



“Determinación De Anticuerpos Anti Gonadotropina Coriónica Humana En Mujeres Embarazadas Con Y Sin Preeclampsia”

Díaz y Orea MA^a, Domínguez Mena MA^a, Aguilar Loranca JA^a, Flores Alonso JC^b

^aLaboratorio de Inmunología Experimental FMBUAP. diazorea@yahoo.com.mx, dominguez-mena@hotmail.com, augustoaguilar@live.com; ²Centro de Investigación Biomédica de Oriente flores_alonso_jc@hotmail.com.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: La preeclampsia es la más común de las complicaciones médicas durante el embarazo y una de las primeras causas de mortalidad materna en México y el mundo. Su fisiopatología es compleja y una de las teorías más aceptadas es la teoría inmunológica. La Gonadotropina Coriónica Humana (hCG) es el primer mensajero hormonal producido por el ser humano y vital regulador bioquímico de la relación materno embrionaria. Existe evidencia creciente sobre la importancia de la hCG en la invasión de la decidua endometrial por parte del trofoblasto. Hasta el momento, no existen reportes sobre la incidencia de estos anticuerpos en mujeres embarazadas y tampoco la comparación de las concentraciones de los mismos entre mujeres con y sin preeclampsia.

MATERIAL Y METODOS: Se realizó un estudio transversal de casos y controles. Se incluyó a una cohorte de 60 primigestas con embarazos de tercer trimestre, 30 casos fueron diagnosticados con preeclampsia y fueron pareadas según edad cronológica y edad gestacional con 30 controles sanas. Se realizó detección y cuantificación de anticuerpos anti-hCG mediante ELISA y posteriormente cuantificación de hCG mediante quimioluminiscencia.

RESULTADOS: La prevalencia de anticuerpos (IgGs) antigonadotropina coriónica humana fue del 78.3% sin diferencia significativa entre casos y controles ($p \leq 0.754$). Se encontró una diferencia significativa en el título de anticuerpos según densidades ópticas entre las medias de casos (0.2340 DO) y controles (0.0993 DO) ($p \leq 0.012$). No se encontró diferencia significativa en las concentraciones de hCG entre grupos ($p \leq 0.772$) ni correlación entre el título de anticuerpos y concentración sérica de hCG.

CONCLUSIONES: La prevalencia de anticuerpos anti-hCG en mujeres mexicanas embarazadas es alta. Existe diferencia significativa en el título de anticuerpos anti-hCG en mujeres embarazadas con y sin preeclampsia.

INTRODUCCIÓN

La preeclampsia es una enfermedad específica del embarazo caracterizada por la presencia de hipertensión arterial sistémica asociada a proteinuria significativa en una mujer previamente sana, que se presenta a partir de la semana 20 de gestación. Ocurre en el 2-8% de los embarazos a nivel mundial, con variaciones en la prevalencia según poblaciones (Ghulmiyyah, 2012). Es la más común de las complicaciones médicas durante el embarazo y su incidencia ha seguido incrementando a nivel mundial, asociada a morbilidad y mortalidad significativa, es responsable de aproximadamente 50,000 muertes maternas al año a nivel mundial (Duley, 2009). En México, la preeclampsia es la primera causa de mortalidad materna directa y se presenta en un 5 a 10% de los embarazos. La causa más temprana reconocida una placentación anormal: la invasión inadecuada de las arterias espirales por el citotrofoblasto ha sido descrita por varios investigadores; estudios recientes demuestran que la invasión uterina por el citotrofoblasto es, de hecho, una ruta de diferenciación celular única, en donde las células embrionarias adoptan ciertos atributos del endotelio materno que reemplazan. En la preeclampsia, este proceso es defectuoso (Fisher et al, 2009). Una de las teorías más aceptadas que explican esta entidad patológica es la teoría inmunológica, la cual destaca a la Gonadotropina Coriónica Humana (hCG por sus siglas en inglés) en la invasión de la decidua endometrial por parte del trofoblasto, debido a la existencia de anticuerpos naturales contra la hCG en diversos grupos de pacientes (Herr et al 2007, Norris et al 2011).

La hCG es una glicoproteína compleja compuesta de dos subunidades glicosiladas y agrupa a todo un subgrupo de moléculas esencialmente similares en estructura peptídica pero con variaciones importantes en lugar de síntesis, glicosilación y probable función biológica, es el primer mensajero hormonal producido en el ser humano y vital regulador bioquímico de la relación materno-embriónica, detectable en sangre materna a las pocas horas posteriores a la implantación y se comporta en gran medida como un agonista de la hormona luteinizante (LH), estimulando la síntesis y secreción de hormonas esteroideas por el cuerpo lúteo, el establecimiento de la circulación materno fetal y la respuesta inmunitaria de tolerancia materna hacia el aloinjerto que es el embrión y posteriormente la unidad feto-placentaria (Litch et al 2007, Kalkunte et al 2011, Cole et al 2012). La hCG promueve la apoptosis de las células endometriales, facilitando así la invasión trofoblástica; en estudios *In vitro* se ha demostrado que estas mismas células endometriales tratadas con

VIII CONGRESO NACIONAL DE TECNOLOGÍA APLICADA A CIENCIAS DE LA SALUD

15-17 JUNIO, 2017

"GENERACIÓN DE NUEVAS TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO"

Auditorio Polivalente de la Facultad de Medicina, UANL
Monterrey, Nuevo León



hCG inducen también la apoptosis de células T, reduciendo como consecuencia una posible respuesta celular materna en contra del embrión y su implantación (Kayisli et al., 2003). Se ha inferido que la hCG tiene influencia sobre la implantación reduciendo la secreción de citocinas por parte de las células T y NK, así como también se ha visto que disminuye el reclutamiento de células inmunológicas activadas a la interface materno-fetal (Stahn et al., 2005). Por lo anterior, es muy probable que la hCG sea un importante regulador de la profundidad de la invasión embrionaria y una función defectuosa de la hormona ha sido propuesta como causa de una placentación defectuosa. La resultante isquemia tisular pudiera incrementar el riesgo de preeclampsia y, si es muy severa, origina infertilidad y aborto (Kalkunte et al., 2010). Varios investigadores han reportado la existencia de anticuerpos naturales contra hCG (Wass et al., 1978, Moyle et al 1995, Housseau et al 1995, Amato et al 2002). Otros, a su vez, han demostrado niveles aumentados de hCG en mujeres con preeclampsia establecida, comparadas con mujeres sin preeclampsia y pareadas según edad gestacional (Reyna-Villasmil et al 2010).

Los anticuerpos naturales contra hCG fueron demostrados por Wass et al., (1978) en mujeres jóvenes, sin embargo, estos anticuerpos se clasificaron con poca afinidad como para ser clínicamente importantes. Moyle et al, (1995) describieron múltiples sitios de acoplamiento de anticuerpos en hCG y la posibilidad de inactivación o disminución de acción biológica por los mismos. Housseau et al., (1995) reportaron anticuerpos contra la subunidad de hCG en pacientes con tumores de vejiga y células germinales de testículo. Su trabajo posterior confirmó que la región inmunogénica se localizaba en los aminoácidos centrales (entre el 20-65) de la subunidad beta. Amato et al., (2002) consideraron a los anticuerpos anti-hCG como la causa de infertilidad secundaria en una mujer con menstruación regular y pérdida gestacional recurrente acompañada de elevados niveles de hCG. Zou et al., (2008) encontraron que el 7% de 236 mujeres con infertilidad primaria o secundaria tenían anticuerpos anti hCG y que estos declinaban posteriormente al tratamiento con dexametasona, vitamina C y D, con mejoría en las tasas de implantación. Los niveles fueron comparables con aquellos vistos en mujeres con síndrome de anticuerpos antifosfolípido (SAAF) y anticuerpos antitrofoblasto. No existe consenso sobre la concentración de anticuerpos contra hCG que pudieran ser patológicos, aunque la mayoría de los autores fijan el punto de corte en 50ng/ml como significativo (Zou, 2008). A pesar de lo expuesto anteriormente, no existen estudios que hayan determinado la prevalencia y concentración de anticuerpos anti gonadotropina coriónica humana en mujeres con preeclampsia o la incidencia de preeclampsia en mujeres embarazadas con autoanticuerpos anti-HCG y tampoco la comparación de las concentraciones de los mismos entre mujeres con y sin preeclampsia.

MATERIAL Y METODOS:

Se realizó un estudio comparativo, observacional, transversal, prolectivo, homodémico y unicéntrico de casos y controles. Se incluyó a una cohorte de 60 primigestas con embarazos de tercer trimestre, 30 casos fueron diagnosticados con preeclampsia y fueron pareadas según edad cronológica y edad gestacional con 30 controles sanas. No existe disponible un Kit comercial para la identificación de anticuerpos anti hCG específicos, por lo que se realizó la determinación de anticuerpos anti-hCG mediante un ELISA "casero" en casos y controles, utilizando como antígeno de captura la hCG, anticuerpo primario el suero de casos y controles y finalmente como anticuerpo de detección una anti-IgG humana acoplada a peroxidasa como anticuerpo secundario, para determinar el complejo antígeno-anticuerpo, se utilizó la tetrametilbencidina, como sustrato. La aparición de un color amarillo, nos indicó una reacción positiva, la cual fue, directamente proporcional a la concentración y fue determinada en un lector de ELISA a 450nm para cuantificar las densidades ópticas de cada muestra. La determinación de concentración sérica de hCG se realizó mediante quimioluminiscencia, siguiendo las instrucciones del proveedor (kit Acculite (hCG), cod 875-300).

Criterios de inclusión:

Para ambos grupos de mujeres embarazadas:

Pacientes de entre 15 y 40 años de edad

Primigestas con embarazo único > de 25 semanas de gestación

Sin comorbilidades diagnosticadas

Que aceptaron participar voluntariamente en el estudio, firmando consentimiento informado.

Para las pacientes con preeclampsia:

Pacientes con diagnóstico de preeclampsia según los criterios establecidos en el lineamiento técnico emitido por el gobierno federal

Que acudieron para su atención al Hospital General de Cholula (SSA)

VIII CONGRESO NACIONAL DE TECNOLOGÍA APLICADA A CIENCIAS DE LA SALUD

15-17 JUNIO, 2017

"GENERACIÓN DE NUEVAS TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO"

Auditorio Polivalente de la Facultad de Medicina, UANL
Monterrey, Nuevo León



Para las pacientes sin preeclampsia:

Acudir a control prenatal y/o resolución obstétrica en el Hospital General de Cholula.

Criterios de exclusión para ambos grupos.

Pacientes con comorbilidades crónicas diagnosticadas durante estancia intrahospitalaria y consignadas en el expediente clínico.

Pacientes sin resolución obstétrica en el hospital sede.

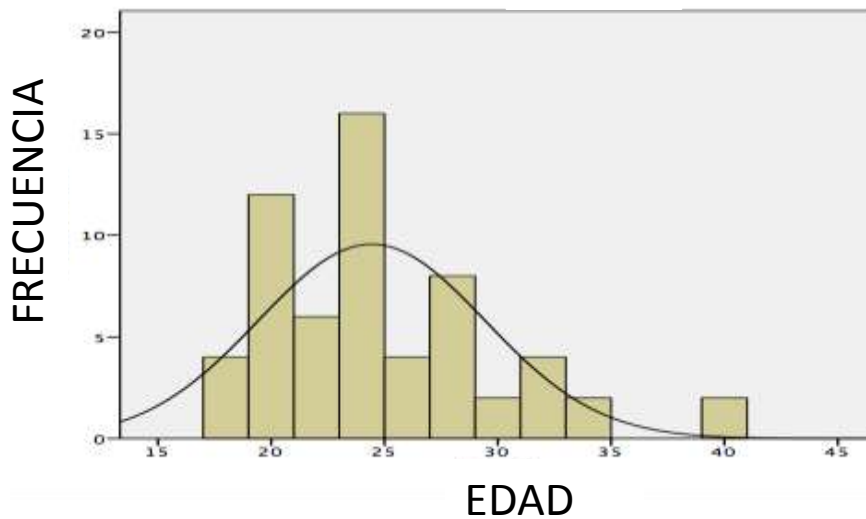
Criterios de eliminación

Pérdida de la información.

Pacientes que decidieron retirarse el estudio.

Estrategia de muestreo: Muestreo no probabilístico de casos consecutivos

RESULTADOS: Distribución por edades cronológicas



Gráfica 1: nos muestra la distribución de la edad de los 60 pacientes incluidas en el estudio (con una media 24.4 y una DS \pm 5.0)

VIII CONGRESO NACIONAL DE TECNOLOGÍA APLICADA A CIENCIAS DE LA SALUD

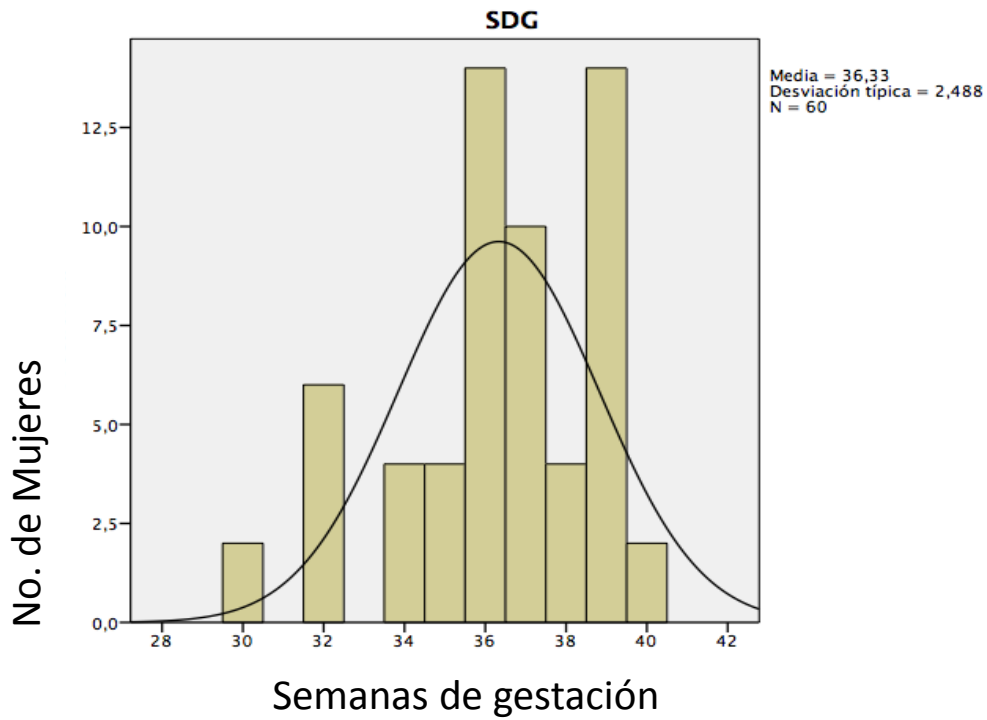
15-17 JUNIO, 2017

"GENERACIÓN DE NUEVAS TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO"

Auditorio Polivalente de la Facultad de Medicina, UANL
Monterrey, Nuevo León

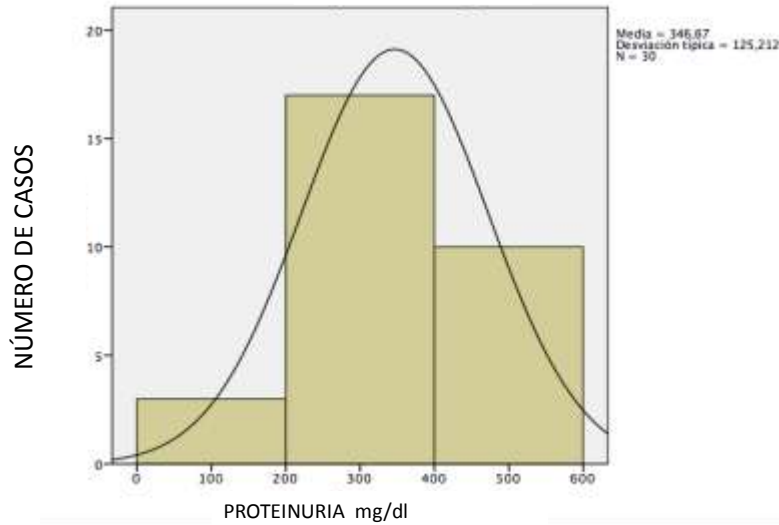


Distribución por edades gestacionales (SDG)



Gráfica 2: Muestra las edades gestacionales de las 60 pacientes del estudio (con una media 36.3 y una DS ± 2.48)

Distribución de proteinuria



VIII

CONGRESO NACIONAL DE TECNOLOGÍA APLICADA A CIENCIAS DE LA SALUD

15-17 JUNIO, 2017

"GENERACIÓN DE NUEVAS TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO"

Auditorio Polivalente de la Facultad de Medicina, UANL
Monterrey, Nuevo León



Gráfica 3. Muestra la distribución de la concentración de proteínas en orina de las 30 pacientes con diagnóstico de preeclampsia. (con una media 346.67 y una DS \pm 125.212)

Se encontraron valores positivos de anticuerpos (IgGs) anticonadotropina coriónica humana en el 78.3% de las pacientes estudiadas, sin encontrarse diferencia significativa entre casos y controles.

Prevalencia de anticuerpos anti- HCG

	NEGATIVOS N(%)	POSITIVOS N(%)
CONTROLES	7 (23.4)	23 (76.6)
CASOS	6 (20)	24 (80)
TOTAL	13 (11.7)	47 (78.3)

Chi cuadrada con $p = 0.754$

Tabla 1: muestra el porcentaje de anticuerpos anti hCG positivos y negativos en las pacientes con y sin preeclampsia.

Se realizó el análisis cuantitativo de las densidades ópticas de IgGs anti-hCG entre casos y controles, encontrando diferencia significativa entre las medias (Tabla 2, Gráfica 5).

Concentración de anticuerpos anti-hCG en Densidades Ópticas

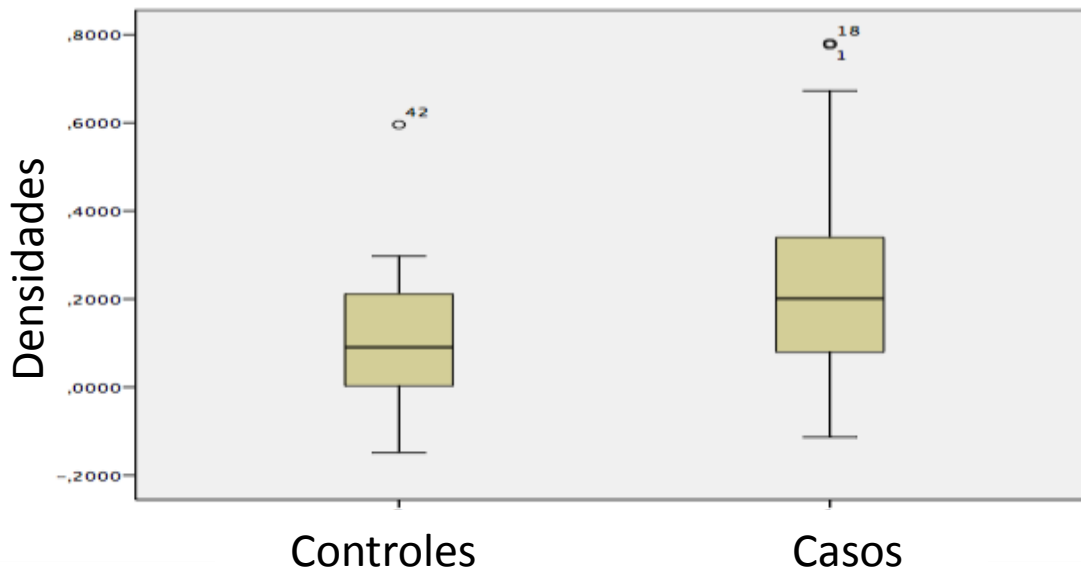
	DENSIDADES ÓPTICAS
CASOS	0.234 \pm 0.240
CONTROLES	0.099 \pm 0.155

Diferencia de medias por T de Student de 0.135 (0.030-0.239) $p \leq 0.012$,

TABLA 2. Muestra la diferencia en la concentración de los anticuepros anti-hcg presentes en los casos y controles del estudio medidas EN D.O.



Diferencia de medias en anticuerpos anti-hCG en densidades Ópticas



GRÁFICA 4. Se muestran las diferencias en densidades ópticas de anticuerpos anti-hCG entre casos y controles. Significancia estadística bilateral según T de Student para muestras independientes con $p \leq 0.012$.

Finalmente se determinó la concentración de hCG en ambos grupos mediante quimioluminiscencia sin encontrar diferencia significativa (Gráfica 6).

Medias en concentración de hCG entre casos y controles

	N	Concentración de hCG en UI/mL
Casos	30	13,687 ± 14,555 UI/mL
Controles	30	14,872 ± 16,926 UI/mL

p 0.72

TABLA 3: No se encontró diferencia significativa en la concentración de hCG entre casos y controles.

Así mismo, se realizó una correlación entre las variables de densidades ópticas de IgGs anti hCG y la concentración de hCG mediante Pearson, sin encontrar significancia estadística (p 0.6) (Figura 7).

VIII CONGRESO NACIONAL DE TECNOLOGÍA APLICADA A CIENCIAS DE LA SALUD

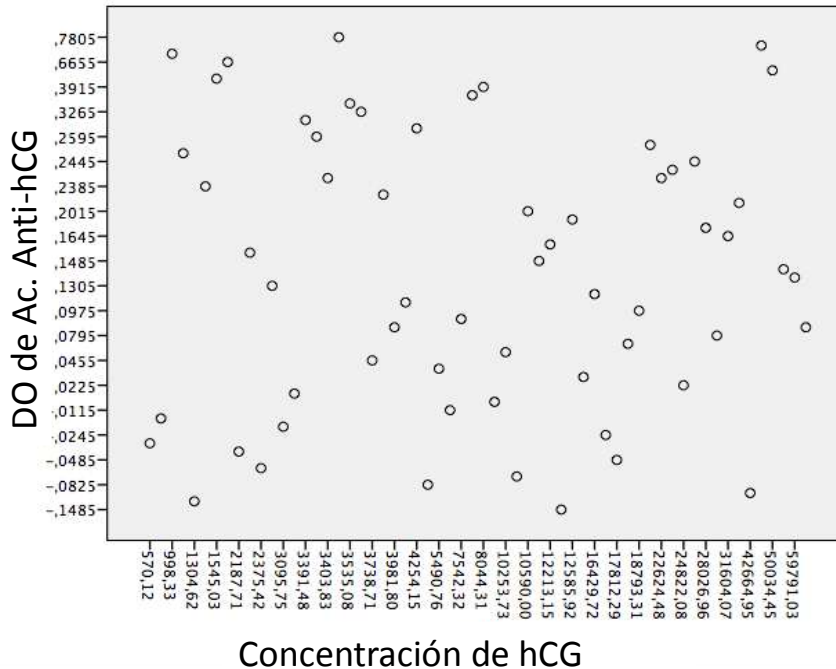
15-17 JUNIO, 2017

"GENERACIÓN DE NUEVAS TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO"

Auditorio Polivalente de la Facultad de Medicina, UANL
Monterrey, Nuevo León



Correlación entre densidades ópticas de anticuerpos anti-HCG y concentración de HCG.



Concentración de hCG

Correlación de Pearson, $p \leq 0.6$

GRÁFICA 5: No existió correlación aparente entre la concentración de hCG y las D.O para anticuerpos anti-hCG en casos o controles.

La prevalencia de anticuerpos (IgGs) anticonadotropina coriónica humana fue del 78.3% sin diferencia significativa entre casos y controles ($p \leq 0.754$). Se encontró una diferencia significativa en el título de anticuerpos según densidades ópticas entre las medias de casos (0.2340 DO) y controles (0.0993 DO) ($p \leq 0.012$). No se encontró diferencia significativa en las concentraciones de hCG entre grupos ($p \leq 0.772$) ni correlación entre el título de anticuerpos y concentración sérica de hCG.

CONCLUSIONES:

El presente estudio proporciona conocimiento nuevo en el rubro de diferencias inmunológicas en pacientes con y sin preeclampsia, evidencia una incidencia elevada de anticuerpos anti-hCG durante el embarazo tanto normal como patológico y abre una novedosa y amplia línea de investigación que pudiera conducir al descubrimiento de un nuevo biomarcador temprano, no tan solo de relevancia para el diagnóstico y pronóstico de una de las principales causas de mortalidad materna en nuestro país y el mundo, sino incluso dar pie a futuras posibilidades de profilaxis y tratamiento.

REFERENCIAS:

- Amato F, Warnes GM, Kirby CA, Norman RJ. (2002) Infertility caused by HCG autoantibody. J. Clin. Endocrinol. Metab. 87(3), 993–997.



VIII

CONGRESO NACIONAL DE TECNOLOGÍA APLICADA A CIENCIAS DE LA SALUD

15-17 JUNIO, 2017

"GENERACIÓN DE NUEVAS TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO"

Auditorio Polivalente de la Facultad de Medicina, UANL
Monterrey, Nuevo León



- Cole LA. (2012) HCG variants, the growth factors which drive human malignancies. *Am. J. Cancer Res.* 2(1), 22–35.
- Duley L. (2009) The global impact of pre-eclampsia and eclampsia," *Seminars in Perinatology.* 33(3),130–137.
- Fisher SJ, McMaster M, Roberts M. Chesley's (2009) *Hypertensive Disorders in Pregnancy.* Amsterdam, the Netherlands: Academic Press Elsevier;. The placenta in normal pregnancy and preeclampsia. 65, 2259–2268.
- Ghulmiyyah L, Sibai B. (2012) Maternal mortality from preeclampsia/eclampsia. *Seminars in Perinatology.* 36(1), 56–59.
- Herr F, Baal N, Reisinger K et al. (2007) HCG in the regulation of placental angiogenesis. Results of an in vitro study. *Placenta* 28(A), 85–93.
- Housseau F, Rouas-Freiss N, Benifla JL et al. (1995) Reaction of peripheral-blood lymphocytes to the human chorionic gonadotropin " sub-unit in patients with productive tumors. *Int. J. Cancer* 63(5), 633–638.
- Kalkunte S, Nevers T, Norris W et al. (2010) Presence of non-functional hCG in preeclampsia and rescue of normal pregnancy by recombinant hCG. *Placenta* 31, A126.
- Kayisli UA, Selam B, Guzeloglu-Kayisli O, Demir R, Arici A. (2003) Human chorionic gonadotropin contributes to maternal immunotolerance and endometrial apoptosis by regulating Fas–Fas ligand system. *J. Immunol.* 171(5), 2305–2313.
- Licht P, Fluhr H, Neuwinger J, Wallwiener D, Wildt L. (2007) Is human chorionic gonadotropin directly involved in the regulation of human implantation? *Mol. Cell. Endocrinol.* 269(1–2), 85–92.
- Moyle R. W. (1995) Model of hCG interaction with LH receptor. *J. Biol. Chem.* 270: 20-31.
- Norris W, Nevers T, Sharma S, Kalkunte S. (2011) Review: hCG, preeclampsia and regulatory T cells. *Placenta* 32(2), 182–185.
- Reyna-Villasmil E, Mejía-Montilla J, Reyna-Villasmil N, Torres-Cepeda D, et al. (2010) Concentraciones de gonadotropina coriónica humana en pacientes preeclámpsicas y embarazadas normotensas sanas. *Prog Obstet Ginecol.* 53(8), 303-307.
- Stahn R, Goletz S, Stahn R et al. (2005) Human chorionic gonadotropin (hCG) as inhibitor of E-selectin-mediated cell adhesion. *Anticancer Res.* 25(3A), 1811–1816.
- Wass M, McCann K, Bagshawe KD. (1978) Isolation of antibodies to HCG/LH from human sera. *Nature.* 274(5669), 369–370.
- Zou SH, Yang ZZ, Zhang P et al. (2008) Autoimmune disorders affect the in vitro fertilization outcome in infertile women]. *Zhonghua Nan Ke Xue* 14(4), 343–346.