in man. Ann of - Endocrin (Paris) 1984, 45: 291-295.

Hernández, O.H.

- 38).- Braunstein GD, Vaitukaitis JL, Ross GT: The in vivo behavior of human chorionic gonadotrophin after dissociation into subunits. *Endocrinology* 1972, 91: - 1030-1036.
- 39).- Blithe DL; Nisula BC: Similarity of the clearance rates of free alpha subunit and alpha subunit dissociated from intact human chorionic gonadotrophin, despite differences in sialic acid contents. *Endocrinology*. 1987,121:4,1215-1220.
- 40).- Lauritzen CH, Lehmann WD: Levels of chorionic gonadotrophin in the newborn infant and their relationship to adrenal de hydroepiandrosterone J. *Endocr* 1967. - 39: 173-182.
- 41).- Berle P, Schultze, Mosgau H: Choriales gonadotrophin im plasma der arteria und vena umbilicalis. *Acta endocrinolog*. 1968,58:339-346.
- 42).- Hagen C, Mc Neilly AS: The gonadotropics hormones and their subunits in human maternal and fetal circulation at delivery. *Amer J. Obstet and Gynec*. 1974, 121:7; - 926-930.
- 43).- Geiger W: Radioimmunological determination of hCG, - human placental lactogen, growth hormone and thyrotropin in the serum of mother and child during the - early puerperium. *Horm Metab Res* 1973;5: 342.

- 44).- Midgley AR, Jaffe RB: Regulation of human gonadotrophin [I Disappearance of human chorionic gonadotrophin following delivery. *J. Clin Endocr* 1968,28: 1712-1718.
- 45).- Tapanainen J, Koivisto M, Vihko R, Huhtaniemi: - Enhanced activity of the pituitary gonadal axis in premature human infants. *J. Clin Endocrinol Metab* -- 1981, 52:235-238.
- 46).- Winter JS, Faiman C, Hobson WC, Prasad AV, Reyes FI: Pituitary gonadal relations in infancy from birth to four years of age in man and chimpanzee. *J. Clin Endocrinol Metab*, 1975, 40: 545-551.
- 47).- Cacciari E, Cicognani A, Pirazoli P., Mazzaracchio - MA, Tassoni P., Bernardi F., Salardi S., Zapulla F.: GH, ACTH, LH, and FSH behavior in the first first - seven days of life. *Acta Paediatr Scand* 1976,65: 337-341.
- 48).- Crosignai PG, Nencionit T, BRambati B: Concentration of chorionic gonadotrophin and chorionic somatomammotrophin in maternal serum, amniotic fluid and cord blood serum at term *J. Obstet and Gynaec Brit Comm* 1972,79: 122-126.
- 49).- Leinonen PJ, Jaffe RB: Leydig cell desensitization by human chorionic gonadotropin does not occur in the human fetal testis. *J. of Clin Endocr and Metab* 1985, 61: 234-238.

Hernández, O.H.

- 50).- Hussa RO: Clinical utility of hCG and alfa subunit measurements Obstet and Gynecol 1982, 60: 1; 1-12
- 51).- Barbieri RL, Saltzman D, Philippe M., Torday JS, - Randall R., Frigoletto F., Ryan K: Elevated beta human chorionic gonadotropin and testosterone in cord serum of male infants of diabetic mothers J. of Clin Endocr and Metab 1985, 61: 5, 976-982.
- 52).- Reyes FI, Winter JS., Faiman Ch: Postpartum disappearance of chorionic gonadotrophin from the maternal and neonatal circulations. Amer J. Obstet Gynecol - 1985, 153; 5; 486-489.
- 53).- Capurro H., Konichezky S., Fonseca D., Caldeyro-Barcia R.: A simplified method for diagnosis of gestational age in the newborn infant. Jof Ped 1978, 93:1, 120--122.
- 54).- Valadéz F., González E., Fletcher P., Ayala A.: Disociación en la producción de subunidades alfa y beta de coriogonadotropina (hCG) en el embarazo normal. - (Ginec. Obstet Méx. 1986, 54:76-78.
- 55).- Bartels H., Böhmer M., Heierli C: Serum kreatinin bestimmung OH NE enteiiweissen Clin Chim Acta 1972, 37: - 193-197.
- 56).- Oh W: Renal functions and clinical disorders in the neonate. Clin Perinato 1981, 8: 215-223.

- 57).- Engle WD, Arant BS: Renal handling of beta 2 microglobulin in the human neonate. *Kidney International* 1983, 24:358-363.
- 58).- Borkowski A, Muquardt C, Sci D: Human chorionic gonadotropin in the plasma of normal nonpregnant subjects. *New Engl J. Med* 1979, 301:6,298-302.
- 59).- Baylin A.M. Endelson G: Ectopic (inappropriate) hormone production by tumors: mechanisms involved and biological and clinical implications. *Endocrine Review* 1980, 1:45-76.
- 60).- Braunstein GD, Kamdar V, Rasor J, Swaminathan N; - Wade ME: distribution of a chorionic gonadotrophin like substance in normal human tissues. *J. Clin Endocrinol Metab* 1979,49:91..
- 61).- Elegbe RA, Pattillo RA, Hussa RO, Hoffmann RG, Damole IO, Mrcog BS, Finlayson WE.: Alpha subunit and human chorionic gonadotrophin in normal pregnancy and gestational trophoblastic disease. *Obstet and Gynec* 1984, 63:3,335-337.
- 62).- Rao Ch, Hussa RO, Carman FR, Rinke ML, Cook CL, Yushman MA.: Stability of human chorionic and its alpha subunit in human blood. *Am. J. Obstet Gynecol* 1983, 146:65-68.
- 63).- Benweniste R, Scomegna A: Human chorionic gonadotropin alpha subunit in pregnancy *Am.J.Obstet Gynecol* 1981, 141:952-961.

- 64).- Vaitukaitis JL: Changing placental concentrations - of human chorionic gonadotrophin and its subunits - during gestation J. Clin Endocrinol Metab 1974, 38: 760.
- 65).- Cole L, Kroll TG, Ruddon RW, Hussa RO: Differential occurrence of free beta and free alpha subunits of human chorionic gonadotrophin (hCG) in pregnancy - sera. J. Clin Endocrinol and Metab 1984, 58:6; 1200-1202.
- 66).- Gollan J, Knapp AB: Bilirrubin Metabolism and congenital jaundice. Hospital Practice 1985, 20:2; 83-97
- 67).- Spive W: Bilirrubin metab. Pediat Ann 1985, 14:6; - 451-456.
- 68).- Schwartz S, Berger P, Wick G: The antigenic surface of human chorionic gonadotrophin as mapped by murine monoclonal antibodies. Endocrinology 1986, 118:1; - 189-197.
- 69).- Kawasaki T, Ashwell G: Chemical and physical properties of an hepatic membrane protein that specifically binds asialoglycoproteins J. Biol Chem 1976, 251: - 1296
- 70).- Maruo T, Segal SJ, Koide SS: Large molecular species of chorionic gonadotrophin from human placental - tissues; biosynthesis and physico-chemical properties. Acta Endocrinológica 1980,94:259-267.

Hernández, O.H.

- 71).- Nishimura R. Hamamoto T. Utsunomiya T, Mochizuki M: Heterogeneity of free alpha subunit in term placenta. *Endocrinol Japon* 1983,30:5:663-669.
- 72).- Nwokoro N. Chem HC, Chrambach: Physical, biological and immunological characterization of highly purified urinary human chorionic gonadotrophin components separated by gel alectrofocusing. *Endocrinology* 1981,-108:1:291-299.
- 73).- Weintraub BD, Krauth G. Rosen SW, Rabson AS; Differences between purified ectopic and normal alpha subunits of humanglyco protein hormones. *J. of Clin Invest* 1975, 56:1043-1052.
- 74).- Fein HG, Rosen SW, Weintraub BD: Increased Glycosilation of serum human chorionic gonadotropin and subunits from eutopic sources: comparison with placental and urinary forms *J. Clin End and Metab* 1980, 50:6; 1111-1120.
- 75).- Moyle WR, Bahl OP. Marz L.: Role of the carbohydrate of human chorionic gonadotropin in the mechanism of hormone action *J. Biol. Chem* 1975, 250:9163.
- 76).- Kalyan NK; Lippes HA, Bahls O: Role of carbohydrate in human chorionic gonadotropin *J of Biol chemistry* 1982,257:21; 12626-12631.

Hernández, O.H.

- 77).- Kalyan NK, Bahl OP.: Role of carbohydrate in human chorionic gonadotropin. Effect of deglycosylation - on the subunit interaction and on its in vitro and in vivo biological properties. J. Biol Chem 1983, - 258: 67-74.
- 78).- Manjunath P. Sairam MR: Biochemical, Biological and Immunological properties of chemically de glycosylated human choriogonadotropin J of Biol chemistry 1982; 257: 12, 7109-7115.
- 79).- Rosa C, Amr S, Birken S; Wehmann R, Nisula B, effect of desialylation of human chorionic gonadotropin on its metabolic clearance rate in humans J Clin Endoc and Metab 1984, 59:6, 1215-1219.
- 80).- Chen HC, Shimohigashi Y, Dufau ML, Catt KJ: Characterization and biological properties of chemically deglycosylation of the subunits of chorionic gonadotropin effects on formation of tertiary structure - and biological activity. J. Biol. Chem 1982, 257: - 15059.
- 81).- Bidart JM., Troalen F, Salesse R, Bousfield G, Bohuon CJ, Bellet DH: topographic antigenic determinants recognized by monoclonal antibodies on human choriogonadotropin beta subunit. J. Biol Chem 1987, 262:18; 8551-8556.

- 82).- Nilsson SO, Rosen SW, Weintraub BD, Zopf DA: Differences in the carbohydrate moieties of the common -alpha subunits of human chorionic gonadotropin, luteinizing hormone, follicle stimulating hormone and thyrotropin: Preliminary structural inferences from direct methylation analysis. *Endocrinology* 1986. 119: 6; 2737-2743.
- 83).- Ohashi M, Matsuura S, Chen HC: Comparison of in vivo and in vitro neutralization of hCG activities by antisera to hCG and a carboxyl-terminal fragment of the beta subunit. *Endocrinology* 1981, 107:6; 2034--2040.
- 84).- Birken S, Koks MA, Amr S, Nisula B, Puett D: Structural and functional studies of the tryptic core of the human chorionic gonadotropin beta subunit. *Endocrinology* 1987, 121: 2; 657-666.
- 85).- Dighe RR, Moudgal NR: Use of alpha and beta subunit-specific antibodies in studying interaction of hCG with leydig cell receptors. *Arch of Biochem and Biophysics* 1983, 225: 2:490-499.