



Clinical Chemistry Trainee Council

Cápsulas en Medicina de Laboratorio

www.traineecouncil.org

TÍTULO: Gonadotropina Coriónica Humana

PONENTE: David G. Grenache, Ph.D., DABCC

Diapositiva 1: Diapositiva del título

Diapositiva 2:

La gonadotropina coriónica humana (hCG) es normalmente sintetizada por los trofoblastos placentarios durante el embarazo. Es una hormona dimérica glucoproteica compuesta de las subunidades alfa y beta asociadas por interacciones no covalentes. La subunidad alfa de la hCG es idéntica a la subunidad alfa de 3 hormonas sintetizadas por la glándula pituitaria anterior, pero la subunidad beta de cada una de estas hormonas es única y le confiere especificidad biológica. Entre las subunidades beta, la beta-hCG y la beta-LH son altamente homólogas, de tal forma que ambas hormonas se unen al receptor de LH (hormona luteinizante).

La función principal de la hCG es mantener concentraciones elevadas de progesterona durante los primeros meses de embarazo al extender la vida funcional del cuerpo lúteo.

Diapositiva 3:

La hCG es una hormona molecularmente heterogénea y numerosas variantes de la hCG generalmente se encuentran presentes en sangre y orina. Además de la forma intacta y biológicamente activa de hCG, otras variantes incluyen formas degradadas de la hormona. Estas incluyen, la hCG “nicked/cortada”, producida a partir de la hCG intacta por una proteasa que escinde la subunidad beta entre los aminoácidos 47 y 48, la subunidad beta libre de la hCG, la subunidad beta libre “nicked/cortada” y el fragmento beta core.

Todas estas variantes de la hCG se pueden detectar en suero y orina. Solo el fragmento beta core, que es producto de la degradación terminal de la hCG, es exclusivo de la orina, lo que sugiere que se produce por procesos metabólicos en el riñón.

Diapositiva 4:

La detección y/o cuantificación de la hCG es clínicamente útil por varias razones. La hCG se utiliza principalmente para el diagnóstico de embarazo y este es el único propósito para el cual las pruebas de

hCG están aprobadas por la FDA. Sin embargo, la hCG también se usa como marcador tumoral, particularmente para monitorear el tratamiento de la enfermedad trofoblástica gestacional y los tumores de células germinales testiculares, y también es uno de los marcadores utilizados en el cribado bioquímico con multimarcadores para aneuploidias fetales.

Diapositiva 5:

En promedio, la hCG se vuelve detectable en el suero aproximadamente de 9 a 11 días después de la concepción, lo que corresponde aproximadamente de 1 a 3 días antes del día de la menstruación prevista. La hCG aparece en la orina poco tiempo después, pero es muy variable.

Durante el primer trimestre del embarazo, la concentración de hCG en el suero se duplica cada 2 días con un embarazo intrauterino, pero este tiempo de duplicación se prolonga con frecuencia en un embarazo ectópico. Por lo tanto, las determinaciones seriadas de hCG en suero son útiles en la evaluación de un embarazo ectópico sospechoso.

Diapositiva 6:

La hCG también tiene utilidad clínica como marcador tumoral. Todas las enfermedades trofoblásticas gestacionales, incluyendo molas hidatiformes, el tumor trofoblástico del sitio placentario y el coriocarcinoma, sintetizan hCG, aunque la abundancia relativa de las diferentes variantes de hCG puede diferir de lo observado en el embarazo.

Del mismo modo, la hCG también puede ser producida por tumores testiculares de células germinales. Aproximadamente el 20 por ciento de los seminomas y el 65 por ciento de los tumores de células germinales no seminomatosas producen hCG. Algunos cánceres testiculares, particularmente los seminomas, pueden producir solo la subunidad beta libre de hCG. Por lo tanto, pueden ser útiles como marcador tumoral de cáncer testicular, los inmunoensayos de hCG deben ser capaces de detectar esta variante.

Como marcador tumoral, la hCG demuestra su mayor utilidad en el monitoreo de las respuestas al tratamiento.

Diapositiva 7:

Tanto los ensayos cualitativos como cuantitativos para detectar o cuantificar hCG en suero y/o en orina son de uso generalizado. Mientras el suero y la orina pueden usarse para la detección cualitativa de hCG, medir la concentración de hCG es clínicamente útil solo en suero. Si bien las pruebas cuantitativas de hCG en orina no tienen una utilidad clínica establecida, el uso de un análisis cuantitativo de hCG con una muestra de orina puede ser útil para investigar los resultados discrepantes de la prueba de hCG en el punto de atención (Point of care-POC) (p. ej., si se obtiene un resultado positivo en una muestra de orina cuando no se detecta hCG en la muestra de suero correspondiente, o viceversa).

Como muchas pruebas clínicas de laboratorio, los inmunoensayos de hCG no están armonizados. Las razones de esta falta de armonización incluyen el uso de diferentes pares de anticuerpos entre ensayos, así como el uso de calibradores que varían en las concentraciones relativas de las variantes de hCG. Esto da como resultado amplias variaciones en la concentración medidas de hCG entre ensayos, así como una variación en la detección de las diferentes variantes de hCG.

Diapositiva 8:

La variación en la detección de variantes de hCG se identifica claramente con el uso de preparados de hCG purificados. De los 7 ensayos de hCG mostrados aquí, solo 2 (Immulite hCG y Elecsys hCG + β) pudieron detectar las 5 variantes probadas de hCG. Los 5 ensayos detectaron todas las variantes menos el fragmento beta core, y 1 ensayo detectó solo las variantes diméricas de hCG (que fue consistente con el etiquetado del ensayo).

Además, debido a que se ha asignado la concentración molar de cada preparación de hCG, también se pudo determinar la detección equimolar de cada variante de hCG para cada ensayo. Si la recuperación aceptable de una variante de hCG se define como del 90-110 por ciento (mostrada por las líneas horizontales punteadas), entonces todos menos uno de los ensayos de hCG (Dxl Total β hCG) demostraron la detección equimolar de hCG intacta. La detección de la subunidad beta libre (hCG β) fue muy variable entre los ensayos al igual que la detección de la subunidad beta libre “nicked/cortada” (hCG β n).

Diapositiva 9:

La variación analítica no se limita solo a las pruebas cuantitativas de hCG. Las pruebas cualitativas de hCG también demuestran variabilidad con respecto a su capacidad para detectar variantes de hCG. Mientras todos pueden detectar variantes de hCG diméricas, hCG intacta y hCG “nicked/cortada” (hCGn), otras variantes de hCG se detectan de forma variable.

En este estudio, todos menos uno de los ensayos cualitativos evaluados detectaron la subunidad beta libre y la subunidad beta libre “nicked” y algunos ensayos también fueron capaces de detectar el fragmento beta core. Como se habría previsto, ninguno de los dispositivos de medición detectó la subunidad alfa libre de hCG.

Diapositiva 10:

El impacto clínico de la variación entre los inmunoensayos de hCG es probablemente mínimo cuando solo se requiere una medición cuantitativa de hCG. Por ejemplo, como suele ser el caso en las pruebas de embarazo o en la detección en suero de mujeres embarazadas para la aneuploidia fetal. Es más probable que el impacto clínico sea considerable cuando la prueba de hCG seriada es necesaria, como se requeriría para la evaluación de un embarazo ectópico sospechoso o en aplicaciones oncológicas cuando se usa hCG en la monitorización del tratamiento.

El impacto clínico de la variación es menos certera para las investigaciones cuantitativas de orina. Recuerde que actualmente no existe una necesidad clínica conocida para cuantificar la hCG en la orina, sin embargo, algunos laboratoristas consideran que esta práctica es útil cuando se investigan resultados discrepantes de pruebas en el punto de atención (POC-Point of care). En ese caso, el uso de un ensayo de hCG que detecta el fragmento beta core puede ser deseable porque esa variante es la forma predominante de hCG en la orina del embarazo.

Por último, actualmente se aprecia que algunas pruebas cualitativas de hCG en orina pueden producir resultados falsos negativos debido a la presencia de grandes cantidades de ciertas variantes de hCG (hablaremos de eso más adelante).

Diapositiva 11:

Ocasionalmente, la hCG se detecta en concentraciones relativamente bajas en ausencia de embarazo y puede persistir con pocos cambios en su concentración durante varios meses o años. La identificación de hCG persistentemente baja es relativamente poco común. Cuando se descubre, generalmente se le atribuye a una de las pocas condiciones: la presencia de un anticuerpo interferente, hCG pituitaria o hCG exógena.

En muchos sistemas de atención médica, los protocolos estandarizados de atención al paciente están dando como resultado un número creciente de mujeres sometidas a pruebas de hCG para descartar un posible embarazo antes de cualquier intervención que podrían dañar al feto, sin importar la edad cronológica o la probabilidad de embarazo. La hCG persistentemente baja a menudo crea un dilema clínico y puede retrasar la terapia o dar lugar a tratamientos innecesarios para la sospecha de neoplasias malignas.

Diapositiva 12:

La interferencia producida por anticuerpos se debe al entrecruzamiento de los anticuerpos de captura y de señal utilizados como reactivos en los ensayos inmunométricos. Se ha documentado que causan resultados falsos positivos o falsamente aumentados tanto en ensayos cualitativos como cuantitativos de hCG.

Debido a que pueden causar resultados falsos de hCG, la sospecha clínica de la presencia de anticuerpos que causan interferencia debe ser alta cuando el resultado de una prueba de hCG es inconsistente con el escenario clínico del paciente. Desafortunadamente, el laboratorio no conoce con frecuencia el estado clínico del paciente, lo que significa que estas situaciones son esencialmente imposibles de detectar de manera independiente. Cuando se alerta al laboratorio sobre la posibilidad de una situación de anticuerpos que causan interferencia, se pueden realizar varias investigaciones.

- Analizar la orina para detectar la presencia de hCG es un primer paso lógico. La hCG se filtra en la orina y se puede detectar analizando una muestra de orina. Debido a su gran masa molecular, los anticuerpos interferentes no se excretan en la orina y por lo tanto, no causan interferencia. En aquellos casos de hCG verdaderamente elevados en suero, las moléculas de hCG filtradas se detectarían en la orina, por lo que la ausencia de su detección sugiere la presencia de un anticuerpo que causa interferencia.

- La dilución en serie de la muestra también puede ser útil. Debido a que los anticuerpos que causan interferencia son reactivos contra los reactivos del ensayo y no contra hCG, las muestras que contienen anticuerpos interferentes pueden producir resultados de hCG que se desvían de la respuesta a la dosis esperada.

- Los agentes bloqueadores funcionan mediante la adsorción de los anticuerpos interferentes de la muestra, evitando así su interferencia en los inmunoensayos. Sin embargo, su efectividad depende de numerosas variables que incluyen la clase de anticuerpos que causan interferencia, la especificidad y la concentración.

- El repetir la prueba utilizando un inmunoensayo de hCG diferente, particularmente uno que utilice anticuerpos producidos a partir de una especie animal diferente a la del ensayo en cuestión, también puede ser útil. Los resultados que son muy inconsistentes (hCG detectado versus no detectado, por ejemplo) ofrecen evidencia de un anticuerpo que causa interferencia. Sin embargo, esta investigación no es infalible, ya que algunos pacientes pueden tener anticuerpos con amplia especificidad y pueden reaccionar de forma cruzada con múltiples especies animales e interferir con múltiples ensayos.

Diapositiva 13:

La glándula pituitaria como fuente de hCG no es bien conocida a pesar de haber sido identificada por primera vez hace más de 30 años. No se comprende bien por qué produce hCG, pero una revisión rápida del eje pituitario-ovárico puede ayudar a explicar este fenómeno.

Bajo el control del hipotálamo, las células gonadotropas de la pituitaria anterior producen LH y FSH. Estos, a su vez, estimulan la liberación de hormonas esteroides ováricas que regulan la FSH y LH a través de mecanismos de retroalimentación negativa. A medida que las mujeres ingresan a la perimenopausia (aproximadamente a la edad de 40 años), la producción de esteroides ováricos disminuye, lo que libera la inhibición de la retroalimentación negativa. Como resultado, la estimulación continua de las células gonadotropas de la glándula pituitaria conduce a una mayor síntesis de LH y FSH. Es bajo esta condición de hiperestimulación que la pituitaria puede secretar hCG y es una causa de elevación de hCG en mujeres mayores no embarazadas.

Se han propuesto dos enfoques para identificar la hCG hipofisaria. Debido a que la FSH se eleva en la menopausia y se suprime en el embarazo, la concentración de FSH en suero puede descartar el embarazo como causa de la hCG. Se ha demostrado que una concentración de FSH inferior a 45 UI/L es 100% sensible para identificar hCG de origen placentario, y un resultado mayor o igual a ese umbral tendría un valor predictivo negativo del 100% para descartar hCG de origen placentario. Alternativamente, se ha demostrado que en el curso de 2 semanas de terapia de reemplazo de estrógeno se disminuye la concentración de hCG hipofisaria.

Diapositiva 14:

Al igual que otros inmunoensayos, los ensayos de hCG son susceptibles de producir resultados falsos negativos o disminuidos debido al "efecto gancho" a dosis altas. Cuando las concentraciones de hCG aumentan de manera patológica, las moléculas saturan tanto los anticuerpos de captura como los de señal, lo que impide la formación del "sandwich" que conduce a resultados inexactos.

Una causa menos conocida de resultados falsamente negativos o disminuidos es el efecto variante hCG. Esto puede ocurrir cuando las concentraciones de hCG son extremadamente elevadas o incluso cuando están dentro de los límites fisiológicos esperados. El efecto se debe al reconocimiento de una variante de hCG por solo uno de los dos anticuerpos reactivos. Si esa variante específica de hCG está presente en una concentración suficientemente alta, puede saturar los sitios de unión de anticuerpos que la reconocen, lo que lleva a la detección alterada de las variantes de hCG que son reconocidas por ambos anticuerpos.

Diapositiva 15:

El efecto variante de hCG se ha descrito en pruebas cualitativas y cuantitativas de hCG. Ambos reportes han identificado este efecto variante solo debido a las concentraciones elevadas del fragmento beta core

de hCG. Como se mencionó anteriormente, esta variante se detecta únicamente en orina y, por lo tanto, el efecto de la variante es más preocupante en el análisis cualitativo de orina. Como las pruebas cuantitativas de hCG generalmente no se utilizan para medir las concentraciones de hCG en orina, este fenómeno no es una preocupación clínica para este tipo de pruebas, sin embargo, el conocimiento del efecto variante es útil de cualquier forma.

Como se muestra a la izquierda, el resultado positivo de una prueba cualitativa de hCG en orina disminuyó considerablemente en presencia de concentraciones elevadas del fragmento beta core. La figura de la derecha muestra el efecto variante de hCG en una prueba cuantitativa de hCG que es muy sensible a este efecto. Como se mostró anteriormente, el ensayo DxI Total β hCG no detecta el fragmento beta core pero la concentración medida de hCG intacta disminuye falsamente cuando el fragmento beta core está elevado. Es importante destacar que la concentración del fragmento beta core puede ser de 0.06 a 1.0 $\mu\text{mol/L}$ en la quinta semana de embarazo, y por lo tanto, el uso de pruebas de hCG en muestras de orina obtenidas cerca de este periodo puede producir resultados erróneos.

Diapositiva 16:

En resumen, hCG no es una molécula única ya que generalmente se encuentra presente en varias formas moleculares. Las pruebas cuantitativas y cualitativas de hCG muestran una variación considerable en el reconocimiento de las variantes de hCG. Los anticuerpos interferentes y la hCG hipofisaria pueden producir resultados positivos o aumentados de la prueba de hCG que pueden generar confusión clínica. Y por último, los resultados falsos negativos o disminuidos de la prueba de hCG pueden ser causados por un “efecto gancho” a dosis altas o por el efecto variante de hCG.