

## NIVELES DE PROTEINA TRANSPORTADORA DE HORMONAS SEXUALES (PTHS) Y DE TESTOSTERONA EN EL EMBARAZO CON RELACION AL SEXO FETAL

*Dr. Carlos Alberto Tafur Muñoz\**  
*Dra. Ruth de Estrada\**  
*Dr. Jorge García\**

### RESUMEN

Se describe un método práctico y económico de dosificar proteína transportadora de hormonas sexuales que permite diferenciar ampliamente y sin encruzamientos los niveles existentes en hombres, mujeres y en el embarazo con títulos promedio de  $< 1/5$ ,  $< 1/93$ , y  $< 1/360$  respectivamente. Además, de los valores altos de PTHS, se encuentra en el embarazo un incremento de la testosterona plasmática con un valor promedio de 143.41 ng/100ml.

No se encontraron diferencias significativas de PTHS ni de testosterona maternas con relación al sexo fetal y sí se hallaron valores estadísticamente diferentes de testosterona en los recién nacidos, siendo su promedio para niños de 96.25 ng<sup>0</sup>/<sub>10</sub> y para niñas de 78.21 ng<sup>0</sup>/<sub>10</sub>. ( $p < 0.02$ ).

### INTRODUCCION

La PTHS fue descubierta por Daughaday en 1958 (1). Es una B globulina (2) con un peso molecular de 98.000 (3) que tiene la capacidad de ligar andrógenos y estrógenos (4,5).

Los métodos empleados hasta el momento para dosificar PTHS se basan en procedimientos de saturación de la proteína con esteroides sexuales y separación del esteroide libre del ligado por diversos sistemas cromatográficos, electroforéticos o de diálisis de equilibrio (3,6).

Los niveles de PTHS expresadas en microgramos de esteroide necesario para la saturación de la proteína existente en 100 mililitros de plasma, reportados por Corvol y col (3) son: para hombre  $0,49 \pm 0,04$  ug, para mujeres  $1,42 \pm 0,22$  ug y en el embarazo  $10,91 \pm 0,74$  ug.

Experimentos en animales parecen indicar que la falta de concordancia entre el sexo genético y el estado hormonal sexual durante la dife-

renciación hipotalámica y psicosexual del feto que ocurre en los últimos meses de vida intrauterina, puede ser causante de estados patológicos como el ovario poliquístico, homosexualidad y eunucoidismo idiopático (7). Se ha pretendido encontrar, por los mismos autores de esta teoría, un método que permita identificar esta discrepancia genético-hormonal en el feto; a fin de prevenir sus posibles consecuencias. El sexo fetal se podría precisar muy bien por estudios de fluorescencia del cromosoma Y en preparaciones de células fetales de líquido amniótico tratadas con compuestos derivados de la quinacrina (8,9), y el problema permanecería solo para

\* De la Sección de Endocrinología, Departamento de Medicina Interna, Hospital Militar Central, Bogotá, Colombia.

Jefe (Dr. Tafur)\*. Este trabajo fue presentado por el Dr. Tafur para ingresar como miembro de Número de la Sociedad Colombiana de Endocrinología.



la valoración del medio hormonal sexual que asiste el desarrollo fetal en sus últimos meses; trabajando en este sentido Dörner y Col., encuentran marcadas diferencias de testosterona en líquido amniótico cuando el feto es masculino:  $228.2 \text{ ng } \frac{0}{6} \pm 63 (10)$  que cuando es femenino:  $122.5 \text{ ng } \pm 63 \text{ ng } \frac{0}{6}$ . Estos mismos autores hallan la testosterona urinaria materna más elevada cuando el feto es masculino, de la séptima a la doceava semana de embarazo (11). Meeker y col. describen aumento progresivo de testosterona plasmática en embarazadas sin hacer relación al sexo fetal (12) y Stahl y col., reportan niveles de testosterona plasmática más elevados cuando se trata de un embarazo con feto masculino (13).

Es interesante anotar que ya a comienzos de la década de los años 30, autores alemanes descubrieron que había más andrógenos en la orina de embarazadas, usando métodos biológicos (14) y más andrógenos cuando el feto resultaba ser masculino (15).

No hay estudios de PTHS en el embarazo que hagan relación al sexo fetal, solo está bien establecido su incremento en estas condiciones (3), y ya que la PTHS es dependiente del índice estrogénico-androgénico nos pareció importan-

te determinarla utilizando un método práctico elaborado en nuestro laboratorio, dosificando al mismo tiempo los niveles de testosterona tanto en la madre como en la criatura. Además, medimos PTHS en grupos de hombres y mujeres sanos para determinar la sensibilidad de nuestro método.

## MÉTODOS

La actividad de la PTHS se determinó por un método de dilución análogo al de titulación de antisueros para radioinmunoanálisis. Creemos que este método de dilución ofrece una mejor precisión que los métodos basados en la saturación de la proteína con esteroides ya que el proceso de saturación nunca es completo como se puede ver en la curva de Skatchard representada en la figura 1 y en realidad se lo busca teóricamente en el Intercepto I de la recta con el eje de la abscisa. En cambio el método de dilución ofrece la sensibilidad del sitio real más pendiente de la curva que es el  $50\%$  de unión del trazado a la proteína como se puede ver en el ejemplo de la figura 1 referente al título de un antisuero para radioinmunoanálisis.

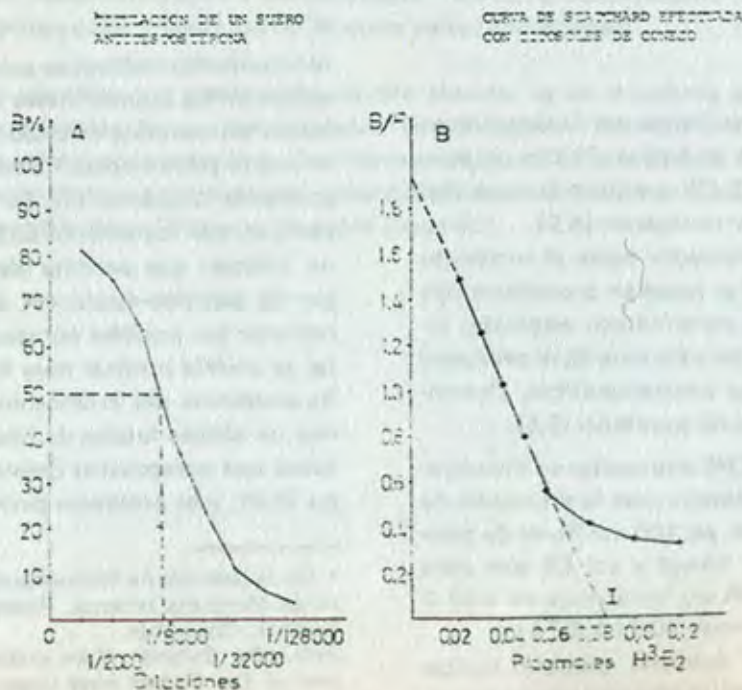


FIGURA 1



Los pasos que seguimos en nuestro método de dilución fueron los siguientes:

1. Dilución de los plasmas en forma logarítmica con agua destilada.
2. Preparación de una solución alcohólica de  $1.2^3\text{H}$ -testosterona (New England Nuclear, de actividad específica 43,5 Ci—mM) de tal manera que 100  $\mu\text{l}$  de esta solución contuvieran 20.000 dpm.
3. En tubos de vidrio de 12 por 75 mm se evaporaron 100  $\mu\text{l}$  de solución tritiada anterior.
4. Al residuo se agregaron 0.5 ml de las diferentes diluciones de la plasma que fueron del siguiente orden:  
  
Para hombre: 1/5, 1/10, 1/20, 1/40, 1/80  
  
Para mujer: 1/25, 1/50, 1/100, 1/200, 1/400  
Para embarazo: 1/100, 1/200, 1/400, 1/800, 1/1600
5. Incubación a temperatura ambiente por una hora.
6. Separación de las fracciones de esteroide tritiado libre y ligado a la PTHS, con 0,5 ml de solución saturada de sulfato de amonio y reposo por diez minutos a 4 °C.
7. Centrifugación a 3.000 rpm durante 15 minutos a 4 °C.
8. Decantación de todo el sobrenadante a frascos de centelleo que contenían 10 ml de solución centelladora preparada así; 4 g de PPO, 0,04 g de dimetil — POP OP, 10 ml de etanol y tolueno hasta completar 1.000 ml.
9. Las lecturas se hicieron por 200 segundos en un equipo Tricarb, Packard, modelo 3320.
10. Los valores de enlace del esteroide tritiado a la PTHS en las diferentes diluciones de los plasmas se graficaron en un sistema en el cual en la abscisa se colocaron las diluciones y en la ordenada la fracción esteroide ligado

(B) sobre esteroide libre (F). Se prefirió colocar esta fracción al porcentaje de enlace en el eje de las ordenadas por la tendencia de las curvas a hacerse rectas. Como título de actividad se tomó la dilución de plasma que une el 50% del trazador o sea la fracción 1.

La testosterona se dosificó por radioinmunoanálisis según un método modificado por E. Nieschlag y col. (16) usando un antisuero obsequiado por este investigador.

Para separar las fracciones de esteroide libre y unido al antisuero se empleó carbón-dextrano.

## MATERIAL CLINICO

Se tomó sangre heparinizada de 26 embarazadas normales que llegaron en trabajo de parto al Departamento de Obstetricia y Ginecología del Hospital Militar. Se siguió el alumbramiento hasta poder determinar el sexo y la normalidad fetales, procediéndose entonces a tomar muestras de sangre heparinizada de los cordones umbilicales. En los plasmas obtenidos de las madres se dosificó PTHS y testosterona y en las muestras de cordón umbilical solo testosterona ya que los títulos de PTHS fueron demasiado bajos en las criaturas.

La PTHS fue determinada así mismo por nuestro método de dilución en 10 hombres y en 10 mujeres sanos hormonalmente que asistieron a la consulta externa del Hospital Militar.

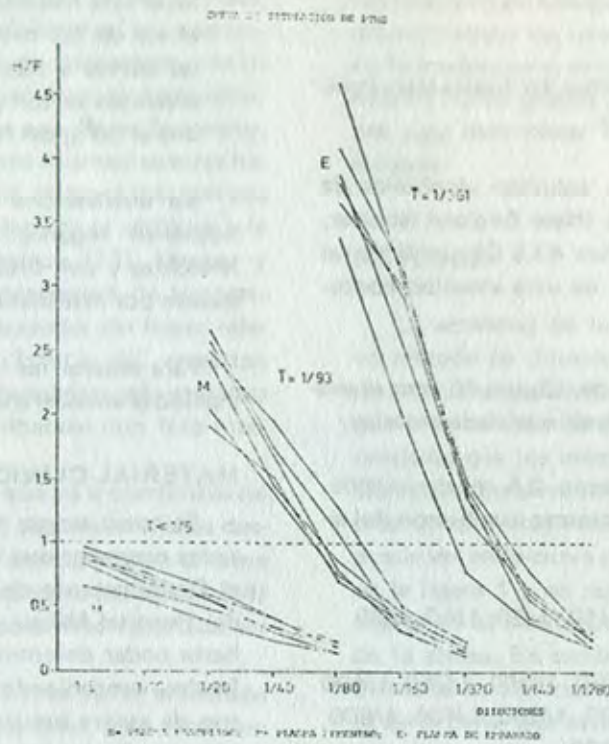
## RESULTADOS

Los valores de PTHS y de testosterona obtenidos en este estudio están consignados en las Tablas 1, 2, y en la Figura 2.

## DISCUSION

Se describe un método práctico y económico de dosificar la actividad de PTHS que permite diferenciar ampliamente y sin estructuramientos los niveles de esta globulina transportadora en hombres, mujeres y en el embarazo con títulos promedio de  $< 1/5$ ,  $< 1/93$  y  $< 1/360$ , respectivamente. La dosificación de esta proteína tiene una gran importancia en la investigación clínica de situaciones patológicas que alteren la





**NIVELES DE PTHS Y TESTOSTERONA EN LAS MADRES  
Y DE TESTOSTERONA EN LOS NIÑOS**

TABLA No. 1

| MADRE             |                               | Niño                                   | MADRE             |   | Niña                             |
|-------------------|-------------------------------|--|-------------------|---|----------------------------------|
| PTHS<br>Título    | T<br>ng %                     | T<br>Ng %                              | PTHS<br>Título    | T<br>ng %                               | T<br>ng %                        |
| 1/210             | 100                           | 102                                    | 1/390             | 144                                     | 74                               |
| 1/330             | 124                           | 82                                     | 1/360             | 128                                     | 74                               |
| 1/400             | 156                           | 86                                     | 1/330             | 119                                     | 84                               |
| 1/456             | 100                           | 71                                     | 1/380             | 107                                     | 104                              |
| 1/536             | 171                           | 96                                     | 1/360             | 130                                     | 62                               |
| 1/520             | 100                           | 110                                    | 1/352             | 200                                     | 84                               |
| 1/330             | 150                           | 107                                    | 1/340             | 150                                     | 80                               |
| 1/400             | 153                           | 78                                     | 1/300             | 124                                     | 64                               |
| 1/360             | 160                           | 108                                    | 1/435             | 106                                     | 78                               |
| 1/400             | 100                           | 104                                    | 1/400             | 122                                     | 74                               |
| 1/270             | 197                           | 102                                    | 1/640             | 180                                     | 82                               |
| 1/370             | 126                           | 109                                    | 1/340             | 130                                     | 68                               |
|                   |                               |  | 1/360             | 124                                     | 88                               |
|                   |                               |  | 1/235             | 150                                     | 79                               |
| $\bar{x} = 1/358$ | $\bar{x} = 150$<br>$s = 34.4$ | $\bar{x} = 96.25$<br>$\bar{x} = 15.87$ | $\bar{x} = 1/365$ | $\bar{x} = 136.28$<br>$\bar{x} = 32.78$ | $\bar{x} = 78.21$<br>$s = 13.28$ |



TABLA No. 2

| Hombre | PTHS<br>Título  | Mujer | PTHS<br>Título   |
|--------|-----------------|-------|------------------|
| 1      | 1/10            | 1     | 1/110            |
| 2      | 1/5             | 2     | 1/95             |
| 3      | 1/5             | 3     | 1/80             |
| 4      | 1/5             | 4     | 1/115            |
| 5      | 1/5             | 5     | 1/90             |
| 6      | 1/5             | 6     | 1/85             |
| 7      | 1/5             | 7     | 1/85             |
| 8      | 1/5             | 8     | 1/90             |
| 9      | 1/5             | 9     | 1/100            |
| 10     | 1/5             | 10    | 1/90             |
|        | N = 10          |       | N = 10           |
|        | $\bar{x}$ = 1/5 |       | $\bar{x}$ = 1/93 |

concentración o la actividad de los esteroides sexuales en el organismo, como son: hirsutismo, virilización, eunucoidismo o estados inter-sexuales. La simplicidad de nuestro método hace aplicable la dosificación de PTHS en análisis de rutina en cualquiera de estos estados,

En el presente trabajo encontramos niveles de PTHS y testosterona plasmática elevados en el embarazo: la testosterona en promedio fue de 143.14 ng<sup>0</sup>/<sub>10</sub> y el título de PTHS promedio fue de 1/360. Los niveles altos de PTHS a pesar del incremento de testosterona se explican por un mayor aumento en la tasa de los estrógenos

durante la preñez ya que los niveles de PTHS son una función del índice estrogénico/androgénico.

No encontramos diferencias en los niveles de PTHS ni de testosterona en el plasma materno con relación al sexo fetal.

Encontramos significativas diferencias en la testosterona plasmática de los recién nacidos en relación a su sexo, siendo los valores para los niños de: 96.25 ng<sup>0</sup>/<sub>10</sub> y para las niñas de 78.21 ng<sup>0</sup>/<sub>10</sub>. ( $p < 0.02$ )

#### SUMMARY

##### Sex-hormone binding protein (SHBP) and testosterone levels in pregnancy and relation to fetal sex

A practical and unexpensive method of dosification of sex-hormone binding protein (SHBP) is described; it allow us to differentiate without overlapping the existing levels in men, women and pregnancy with average titles of less then 1:5, 1:93 and 1.360 respectively. In pregnancy there are increased levels of both SHBP and plasma testosterone, being this last one of 143.41 ng/100 ml.

Non significant differentes of both maternal SHBP and testosterone were found in relation to fetal sex; statistically significant differences of testosterone were found in newborns, being average levels of 96.25 ng<sup>0</sup>/<sub>10</sub> in boys and 78.21 ng<sup>0</sup>/<sub>10</sub> in girls ( $P < 0.02$ ).



## BIBLIOGRAFIA

1. DAUGHADAY, W. H.: *J. Clin. Invest.* 37: 511, 1958
2. ROSEBAUM, W., CHRISTY, N. P., KELLY, W. G.: *J. Clin. End.* 26: 1399, 1966
3. CORVOL, P., CHARAMBACH, A., RODBARD, D., BARDIN, C. W.: *J. Biol. Chem.* 246: 3435, 1971
4. MERCIÉ - BODARD, C., BAULIEY, E. E.: *C. R. Hebb. Stances Acad. Sci. Paris* 267: 804, 1968
5. STEENO, O., HEYNS, W., VAN BAELEN, H., DE MOOR, P.: *Ann Endocrinol.* 29 (supp) 141, 1968
6. VERMEULEN, A., VERDONCK, L.: *Steroids* 11: 609, 1968
7. DORNER, G., BAUMGARTEN, G.: *Endokrinologie* 60: 285, 1972
8. PEARSON, P. L., BOBROW, M., VOSA, C. G.: *Nature, (London)* 226: 78, 1970
9. PEARSON, P. L.: *J. Med. Genet.* 9: 264, 1972
10. DORNER, G., STAHL, F., ROHDE, W., HALLE, H., ROSNER, P., GRUBER, D., HERTER, U.: *Endokrinologie* 61: 317, 1973
11. DORNER, G., STAHL, F., GOTZ, F., ROSNER, P., HALE, H.: *Endokrinologie* 58: 264, 1971
12. MEEKER, C. I.: *Excerpta med. Amst. Intern. Congress Series* 111: 174, 1966
13. STAHL, F., POPPE, I., STOLEN, B., BINDSEIL, R., DORNER, G.: *Endokrinologie* 60: 322, 1972
14. SIEKE, H.: *Arch. Gynäkologie* 146: 417, 1931
15. GOECKE, H.: *Arch. Gynäkologie* 161: 295, 1936
16. NIESCHLAG, E.: Universidad de Düsseldorf (comunicación personal)