

Fosfolipasa A₂-II sérica durante el ciclo menstrual, embarazo y puerperio

Drs. Eduardo Reyna-Villasmil, Marielys Torres-Montilla, Lic. Nadia Reyna-Villasmil, Lic. Jorly Mejías-Montilla

Servicio de Obstetricia y Ginecología - Maternidad "Dr. Nerio Belloso"
Hospital Central "Dr. Urquinaona". Maracaibo, Estado Zulia.

RESUMEN

Objetivo: Evaluar los niveles circulantes de fosfolipasa A₂-II durante el ciclo menstrual normal y determinar sus alteraciones en las concentraciones maternas circulantes durante el ciclo menstrual, el embarazo y el puerperio.

Método: Las concentraciones séricas de fosfolipasa A₂-II se compararon entre 28 mujeres no embarazadas con ciclo menstruales normales, 57 embarazadas normales y 11 mujeres en el séptimo día del posparto normal. También se cuantificó en 8 pacientes con amenaza de parto pretérmino. Los niveles de fosfolipasa A₂-II antes y después del parto se cuantificaron para determinar las diferencias en 8 neonatos obtenidos por vía vaginal y 8 por cesárea selectiva. Se tomó una muestra de sangre de 10 mL en la mañana y se realizó una prueba inmunoradiométrica, usando la combinación de dos anticuerpos monoclonales, para determinar la fosfolipasa A₂-II en el suero.

Resultados: Las concentraciones séricas de fosfolipasa A₂-II en la fase lútea fueron significativamente menores que en la fase menstrual o folicular ($p < 0,05$). No hubo diferencias significativas en los niveles séricos de fosfolipasa A₂-II entre las mujeres con embarazos normales y las pacientes con amenaza de parto pretérmino. Sus concentraciones séricas fueron significativamente mayores en mujeres en el séptimo día del posparto que en aquellas con embarazos normales ($p < 0,05$)

Conclusión: Estos resultados sugieren que puede existir un mecanismo regulatorio de fosfolipasa A₂-II durante el ciclo menstrual normal y el puerperio.

Palabras clave: Fosfolipasa A₂. Ciclo menstrual. Embarazo. Puerperio.

SUMMARY

Objective: To evaluate phospholipase A₂-II circulating levels during normal menstrual cycle and determine alterations in maternal circulating phospholipase A₂-II concentrations during menstrual cycle, pregnancy and puerperium.

Method: Serum phospholipase A₂-II concentrations were compared among 28 non-pregnant women with normal menstrual cycle, 57 normal pregnant women and 11 women at seventh day of puerperium. Also were measured in 8 patients with threatened premature labor. phospholipase A₂-II levels before and after delivery were made to determine differences in 8 neonates delivered vaginally and 8 neonates delivered by cesarean section. A 10-mL blood sample was obtained in the morning and an immunoradiometric assay, using two monoclonal antibodies, to determine serum phospholipase A₂-II.

Results: Serum phospholipase A₂-II concentrations at luteal phase were significantly lower than those at menstrual or follicular phase ($p < 0,05$). There was no significant difference in serum phospholipase A₂-II levels between normal pregnant women and patients with threatened premature labor. Serum phospholipase A₂-II concentrations at seventh day post-partum were significantly higher than those in normal pregnant women.

Conclusions: These results suggest that a regulatory mechanism of phospholipase A₂-II may exist during the normal menstrual cycle and at puerperium.

Key words: Phospholipase A₂. Menstrual Cycle. Pregnancy. Puerperium.

INTRODUCCIÓN

Los grupos I (pancreática) y II (sinovial) de la fosfolipasa A₂ puede relacionarse a los cambios locales y sistémicos en el embarazo, reflejado como

actividad catalítica (1). Se conoce que la fosfolipasa del grupo II (FLA2-II) produce un incremento de la liberación del ácido araquidónico a partir de los fosfolípidos, que se traduce en aumento de la formación de prostanoídes en el miometrio y en los

Recibido: 30-07-02

Aceptado para publicación: 10-12-02

vasos (2,3) aunque esta enzima no es el factor limitante del proceso (4). La FLA₂-II se encuentra en el suero de pacientes sépticos y también en el líquido sinovial de pacientes que padecen artritis reumatoidea (5). Se desconoce la fuente celular de la FLA₂-II, sin embargo, miometrio, endometrio, placenta y membranas fetales presentan una alta actividad de la FLA₂-II (6-8). La FLA₂-II está relacionada con eventos locales y sistémicos del embarazo normal o patológico y, simplemente, refleja paso hacia el suero desde el sitio de producción local, lo cual sería observable por los cambios en las concentraciones séricas de la enzima (1). Murakami y col. (9) mostraron en un sistema de cultivo de dos tipos de células, que la FLA₂-II producida por una célula puede aumentar la síntesis de prostaglandinas en las células vecinas. Más aún, existe evidencia de la posible importancia de la FLA₂-II sérica en la inmunidad innata (10) o en reacciones inflamatorias severas (11).

La placenta es una de las fuentes más importantes de FLA₂-II en el cuerpo humano, y la enzima es el punto clave para la liberación de ácidos grasos insaturados a partir de los fosfolípidos de la membrana (12). Las prostaglandinas pueden jugar un papel crítico en el inicio y la progresión del parto; por tanto se presume que la FLA₂-II sérica juega un papel clave en el inicio y la progresión del trabajo de parto en embarazos normales y patológicos. Recientemente, se desarrollaron nuevas pruebas inmunoradiométricas para determinar los niveles de FLA₂-II en el suero humano usando una combinación de dos anticuerpos monoclonales (13,14). Este método es altamente confiable y requiere de tiempos de incubación muy cortos.

El objetivo de nuestra investigación fue evaluar los niveles circulantes de FLA₂-II durante el ciclo menstrual normal y determinar las alteraciones en las concentraciones maternas de FLA₂-II circulantes durante el ciclo menstrual, el embarazo y el puerperio.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las concentraciones séricas de FLA₂-II se compararon entre 28 mujeres no embarazadas con ciclos menstruales normales (1 en la fase menstrual (día 4), 8 en la fase folicular (día 12), y 9 en la fase lútea (día 22)), 57 gestantes normales [10 en el primer trimestre ($9,9 \pm 1,6$ semanas), 9 en el segundo trimestre ($21,9 \pm 5,2$ semanas) y 27 en el tercer trimestre ($34,8 \pm 6,2$ semanas)] y 11 mujeres en el

séptimo día del posparto normal. Las concentraciones séricas de la FLA₂-II también se cuantificaron en 8 pacientes con amenaza de parto pretérmino ($29,6 \pm 4,1$ semanas). La amenaza de parto pretérmino se definió como la presencia de contracciones uterinas antes de las 37 semanas de gestación, que ocurren con una frecuencia de 2 en 10 minutos a pesar del tratamiento médico, asociado a cambios en el cuello uterino por observaciones seriadas (15).

Los niveles de FLA₂-II antes y después del parto se determinaron para conocer las diferencias en el suero del cordón umbilical en 8 neonatos obtenidos por vía vaginal y 8 por cesárea selectiva. Las indicaciones para cesárea fueron desproporción fetopélvica, presentación fetal anómala o cesárea previa. Estas mujeres eran no fumadoras, sin complicaciones maternas ni por medicamentos.

Se excluyeron del estudio las pacientes con diabetes, embarazos múltiples, preeclampsia, embarazos previos con preeclampsia, eclampsia o embarazos molares. Las pacientes con amenaza de parto pretérmino se evaluaron antes de la administración de medicamentos (administración de β_2 estimulantes, sulfato de magnesio o antiprostaglandínicos). La edad de gestación se estimó desde el primer día del último ciclo menstrual y se confirmó por ecografía durante el primer trimestre o al principio del segundo trimestre. Los pesos al nacer de todos los recién nacidos estuvieron dentro del rango normal (entre el percentil 10 y el 90) de la curva de crecimiento estándar para Venezuela. Ningún recién nacido tuvo malformaciones congénitas o desórdenes genéticos.

Se tomó una muestra de sangre de 10 mL en la mañana en las pacientes no embarazadas, embarazadas y en el posparto. En el caso de las pacientes con partos vaginales, la muestra de sangre materna se tomaba después del inicio del trabajo de parto (< 3 centímetros de dilatación y frecuencia de las contracciones > 3 minutos). En el caso de las pacientes con cesárea la muestra de sangre se tomó antes de la intervención. En parto vaginal o cesárea, se tomó en el cordón antes del alumbramiento. Esto se realizó por punción de la vena cubital materna y de la vena umbilical, respectivamente. Luego, las muestras de sangre se colocaron dentro de un tubo separador de suero y se esperó hasta la coagulación por 30 minutos, para centrifugarlas por 20 minutos, a 2 000 g aproximadamente y se almacenaron en frío hasta la realización de la prueba.

El rango de la prueba inmunoradiométrica con

FOSFOLIPASA A₂-II SÉRICA

anticuerpos monoclonales fue de 0,5 a 200 mg/mL, y no era modificada por otros componentes del suero. Los coeficientes de variación intra e inter ensayos fueron 1,3-2,9 y 2,6-9,3 %, respectivamente. La reactividad cruzada con la FLA₂-II del páncreas humano fue 0 %. Se encontró una correlación positiva entre la actividad catalítica (actividad de la enzima) de la FLA₂-II y la concentración de FLA₂-II en el análisis de regresión ($r^2 = 0,77$, $p < 0,001$) (16).

El análisis estadístico de la comparación de los niveles de FLA₂-II en cada fase del ciclo menstrual se realizó usando un análisis de varianza y la prueba Newman-Keuls. Los niveles maternos de FLA₂-II entre los partos vaginales y cesárea antes y después del parto se compararon con la prueba t de Student no pareada. Los niveles séricos de FLA₂-II maternos y fetales entre los neonatos obtenidos por parto vaginal y por cesárea se compararon usando la prueba t de Student no pareada. Para la comparación de los niveles séricos de FLA₂-II entre la madre y el feto se usó la prueba t de Student pareada. Se consideró $p < 0,05$ como significativo.

RESULTADOS

Las concentraciones séricas de FLA₂-II en la fase lútea fueron significativamente menores en la fase menstrual o folicular ($p < 0,05$) (Cuadro 1). No se encontraron diferencias significativas de los niveles de FLA₂-II entre el primer trimestre y la fase menstrual o folicular, tampoco los hubo entre los tres trimestres del embarazo.

No hubo diferencias significativas en los niveles séricos de FLA₂-II entre las mujeres con embarazos normales y las pacientes con amenaza de parto pretérmino (Cuadro 2). El estrés del parto no afectó

Cuadro 1

Concentraciones séricas de FLA₂-II durante el ciclo menstrual normal

Fase del ciclo menstrual	N	FLA ₂ ng/mL
Fase menstrual	11	2,86 ± 0,16
Fase folicular	8	2,68 ± 0,21
Fase lútea	9	1,72 ± 0,18*

* $p < 0,05$

las concentraciones séricas maternas ni fetales de la FLA₂-II (Cuadro 3). No hubo diferencias significativas en los niveles circulantes de FLA₂-II entre el suero materno y fetal. Las concentraciones séricas de FLA₂-II fueron significativamente mayores en mujeres en el séptimo día del posparto que en aquellas con embarazos normales ($p < 0,05$) (Cuadro 2).

Cuadro 2

Concentraciones séricas de FLA₂-II durante el embarazo y el puerperio

	N	FLA ₂ -II ng/dL
Primer trimestre	10	3,12 ± 0,78
Segundo trimestre	9	3,08 ± 0,66
Tercer trimestre	27	3,69 ± 0,40
Séptimo día del puerperio	11	15,81 ± 2,81*
Amenaza de parto pretérmino	8	3,30 ± 0,88

* $p < 0,05$

Cuadro 3

Efectos del estrés del parto sobre los niveles de FLA₂-II.

Vía del parto	N	FLA ₂ -II, ng/mL			
		Antes del parto	Durante el parto	Después del parto	Sangre del cordón
Parto vaginal	8		4,91 ± 0,51	6,28 ± 1,03	4,05 ± 0,58
Cesárea	8	3,60 ± 0,71		5,81 ± 0,98	3,91 ± 0,63

DISCUSIÓN

En mujeres con ciclo menstrual normal, la actividad de la FLA₂-II en el endometrio es mayor en la fase secretora que en la fase proliferativa (17) mientras que Bonney y col. (18) reportaron resultados diferentes, sugiriendo que la actividad de la FLA₂-II era variable y no estaba relacionada con la fase del ciclo menstrual. Bonney y Wong (19) también encontraron que no había diferencias significativas en la actividad de la FLA₂-II en el miometrio entre la fase proliferativa y secretora del ciclo menstrual. Sin embargo, observaciones *in vitro* asociando la actividad de la FLA₂-II en el útero no embarazado al ciclo menstrual normal son menos contradictorias. Hasta hoy día, existe un solo informe (20) sobre los niveles séricos de FLA₂-II durante el ciclo menstrual normal. En nuestro estudio, las concentraciones séricas de FLA₂-II en la fase lútea fueron significativamente menores que aquellos en la fase menstrual o folicular. En la actualidad, las razones para estas bajas concentraciones en la fase lútea son desconocidas. En células cultivadas del endometrio, la actividad de la FLA₂-II fue inhibida por la progesterona, mientras que el estradiol y la dexametasona no tuvieron efectos sobre ella (21). Más aún, la implantación es inhibida cuando la FLA₂-II se administra durante los tres primeros días después de la fecundación en la rata (22). Sin embargo, el incremento de las concentraciones de progesterona en la fase lútea puede disminuir los niveles circulantes de FLA₂-II, resultando en una disminución de la producción de eicosanoides inducidos por la FLA₂-II para promover la implantación del oocito fertilizado.

Con respecto a los niveles séricos de FLA₂-II durante el embarazo, su concentración se elevó de dos a cuatro veces entre las 6 y las 14 semanas de gestación pero a las 37 semanas los valores eran normales. Rice y col. (23) reportaron que la concentración de FLA₂-II no variaba significativamente durante el embarazo hasta la aparición del trabajo de parto, donde estaban significativamente elevadas tanto con el trabajo de parto a término como pretérmino, comparado con las mujeres que no estaban en trabajo de parto. En nuestro estudio, no se encontraron cambios significativos en la concentración de FLA₂-II durante el embarazo y entre las embarazadas normales y las pacientes con amenaza de parto pretérmino. El estrés del trabajo de parto tampoco afectó las concentraciones séricas maternas y fetales de FLA₂-II.

Encontramos que las concentraciones séricas de FLA₂-II en las mujeres en posparto eran significativamente mayores que en las mujeres con embarazos normales. Dubois y col. (24) hallaron que la actividad de la FLA₂-II en el endometrio del cerdo en los días 10, 12, 14 y 16 del ciclo no fue diferente de la actividad durante el embarazo, y concluyeron que los efectos estimulantes del producto inducen una secreción de prostaglandinas durante la fase temprana del embarazo que aparentemente no está asociada con un incremento en la actividad de la FLA₂-II en el endometrio. Skannal y col. (25) reportaron que no había cambios evidentes en la intensidad de la inmunocoloración para la FLA₂-II en el endometrio humano con la edad de gestación o con la ausencia o presencia del trabajo de parto, y postularon la aparente falta de cambio en la expresión durante el final del embarazo o trabajo de parto, sugiriendo cambios en la actividad de la FLA₂-II en el miometrio, movilización del ácido araquidónico local y, síntesis de prostaglandinas que no estarían asociadas con la aparición o mantenimiento del trabajo de parto. Por otra parte, Aitken y col. (26) describieron que la expresión del gen de la FLA₂-II estaba significativamente aumentada en placentas obtenidas después de la aparición del trabajo de parto en forma espontánea y del parto vaginal normal al compararse con placentas de cesáreas selectivas. Por tanto las observaciones que vinculan la actividad de la FLA₂-II durante el embarazo y el parto son todavía controversiales. Se necesitan más estudios para aclarar el papel de la FLA₂-II para el mantenimiento del embarazo o la aparición del trabajo de parto.

Las razones de las elevadas concentraciones séricas de FLA₂-II en el puerperio son desconocidas. Después del parto ocurre la separación placentaria, y se inicia la rápida involución uterina. Por tanto, altas concentraciones de FLA₂-II pueden ser necesarias para la síntesis de prostaglandinas. Por otra parte, pueden ocurrir reacciones inflamatorias sistémicas no específicas debido al parto o a la pérdida de sangre durante y después del parto. Sin embargo, el significado fisiológico de los niveles elevados de FLA₂-II deben ser aclarados.

Nuestros resultados sugieren que puede existir un mecanismo regulatorio de fosfolipasa A₂-II durante el ciclo menstrual normal y el puerperio.

REFERENCIAS

1. Pulkkinen M, Kivikoski A, Nevalainen T. Group I and group II phospholipase A₂ in serum during normal and pathological pregnancy. *Gynecol Obstet Invest* 1993;36:96-101.
2. Molnar M, Romero R, Hertelendy F. Interleukin-1 and tumor necrosis factor stimulates arachidonic acid release and phospholipid metabolism in human myometrial cells. *Am J Obstet Gynecol* 1993;169:825-829.
3. Satoh K, Seki H, Sakamoto H. Role of prostaglandins in pregnancy induced hypertension. *Am J Kidney Dis* 1991;17:133-138.
4. Kang I, Siler-Khodr T. Effects of exogenous arachidonic acid and enzyme inhibitors on placental prostanoid production. *Placenta* 1993;14:341-353.
5. Vadas P, Pruzanski W. Biology of disease. Role of secretory phospholipase A₂ in the pathology of disease. *Lab Invest* 1986;55:391-404.
6. Bonney R. Measurements of phospholipase A₂ activity in human endometrium during the menstrual cycle. *J Endocrinol* 1985;107:183-189.
7. Bonney R, Franks S. The activity of calcium-dependent and calcium-independent phospholipase A₂ in normal endometrium from women suffering from menorrhagia and polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol* 1988;2:131-138.
8. Lopez A, Newman G, Phizackerley P, Bryan G, Keeling J. Human placental phospholipase A₂ activity in term and preterm labour. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1992;43:185-192.
9. Murakami M, Kambe T, Shimbara S, Kudo I. Functional coupling between phospholipase A₂ and cyclooxygenases in immediate and delayed prostanoid biosynthetic pathways. *J Biol Chem* 1999;274:3103-3115.
10. Weinrauch Y, Abad C, Liang N, Lowry S, Weiss J. Mobilization of potent plasma bactericidal activity during systemic bacterial challenge. *J Clin Invest* 1998;102:633-638.
11. Hietaranta A, Kempainen E, Poulakkainen P. Extracellular phospholipase A₂ in relation to systemic inflammatory response syndrome and systemic complications in severe acute pancreatitis. *Pancreas* 1999;18:385-391.
12. Andersen S, Sjursen W, Langreid A, Austgulen R, Jahansen B. Immunohistologic detection of non pancreatic phospholipase A₂ (type II) in human placenta and its possible involvement in normal parturition at term. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1994;51:19-26.
13. Misaki A, Ide M, Kono M. Production and characterization of monoclonal antibodies against human pancreatic phospholipase A₂. *J Clin Biochem Nutr* 1991;11:79-89.
14. Ueda A, Misaki A, Yamaguchi A, Kominami G, Kono M. Immunoradiometric assay for group II phospholipase A₂. *Rinsho Kagaku* 1993;22:180-184.
15. Rizzo G, Capponi A, Arduini D, Lorigo D, Romanini C. The value of fibronectin in cervical and vaginal secretions and of ultrasonographic examination of the uterine cervix in predicting premature delivery for patients with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:1146-1151.
16. Groonross J, Kuttilla K, Pertila J, Nevalainen T. Phospholipase A₂ in the serum of patients after coronary artery bypass surgery. *Crit Care Med* 1996;24:259-262.
17. Bonney R, Higham J, Watson H, Beesley J, Shaw R, Frank S. Phospholipase activity in the endometrium of women with normal menstrual blood loss and women with proven ovulatory menorrhagia. *Br J Obstet Gynaecol* 1991;98:363-368.
18. Bonney R, Watson H, Beesley J, Higham J, Rogers V, Frank S. Endometrial phospholipase A₂ polycystic ovaries and pelvic pain. *Br J Obstet Gynaecol* 1992;99:486-491.
19. Bonney R, Wong W. The measurement of phospholipase A₂ activity in the human myometrium: Physiological and pathological implications. *Prostaglandins Leukot Essen Fatty Acids* 1988;34:1-8.
20. Hayashi K, Kawamura T, Endo S, Hata T. Serum group II phospholipase A₂ levels during menstrual cycle and pregnancy. *Gynecol Obstet Invest* 2000;50:123-126.
21. Bonney R, Qizilbash S, Franks S. Endometrial phospholipase A₂ enzymes and their regulation by steroids hormones. *J Steroid Biochem* 1987;27:1057-1064.
22. Vilar-Rojas C, Ruiz de Choez I, Gonzalez-Angulo A, Hichs J. Inhibition of implantation by the intrauterine administration of phospholipases in rat. *Contraception* 1982;25:107-117.
23. Rice G, Brennecke S, Scott K, Smith G, Rajkovic I, Bishop G. Elevated maternal plasma immunoreactive phospholipase A₂ human preterm and term labour. *Eicosanoids* 1992;5:9-12.
24. Dubois D, Smith L, Bazer F. Determination of porcine endometrial phospholipase A₂ activity and detection of immunoreactive cyclooxygenase during the oestrous cycle and early pregnancy. *Reprod Fertil Dev* 1993;5:531-543.
25. Skannal D, Eis A, Brockman D, Siddqi T, Myatt L. Immunohistochemical localization of phospholipase A₂ isoforms in human myometrium during pregnancy and parturition. *Am J Obstet Gynecol* 1997;176:878-882.
26. Aitken M, Rice G, Brennecke S. Gestational tissue phospholipase A₂ messenger RNA content and the onset of spontaneous labor in the human. *Reprod Fertil Dev* 1990;2:575-580.

Correspondencia a: Dr. Eduardo Reyna
Hospital Central "Dr. Urquinaona". Final Av. El Milagro. Maracaibo, Estado Zulia. Venezuela.
Teléfono: 0414-6190537.
E-mail: sippenbauch@medscape.com