

**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=ca>

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=es>

**WARNING.** The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

**TESIS DOCTORAL**

**ESTUDIO FUNCIONAL DEL CORAZÓN FETAL EN  
PACIENTES CON COLESTASIS INTRAHEPÁTICA  
GESTACIONAL**

Doctorando:

**Manuel Guerra Canales**

Directora de Tesis:

**Dra. Nerea Maiz Elizaran,**

Doctora en Medicina por la Universitat de Barcelona

Tutora de Tesis:

**Dra. María Goya Canino**

Doctora en Medicina por la Universitat Autònoma de Barcelona

**Departament de Pediatria, Obstetrícia Ginecologia i Medicina Preventiva i Salut Pública**

*Facultat de Medicina- Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona, 2023*

**Doña Nerea Maiz Elizaran**

CERTIFICA

Que la tesis Doctoral “ESTUDIO FUNCIONAL DEL CORAZÓN FETAL EN PACIENTES CON COLESTASIS INTRAHEPÁTICA GESTACIONAL”, elaborada por Manuel Guerra Canales y dirigida por la abajo firmante es apta para ser defendida ante el tribunal correspondiente, para optar al título de Doctor en *Pediatría, Obstetricia y Ginecología, otorgado por el Departament de Pediatria, Obstetricia i Ginecologia i de Medicina Preventiva i Salut Pública de la Facultat de Medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona*, y para que conste a los efectos oportunos, firma la presente.

Barcelona, 3 de Mayo de 2023

*...A Teresa y Manuel (mis padres) ...*

*Por el haber hecho de mí alguien de bien, por darme la educación que ningún colegio ni universidad te puede brindar; uno de ellos de seguro estará en el cielo disfrutando en este momento de mis logros.*

*... A María Teresa (aquella hija que está por venir) ...*

*por ser el estímulo para seguir adelante*

## **Agradecimientos:**

A Elena Carreras, Bernat Serra y Renato Ximenes por ser quienes moldearon mi gusto y pasión por la Medicina Materno Fetal.

A Marcos Clavero, Claudio Núñez y Eduardo Carstens por su constante apoyo mientras cada uno ha sido mi jefe directo, por brindarme las facilidades tanto para realizar este estudio como para ausentarme cada vez que mis actividades lo requerían.

A Carlota Rodó y Gerard Albaiges, por su gran y desinteresada ayuda en los 2 cursos que organicé y por ser una fuente de ayuda en estos años.

A Carlitos, Marcela, Rose y Mile; mis grandes y recordados compañeros de guardia (o “turno”, como le decimos en Chile), quienes soportaron en estos 4 años los cambios de humor, el cansancio y mis momentos de euforia. La guardia es una familia y eso nunca se olvida, los llevaré conmigo siempre.

A Loreto y María Fernanda, por ser las grandes amigas que me han apoyado en cada momento que he tropezado y las que siempre están también celebrando mis triunfos.

A Ignacio, por creer en este estudio y convertirse en un pilar fundamental en su realización,

A María Teresa, por ser una gran *partner* en el hospital y tener la disposición de ayudarme en el estudio cada vez que lo necesité.

A Giorgia por su gran ayuda cada vez que necesitaba algo en el hospital y por darse el tiempo de escucharme cada vez que tuve un problema.

Al laboratorio HISTOGEN, en particular a Luis, su director, por implementar por primera vez en este Chile y, para este estudio, la técnica de medición de Acido biliares.

A Maddalena, “Muffin” o “la italiana estresada”, a quien conocí mientras hacía mi formación en Vall d`Hebron, quien poco a poco se ganó un tremendo espacio en mi corazón y pasó a ser una gran amiga, como la hermana que nunca tuve.

A Ana, la “mi Co-R” o “la resi pesada del norte”, como no agradecerle tantas y tantas risas entre medio de tanto estrés. Como no recordar Mont San Benet y tantas anécdotas contigo.

A mis compañeros del pos grado de Medicina Fetal (FMFLA), quienes hicieron sacar lo mejor (¿o peor?) de mi en pocos días y sin conocernos. Son personas tan únicas y auténticas que hacen sentir el ambiente laboral o de estudio como si uno estuviese en casa.

A Giselle y Pedro, mi familia en España, por ser los grandes amigos que estuvieron de apoyo cada vez que lo necesité y de una manera incondicional.

A María Goya, por aceptar la tutoría de mi tesis en un momento difícil en que todo iba jugando en contra.

Finalmente, a Nerea Maíz, mi directora, por haber aceptado guiar mi proceso de formación en investigación, por tener la paciencia de enseñarme y corregirme. Por estar ahí cuando las cosas se venían abajo y no encontraba una salida. Por ser la luz que guio el camino para llegar a esta instancia.

*“Los desafíos son los que hacen la vida interesante, superarlos es lo que  
hace la vida significativa”*

*Joshua J. Marino*

# ÍNDICE

<b>ÍNDICE .....</b>	<b>7</b>
<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>9</b>
<b>LISTA DE TABLAS .....</b>	<b>10</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS .....</b>	<b>11</b>
<b>1 INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>15</b>
1.1 CONCEPTO .....	15
1.2 ETIOPATOGENIA .....	17
1.3 FISIOPATOLOGIA.....	21
1.4 DIAGNÓSTICO .....	30
1.5 PRONÓSTICO MATERNO Y FETAL.....	39
1.6 TRATAMIENTO .....	43
1.7 COLESTASIS Y FUNCIONALIDAD MIOCARDICA FETAL .....	50
<b>2 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.....</b>	<b>55</b>
<b>3 HIPÓTESIS .....</b>	<b>59</b>
<b>4 OBJETIVOS .....</b>	<b>63</b>
<b>5 MÉTODOS .....</b>	<b>67</b>
5.1 DISEÑO DEL ESTUDIO.....	69
5.2 ENTORNO.....	69
5.3 ASPECTOS ÉTICOS .....	69
5.4 PROTECCIÓN DE DATOS.....	70
5.5 POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	70
5.6 PROTOCOLO CLÍNICO.....	71

5.7	VARIABLES DEL ESTUDIO.....	75
5.8	TAMAÑO DE LA MUESTRA .....	77
5.9	ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	79
<b>6</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>85</b>
6.1	DATOS DEMOGRÁFICOS MATERNOS.....	85
6.2	ESTUDIO DEL INTERVALO PR.....	87
6.3	ESTUDIO DEL ÍNDICE TEI.....	90
6.4	RESULTADO OBSTÉTRICO.....	94
<b>7</b>	<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>99</b>
7.1	HALLAZGOS PRINCIPALES .....	99
7.2	COMPARACIÓN CON ESTUDIOS PREVIOS.....	99
7.3	IMPLICACIONES CLÍNICAS.....	102
7.4	FORTALEZAS .....	103
7.5	LIMITACIONES .....	103
<b>8</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>109</b>
<b>9</b>	<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>113</b>

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. MEDICIÓN DEL INTERVALO PR. ....	73
FIGURA 2: MEDICIÓN DEL ÍNDICE TEI. ....	74
FIGURA 3. DIAGRAMA DE CAJA QUE MUESTRA EL INTERVALO PR EN EL GRUPO CON COLESTASIS INTRAHEPÁTICA DEL EMBARAZO (CIE) Y EN EL GRUPO CONTROL.....	87
FIGURA 4. CORRELACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE ÁCIDOS BILIARES Y EL INTERVALO PR EN EL GRUPO DE MUJERES AFECTAS DE CIE.....	88
FIGURA 5. CORRELACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE ALT (IZQUIERDA) Y AST (DERECHA) CON EL INTERVALO PR EN EL GRUPO DE MUJERES AFECTAS DE CIE.....	89
FIGURA 6. DIAGRAMA DE CAJA QUE MUESTRA EL INTERVALO PR ANTES Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO CON AUDC EN EL GRUPO CON COLESTASIS.....	90
FIGURA 7. DIAGRAMA DE CAJA QUE MUESTRA EL ÍNDICE TEI EN EL GRUPO CON COLESTASIS INTRAHEPÁTICA DEL EMBARAZO (CIE) Y EL GRUPO CONTROL. ....	91
FIGURA 8. CORRELACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE ÁCIDOS BILIARES Y EL ÍNDICE TEI EN EL GRUPO DE MUJERES AFECTAS DE CIE. ....	92
FIGURA 9. CORRELACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE ALT (IZQUIERDA) Y AST (DERECHA) CON EL ÍNDICE TEI EN EL GRUPO DE MUJERES AFECTAS DE CIE.....	93
FIGURA 10. DIAGRAMA DE CAJA QUE MUESTRA EL ÍNDICE TEI ANTES Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO CON AUDC EN EL GRUPO CON COLESTASIS.....	94

## LISTA DE TABLAS

<b>TABLA 1.</b> PREVALENCIA REPORTADA EN PAÍSES Y ETNIAS.....	16
<b>TABLA 3.</b> CORTE DE ACIDOS BILIARES PARA DIAGNÓSTICO DE CIE. ....	32
<b>TABLA 4.</b> BILIRRUBINA Y TRANSAMINASAS, OTROS PARÁMETROS QUE ORIENTAN EN EL DIAGNÓSTICO Y SEVERIDAD DE LA CIE. .....	34
<b>TABLA 5.</b> CRITERIOS DIAGNÓSTICOS SEGÚN DISTINTAS SOCIEDADES CIENTÍFICAS. ....	36
<b>TABLA 6.</b> CUADRO RESUMEN DE DISTINTOS TRATAMIENTOS USADOS EN COLESTASIS.....	48
<b>TABLA 7.</b> TIEMPO DE FINALIZACIÓN DEL EMBARAZO SEGÚN DISTINTAS SOCIEDADES CIENTÍFICAS.....	49
<b>TABLA 8.</b> CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS EN EL GRUPO CON COLESTASIS INTRAHEPÁTICA (CIE) DEL EMBARAZO Y EN EL GRUPO CONTROL. ....	85
<b>TABLA 9.</b> PERFIL HEPÁTICO BASAL Y DURANTE EL SEGUIMIENTO SEMANAL EN LAS GESTANTES CON CIE.....	86
<b>TABLA 10.</b> RESULTADOS OBSTÉTRICOS EN MUJERES CON COLESTASIS INTRAHEPÁTICA GESTACIONAL (CIE) Y EN EL GRUPO CONTROL. ....	95

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>ABS</b>	Ácidos biliares sulfatados
<b>ALT</b>	Alanina aminotransferasa
<b>AMPc</b>	Adenosin monofosfato cíclico
<b>AST</b>	Aspartato aminotransferasa
<b>AUDC</b>	Ácido ursodesoxicólico
<b>BSEP</b>	Bomba exportadora de sales biliares
<b>CDCA</b>	Ácido quenodesoxicólico
<b>CEB</b>	Barrera epitelial colónica
<b>CIE</b>	Colestasis intrahepática del embarazo
<b>CTG</b>	Cardiotocografía
<b>DCA</b>	Ácido desoxicólico
<b>DBIL</b>	Bilirrubina directa
<b>FA</b>	Fosfatasa alcalina
<b>FXR</b>	Receptor farmesoide X
<b>GDCA</b>	Ácidos biliares glucoconjugados (GDCA)
<b>GGT</b>	Gamma glutamil transferasa
<b>IC</b>	Intervalo de confianza
<b>IMC</b>	Índice de masa corporal
<b>IP</b>	Índice de pulsatilidad
<b>ms</b>	Milisegundos

<b>NLR</b>	Proporción de neutrófilos a linfocitos
<b>OR</b>	Odds ratio
<b>PLR</b>	Proporción de plaquetas a linfocitos
<b>PT</b>	Porcentaje de Protrombina
<b>RIC</b>	Rango intercuartil
<b>TBA</b>	Ácidos biliares séricos totales
<b>TBIL</b>	Bilirrubina total
<b>TCI</b>	Tiempo de contracción isovolumétrica
<b>TDCA</b>	Ácidos biliares tauroconjugados
<b>TE</b>	Tiempo de eyección
<b>TGR5</b>	Receptor 1 de ácidos biliares acoplado a proteína G de membrana
<b>TRI</b>	Tiempo de relajación isovolumétrica
<b>VI</b>	Ventrículo izquierdo

# 1 INTRODUCCIÓN



# 1 INTRODUCCIÓN

## 1.1 CONCEPTO

La colestasis intrahepática del embarazo (CIE) es la afección hepática más común durante el embarazo y se manifiesta por prurito en las palmas de las manos y los pies, el que es más frecuente por la noche.<sup>1</sup> Aparece por lo general en el tercer trimestre, desaparece espontáneamente tras el parto y es de carácter recurrente en futuras gestaciones.<sup>2</sup>

Fue documentada por primera vez por Ahlfeld en 1883, seguida por Eppinger en 1937, aunque las descripciones clínicas de la afección no se publicaron hasta la década de 1950. Ha habido diferentes nombres asociados con el trastorno, que incluyen colestasis obstétrica, ictericia tardía del embarazo e ictericia recurrente del embarazo. Entre estos, el término CIE es más comúnmente reconocido.<sup>1</sup>

Uno de los grandes enigmas de la colestasis, y en torno al cual se forja este estudio, es la cifra de mortalidad fetal no explicable. A raíz de lo cual, han surgido varias teorías entre las cuales teoría acerca del impacto en la función del ritmo cardíaco anormalmente alterado en el feto, esto debido al supuesto efecto nocivo de los ácidos biliares sobre células miocárdicas fetales, estableciéndose falla en la excitabilidad de esta, demostrado por bloqueos o disfunción miocárdica.<sup>3</sup>

## EPIDEMIOLOGÍA

Presenta una prevalencia mundial del 0,7-1% de embarazos, siendo esta mayor en países escandinavos (1-2%) y en países sudamericanos como Chile (4-6%), y muy rara en razas oriental y negra.<sup>4</sup> El caso de Chile, la prevalencia va a estar fuertemente influida por la raza de origen, llegando a un 25% en el pueblo mapuche.<sup>4</sup>

Así, también, es más frecuente en mujeres de edad más avanzada, en multíparas, en fertilización asistida y Hepatitis C.

**Tabla 1.** Prevalencia reportada en países y etnias.

*Adaptada de Pizarro et al. (Pizarro Madrigal M, Guerrero Hines C, Chacón Campos N. Colestasis intrahepática del embarazo: una revisión sistemática. Rev Méd Sinerg. 2022;7:e771.)*

PAÍS / ORIGEN ÉTNICO	PREVALENCIA (%)
Australia	0,2-1,5
Bolivia	9,2
Aymaras	13,8
Quechuas	4,3
Caucásica	7,8
Mixto indígena	7,3
Canadá	0,07
Chile	4,7-6,5
Aymaras	11,8
Mapuche	27,6
Caucásica	15,1
China	0,05-0,32
Finlandia	0,54-1,1
Francia	0,2-0,53
India	0,08
Italia	0,96-1
Polonia	1,5
Portugal	1
Suecia	1-1,5
Estados Unidos	0,32
Estados Unidos (Latina)	5,6
Reino Unido	0,7
Caucásica	0,62
India	1,24
Pakistán	1,46

## 1.2 ETIOPATOGENIA

### FACTORES GENÉTICOS

El papel de los factores genéticos en el desarrollo de la CIE está bien documentado. Se ha demostrado que las variaciones en genes específicos contribuyen al desarrollo de la CIE<sup>5</sup>, y la evidencia existente indica que la CIE es causada por defectos hereditarios en las proteínas de transporte hepatobiliar como ATP8B 1, TJP2, ABCB4 y ANO8.<sup>6</sup>

Se ha encontrado que las mutaciones de ABCB4 están relacionadas con la colelitiasis asociada a niveles bajos de fosfolípidos y la colestasis inducida por fármacos, mientras que las mutaciones de ABCB11 se han encontrado en mujeres afectadas con CIE.<sup>6</sup>

Por otro lado, se ha encontrado que las mutaciones del gen BSEP y del gen MDR3 están asociadas con CIE hasta en un 15% de los casos.

Los estudios también han demostrado que las mutaciones del gen MRP2 pueden estar asociadas con la CIE, pero esta relación se observó solo en una población de mujeres sudamericanas y no en caucásicas.<sup>7</sup> Además, los estudios han revelado un vínculo entre los factores genéticos y hormonales en el desarrollo de la CIE, y aún quedan por identificar los defectos más prevalentes en la mayoría de los pacientes con CIE.<sup>5</sup>

Los genes reguladores centrales implicados en la CIE están relacionados principalmente con la respuesta inmunitaria, la vía de señalización del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y la señalización del receptor acoplado a proteína G.<sup>6</sup>

Por lo anteriormente expuesto, es que hoy en día, se considera que los factores genéticos juegan un papel importante en el desarrollo y progresión de la CIE.

#### FACTORES AMBIENTALES

Además de los factores genéticos, los factores ambientales, como la desregulación de la matriz extracelular y el suministro de oxígeno, el aumento de la permeabilidad intestinal y los altos niveles de hormonas sexuales producidas en el embarazo también pueden contribuir a la patogenia de la CIE.<sup>6</sup>

Una hipótesis sugiere que las citoquinas pueden ser el eslabón perdido entre el embarazo y la colestasis.<sup>8</sup> Las citoquinas podrían estar involucradas al favorecer la absorción de endotoxinas bacterianas, lo que puede iniciar la cascada inflamatoria hepática. Esta hipótesis debe confirmarse en un gran número de pacientes con CIE.<sup>8</sup>

Las características de la CIE, como la recurrencia incompleta, la disminución de la prevalencia y las variaciones estacionales, sugieren que los factores ambientales pueden contribuir a la patogenia de este trastorno.<sup>8</sup> Además, los altos niveles de ácido biliar total materno (TBA) pueden afectar el transporte placentario, la producción de hormonas placentarias y la constricción de los vasos coriónicos, lo que puede contribuir aún más al desarrollo de la CIE.<sup>8</sup>

La hipercolanemia materna también puede afectar la transferencia vectorial de ácidos biliares, creando gradientes dirigidos inversamente y alterando la capacidad del trofoblasto para transportar ácidos biliares.

Finalmente, la activación de la vía del receptor de oxitocina puede ser causada por un aumento en la expresión del receptor de oxitocina mediado por ácido cólico. En conjunto, estos factores demuestran la compleja relación entre los factores ambientales y genéticos en el desarrollo de la CIE.<sup>8</sup>

### FACTORES HORMONALES

Se postula que las propiedades colestáticas de las hormonas reproductivas en mujeres genéticamente susceptibles están involucradas en la CIE. Es así como, en teoría, durante el período de concentraciones hormonales más altas, se produciría el inicio de la CIE.<sup>5</sup>

Se piensa que los estrógenos son la principal hormona reproductiva que afecta la expresión de los receptores de ácidos biliares hepáticos nucleares y las proteínas de transporte canalicular hepatobiliar en mujeres susceptibles. Esto altera la homeostasis de los ácidos biliares hepáticos, lo que lleva a un aumento de la concentración de éstos. Además, la regulación a la baja de la expresión placentaria de los polipéptidos transportadores de aniones orgánicos OATP1A2 y OATP1B3 de los transportadores de ácidos biliares en las placentas CIE puede ser otro factor en la fisiopatología de la enfermedad.<sup>9</sup>

Los estrógenos pueden aumentar la permeabilidad de las uniones estrechas, mientras que los metabolitos de la progesterona están relacionados con el prurito, un síntoma de la CIE, y su metabolito, el sulfato de epialopregnanolona, puede inhibir la expresión y la

función de la bomba exportadora de sales biliares (BSEP) mediada por el receptor farnesioide X (FXR).<sup>6</sup>

El hígado realiza reacciones de desintoxicación de estrógenos durante el embarazo, es aquí en donde los estrógenos se inactivan y pasan de ser insolubles a ser solubles, de esta forma se expulsan mediante la bilis al aparato digestivo a fin de eliminarlos en las heces.

Por otro lado, la progesterona, que se sintetiza en la placenta, se metaboliza posteriormente por hidroxilación y conjugación en cuatro isómeros diferentes, que luego se reducen a pregnanolona y pregnanediol en el hígado. Debido al metabolismo alterado, las personas con predisposición genética a la CIE pueden experimentar un aumento de los metabolitos sulfatados de progesterona. Así también, esto está relacionado con un proceso de reducción más significativo. Estos metabolitos pueden sobresaturar los sistemas de transporte hepático que se encargan de excretarlos a través de la bilis.

Además, los factores hormonales están relacionados con el aumento de los niveles de fosfatasa alcalina sérica total en embarazos normales.

## 1.3 FISIOPATOLOGIA

### METABOLISMO DE LOS ÁCIDOS BILIARES

Los ácidos biliares son compuestos esteroideos que se encuentran en la bilis de los mamíferos. Son sintetizados en el hígado y se secretan en el intestino delgado cuando se ingieren alimentos. Se postula que los ácidos biliares han evolucionado como mediadores de la digestión y absorción de lípidos en el intestino.<sup>10</sup>

Son moléculas anfifílicas con propiedades hidrofílicas e hidrofóbicas.<sup>11</sup> Los ácidos biliares tienen un grupo carboxilo en la cadena lateral, un grupo 7 $\alpha$ -hidroxi y una configuración 3 $\alpha$ -hidroxi-5 $\beta$ (H), y pueden tener diferencias en la longitud de la cadena lateral, el número, las posiciones y la estereoquímica de los grupos hidroxilo, presencia de grupos carbonilo y dobles enlaces.<sup>12</sup> Se forman principalmente como tipos primarios o secundarios, y las enzimas bacterianas desconjugan los ácidos biliares antes de la 7-deshidroxilación.<sup>13</sup>

Las estructuras moleculares de los ácidos biliares están compuestas por un núcleo esteroideo y una cadena lateral de cinco carbonos.<sup>15</sup> La estructura C24 tiene un núcleo esteroideo que consta de tres anillos de seis miembros (A, B, C) y un anillo de cinco miembros (D). Los anillos A y B están unidos en configuración cis, lo que da como resultado una forma doblada general.<sup>15</sup> La cadena lateral está compuesta por dos grupos hidroxilo en orientación  $\alpha$  (hasta tres) y dos grupos metilo en orientación  $\beta$ , respectivamente. Se pueden observar variaciones en la estructura molecular en C-3 debido a los sustituyentes hidroxilo, sulfato o glucuronato. Otros sustituyentes C-24 incluyen glicina o taurina.

A su vez, los ácidos biliares se conjugan con glicina o taurina en el hepatocito y son importantes para la digestión y absorción de grasas.<sup>13</sup> Los ácidos biliares con sustituyentes hidroxilo en ambos lados del núcleo esteroideo no forman micelas, y la ionización de los ácidos biliares no está influenciada por los sustituyentes nucleares.<sup>14</sup>

La estructura de las moléculas de ácidos biliares se correlaciona con sus propiedades fisicoquímicas y se analiza la interacción de las soluciones de ácidos biliares con el  $\text{Ca}^{2+}$ .<sup>14</sup>

Los ésteres de ácidos biliares probablemente son producidos por el microbiota intestinal y son responsables de la solubilización del colesterol y la grasa a través de la formación de micelas mixtas con fosfolípidos.<sup>11</sup> Las diferencias entre especies y sexo pueden afectar la composición de ácidos biliares, y los patrones de ácidos biliares pueden diferir entre los períodos de vida neonatal y adulto y en pacientes con enfermedad hepática.<sup>14</sup>

El conjunto de ácidos biliares se puede expandir aún más al incluir todos los estados oxidados, epimerizados y deshidroxilados posibles de cada grupo hidroxilo presente en ácidos cólicos además de la orientación del anillo. La columna vertebral también puede existir en uno de dos estereoisómeros:  $5\alpha$ -esterol o  $5\beta$ -esterol.<sup>16</sup>

Investigaciones recientes también han indicado que los conjugados de glucurónido C-6 y C-24 están presentes en humanos. Por ejemplo, se han informado nuevos ácidos cólicos (DCA) sustituidos con aminoácidos C-24, a saber, ácido fenilalanocólico, tirosocólico y leucocólico.<sup>15</sup>

Los ácidos biliares se pueden funcionalizar en los grupos carboxílicos para formar diferentes especies, como hidrazida y ésteres y conjugados de aminoácidos. Además, el equilibrio hidrofóbico/hidrofílico de los derivados es importante para su capacidad de gelificación. Los copolímeros dibloque hidrofóbicos que contienen un bloque hidrofílico a base de glucosamina pueden tener ácidos cólicos como colgantes. Estas arquitecturas de polímeros pueden ser ramificadas o lineales. Además, se ha investigado el copolímero en bloque que contiene un bloque de dextrano unido a poliéster semirrígido de ácido desoxicólico-oligoetilenglicol. En general, los ácidos biliares ofrecen una gran cantidad de información sobre sus estructuras moleculares y brindan información sobre sus propiedades químicas y funciones biológicas.<sup>15</sup>

El ácido ursodesoxicólico (AUDC) es un tipo de ácido biliar que se forma por epimerización bacteriana, y la sulfatación de los conjugados de ácido litocólico evita la conservación ileal y da como resultado una rápida excreción del cuerpo.<sup>13</sup>

## FUNCIÓN DE LOS ÁCIDOS BILIARES

Los ácidos biliares poseen varias actividades biológicas, como regular el metabolismo del colesterol, ayudar en la absorción de grasas y funcionar como moléculas de señalización para regular la homeostasis de la glucosa.<sup>17</sup>

Estas moléculas anfipáticas son los principales solutos de la bilis y ayudan a evitar que el colesterol se precipite en la bilis. Los ácidos biliares tienen un papel similar al de un detergente en la digestión y absorción de grasas y moléculas liposolubles en el intestino.<sup>18</sup>

Son moléculas anfifílicas, con una cara hidrofóbica y una cara hidrofílica, que poseen una increíble eficacia antibacteriana en condiciones fisiológicas. Los derivados de los ácidos biliares también tienen aplicaciones farmacológicas, como antibacterianas, antifúngicas, antitumorales y como portadores de fármacos. Los análogos de (Z)-2,3-difenilacrilonitrilo derivados de los ácidos biliares poseen propiedades anticancerígenas y antimicrobianas.<sup>19</sup>

Los ácidos biliares regulan la homeostasis de los lípidos, la glucosa y el colesterol, la solubilización, el transporte de lípidos/grasas y la circulación enterohepática de los ácidos biliares. Además, juegan un papel importante en la absorción de lípidos y nutrientes liposolubles.<sup>19</sup>

El tamaño de la reserva de ácidos biliares está determinado por la recirculación enterohepática eficiente, el metabolismo microbiano y del huésped y los mecanismos de retroalimentación. La señalización de los ácidos biliares se ve afectada por el metabolismo intestinal, en particular por el microbiota intestinal.<sup>17</sup>

La investigación también ha demostrado que los ácidos biliares tienen un papel en la regulación del metabolismo energético y la inflamación, así como en la producción de ácidos biliares secundarios a través del metabolismo bacteriano.<sup>20</sup> Es así como los ácidos biliares están relacionados con varias enfermedades, como la cirrosis, la enfermedad inflamatoria intestinal y el cáncer.<sup>21</sup>

Los ácidos biliares son indispensables para la homeostasis y emulsificación de lípidos y colesterol. Estos ácidos, que se sintetizan en el hígado a partir del colesterol, facilitan el transporte y la absorción de grasas ayudando a su solubilización y transporte eficiente dentro de los enterocitos.<sup>16</sup>

Al llegar al intestino delgado, los ácidos biliares, en forma de sales biliares, actúan como detergentes que ayudan a emulsionar las grasas de la dieta en el intestino <sup>22</sup>. Luego, estos ácidos biliares son reabsorbidos de la luz intestinal por los enterocitos ileales, que desempeñan funciones críticas de transporte y regulación para mantener la homeostasis de los ácidos biliares.<sup>17</sup> Las células epiteliales intestinales reabsorben la mayoría de los ácidos biliares secretados a través del transportador apical de ácidos biliares dependientes de sodio (ASBT) y el péptido transportador de aniones orgánicos independiente de sodio (OATP).<sup>18</sup>

Otros transportadores implicados en la captación de ácidos biliares incluyen el polipéptido cotransportador de Na<sup>+</sup>-taurocolato (NTCP) y los miembros de la familia del polipéptido transportador de aniones orgánicos (OATP).<sup>17</sup> En el intestino delgado distal, la proteína de unión a lípidos ileales (ILBP) es necesaria para el transporte eficiente de ácidos biliares desde el lado apical al lado basolateral de los enterocitos.<sup>16</sup> Luego, los ácidos biliares, que no pueden pasar a través de las uniones estrechas del epitelio intestinal, son absorbidos por transportadores en el hígado. Por último, los ácidos biliares se recuperan en el extremo distal del intestino delgado y luego se devuelven al hígado para su reutilización.<sup>18</sup>

En conclusión, los ácidos biliares son esenciales para el transporte y absorción de grasas y tienen muchas otras funciones en el organismo, como mantener los niveles de

colesterol, solubilizar lípidos y proporcionar propiedades antibacterianas y anticancerígenas.

#### Ácidos Biliares y Regulación de la Permeabilidad Tisular

Los ácidos biliares juegan un papel importante en la regulación de la permeabilidad celular y paracelular. El flujo de salida mediado por ABCB4 es una de las formas en que los ácidos biliares pueden proteger las membranas celulares contra daños. El taurocolato, una sal biliar, es capaz de estimular la salida de fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina y esfingomielina mediada por ABCB4.<sup>33</sup>

Se ha demostrado que el ácido quenodesoxicólico (CDCA) cuando se encuentra aumentado puede aumentar la permeabilidad paracelular. Se ha establecido que CDCA causa un aumento en el flujo paracelular de FITC-dextrano en las células inmortalizadas de carcinoma colorectal (Caco2), causando a su vez una función de barrera deteriorada.<sup>34</sup>

Los ácidos biliares también pueden desempeñar un papel en el deterioro de la barrera epitelial intestinal en la enfermedad por hígado graso no alcohólica (EHNA) inducida por una dieta occidental. El secuestro de ácidos biliares intestinales puede mejorar la inflamación de la mucosa colónica y mejorar la función de la barrera epitelial colónica (CEB), restaurar la integridad estructural de las uniones estrechas epiteliales y restaurar la reducción y redistribución inducida por ácidos biliares de la expresión de ocludina y ZO-1 en la mucosa colónica. Además, las concentraciones micromolares de ácidos biliares pueden comprometer potencialmente la integridad de la CEB, y la interrupción del ciclo enterohepático de ácidos biliares puede aumentar el paso de ácidos biliares al colon, lo que también puede comprometer potencialmente la integridad de la barrera epitelial intestinal.<sup>34</sup>

## Ácidos Biliares y Regulación del Metabolismo Energético

Los ácidos biliares también participan en la regulación del metabolismo energético, particularmente en el hígado.<sup>35</sup>

Una vez sintetizados, los ácidos biliares entran en la circulación enterohepática y regulan su propia síntesis. Los ácidos biliares también desempeñan un papel en la síntesis de ácidos grasos, lípidos y lipoproteínas, así como en el metabolismo de la glucosa. Además, los ácidos biliares pueden estar involucrados en la resistencia al crecimiento bacteriano intestinal y la translocación en el intestino delgado.<sup>36</sup>

Se ha evidenciado, por ejemplo, que la interrupción de la circulación enterohepática de los ácidos biliares puede afectar enfermedades metabólicas como la diabetes mellitus.<sup>39</sup>

Se sabe que los ácidos biliares activan el FXR nuclear y el receptor 1 de ácidos biliares acoplado a proteína G de membrana (GPBAR-1, también conocido como TGR5) para mantener la homeostasis metabólica y proteger el hígado y otros tejidos y células de la toxicidad de los ácidos biliares.<sup>37</sup>

Los ácidos biliares también pueden modificar el microbioma intestinal, lo que tiene un gran impacto en el metabolismo del huésped y las enfermedades metabólicas<sup>37</sup>, y pueden activar los niveles de hormona tiroidea en el tejido adiposo pardo.<sup>38</sup> Curiosamente, GPBAR1 y desyodinasas 2 (D2), que están involucrados en la activación de la hormona tiroidea, se expresan en el tejido adiposo blanco y en el músculo esquelético en humanos, y se ha descubierto que los ácidos biliares aumentan el consumo de oxígeno en mioblastos humanos cultivados.<sup>38</sup> En conjunto, estudios recientes han identificado a los ácidos biliares como importantes moléculas de señalización que activan los receptores nucleares y las vías de señalización celular para regular el metabolismo energético.<sup>37</sup>

## ÁCIDOS BILIARES Y COLESTASIS

La colestasis intrahepática del embarazo se caracteriza principalmente por un aumento de los niveles séricos de ácidos biliares que están implicados en su patogenia, producido por una disminución de la excreción de éstos, lo que conlleva también a una disminución de su concentración a nivel intestinal.<sup>39</sup> A nivel de hígado, se produce una respuesta inflamatoria que puede alterar su función y producir elevación de bilirrubina (a expensas de su fracción directa) y/o enzimas hepáticas, junto con una alteración en el metabolismo de gliceroles que, en conjunto con la autotaxima, produce un aumento del ácido lisofosfatídico, el cual, al tener contacto con terminales nerviosas intradérmicas da origen a uno de los síntomas principales de la enfermedad, el prurito.<sup>86</sup>

La placenta juega un papel crucial en la protección del feto durante el embarazo, protegiéndolo de toxinas dañinas como los ácidos biliares. El ácido taurocólico, según se ha estudiado, puede tener un efecto directo sobre la vasculatura placentaria, lo que lleva a una disfunción orgánica y resultados perinatales desfavorables. Así también, el aumento de ácidos biliares en plasma materno induce mayor sensibilidad del miometrio a la oxitocina, dando lugar a episodios de irritabilidad uterina y a un potencial aumento en el riesgo de parto pretérmino.<sup>5</sup>

El metabolismo de los ácidos biliares comienza alrededor de las 12 semanas de gestación en el feto. Las proteínas transportadoras de la placenta regulan y mantienen un equilibrio, protegiendo al feto de estas sustancias del plasma materno. Sin embargo, si la concentración plasmática se eleva significativamente, se saturan estos receptores y no pueden regular los niveles de ácidos biliares de manera efectiva. Este desequilibrio conduce a un aumento de los ácidos biliares tanto en el líquido amniótico como en la sangre fetal. Estos niveles elevados de ácidos biliares tienen implicaciones potenciales para el feto, como una vasoconstricción crónica a nivel placentario que puede llegar a causar hipoxia fetal, un aumento de la motilidad intestinal dando lugar a meconio y también una acumulación en el sistema de conducción cardíaco dando lugar a arritmias cardíacas.<sup>41,87</sup>

## ÁCIDOS BILIARES Y CÉLULAS MIOCÁRDICAS

Los ácidos biliares tienen una fuerte influencia sobre el sistema cardiovascular y pueden tener un efecto perjudicial sobre las células miocárdicas. Los ácidos biliares séricos elevados se asocian con disfunción cardíaca y los niveles de ácidos biliares maternos pueden provocar una lesión miocárdica fetal, la cual se puede recuperar después de la eliminación de altas concentraciones de ácidos biliares.<sup>43</sup>

Los ácidos biliares también están implicados en la formación de miocardiopatía cirrótica.<sup>44</sup> Además, se sabe que los ácidos biliares tienen cardiotoxicidad, y la bilis de buey filtrada inyectada en las venas yugulares de los conejos provocó bradicardia y paro cardíaco<sup>45</sup>.

Algunos estudios han revelado que los ácidos biliares provocan la desaceleración de la contracción de los cardiomiocitos neonatales, lo que indica la participación de otras vías de señalización.<sup>46</sup>

Los ácidos biliares no conjugados (CDCA, DCA y AUDC) son agonistas relativamente potentes para el receptor GPBAR1 y provocan la liberación de Adenosin Monofosfato Cíclico (AMPC), mientras que todos los ácidos biliares glucoconjugados (GDCA) y tauroconjugados (TDCA) son agonistas débiles. Los ácidos biliares conjugados son agonistas parciales del receptor muscarínico M2 y actúan parcialmente a través de la vía de los receptores acoplados a proteína G (Gi), pero no afectan al receptor de membrana de los ácidos biliares TGR5. Se asocian con una reducción en la tasa de contracción, mientras que las concentraciones elevadas de ácidos biliares no conjugados provocan la liberación de AMPC mediada por TGR5, pero no un aumento en la tasa de contracción.

En ratas se ha visto que el 95% de los ácidos biliares se conjugan con la taurina y una 5% se conjugan con glicina, mientras que en los seres humanos ocurre un cambio en este factor de conjugación hacia una proporción glicina: taurina es de 3:1, esto resulta interesante al tener en cuenta que los TDCA son los que se han identificado como lo mayormente implicados en los cambios a nivel de la funcionalidad del cardiomiocito fetal.<sup>46</sup>

La inhibición farmacológica del receptor muscarínico M2 elimina parcialmente los efectos cronotrópicos de los ácidos biliares en los cardiomiocitos neonatales, así como su capacidad de estimular efectos similares a la vía Gi en este tipo de células.<sup>46</sup>

Más adelante, en el capítulo 1.7 se volverá a hacer mención de este tema, pero ya orientado al corazón fetal humano y el presente estudio.

## 1.4 DIAGNÓSTICO

### CUADRO CLÍNICO

El prurito, el síntoma principal de CIE, puede aparecer hasta 2 semanas antes de los cambios medibles por analíticas. En el tercer trimestre del embarazo, a partir de la semana 30, suelen marcar por lo general el inicio; sin embargo, el prurito puede desarrollarse tan pronto como en la sexta semana de gestación. Si bien se dirige predominantemente a las palmas de las manos y las plantas de los pies, también puede extenderse a otras áreas como el resto de las extremidades, los párpados e incluso la cavidad oral en casos extremos. Aumenta por la noche y, por ende, también interfiere con el sueño.<sup>47,48</sup>

A menudo, las lesiones por rascado pueden evidenciarse durante el examen físico. También hay casos asociados a dolor abdominal en el hipocondrio derecho, náuseas y vómitos.

La encefalopatía y otros estigmas de insuficiencia hepática son poco frecuentes y pueden apuntar a causas alternativas de enfermedad hepática.

El examen en sí no proporciona ningún indicador específico. Los casos aislados de ictericia son raros y pueden orientar rápidamente hacia otras posibles causas. Aproximadamente dos semanas después del inicio del prurito, la ictericia puede aparecer en el 10-15% de los casos y luego desaparecer en un lapso de uno a 40 días después del parto.<sup>49</sup>

En la tabla 2 se resumen con signos y síntomas más frecuentes de la CIE.

**Tabla 2.** Cuadro resumen de los principales síntomas de la CIE.

Adaptada de *Intrahepatic cholestasis of pregnancy*. UpToDate. 2021.

<b>Signo o Síntoma</b>
<b>Prurito</b>
<b>Ictericia</b>
<b>Esteatorrea</b>
<b>Insomnio</b>
<b>Irritabilidad</b>
<b>Astenia</b>
<b>Anorexia, náuseas, vómitos</b>
<b>Dolor abdominal</b>

## ALTERACIONES DE LABORATORIO

### Elevación de Ácidos Biliares

Un método enzimático mide las concentraciones séricas de ácidos biliares totales en ayunas, revelando un aumento considerable en aquellas con CIE que excede las de mujeres sanas o no embarazadas ( $>10 \mu\text{mol/l}$ )<sup>50</sup> (Tabla 3). Este aumento se debe principalmente a los niveles más altos de ácido cólico en comparación con otros ácidos quenodesoxicólicos, lo que hace que aparezca una mayor relación ácido cólico/quenodesoxicólico que en mujeres embarazadas sin CIE. Antes de la aparición de los síntomas, los mayores indicadores de CIE incluyen un nivel elevado de ácido cólico

sérico o una relación ácido cólico/ácido quenodesoxicólico superior a 145. Además, hay una disminución de la relación glicina/taurina.<sup>51</sup>

**Tabla 2.** Corte de Ácidos biliares para diagnóstico de CIE.

Modificado de Majsterek et al. (Majsterek M, Wierzchowska-Opoka M, Makosz I, Kreczyńska L, Kimber-Trojnar Ż, Leszczyńska-Gorzelak B. Bile Acids in Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy. *Diagnostics*. 2022; 12:2746)

GUÍA	NIVEL DE ÁCIDOS BILIARES
RCOG	>19 µmol/L
SMFM	>10 µmol/L
SAPPG	>19 µmol/L
PGS	>10 µmol/L
ChSH y ChMA	>10 µmol/L

Royal College of Obstetricians and Gynecologist (RCOG); Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM); South Australian Perinatal Practice Guideline (SAPPG); Chinese Society of Hepatology (ChSH); Chinese Medical Association (ChMA).

## Otras alteraciones de laboratorio

Los cambios que indican colestasis aparecen como otros resultados de laboratorio no específicos (Tabla 4). La fracción conjugada de la bilirrubina experimenta una disminución a medida que aumenta moderadamente la bilirrubina total (<6 mg/dL).

La interpretación de los valores de fosfatasa alcalina sérica es difícil debido a su refuerzo fisiológico durante el embarazo causado por la producción de la isoenzima placentaria, aunque se elevan aproximadamente cuatro veces su valor normal.

Las concentraciones séricas de gamaglutamiltranspeptidasa (GGT), por lo general normales o ligeramente elevadas, distinguen a esta enfermedad de otras dolencias colestásicas.

Los valores de transaminasas que aumentan entre 2 y 10 veces el límite superior de lo normal suelen ir acompañados de niveles elevados de colesterol, lípidos y actividad de aminotransferasa. Sin embargo, se han informado casos raros de valores de alanina aminotransferasa (ALT) que superan 500 veces el nivel normal, lo que requiere una cuidadosa consideración de diagnósticos diferenciales como hepatitis viral aguda o isquémica debido al síndrome de Budd-Chiari agudo.

Vale la pena señalar que, aunque el tiempo o porcentaje de actividad de protrombina son generalmente normales, la deficiencia de vitamina K causada por colestasis o quelantes de ácidos biliares como la colestiramina podría alterarlos.<sup>52</sup>

**Tabla 3.** Bilirrubina y transaminasas, otros parámetros que orientan en el diagnóstico y severidad de la CIE.

Oliveira H, Pereira C, Santos Silva E, Pinto-Basto J, Pessequeiro Miranda H. Elevation of gamma-glutamyl transferase in adult: Should we think about progressive familial intrahepatic cholestasis?. *Digestive and Liver Disease*. 2016;48(2):203-205

ALT/AST	GGT	BILIRRUBINA
Elevación en 20-60% de los casos	Elevación en 30% de los casos	Elevación en 10% de los casos
Elevación >35-70 UI /L	Elevación discreta (no suele pasar por lo general 100 UI/L)	Bilirrubina total >1,2 mg/dL (a expensas de Bilirrubina directa)
La AST es más sensible que la ALT y puede elevarse hasta 30 veces su valor	Asociado a mutación de novo	Valores no superan 6 mg/dL

ALT = alanina aminotransferasa; AST = aspartato aminotransferasa, GGT = gamaglutamiltranspeptidasa

### CRITERIOS DIAGNÓSTICOS

El diagnóstico de CIE sigue siendo un desafío debido a la falta de criterios establecidos y la amplia gama de datos disponibles.<sup>50</sup> Esto ha resultado en una variedad de protocolos para el diagnóstico de CIE. La Sociedad de Medicina Materno Fetal (SMFM), así como otras sociedades, ha generado pautas para el diagnóstico y manejo de la colestasis.

El diagnóstico generalmente se basa en una combinación de parámetros clínicos y de laboratorio (Tabla 5).<sup>53</sup>

Los TBA se consideran el biomarcador más importante para la CIE, y los niveles deben estar notablemente elevados (11  $\mu\text{mol/L}$ ) para confirmar el diagnóstico.

Los marcadores bioquímicos como la ALT, el aspartato aminotransferasa (AST), la GGT, la bilirrubina total (TBIL) y la bilirrubina directa (DBIL) también se utilizan para el diagnóstico.<sup>53</sup>

Los parámetros de laboratorio incluyen marcadores inflamatorios como el recuento de glóbulos blancos, el recuento de neutrófilos, la proporción de neutrófilos a linfocitos (NLR) y la proporción de plaquetas a linfocitos (PLR).<sup>53</sup>

Aunque poco conocido y usado, el valor diagnóstico de NLR es mayor que el de otros marcadores, con una sensibilidad del 86,14% y una especificidad del 84,57%.

Se puede considerar una ecografía abdominal para excluir la presencia de colelitiasis.<sup>54</sup>

El prurito materno también debe resolverse en el post parto para confirmar el diagnóstico de CIE. El diagnóstico así debe confirmarse después del parto, ya que los niveles de ácidos biliares y transaminasas hepáticas deben volver a la normalidad al menos cuatro semanas después del parto.<sup>54</sup> En los casos en que las anomalías bioquímicas hepáticas y los síntomas maternos no se resuelven después de 4 semanas, se debe considerar la remisión a hepatología para una evaluación adicional.

Varias organizaciones, como la Sociedad de Medicina Fetal, la Sociedad Estadounidense de Gastroenterología y el Departamento de Salud del Gobierno de Australia Occidental, han publicado pautas para abordar los riesgos, el diagnóstico y el manejo de la CIE. Sin embargo, la heterogeneidad de la literatura se refleja en las variaciones de las guías.<sup>7</sup>

**Tabla 4.** Criterios diagnósticos según distintas sociedades científicas.

Bicocca M, Spering I, Chauhan S. Intrahepatic cholestasis of pregnancy: Review of six national and regional guidelines. *European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology.* 2018, 231: 180-187

Sociedad Científica	Criterios diagnósticos
<i>Royal Australian and New Zealand College of Obstetricians and Gynecologists</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Prurito palmo-plantar</li> <li>• Puede haber o no aumento de Enzimas Hepáticas</li> <li>• No requiere medición de TBA</li> </ul>
<i>Royal College of Obstetricians and Gynecologists</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Prurito palmo-plantar</li> <li>• Elevación de enzimas hepáticas y/o aumento de TBA</li> <li>• TBA &gt;19 µmol/L</li> </ul>
<i>American College of Gastroenterology</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Prurito persistente que se resuelve tras el parto</li> <li>• TBA &gt; 10 µmol/L</li> </ul>
<i>South Australia Maternal, Neonatal and Gynecology Community of Practice</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Prurito</li> <li>• No se incluyen pruebas de función hepáticas para el diagnóstico</li> <li>• TBA &gt;15 µmol/L</li> </ul>

TBA= ácidos biliares séricos totales

#### CRITERIOS DE SEVERIDAD

Actualmente, hay una falta de criterios estructurados para diferenciar entre casos leves y severos de colestasis, variando periódicamente y según sea el estudio que lo publique o la sociedad científica que lo valide.<sup>40</sup> Ahora bien, lo más aceptado a nivel internacional es que estos criterios de severidad se basen en los niveles séricos de ácidos biliares, la gravedad del prurito y las pruebas de función hepática.

El nivel de TBA es mayor en el grupo de CIE grave que en el grupo de CIE leve. El valor crítico de TBA para el diagnóstico de CIE fue de 10  $\mu\text{mol/L}$ , el nivel de TBA de 10–40  $\mu\text{mol/L}$  se definió como CIE leve y el nivel de TBA >40  $\mu\text{mol/L}$  se definió como CIE grave.<sup>53</sup>

Además, los niveles de ALT, AST, GGT, bilirrubina total y directa fueron significativamente más altos en el grupo CIE que en el grupo sano. Estableciéndose como un aumento en más del doble del valor normal superior que utilice el laboratorio clínico para las transaminasas y un valor de bilirrubina total > 1.8 mg/dL como otros factores de severidad asociados.<sup>53</sup>

En cuanto al prurito, este es tomado como criterio de severidad cuando su presentación es de carácter invalidante, siendo este el criterio más débil en comparación con los antes mencionados debido a su subjetividad.

#### DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Otras condiciones pueden ser mal diagnosticadas como CIE. Esto se debe, por ejemplo, a que otras afecciones, como el síndrome HELLP precoz, el hígado graso agudo del embarazo y la preeclampsia, pueden compartir características de laboratorio similares con la CIE.<sup>55</sup> En estos casos, se pueden requerir pruebas adicionales para identificar la condición con precisión.

Las hormonas y las citocinas, por ejemplo, podrían reducir la expresión y el rendimiento de los principales transportadores de ácidos biliares sinusoidales o canaliculares durante la última etapa del embarazo. Esto podría conducir al desarrollo de síntomas que pueden malinterpretarse como CIE.<sup>55</sup>

También se ha asociado un mayor riesgo de CIE con la infección por VHB, ya que la razón de probabilidad (OR) de infección por VHB entre pacientes con CIE es de 1,70 (IC 95 %: 1,44-2,01; I<sup>2</sup>=0 %).<sup>56</sup> Además, el HBeAg aumenta el riesgo de CIE al aumentar el impacto del VHB en el metabolismo de los ácidos biliares a través de la respuesta inmunitaria. Aunque existe una investigación limitada sobre la asociación entre HBeAg y CIE, parece

que las portadoras de HBeAg tienen un mayor riesgo de CIE que las mujeres embarazadas HBeAg negativas.<sup>56</sup>

La infección por hepatitis C también puede imitar los síntomas de la CIE cuando los niveles de estrógeno y gestágeno son altos.<sup>57</sup> Sin embargo, esto no siempre fue así; en la década de 1970 y principios de la de 1980, cuando se recolectó una parte considerable de los datos de este análisis retrospectivo<sup>57</sup>, la prueba de hepatitis C no estaba disponible. Por lo tanto, probablemente ocurrieron varios casos de diagnóstico erróneo de CIE debido a la falta de conocimiento de esta afección. Esto resalta la importancia de identificar otras condiciones que pueden ser mal diagnosticadas como CIE antes de tomar una decisión médica. Es importante considerar también otros tipos de hepatitis viral aguda y por medicamentos como diagnósticos potenciales que incluyen características colestásicas en el diagnóstico diferencial.

El prurito sin ictericia puede ser causado por enfermedades de la piel, reacciones alérgicas, estrías abdominales, diabetes y otras enfermedades metabólicas. En algunos casos es necesaria una consulta con un dermatólogo para excluir condiciones como impétigo herpetiforme, foliculitis pruriginosa, herpes gestacional y dermatitis papular del embarazo.<sup>55</sup> Por lo tanto, no solo es importante realizar pruebas de laboratorio para diagnosticar la CIE, sino también buscar otros síntomas asociados y considerar otras posibles condiciones para hacer un diagnóstico certero.

## 1.5 PRONÓSTICO MATERNO Y FETAL

Durante las últimas semanas del embarazo, la intensidad del prurito y las alteraciones bioquímicas pueden variar.

Se puede desarrollar ictericia leve en alrededor del 10-15 % de los casos. Puede ocurrir una disminución de vitaminas liposolubles, como la vitamina K, lo que conduce a tiempos de protrombina prolongados y provoca hemorragia perinatal en el sistema nervioso central del feto.<sup>7</sup> Además, en pacientes con CIE se observan heces grasas debidas a trastornos de la absorción, especialmente malabsorción de lípidos. Por lo tanto, es importante que las mujeres embarazadas sean conscientes de los signos y síntomas de la CIE, para que el trastorno pueda diagnosticarse y tratarse a tiempo, para reducir el riesgo de complicaciones asociadas. En el puerperio se permite la lactancia materna y hay una remisión de la sintomatología y de las pruebas de laboratorio alteradas. El prurito en general desaparece rápidamente después del parto, aunque en algunos casos puede persistir más allá del parto durante algunas semanas. Curiosamente, los cambios bioquímicos tienden a normalizarse dentro del mes posterior al parto. En hasta el 60-70 % de los casos, las madres que han experimentado CIE pueden presentar colestasis recurrente de diversos grados de gravedad durante embarazos futuros. Debido a los cálculos de colesterol, la probabilidad de colelitiasis es de 2 a 7 veces mayor.

El feto de una gestante con CIE tiene un riesgo significativo, lo que contrasta con la perspectiva positiva para las madres. Las complicaciones incluyen principalmente tinción con meconio del líquido amniótico, prematuridad, sufrimiento fetal y muerte intrauterina.

Los niveles elevados de ácidos biliares séricos de  $\geq 40$   $\mu\text{mol/L}$  se han asociado con un mayor riesgo de complicaciones fetales.<sup>7</sup>

El trabajo de parto prematuro es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad perinatal, describiéndose en esta entidad entre un 20-60% de incidencia según la serie clínica.

En relación con el inicio temprano de la enfermedad y el grado de disfunción hepática, las pacientes con CIE experimentan un mayor riesgo de parto prematuro/síntomas de trabajo de parto prematuro, lo que indica que una CIE más grave conduce a mayores posibilidades de prematuridad. Los mecanismos exactos detrás del trabajo de parto prematuro relacionado con CIE siguen siendo desconocidos.

En cuanto al riesgo de muerte fetal, la insuficiencia placentaria crónica no es la principal causa de esta.<sup>55</sup> Las autopsias de muertes fetales relacionadas con la CIE muestran signos de anoxia letal aguda con hemorragia petequial en la pleura, el pericardio y las glándulas suprarrenales.<sup>55</sup>

Los altos niveles de TBA materna también pueden afectar el transporte placentario, la producción de hormonas placentarias y la constricción de los vasos coriónicos. Además, durante la CIE hay un aumento del flujo de ácidos biliares de la madre al feto. Esta hipercolanemia materna puede afectar la transferencia vectorial de ácidos biliares a través de la creación de gradientes dirigidos inversamente y afectar la capacidad del trofoblasto para transportar ácidos biliares.<sup>55</sup>

Las mujeres con niveles de TBA entre 10 y 39  $\mu\text{mol/L}$  tienen un riesgo mínimo o nulo de resultados perinatales adversos. Por otro lado, el riesgo de morbilidad y mortalidad fetal en la CIE severa es mayor que en la población general, en los embarazos con niveles de TBA  $\geq 40 \mu\text{mol/L}$  hubo un mayor riesgo de parto prematuro, eventos de asfixia, tinción de líquido amniótico con meconio.<sup>58</sup>

Se ha observado que la prevalencia del síndrome de distrés respiratorio fetal también aumenta en las pacientes con CIE. Zeca *et al.* encontraron que el síndrome de dificultad respiratoria había aumentado 2,5 veces en comparación con los grupos de control. Esto sirve como una complicación obvia que surge del aumento de la prematuridad espontánea o iatrogénica. Esto podría deberse a una disfunción a nivel de los

neumocitos tipo II. Los neumocitos II son responsables de producir surfactante, el que ayuda a reducir la tensión superficial en los alvéolos. Esto permite una expansión y contracción más fácil durante la respiración. Sin surfactante, los alvéolos colapsarían y dificultarían la respiración. Este estudio de Zeca *et al.* constató que los ácidos biliares afectarían la producción de surfactante.<sup>59</sup>

En el metaanálisis de Ovadia *et al.* se intenta identificar las concentraciones séricas de ácidos biliares relacionadas con el parto prematuro y la muerte fetal intrauterina. De 4.936 pacientes con CIE, se observó muerte fetal en 45 casos (0,83%). Por otro lado, entre 163.947 embarazos de control, 519 (0,32%) corrieron la misma suerte. De acuerdo con los valores de ácidos biliares, se analizaron los resultados perinatales en cuanto a la relación OR de 1,46 (IC 95%, 0,73 a 2,89). El estudio demostró que la muerte fetal en embarazos únicos tenía una asociación con la concentración total más alta de ácidos biliares, pero no con niveles elevados de ALT. Para determinar el punto en el que aumentan las tasas de muerte fetal, se utilizaron varios valores límite para los ácidos biliares durante la regresión logística. Los resultados descubiertos mostraron que los embarazos con ácidos biliares totales inferiores a 40 mmol/L tuvieron una prevalencia de muerte fetal de 0,13 % IC del 95 % 0,02 - 0,38, o 3 en 2310 gestaciones. Mientras tanto, los ácidos biliares entre 40 y 99 mmol/L registraron una no mayor tasa de muerte fetal con 4 muertes en 1412 gestaciones, o sea 0,28 %, IC del 95 %: 0,08 a 0,72 (índice de riesgo HR: 2,35, IC del 95 %: 0,52 a 10,50; p= 0,26). En embarazos con CIE y ácidos biliares por encima de 100 mmol/L, la tasa de muerte fetal fue de un alarmante 3,44 % (IC del 95 %: 2,05 – 5,37), con 18 muertes en 524 (HR: 30,50 IC del 95 % 8,83-105,30; p<0,0001).<sup>60</sup> Los autores concluyeron que, en embarazos únicos con colestasis intrahepática, se observó un aumento significativo en el riesgo de muerte fetal cuando las concentraciones de ácidos biliares eran iguales o superiores a 100 mmol/L en comparación con el grupo control. Dado que la mayoría de las pacientes con CIE presentaban valores de ácidos biliares por debajo de 100  $\mu$ mol/L, se considera que su riesgo de muerte fetal es similar al de las mujeres sin CIE. Este resultado es crucial,

particularmente en términos de decidir cuándo debe terminar el embarazo, siempre que se mantenga el nivel de ácidos biliares durante todo el período de gestación.<sup>60</sup>

Para este estudio, es crucial enfatizar la importancia del nivel de ácidos biliares como el predictor primario de muerte fetal intrauterina. En particular, la muerte fetal mostró solo asociaciones débiles con las enzimas hepáticas como la AST y ALT. Además, los valores de bilirrubina no exhibieron ninguna capacidad predictiva con respecto a la muerte fetal.

Se ha evidenciado en este mismo estudio, que las pacientes embarazadas con CIE tienen un mayor riesgo de tener un parto prematuro espontáneo respecto a embarazadas sin la patología (OR: 3,47, IC del 95 %: 3,06 – 3,95). Así también existe una mayor probabilidad de parto prematuro iatrogénico (OR: 3,65, IC del 95 %: 1,94 – 6,85), en comparación con el grupo control, independientemente de la cantidad de ácido biliar presente. Además, las posibilidades de líquido amniótico meconial también aumentan (OR: 2,60, IC 95% 1,62 - 4,16) durante este mismo período.<sup>60</sup>

## 1.6 TRATAMIENTO

La tranquilidad y el retiro de los factores desencadenantes son componentes clave del tratamiento de la CIE.<sup>61</sup> La pareja de la mujer también debe ser incluida en la terapia, como parte del manejo integral del entorno que rodea a la gestante. También se debe alentar a las mujeres a realizar cambios en el estilo de vida, como controlar su dieta y evitar ciertos alimentos. Los cambios en la dieta, como aumentar la ingesta de fibra y agua, evitar ciertos alimentos grasos y tomar probióticos, pueden ayudar a reducir los síntomas de la CIE.<sup>61</sup> También se debe orientar a las gestantes a que descansen lo suficiente y practiquen técnicas de manejo del estrés. En algunos casos, los medicamentos como el ácido ursodesoxicólico, la colestiramina y la rifampicina han demostrado su eficacia para controlar los síntomas de la CIE. Además, las mujeres con CIE deben ser monitorizadas para comorbilidades como la diabetes gestacional, preeclampsia y anemia. También se debe educar a las mujeres sobre los riesgos a largo plazo de tener CIE, como el riesgo de daño hepático o recurrencia de CIE en embarazos posteriores.

Los resultados deseados del tratamiento farmacológico para CIE incluyen la reducción de los síntomas maternos, particularmente el prurito, y la prevención de complicaciones en la madre y el feto. El enfoque ideal (objetivo y precoz) produciría rápidamente efectos beneficiosos dentro de 1 a 2 semanas, y puesto a que la enfermedad surge al final del embarazo, no representaría ninguna amenaza para la madre o el recién nacido. A pesar de estas expectativas, ningún medicamento ha cumplido todavía con todos los criterios para poder catalogarlo como "*Gold standard*" en el manejo de la CIE, pese a que se han empleado múltiples fármacos en la búsqueda, como los que se detallan a continuación.

### 1.6.1 Ácido Ursodesoxicólico

El AUDC es un ácido biliar terciario que se sintetiza en el tracto gastrointestinal como resultado del metabolismo bacteriano de los ácidos biliares primarios.

El AUCD es una opción de tratamiento para la CIE, y es el medicamento más utilizado para el tratamiento de la CIE, además de ser el tratamiento de elección en la actualidad.<sup>62</sup> Los resultados primarios estudiados y destacados con el uso de AUCD son mejoría en prurito y función hepática.<sup>63</sup>

El AUCD estimula la excreción de ácidos biliares hidrofóbicos, otros compuestos potencialmente hepatotóxicos y metabolitos de progesterona sulfatados, y se ha utilizado con éxito para mejorar las anomalías clínicas y de la función hepática en una variedad de enfermedades hepáticas colestásicas.<sup>54</sup> Además, el AUCD disminuye el paso de los ácidos biliares maternos a la unidad fetoplacentaria y mejora la función del sistema de transporte de ácidos biliares a través del trofoblasto.<sup>54</sup>

El AUCD también disminuye la síntesis, secreción y reabsorción de colesterol a nivel intestinal cuando se administra de forma exógena. Incluso tiene la ventaja añadida de disminuir el volumen de bilis secretada al mismo tiempo que optimiza el flujo de esta.

La mejoría de los síntomas se observa comúnmente dentro de las dos semanas posteriores al inicio de su administración, con una reducción correspondiente del 60% en los niveles de ácidos biliares en el líquido amniótico y el cordón umbilical y una resolución del prurito del 40%.

Hacia el año 2016 se realizó un metaanálisis para evaluar los efectos y la seguridad de AUCD en pacientes con CIE, que incluyó solo ensayos controlados aleatorios.<sup>63</sup> Los resultados de este metaanálisis mostraron que el AUCD es eficaz para reducir el prurito y mejorar los resultados de las pruebas hepáticas en pacientes con CIE. Se observó una reducción significativa de los niveles de aminotransferasa y bilirrubina en todas las mujeres tratadas y reducción del prurito y los ácidos biliares en mujeres con niveles séricos de ácidos biliares superior a 40  $\mu\text{mol/l}$  en la inclusión.

El AUCD es bien tolerado por las madres y no tiene efectos adversos en los recién nacidos y, por lo tanto, es seguro recomendar el tratamiento con AUCD para las mujeres con CIE.<sup>62</sup>

Si bien es cierto, en diversos estudios se ha demostrado que el AUDC es eficaz para mejorar el prurito, los niveles séricos de ácidos biliares y las enzimas hepáticas, ninguno de estos estudios mostró una reducción en los resultados perinatales adversos.

En el año 2019, un estudio multicéntrico aleatorizado en el Reino Unido realizado por Chappell *et al.*<sup>65</sup> llamado PITCHES, no encontró reducciones significativas en las muertes perinatales, los nacimientos prematuros o las admisiones a las salas neonatales. Sin embargo, en el grupo tratado con AUDC se observó mayor reducción en el prurito en comparación con el placebo, mientras que en ambos grupos (AUDC y placebo) se observó una reducción en los niveles de ácidos biliares y alanina aminotransferasa.<sup>65</sup>

### 1.6.2 Antihistamínicos

Los antihistamínicos son fármacos que se dirigen a los receptores de histamina, en particular a los receptores H1 y H2. Los antagonistas H1 son inhibidores competitivos y reversibles de los receptores H1. Los antihistamínicos de primera generación atraviesan la barrera hematoencefálica y provocan sedación. Además, debido a su capacidad para bloquear los receptores muscarínicos, estos fármacos también tienen efectos anticolinérgicos. Los antagonistas H1 de primera generación incluyen clorfenamina, hidroxizina, difenhidramina, dimenhidrinato y meclizina. Los antihistamínicos de segunda generación generalmente no causan somnolencia porque no cruzan la barrera hematoencefálica. Los ejemplos de antihistamínicos de segunda generación incluyen loratadina, desloratadina y cetirizina. Debido a su actividad antihistamínica, los antagonistas H1 se utilizan para tratar los síntomas alérgicos. Además, los antihistamínicos de primera generación se usan para tratar mareos, náuseas y vómitos. Los antagonistas H2 (bloqueadores) se dirigen a los receptores H2 y disminuyen la producción y secreción de ácido gástrico. Por lo tanto, las indicaciones comunes para los bloqueadores de los receptores H2 incluyen el tratamiento de la enfermedad por reflujo gastroesofágico y las úlceras gástricas y duodenales.

El empleo de antihistamínicos, sobre todo los de primera generación, (p. ej., hidroxizina o clorfenamina) y benzodiacepinas para el tratamiento del prurito proporciona un escaso alivio sintomático, no mejora las alteraciones bioquímicas y no modifica el pronóstico para el feto. Además, los antihistamínicos pueden agravar las dificultades respiratorias de los recién nacidos pretérmino.<sup>66</sup>

### 1.6.3 Colestiramina

La colestiramina constituye uno de los tratamientos más antiguos utilizados para el prurito relacionado con la CIE.<sup>8</sup> Esta resina aniónica se une a los ácidos biliares e interrumpe su circulación enterohepática, siendo eliminadas por las heces.<sup>5</sup> Sin embargo, la colestiramina se ha asociado con un empeoramiento de la morbilidad materna, como por ejemplo distensión abdominal o estreñimiento. También se ha descrito que puede empeorar la malabsorción de vitaminas liposolubles, especialmente la vitamina K y aumentar los niveles de ácido litocólico no conjugado. Por lo tanto, las mujeres embarazadas deben recibir sustitución parenteral de vitaminas liposolubles (A, D y K) si son tratadas con resinas aniónicas como la colestiramina.<sup>5</sup>

### 1.6.4 Rifampicina

La rifampicina se ha sugerido como un tratamiento potencialmente eficaz para la colestasis intrahepática.<sup>67</sup> La rifampicina es un ligando y activador del receptor de glucocorticoides, que se administra por vía oral en dosis de 5-17 mg/kg/día sin otro fármaco concomitante. Los estudios han indicado que es eficaz para aliviar el prurito en más del 90 % de los pacientes,<sup>67</sup> con un alivio completo en esos los pacientes y recurrencia de los síntomas tras su suspensión. El mecanismo de acción de la rifampicina en el tratamiento del prurito aún se desconoce, pero se cree que involucra oxidasas de

función mixta en el hígado, la inhibición de la absorción de ácidos biliares en el hepatocito y una mayor disponibilidad de ácidos biliares para la posterior glucuronidación y excreción renal. Es necesario monitorizar los efectos secundarios hepáticos y hematológicos durante la terapia prolongada con rifampicina debido a su posible toxicidad.

### 1.6.5 Dexametasona

Los estudios que evalúan su eficacia clínica en el tratamiento de CIE han arrojado resultados decepcionantes y, por lo tanto, no es un medicamento recetado comúnmente para esta afección, ya que no demostró mejorar los niveles de ácidos biliares ni la sintomatología.<sup>68</sup>

### 1.6.6 S-adenosil Metionina (SAME)

Involucrada en la transferencia de grupos metilo, la S-adenosil metionina (SAME) es un cosustrato ampliamente utilizado. Es un tratamiento común para la depresión, la osteoartritis y enfermedades hepáticas como la cirrosis. Inicialmente, se prescriben tres dosis de 400 mg todos los días. Luego, según la evolución, la dosis se reduce a la mitad después de unas pocas semanas de uso.

Se ha demostrado que los síntomas de prurito mejoran con el uso de S-adenosil L-metionina, sin embargo, no se ha observado que disminuya los niveles de enzimas hepáticas o ácidos biliares.<sup>55</sup>

**Tabla 5.** Cuadro resumen de distintos tratamientos usados en colestasis.

Bicocca M, Spering I, Chauhan S. Intrahepatic cholestasis of pregnancy: Review of six national and regional guidelines. *European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology.* 2018, 231: 180-187

Fármaco	RCOG	SAMNP	GWADOH	ACG	EASL	SMFM
<b>AUDC</b>	Si (no indican dosis)	Iniciar 250 mg/día. Máximo 750 mg/día	10-15 mg/kg/día	10-15 mg/kg/día	Iniciar 10-20 mg/kg/día. Máximo 25 mg/kg/día	Iniciar 300 mg/día
<b>Dexametasona</b>	-	-	-	Maduración pulmonar	Prurito	-
<b>S-adenosil metionina</b>	-	-	-	-	En conjunto con AUDC	-
<b>Rifampicina</b>	-	Considerar ante falla de AUDC	-	-	Considerar ante falla de AUDC	-

### 1.6.7 Finalización del embarazo

Determinar el momento ideal para finalizar el embarazo sigue siendo un tema complejo y sin un consenso claro. La investigación realizada por Puljic *et al.*<sup>69</sup> exploró el riesgo de muerte fetal en 5545 mujeres embarazadas con CIE frente a un grupo de control. Sus hallazgos sugirieron que 36 semanas de gestación era el período de parto óptimo para embarazos únicos con CIE para evitar la muerte fetal o neonatal. Sin embargo, este estudio no sopesó la gravedad de la enfermedad, los valores de ácidos biliares, los marcadores bioquímicos o la morbilidad relacionada con la prematuridad. En 2019, Ovadia *et al.*<sup>60</sup> investigó los valores de ácidos biliares, señalando concentraciones de 100 µmol/L o más como las que representan la amenaza más considerable de muerte fetal intrauterina.

En dicho estudio, se encontró que pacientes con CIE y TBA inferior a 100  $\mu\text{mol/L}$  no presentaron un aumento de muerte fetal en comparación con la población control, por lo que no está claro si es necesario interrumpir el embarazo antes de las 39 semanas de gestación en tal grupo.

La evidencia acerca de la edad gestacional precisa para indicar la interrupción de un embarazo con CIE sigue siendo incierta, como se refuerza en una revisión sistemática realizada por Henderson *et al.*<sup>70</sup> de 16 estudios.

En la tabla 7 se muestra la edad gestacional de finalización recomendada por las diferentes sociedades científicas.

**Tabla 6.** Tiempo de finalización del embarazo según distintas sociedades científicas.

*Bicocca M, Spering I, Chauhan S. Intrahepatic cholestasis of pregnancy: Review of six national and regional guidelines. European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology. 2018, 231: 180-187.*

SOCIEDAD CIENTÍFICA	EDAD GESTACIONAL DE FINALIZACIÓN
RCOG	37 semanas
ACG	37 semanas
GWADOH	37-38 semanas
SMFM	37-38 semanas
ESASL	36-38 semanas
SAMNP	38 semanas

## 1.7 COLESTASIS Y FUNCIONALIDAD MIOCÁRDICA FETAL

Como ya se mencionó previamente, los ácidos biliares tienen una acción deletérea sobre la célula miocárdica fetal.

La posible causa de muerte fetal dada por alteraciones del ritmo cardíaco fetal podría surgir en mujeres con la afección debido al efecto de la disfunción miocárdica. Según lo descrito, parece que existe una correlación entre los niveles de ácidos biliares en la sangre de las mujeres embarazadas y el potencial efecto arritmogénico. Un aumento en los niveles de ácidos biliares puede afectar el nódulo sinusal fetal y provocar bradicardia. Los modelos in vitro han sugerido que los ácidos biliares pueden inhibir los potenciales de acción en el nódulo sinoauricular, mientras que otro estudio observó que el taurocolato puede afectar los canales de calcio tipo T. Además, investigaciones posteriores han indicado que la colestasis no solo está relacionada con los problemas del ritmo cardíaco fetal, sino también con la disfunción cardíaca, que es proporcional a los niveles de ácidos biliares. Curiosamente, los modelos de laboratorio también han encontrado que la administración de AUDC puede revertir los impactos negativos de los ácidos biliares en los cardiomiocitos.<sup>74,84,85</sup>

### 1.7.1 Intervalo PR

Ya en 1989, Kotake *et al.*<sup>71</sup> describieron en su estudio el efecto de los ácidos biliares sobre el nódulo sinusal de conejos, en este estudio se describió la inhibición de los potenciales de acción, produciendo un efecto cronotrópico negativo que conduce a la bradicardia, que será dosis dependiente. Hacia 1994, Nolan *et al.*<sup>72</sup> reportaron el caso de una paciente con colangitis cuyo feto presentó bradicardia persistente y posteriormente encontró niveles elevados de ácidos biliares en el cordón umbilical. En 2004, Gorelik *et al.*<sup>73</sup> determinaron que el taurocolato, un ácido biliar, era responsable

de la disminución de la frecuencia de contracción de los cardiomiocitos de rata. Posteriormente, en una publicación de 2010, el mismo grupo sugirió que la bradicardia resultante se debía a una activación arritmogénica parcial a nivel de los receptores muscarínicos M2. En el mismo contexto, en 2011, Miragoli *et al.*<sup>74</sup> publicaron un estudio en el que demostraron que el taurocolato no inducía arritmias en un modelo de corazón materno de rata, pero si disminuyó la velocidad de conducción en modelo de corazón fetal de rata, esto se atribuyó a la presencia de miofibroblastos temporales en el corazón fetal que se van perdiendo a medida que se desarrolla este órgano. En 2010, Strehlow *et al.*<sup>83</sup> realizaron el primer estudio prospectivo de casos y controles en humanos; un total de 21 pacientes (14 pacientes con colestasis y 7 controles) se inscribieron en este estudio; en este estudio se encontró que había una diferencia significativa en intervalo PR entre mujeres con colestasis y mujeres de control, que en realidad no entraban en la categoría de bloqueo (124 frente a 110 ms).

Luego en el año 2016, un nuevo estudio realizado en humanos, por Rodríguez *et al.*<sup>84</sup>, en que se reclutaron 102 pacientes (51 con CIE y 51 controles) arrojó un aumento significativo en el intervalo PR en el grupo con CIE respecto al grupo control (134,6 vs 121 ms), y dentro de este aumento en el intervalo PR, 4 pacientes se clasificaron como bloqueo auriculoventricular de 1er grado (intervalo PR > 150 ms)

Estudios posteriores han reafirmado tal teoría, como el de Vasavan *et al.*<sup>3</sup>, publicado el año 2021 en que además propone que, en la CIE no tratada, existe un fenotipo cardíaco fetal anormal que está relacionado con concentraciones séricas de ácidos biliares más altas tanto en la madre como en el feto. Este fenotipo se define por una mayor concentración de NT-proBNP, variabilidad del ritmo cardíaco y longitud del intervalo PR. La buena noticia es que el tratamiento con AUDC puede mejorar este fenotipo.

### 1.7.2 Índice TEI

En estudios con humanos y modelos animales, se ha observado que los ácidos biliares tienen la capacidad de cambiar no solo el ritmo cardíaco sino también la funcionalidad del miocardio.

En 1987, Binah *et al.*<sup>76</sup> descubrieron un hallazgo interesante: un aumento en los niveles de ácidos biliares conduce a una disminución en la duración del potencial de acción en los cardiomiocitos de rata. Los efectos de los ácidos biliares sobre la funcionalidad cardíaca pueden ser tanto directos como indirectos, según su estudio. Los efectos directos pueden incluir cambios en los canales de calcio, una disminución del monofosfato de adenosina intracelular (cAMP) y un aumento de la apoptosis a través de la interacción de los ácidos biliares y los receptores muscarínicos. Por otro lado, los efectos indirectos se refieren al metabolismo de los ácidos biliares y del colesterol, la regulación de los niveles de colesterol en sangre, la formación de placas ateroscleróticas y la función miocárdica.

A principios de la década de 2000, Gorelik *et al.*<sup>73</sup> realizaron un estudio en ratas de laboratorio que encontró que las amplitudes de contracción más bajas, la sincronización de cardiomiocitos disminuida y la duración del potencial de acción más corta estaban todos asociados con niveles elevados de ácidos biliares. Esta fue una extensión de una investigación previa que investigaba fenómenos similares varios años antes. Se encontró que las troponinas del cordón cardíaco y los niveles del índice TEI del ventrículo izquierdo estaban significativamente elevados en recién nacidos con mujeres colestáticas según el estudio realizado por Zhang *et al.*<sup>77</sup> en 2009. La investigación exploró el posible vínculo entre los niveles de ácidos biliares y la disfunción cardíaca en los bebés, y observaron niveles más altos de ambos indicadores en el grupo examinado en comparación con los controles. En 2014, Fan *et al.*<sup>78</sup> realizaron un estudio de casos y controles para explorar la posible deformación del miocardio fetal en pacientes con colestasis. El estudio reveló una correlación entre el nivel de ácidos biliares y una disminución de la sobrecarga del ventrículo izquierdo. Utilizando Doppler tisular a nivel

del miocardio fetal, un estudio realizado por Ataalla *et al.*<sup>79</sup> en 2016 reveló que la disfunción cardíaca fetal se presentaba en mujeres que presentaban colestasis y niveles elevados de ácidos biliares (>40 µmol/L). Ese año, Henry *et al.*<sup>80</sup> hicieron un gran descubrimiento: las mujeres embarazadas con colestasis tienen fetos que experimentan un aumento notable en los tiempos de relajación y contracción isovolumétrica ventricular. Esta variación no se observó en el grupo control.

### 1.7.3 Ácido ursodesoxicólico

El AUCD exhibe diferentes mecanismos de acción, que actualmente se recomienda como tratamiento primario para la colestasis. Estos mecanismos incluyen el aumento del flujo de bilis, la reducción de la secreción endógena de ácidos biliares y la protección de los hepatocitos contra la apoptosis causada por los ácidos biliares. El AUCD ha sido eficaz para aliviar los síntomas y mejorar las pruebas bioquímicas a nivel hepático, sin que se hayan observado efectos adversos ni en las madres ni en los fetos. La prescripción oral de 500 mg dos veces al día o 300 mg tres veces al día (15 mg/kg/día) hasta el parto es estándar, pero aún no se ha definido la dosis óptima. Los pacientes muestran una mejoría de los síntomas y las pruebas de laboratorio posteriores al tratamiento revelan una mejora notable, generalmente en una o dos semanas.

Atribuido como cardioprotector, el AUCD se ha estudiado en pacientes con colestasis por sus beneficios potenciales. En el año 2011, un equipo de investigación dirigido por Miragoli *et al.*<sup>74</sup> realizó un estudio en ratas que padecían de la enfermedad, revelando el papel protector del AUCD. Los resultados sugieren la capacidad del fármaco como tratamiento antiarrítmico para fetos afectados, por cambios en los mecanismos de reentrada y potenciales de acción de los cardiomiocitos. La propagación del impulso cardíaco en el corazón fetal puede ralentizarse, pero Adeyemi *et al.*<sup>81</sup> en el año 2017 descubrieron que el tratamiento con AUCD podría proteger contra esto; su estudio estableció el papel crucial que desempeña el intercambio de sodio y potasio, y en ese

contexto la protección que haría el AUDC al inhibir la acción de los taurocolatos a nivel de los canales de calcio tipo T.

Finalmente, en 2019 se publicaron los resultados de PITCHES<sup>65</sup> un estudio aleatorizado realizado en Reino Unido para evaluar el efecto del AUDC en pacientes con CIE. En este estudio se determinó que el uso de AUDC en la población general colestásica no se asoció con una mejoría importante en los niveles de ácidos biliares, ni redujo los síntomas, ni mostró una disminución en los resultados perinatales adversos. Sin embargo, este estudio no midió el efecto correctivo del AUDC sobre la prolongación del intervalo PR causada en última instancia por los ácidos biliares. Tampoco se identificaron los subgrupos que probablemente se beneficiarían del tratamiento.

## **2 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO**



## 2 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Si bien la etiología de la colestasis se desconoce, la enfermedad tiene una clara expresión clínica y bioquímica. Las severas complicaciones fetales y neonatales asociadas a la colestasis generan un importante desafío relacionado con su prevención.

Las implicaciones de la CIE para el feto pueden llegar a ser bastante ominosas. Varios estudios comunican una incidencia más alta de nacimientos antes del término de la gestación y muerte fetal in útero. Se ha reportado pérdida de bienestar fetal en un tercio de los casos, lo que lleva a la cesárea en el 30-60% de las pacientes, y prematuridad en más del 50% de las gestaciones en algunas series. Se registran fetos muertos en alrededor del 4% de los casos de CIE severas, mortalidad que se cree secundaria a la toxicidad de los ácidos biliares para el feto, al que debe monitorizarse cuando se establece el diagnóstico de colestasis.

Se considera que la elevación de ácidos biliares y enzimas hepáticas en suero materno son buenos predictores de la mayoría de las complicaciones que se presentan asociadas a la enfermedad: presencia de meconio en líquido amniótico, muerte intraútero y parto pretérmino.

La muerte fetal asociada a colestasis no tiene hasta el momento una explicación precisa y no se ha podido predecir. Se ha descrito incluso en gestaciones con óptimas evaluaciones de la salud fetal en las 24-48 horas previas al óbito intraútero. Los estudios *in vitro* han demostrado toxicidad de algunos ácidos biliares sobre las células miocárdicas. Esto podría relacionarse con las muertes fetales sin previa detección de alteración de vitalidad.

Las diferentes variaciones patológicas de los parámetros bioquímicos, como los ácidos biliares, han permitido establecer una correlación entre la magnitud de la alteración de estos últimos y las complicaciones perinatales

Lo descrito anteriormente justifica la necesidad de un manejo acucioso de las gestaciones complicadas con colestasis, así como también la necesidad de seguir

investigando el eventual efecto de los TBA sobre las alteraciones cardíacas fetales, estableciendo herramientas para un mejor seguimiento y pesquisa de casos potencialmente letales, con la finalidad de mejorar el pronóstico y prevenir las complicaciones del binomio madre-feto.

## **3 HIPÓTESIS**



### 3 HIPÓTESIS

1. La elevación de niveles ácidos biliares sanguíneos en mujeres con colestasis intrahepática gestacional afecta tanto el ritmo cardiaco como la funcionalidad miocárdica fetal, medidas mediante el intervalo PR y el índice TEI, en comparación con las mujeres sin colestasis.
2. La afectación de los cardiomiocitos fetales es directamente proporcional al aumento de los niveles de ácidos biliares en la madre.
3. La administración de ácido ursodesoxicólico en mujeres gestantes con colestasis intrahepática gestacional tiene un rol “cardioprotector” sobre el corazón fetal.



## **4 OBJETIVOS**



## 4 OBJETIVOS

### **Objetivo principal:**

Los objetivos principales del estudio son:

O1: Estudiar la diferencia en la actividad cardiaca fetal en pacientes afectas de CIE y pacientes sin colestasis mediante la determinación del intervalo PR.

O2: Estudiar la diferencia en la función cardiaca fetal mediante en el índice TEI del corazón fetal en gestantes con CIE y gestantes sanas.

### **Objetivos secundarios:**

O3: Estudiar la correlación entre intervalo PR y los niveles de ácidos biliares en gestantes con CIE.

O4: Estudiar la correlación entre el índice TEI y los niveles de ácidos biliares en gestantes con CIE.

O5: Estudiar los cambios del intervalo PR en fetos de gestantes con CIE tras la administración de ácido ursodesoxicólico.

O6: Estudiar los cambios del índice TEI en fetos de gestantes con CIE tras la administración de ácido ursodesoxicólico.



## 5 MÉTODOS



## 5 MÉTODOS

### 5.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

Se trata de un estudio prospectivo observacional de casos y controles que compara el intervalo PR y el índice TEI en fetos de mujeres con CIE con un grupo control.

Además, en el grupo con CIE se realizó un seguimiento longitudinal comparando el intervalo PR e índice TEI antes y después del tratamiento con AUDC.

### 5.2 ENTORNO

El estudio se llevó a cabo en el Hospital Clínico San José y la Clínica RedSalud Vitacura, ambos en Santiago de Chile, entre abril de 2018 y octubre de 2020.

### 5.3 ASPECTOS ÉTICOS

El estudio fue aprobado por el "Comité de ética de la Investigación del Servicio de Salud Metropolitano Norte" el 19 de julio de 2018 (Carta N° 052/2018). Se obtuvo el consentimiento por escrito de todas las mujeres participantes en el estudio.

El estudio se realizó de acuerdo con la Declaración de Helsinki, y en consonancia con las normas de Buena Práctica Clínica ICH E6(R2).

## 5.4 PROTECCIÓN DE DATOS

Los datos personales se protegieron mediante codificación: los datos identificativos de las gestantes (nombre, apellidos, número de historia clínica y fecha de nacimiento) fueron eliminados y sustituidos por un código en la base de datos. La correlación entre los datos identificativos y el código se guardaron en un archivo separado y encriptado mediante contraseña, que únicamente conocía el investigador principal (el doctorando Manuel Guerra).

## 5.5 POBLACIÓN DE ESTUDIO

La población del estudio estaba formada por mujeres embarazadas que acudían a uno de los hospitales mencionados.

El estudio incluye mujeres embarazadas que han sido diagnosticadas con CIE y un grupo control de mujeres embarazadas sin CIE.

### Criterios de inclusión:

- Edad materna igual o superior a 18 años
- Criterios de inclusión para el grupo CIE: Haber sido diagnosticada de una CIE durante el actual embarazo.
- Criterios de inclusión para el grupo control: Ausencia de síntomas de CIE.

Definición de CIE: la CIE se definió como prurito palmo-plantar de predominio nocturno durante más de una semana y asociado a niveles totales de ácidos biliares superiores a 10  $\mu\text{mol/L}$ .

Selección de grupo control: Los gestantes del grupo control fueron mujeres con embarazos programados para inducción o cesárea electiva entre las semanas 38 y 40 de gestación.

Los criterios de exclusión fueron:

- Embarazos gemelares o múltiples
- Malformación fetal
- Crecimiento intrauterino restringido
- Infección vírica materna que alterara la función hepática materna
- Tratamiento farmacológico que afectara a la función hepática materna o a la función cardiaca fetal
- Arritmia cardiaca fetal
- Presencia de anticuerpos anti-Ro o anti-La

## 5.6 PROTOCOLO CLÍNICO

### 1.- Obtención del consentimiento informado

Durante el proceso de consentimiento informado, todas las gestantes que entraron en el estudio, tanto del grupo CIE como del grupo control, recibieron información oral y escrita sobre el estudio, la patología y los métodos diagnósticos que se utilizarían.

## **2.- Medición de ácidos biliares**

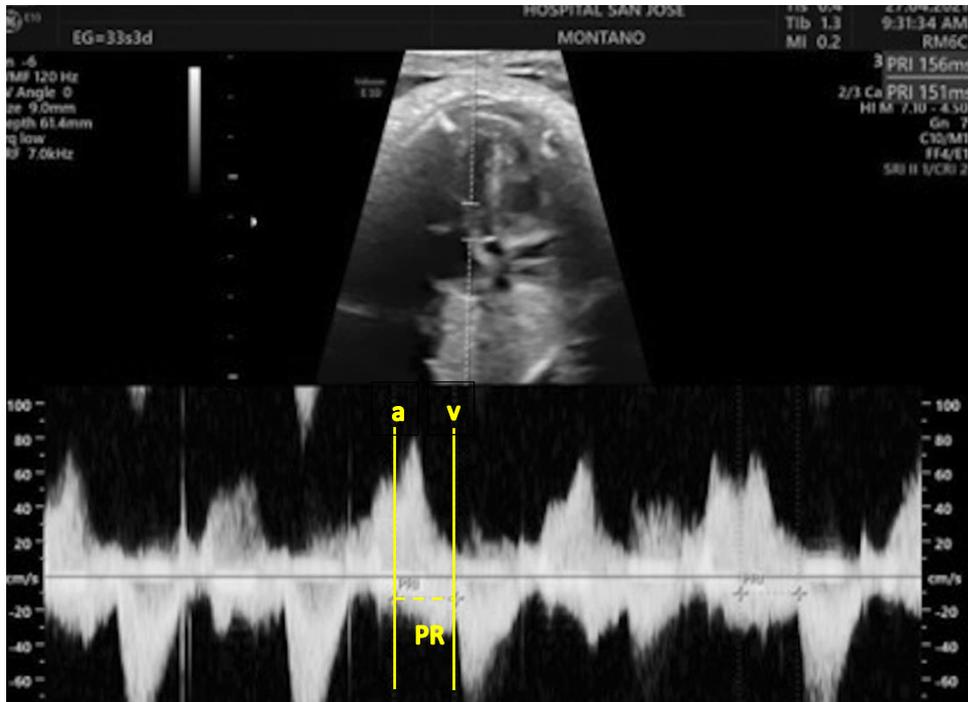
En el grupo CIE, se realizó una medición de ácidos biliares cuando una paciente tenía diagnóstico clínico de CIE. Esta medición se realizó semanalmente hasta el final del embarazo para los casos severos de la enfermedad y cada dos semanas en casos leves. Estableciéndose para tal efecto como criterios de severidad TBA > 40umol/L y/o bilirrubina total > 1,8 md/dL y/o transaminasas superiores al doble del valor de corte superior establecido por el laboratorio clínico.

En el grupo de control, la medición de ácidos biliares se realizó en el momento de la prueba preoperatoria o en el ingreso hospitalario.

## **3.- Medición del intervalo PR**

Se realizó una ecocardiografía funcional fetal en el momento del diagnóstico y se repitió semanalmente en el grupo de colestasis severa, a las 34-36 semanas de gestación en el grupo de colestasis leve y en el momento de la prueba preoperatoria o en el ingreso hospitalario en el grupo control. El operador fue único y ciego de los grupos de estudio. La evaluación se realizó en un corte de 5 cámaras, a nivel de la válvula mitral y el tracto de salida del ventrículo izquierdo, en ausencia de movimientos fetales y/o respiratorios.

El intervalo PR se midió como el tiempo transcurrido entre el inicio de la contracción auricular (onda a) y el inicio de la contracción ventricular (onda v). Un único operador ciego evaluó el corazón fetal en ausencia de movimientos fetales y/o respiratorios (Figura 1).



**Figura 1.** Medición del intervalo PR.

Gentileza Dr. Ignacio Montaña, Hospital clínico San José.

#### **4.- Medición del índice TEI**

Se realizó una ecocardiografía funcional fetal en el momento del diagnóstico y se repitió semanalmente en el grupo de colestasis severa, a las 34-36 semanas de gestación en el grupo de colestasis leve y en el momento de la prueba preoperatoria o al ingreso hospitalario en el grupo control. El operador fue único y ciego de los grupos de estudio. Se evaluaron los corazones fetales a partir del plano del tracto de salida del ventrículo izquierdo. En esta proyección, las válvulas mitral y aórtica pueden ser visualizadas simultáneamente, por lo tanto, el tiempo de contracción isovolumétrica, el tiempo de

relajación isovolumétrica y el tiempo de eyección pueden ser medidos en el mismo ciclo cardíaco, en ausencia de movimientos fetales y/o respiratorios.

El índice TEI se midió de la siguiente manera: a) Tiempo de contracción isovolumétrica (TCI): desde el final de la onda a hasta el inicio del trazado Doppler pulsado aórtico, b) tiempo de eyección (TE): desde el inicio hasta el final del trazado Doppler pulsado aórtico y c) Tiempo de relajación isovolumétrica (TRI): desde el final del tiempo de eyección hasta el inicio de la onda E. El índice TEI se calculó a partir de la media de las tres mediciones sucesivas de cada uno de los intervalos medidos incluida la frecuencia cardíaca fetal. Índice TEI = (TCI+TRI) /TE. (Figura 2).



**Figura 2:** Medición del índice TEI.

Gentileza Dr. Ignacio Montaña, Hospital Clínico San José.

## **5.- Uso y control del ácido ursodesoxicólico**

Se administró ácido AUDC a dosis de 15 mg/kg/día dividido en 3-4 dosis a todas las pacientes diagnosticadas de CIE. La dosificación comenzó tras la recogida de muestras para la medición de ácidos biliares y la realización de una ecocardiografía fetal.

## **6.- Seguimiento y finalización de la gestación**

Además, en el grupo de CIE leve, se planificó un seguimiento semanal con cardiotocografía (CTG) y pruebas hepáticas según el protocolo local. En el grupo de colestasis grave, las pacientes fueron hospitalizadas, se realizó el diagnóstico diferencial, se monitorizó la CTG y las pruebas hepáticas cada 48 horas, y se midieron semanalmente los ácidos biliares, el intervalo PR y el índice TEI. Según el protocolo nacional, el embarazo se finalizó a las 36 semanas en los casos de CIE severa y a las 38 semanas en los casos de CIE leve.<sup>47</sup>

## **5.7 VARIABLES DEL ESTUDIO**

- Variables directamente relacionadas con la hipótesis del estudio:
  - Caso o Control: Categórica dicotómica
  - Intervalo PR en milisegundos (ms): continua
  - Índice TEI en ms: continua
  - Ácido ursodesoxicólico (sí/no): categórica dicotómica

- Ácidos biliares totales ( $\mu\text{mol/L}$ ): continua
- Variables descriptivas de la población:
  - Edad materna en años cumplidos: continua
  - Índice de masa corporal (IMC) en  $\text{kg/m}^2$ : continua
  - Nacionalidad: categórica
  - Edad gestacional en momento de la exploración (semanas y días): continua
  - Multiparidad (sí/no): categórica dicotómica
  - CIE previa (sí/no): categórica dicotómica
- Variables bioquímicas hepáticas en gestantes con CIE
  - Bilirrubina total en  $\text{mg/dL}$ : continua
  - Alanina aminotransferasa (ALT) en  $\text{UI/L}$ : continua
  - Aspartato aminotransferasa (AST) en  $\text{UI/L}$ : continua
  - Gamma glutamil transferasa (GGT) en  $\text{UI/L}$ : continua
  - Fosfatasa alcalina (FA) en  $\text{UI/L}$ : continua
  - Actividad de Protrombina (PT) en %
  - Variables relacionadas con el tratamiento médico en gestantes con CIE
  - Ingesta de colestiramina (sí/no): categórica dicotómica
  - Antihistamínicos (sí/no): categórica dicotómica
  - Colestiramina (sí/no): categórica dicotómica
- Variables relacionadas con el resultado perinatal:

- Edad gestacional en el parto ((semanas\*7 + días) /7): continua
- Resultado perinatal (recién nacido vivo / muerte intraútero): categórica dicotómica
- Tipo de parto: vaginal / cesárea
- Sexo del recién nacido (masculino / femenino): categórica dicotómica
- APGAR al minuto: continua
- APGAR a los 5 minutos: continua
- Muerte neonatal (antes de los 28 días de vida) (sí / no): categórica dicotómica

## 5.8 TAMAÑO DE LA MUESTRA

Se calculó el tamaño de la muestra necesario para alcanzar nuestros objetivos primarios.

Para realizar los cálculos del tamaño de muestra se utilizó la calculadora Granmo, versión 7.12 abril 2012 (<https://www.imim.es/ofertadeserveis/software-public/granmo/>)

### Diferencias en intervalo PR

Para el cálculo del tamaño de muestra del estudio del intervalo PR se tuvieron en cuenta los resultados del estudio de Rodríguez *et al.*, en el que la diferencia del intervalo PR entre el grupo con CIE fue de 13 ms (134.6 ± 12 en grupo con CIE vs. 121.4 ± 10 ms en el grupo control).<sup>85</sup> Aceptando un riesgo alfa de 0.05 y un riesgo beta de 0.2 en un

contraste bilateral, se precisan 15 sujetos en el primer grupo y 15 en el segundo para detectar una diferencia igual o superior a 13 ms. Se asume que la desviación estándar común es de 11. Se estimó una tasa de pérdidas de seguimiento del 20%.

#### Diferencias en índice TEI

Para el cálculo del tamaño de muestra del estudio del índice TEI se tuvieron en cuenta los resultados del estudio de Henry & Welsh, en el que la diferencia del índice TEI entre el grupo con ácidos biliares altos y el grupo con ácidos biliares bajos fue de 0.04 ms ( $0.51 \pm 0.07$  vs  $0.47 \pm 0.05$ ).<sup>83</sup> Aceptando un riesgo alfa de 0.05 y un riesgo beta de 0.2 en un contraste bilateral, se precisan 45 sujetos en el primer grupo y 45 en el segundo para detectar una diferencia igual o superior a 0.04 unidades. Se asume que la desviación estándar común es de 0.06. Se estimó una tasa de pérdidas de seguimiento del 20%.

También se calculó el tamaño de la muestra necesario para alcanzar nuestros objetivos secundarios.

Para el cálculo del tamaño de muestra del intervalo PR antes y después del tratamiento con AUDC, se estimó un riesgo alfa de 0.05, un riesgo beta de 0.2 en un contraste bilateral, y se precisaron 23 sujetos para detectar una diferencia igual o superior a 13 ms asumiendo una desviación estándar de 11 ms. En este caso se asumió una tasa de pérdidas de seguimiento del 75%.

Para el cálculo del tamaño de muestra del índice TEI antes y después del tratamiento con AUDC, se estimó un riesgo alfa de 0.05, un riesgo beta de 0.2 en un contraste bilateral, y se precisaron 71 sujetos para detectar una diferencia igual o superior a 0.04 ms asumiendo una desviación estándar de 0.06 ms. Se asumió una tasa de pérdidas de seguimiento del 75%.

## 5.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

### Análisis descriptivo

Para las variables continuas en primer lugar se determinó si siguen una distribución normal mediante la prueba de Shapiro-Wilk. La descripción se realizó mediante media y desviación estándar o mediana y rango intercuartil (RIC) según si seguían o no una distribución normal. Las variables categóricas se describieron mediante la frecuencia absoluta y relativa (porcentaje).

### Comparaciones gestantes con CIE versus gestantes sin CIE

La comparación de las variables continuas entre las gestantes con CIE y gestantes sin CIE se realizó mediante el t-test o test de Mann-Whitney en función de si siguen o no una distribución normal. La comparación de variables categóricas se realizó mediante la prueba de Fisher o test de chi-cuadrado.

### Comparaciones antes y después de tratamiento con AUDC

La comparación de variables continuas en las mismas gestantes antes y después del tratamiento con AUDC se realizó mediante el t-test para muestras pareadas. Para la comparación de variables categóricas se utilizó la prueba de McNemar.

### Correlación intervalo PR e índice TEI con parámetros hepáticos

Para establecer la correlación entre el intervalo PR e índice TEI con los niveles de ácidos biliares se utilizó la prueba de Pearson o el test de Spearman según tuvieran o no una distribución normal.

### Edad gestacional como factor de confusión

Se exploró la edad gestacional en el momento de la medición del intervalo PR y el índice TEI como variable de confusión. Se planificó realizar un análisis de regresión múltiple para ajustar el efecto de la edad gestacional.

### Representación gráfica

Para la representación gráfica, se utilizó el diagrama de caja con bigote (*box and whiskers*) para representar a) el intervalo PR y el índice TEI en el grupo CIE y grupo

control, y b) el intervalo PR y el índice TEI antes y después del tratamiento con AUDC. La línea negra horizontal muestra la mediana, los bordes inferior y superior de la caja el cuartil 1 y 3 respectivamente, y las líneas verticales (“bigotes”) delimitan el mínimo (1er cuartil – 1,5 x RIC) y máximo (3er cuartil + 1,5 x RIC).

Se utilizó el gráfico de dispersión para representar la correlación del intervalo PR e índice TEI con los niveles de ácidos biliares y con las enzimas hepáticas, ALT y AST. Se añadió la línea de regresión con el intervalo de confianza del 95%.

Se utilizó el software R (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) para el análisis estadístico. El nivel de significancia estadística se fijó en 0,05.



## 6 RESULTADOS



## 6 RESULTADOS

Se incluyó en el estudio a un total de 182 mujeres: 110 casos y 72 controles. Ciento sesenta y cuatro (90,1%) mujeres fueron reclutadas en el Hospital San José, y 18 (9,9%) en Clínica RedSalud Vitacura. Todos los controles fueron reclutados en el Hospital San José. Se midió el intervalo PR y los niveles de ácidos biliares en las 182 gestantes y el índice TEI en 181 gestantes.

### 6.1 DATOS DEMOGRÁFICOS MATERNOS

La mediana de edad materna fue 28 años (RIC, 23-34). La mediana del índice de masa corporal (IMC) fue de 28 kg/m<sup>2</sup> (RIC, 24-31). En cuanto a la nacionalidad, 170 (93,4%) mujeres eran chilenas, 8 (4,4%) peruanas, 2 (1,1%) bolivianas y 2 (1,1%) venezolanas. La mediana de edad gestacional en el momento de la inclusión fue de 35,9 semanas (RIC, 32,9-38,9) (Tabla 8).

**Tabla 7.** Características demográficas en el grupo con colestasis intrahepática (CIE) del embarazo y en el grupo control.

	<b>CIE N=110</b>	<b>Controles N=72</b>	<b>p</b>
Edad materna (años)	28,0 (24-33)	28,5 (23-38)	0,201
Índice de masa corporal (kg/m <sup>2</sup> )	28 (25-31)	27 (23-31)	0,360
Nacionalidad			0,313
Chile	102 (93,6%)	67 (93,1%)	
Bolivia	2 (1,8%)	0	
Perú	5 (4,6%)	3 (4,2%)	
Venezuela	0	2 (2,8%)	
Múltipara	76 (69,1%)	51 (70,8%)	0,870
Antecedente de CIE	23 (20,9%)	0	<0,001
Edad gestacional en el momento de la inclusión (semanas)	33,7 (31,5-35,6)	39,0 (38,6-39,4)	<0,001

### 6.1.1 DESCRIPCIÓN DEL GRUPO CON COLESTASIS INTRAHEPÁTICA GESTACIONAL

El perfil hepático en el momento del diagnóstico y durante el seguimiento en las gestantes con CIE se describe en la tabla 9.

Del total de 110 gestantes con colestasis, 33 fueron clasificadas como severas (30%) por nivel de TBA > 40  $\mu\text{mol/L}$ .

En el grupo de gestantes con CIE 102 (92.7%) pacientes hicieron tratamiento con AUDC, 64 (58.2%) con antihistamínicos, 12 (10.9%) con vitamina K, y ninguna con colestiramina.

**Tabla 8.** Perfil hepático basal y durante el seguimiento semanal en las gestantes con CIE.

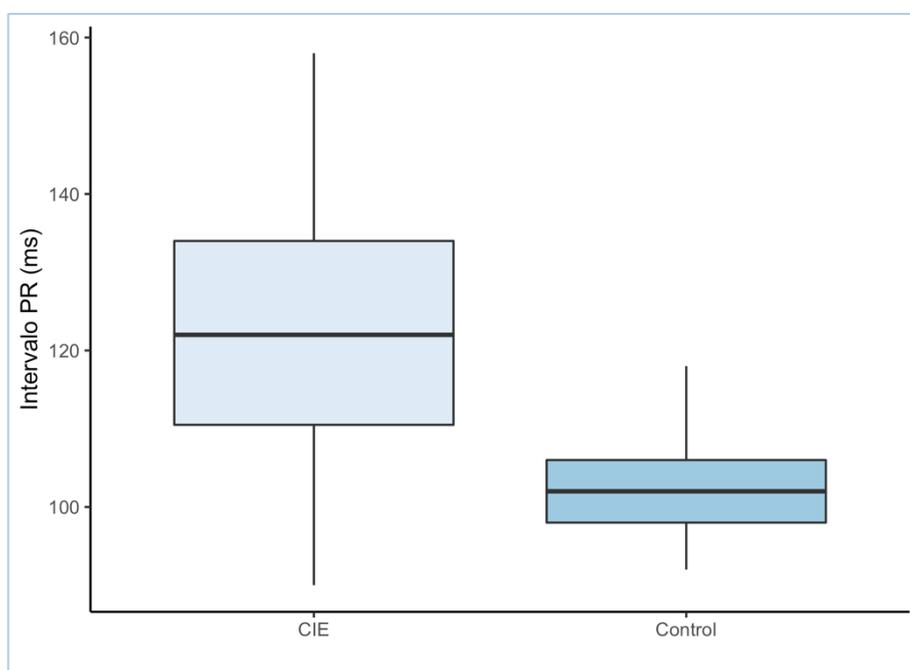
Parámetro	Basal (n=110)	+ 1 Semana (n=75)	+2 Semanas (n=39)	+3 Semanas (n=19)
Ácidos biliares ( $\mu\text{mol/L}$ )	32 (22, 42)	52 (38, 65)*	-	-
Bilirrubina (mg/dL)	0.34 (0,22- 0,58)	0,31 (0,23- 0,48)	0,33 (0,20- 0,47)	0,26 (0,17- 0.31)
AST (UI/L)	20 (14, 31)	18 (15, 28)	17 (15, 26)	18 (14, 20)
ALT (UI/L)	16 (10, 37)	17 (10, 36)	14 (9, 28)	12 (9, 14)
GGT (UI/L)	15 (10, 25)	14 (8, 20)	12 (8, 20)	12 (6, 16)
FA (UI/L)	164 (131, 210)	177 (123, 227)	164 (134, 210)	190 (125, 218)
PT (% de Actividad)	98 (92, 101)	99 (93, 103)	97 (93, 106)	96 (91, 102)

Los datos se muestran en median (rango intercuartil). \* Los niveles de ácidos biliares a la semana sólo fueron medidos en 15 pacientes.

## 6.2 ESTUDIO DEL INTERVALO PR

### 6.2.1 Comparación del intervalo PR en gestaciones con CIE y grupo control

La mediana del intervalo PR fue de 110 ms (RIC, 102-126), y fue significativamente más prolongado en los fetos de mujeres con CIE (122 ms, RIC, 111-134) en comparación con los controles (102 ms, RIC, 98-106) ( $p < 0,001$ ), (Figura 3).



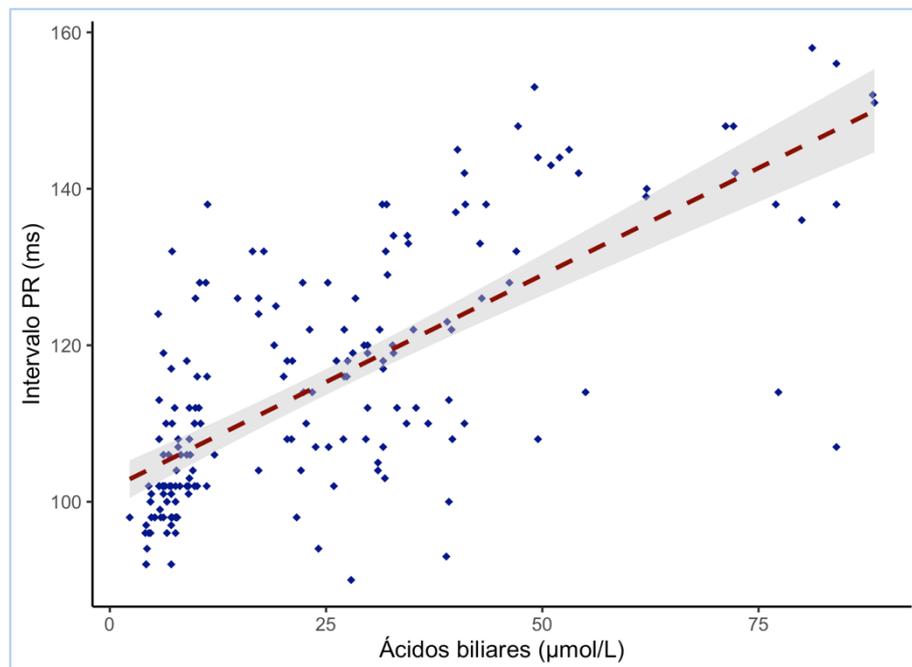
**Figura 3.** Diagrama de caja que muestra el intervalo PR en el grupo con colestasis intrahepática del embarazo (CIE) y en el grupo control.

Hubo una correlación significativa entre el intervalo PR y la edad gestacional en el momento de la medición del intervalo PR (coeficiente:  $-1,877$ ,  $p < 0,001$ ). En un análisis de regresión lineal, la diferencia del intervalo PR entre el grupo con CIE y el grupo control

fue de 20,4 ms (IC 95%, 16,7 a 24,2),  $p < 0,001$ . El efecto de la CIE sobre el intervalo PR ajustado a la edad gestacional fue de 22,4 ms (IC 95%, 16,6 a 28,2),  $p < 0,001$ .

## 6.2.2 Correlación del intervalo PR con los ácidos biliares y las enzimas hepáticas

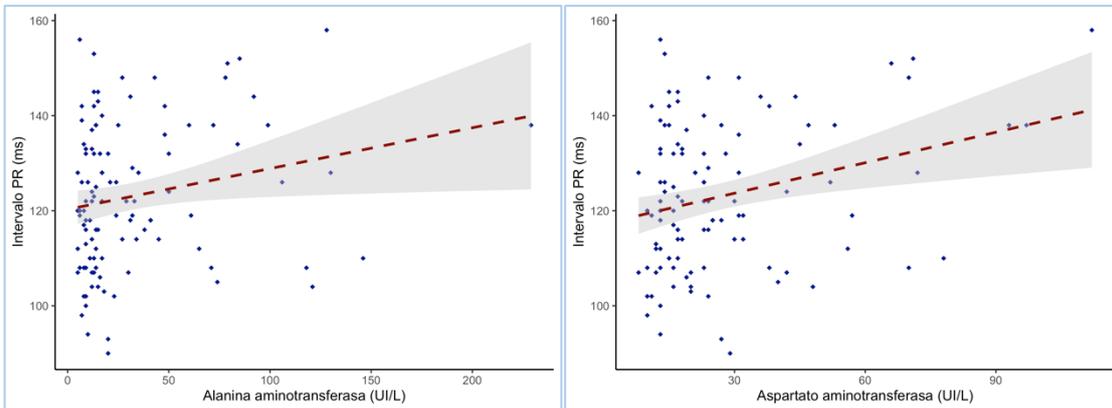
En el grupo CIE hubo una correlación significativa entre los niveles de ácidos biliares y el intervalo PR ( $\rho = 0,723$ ,  $p < 0,001$ ) (Figura 4).



**Figura 4.** Correlación entre los niveles de ácidos biliares y el intervalo PR en el grupo de mujeres afectadas de CIE.

La línea roja representa la línea de regresión, y el sombreado gris el intervalo de confianza del 95% de la línea de regresión.

Además, en el grupo de CIE hubo una correlación significativa entre el intervalo PR y la alanina aminotransferasa (ALT) ( $\rho=0,204$ ;  $p=0,033$ ) y entre el intervalo PR y la aspartato aminotransferasa (AST) ( $\rho=0,210$ ;  $p=0,028$ ).



**Figura 5.** Correlación entre los niveles de ALT (izquierda) y AST (derecha) con el intervalo PR en el grupo de mujeres afectas de CIE.

La línea roja representa la línea de regresión, y el sombreado gris el intervalo de confianza del 95% de la línea de regresión.

### 6.2.3 Cambio del intervalo PR tras la administración de AUDC

En 22 fetos, el intervalo PR medido, con dos semanas de diferencia, tras la administración de AUDC. La mediana del intervalo PR disminuyó significativamente tras la administración de AUDC (134 ms antes del tratamiento (RIC, 114-144) frente a 118 ms después del tratamiento (RIC, 111-132),  $p=0,004$ ). (Figura 6)

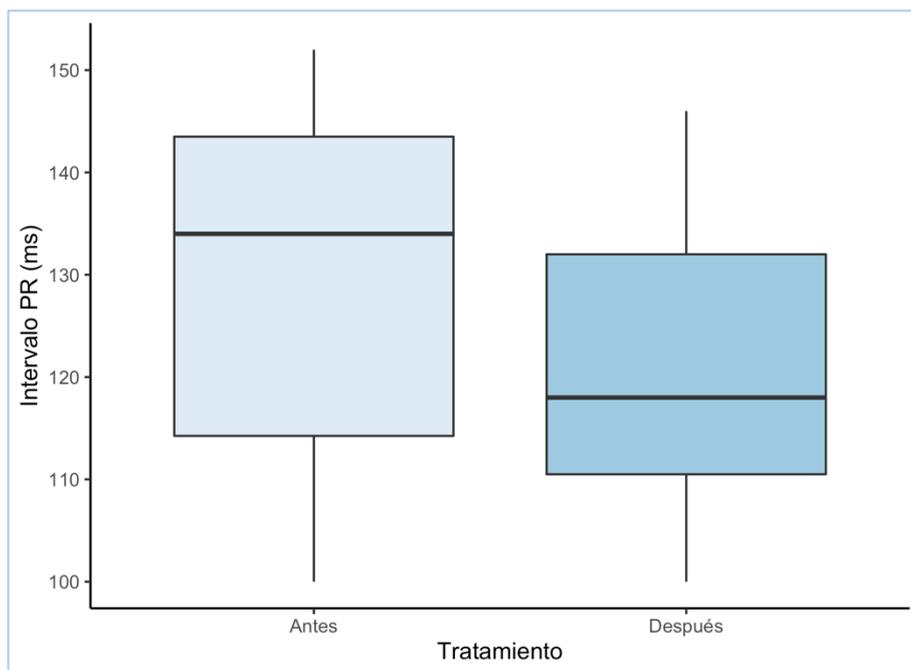
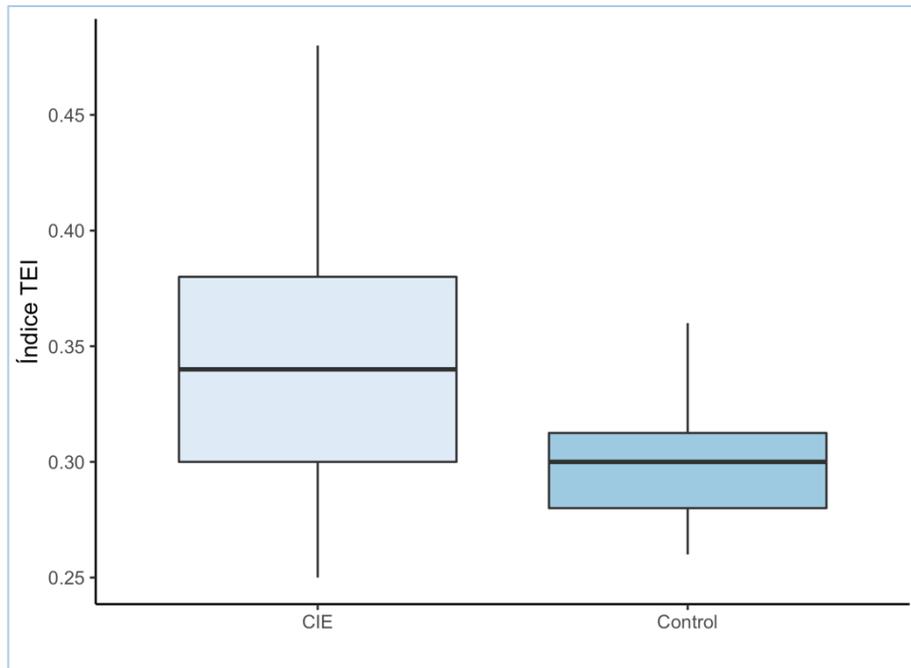


Figura 6. Diagrama de caja que muestra el intervalo PR antes y después del tratamiento con AUDC en el grupo con colestasis.

### 6.3 ESTUDIO DEL ÍNDICE TEI

#### 6.3.1 Comparación del índice TEI en gestaciones con CIE y grupo control

La mediana del índice TEI fue de 0,31 (IQR, 0,29-0,36), y fue significativamente mayor en los fetos de mujeres con CIE (0,34, IQR, 0,30-0,38) en comparación con los controles (0,30, IQR, 0,28-0,31) ( $p < 0,001$ ).



*Figura 7. Diagrama de caja que muestra el índice TEI en el grupo con colestasis intrahepática del embarazo (CIE) y el grupo control.*

Había una correlación significativa entre el índice TEI y la edad gestacional en el momento de medir el índice TEI (coeficiente:  $-0.005$ ,  $p < 0.001$ ). En el análisis de regresión lineal, la diferencia del índice TEI entre el grupo de CIE y el grupo control fue de  $-0.048$  (95% IC,  $-0,061$  a  $-0,034$ ),  $p < 0,001$ . El efecto de la CIE sobre el índice TEI, ajustado para la edad gestacional, fue  $-0.039$  (95% IC,  $-0,061$  a  $-0,018$ ),  $p < 0,001$ .

### 6.3.2 Correlación del índice TEI con los ácidos biliares y las enzimas hepáticas.

En el grupo con CIE, hubo una correlación significativa entre los niveles de ácidos biliares y el índice TEI ( $\rho=0,584$ ,  $p<0,001$ ) (Figura 8).

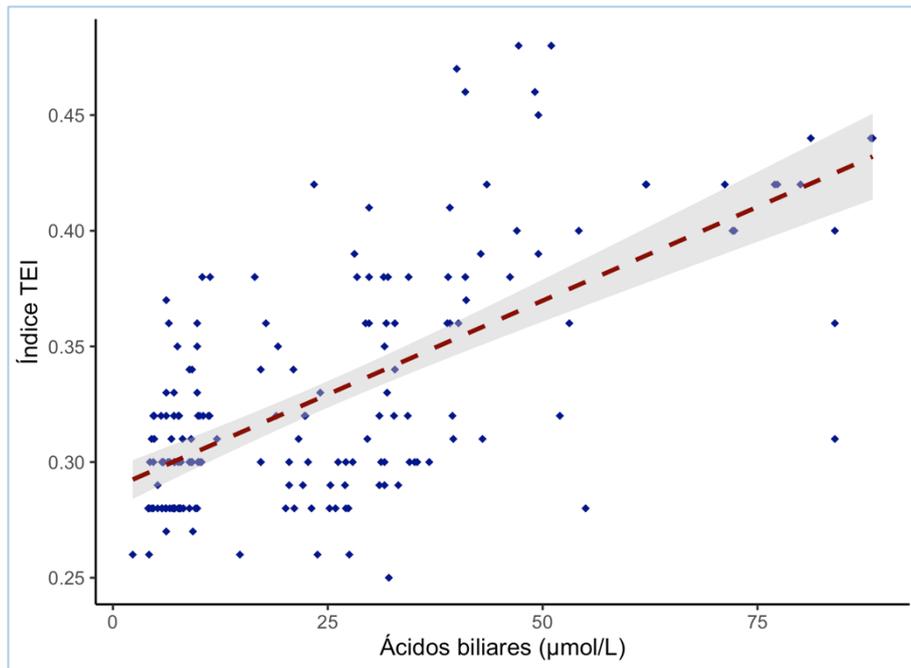


Figura 8. Correlación entre los niveles de ácidos biliares y el índice TEI en el grupo de mujeres afectas de CIE.

Además, en el grupo CIE también hubo una correlación significativa entre el índice TEI y la ALT ( $\rho=0,195$ ,  $p=0,042$ ) y entre el índice TEI y la AST ( $\rho=0,236$ ,  $p=0,013$ ).

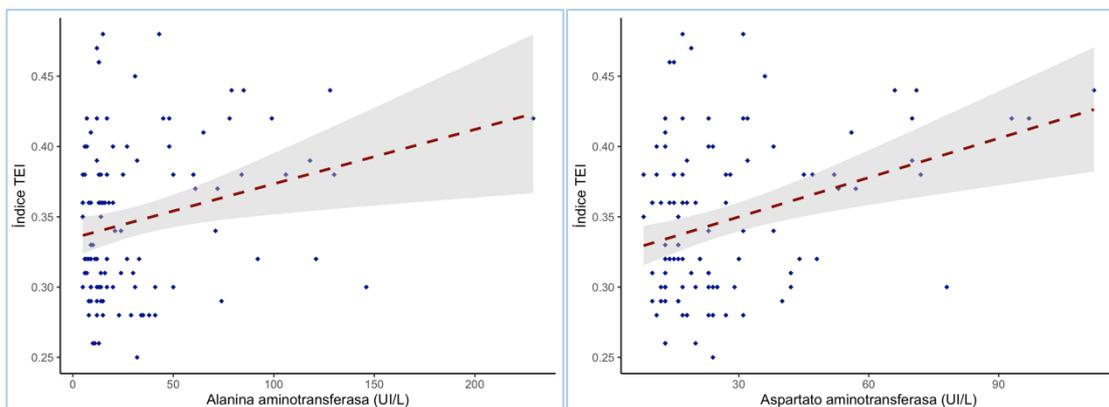


Figura 9. Correlación entre los niveles de ALT (izquierda) y AST (derecha) con el índice TEI en el grupo de mujeres afectas de CIE.

### 6.3.3 Cambio del índice TEI tras la administración de AUDC

En 21 fetos, el índice TEI medido, con dos semanas de diferencia, tras la administración de AUDC. La mediana del índice TEI disminuyó significativamente tras la administración de AUDC (0,40 ms antes del tratamiento (RIC, 0,36-0,42) frente a 0,33 después del tratamiento (RIC, 0,32-0,38),  $p=0,001$ ). (Figura 10)

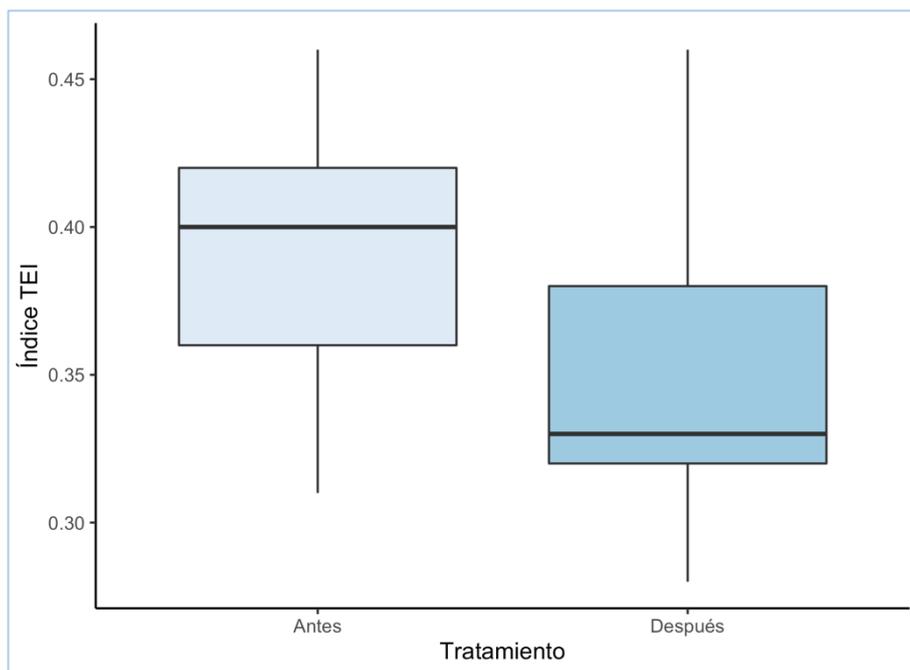


Figura 10. Diagrama de caja que muestra el índice TEI antes y después del tratamiento con AUDC en el grupo con colestasis.

#### 6.4 RESULTADO OBSTÉTRICO

En este estudio no se produjo ningún óbito fetal, resultando en 182 recién nacidos vivos. La mediana de edad gestacional al nacer fue de 38 semanas (RIC, 37,1-38,9). Ciento veinticuatro (68,5%) mujeres tuvieron un parto vaginal, y 57 (31,5%) tuvieron una cesárea. La mediana del peso al nacer fue de 3029 gramos (RIC, 2870-3400). Ciento siete (59,1%) fetos eran varones y 74 (40,9%) fetos eran mujeres. La mediana de la puntuación de Apgar al minuto fue de 9 (RIC, 8-9), y a los cinco minutos fue de 9 (IQR, 9-9). Tampoco se recogió ninguna muerte neonatal en los primeros 28 días de vida. En la tabla 10 se comparan los resultados perinatales de las mujeres con CIE y las de grupo control. Las

mujeres con CIE dieron a luz significativamente antes y tuvieron bebés con un peso inferior al nacer, aunque este hallazgo no se puede interpretar por el sesgo de selección.

**Tabla 9.** Resultados obstétricos en mujeres con colestasis intrahepática gestacional (CIE) y en el grupo control.

	<b>CIE (n=110)</b>	<b>Grupo control (n=72)</b>	<b>p</b>
Edad gestacional al parto (semanas)	38,0 (36-38)	39,0 (38,6-39,4)	<b>&lt;0,001</b>
Vía de parto			0,756
Vaginal	77 (70,0%)	48 (33,3%)	
Cesárea	33 (30,0%)	24 (66,7%)	
Peso al nacer (g)	2910 (2703-3089)	3400 (3076-3577)	<b>&lt;0,001</b>
Sexo			0,811
Femenino	46 (41,8%)	28 (38,9%)	
Masculino	64 (58,2%)	44 (61,1%)	
Apgar 1 minuto	9 (8-9)	9 (8-9)	0,929
Apgar 5 minutos	9 (9-9)	9 (9-9)	0,880
Muerte neonatal	0	0	1



## **7 DISCUSIÓN**



## 7 DISCUSIÓN

### 7.1 HALLAZGOS PRINCIPALES

En el estudio del intervalo PR, encontramos que los fetos de mujeres con CIE tuvieron un intervalo PR significativamente más largo que los fetos del grupo control. También se observó una correlación positiva significativa entre el intervalo PR y los niveles de ácidos biliares.

De forma similar, en el estudio del índice TEI, este fue significativamente mayor en los fetos de mujeres con CIE en comparación con los fetos del grupo control. Igualmente se observó una correlación positiva significativa entre el índice TEI y los niveles de ácidos biliares.

Finalmente, en las gestantes con colestasis, tras la administración de AUDC, tanto el intervalo PR como el índice TEI disminuyeron significativamente.

### 7.2 COMPARACIÓN CON ESTUDIOS PREVIOS

Las búsquedas de estudios en humanos sobre la colestasis y el intervalo PR e índice TEI son aún limitadas.

En cuanto al intervalo PR, el primer estudio prospectivo de casos y controles en humanos fue publicado en 2010 por Strehlow *et al.*<sup>83</sup> En ese estudio, se incluyeron 21 pacientes (14 pacientes colestásicas y 7 controles); hubo una diferencia significativa en el intervalo

PR entre mujeres con CIE no clasificada como bloqueo cardíaco y mujeres control (124 versus 110 milisegundos). Los criterios de inclusión y diagnóstico fueron similares a los utilizados en nuestro estudio. Resultados similares se obtuvieron en nuestro estudio, que incluyó significativamente más pacientes.

En 2016, Rodríguez *et al.*<sup>84</sup> realizaron un nuevo estudio en humanos, incluyendo 102 pacientes (51 pacientes con colestasis y 51 controles). Este estudio mostró que el intervalo PR era significativamente más largo en el grupo de colestasis en comparación con el grupo de control (134 frente a 121 ms). Debido a que se utilizaron otros criterios clínicos para el diagnóstico de colestasis, no investigó la correlación entre el intervalo PR y los niveles de ácidos biliares. Respecto a esto podemos acotar que los niveles de ácidos biliares rara vez se utilizan para diagnosticar la CIE en América Latina. En nuestro estudio, los niveles de ácidos biliares se agregaron a los criterios de diagnóstico y seguimiento, mejorando la precisión diagnóstica y el número de casos confirmados. No obstante, nuestros resultados son consistentes con el estudio de Rodríguez *et al.*, puesto que el intervalo PR fue mayor en el grupo colestásico en comparación con el grupo control. Sin embargo, en nuestro estudio, los niveles de ácidos biliares nos permitieron establecer una correlación con el intervalo PR, lo que fue especialmente evidente a niveles de ácidos biliares superiores a 40  $\mu\text{mol/L}$ .

En 2019, un estudio muy similar publicado por Yakut *et al.*<sup>85</sup>, demostró una asociación entre la colestasis y el intervalo PR. El tamaño de la muestra de este estudio fue de 40 pacientes por grupo, y el intervalo PR se prolongó significativamente cuando el nivel de ácidos biliares fue superior a 10  $\mu\text{mol/L}$ , lo cual es consistente con nuestro estudio. Sin

embargo, en el estudio de Yakut *et al.* no se investigó si esto pudiese revertirse mediante un tratamiento médico.

Por otra parte, en cuanto a la funcionalidad miocárdica fetal, en el primer estudio publicado hacia 2014, Fan *et al.*<sup>78</sup> realizaron un estudio de casos y controles en humanos para investigar la posible deformación del miocardio fetal en pacientes con colestasis (40 pacientes con CIE y 40 controles). En este estudio, la reducción de la sobrecarga del ventrículo izquierdo estuvo directamente relacionada con los niveles de ácidos biliares. Hubo una deformación miocárdica en fetos de gestantes con colestasis intrahepática del embarazo severa.

En nuestro estudio, decidimos utilizar el índice TEI porque es el índice clínicamente más reproducible en nuestro entorno local. Este índice también ha mostrado una relación directa con los niveles de ácidos biliares y la deformación miocárdica.

En 2016, Ataalla *et al.*<sup>79</sup> publicaron otro estudio en humanos que demostró disfunción cardíaca fetal en mujeres con colestasis y niveles elevados de ácidos biliares (>40 mmol/L), utilizando Doppler tisular a nivel del miocardio fetal. En el mismo año, Henry *et al.*<sup>80</sup> demostraron que los tiempos de contracción y relajación isovolumétrica ventricular fetal aumentaron significativamente en mujeres embarazadas colestáticas en comparación con los controles. La comparación de estos dos estudios con el nuestro estableció una clara correlación entre la función miocárdica fetal en relación con los niveles totales de ácidos biliares.

En 2022, Rodríguez *et al.*<sup>75</sup> demostraron que los fetos de gestantes afectas de CIE desarrollan disfunción miocárdica eléctrica y diastólica. Cada grupo incluyó 49 pacientes, y se midió el tiempo de contracción isovolumétrica, el tiempo de eyección y el tiempo de relajación isovolumétrica de las funciones eléctrica, sistólica y diastólica, respectivamente. El TRI fue significativamente mayor en fetos de mujeres con CIE, sin diferencia en TCI y TE. El trabajo de Rodríguez *et al.* no consideró una asociación con los niveles de ácidos biliares, aunque los resultados sí fueron similares a los obtenidos en nuestro estudio.

### 7.3 IMPLICACIONES CLÍNICAS

Las implicaciones clínicas se relacionan principalmente con el manejo de los pacientes con CIE. Por un lado, observamos en los fetos, que cuando los niveles de ácidos biliares maternos eran más altos, el intervalo PR era más prolongado y el índice TEI aumentaba. Por lo tanto, los casos con niveles elevados de ácidos biliares pueden tener un mayor riesgo de resultados perinatales adversos y deben ser objeto de un seguimiento más estrecho.

Por otro lado, hemos observado que el tratamiento con AUDC acortó el intervalo PR y redujo el índice TEI en los fetos de gestantes con CIE, lo que potencialmente puede implicar una reducción del riesgo de resultados perinatales adversos.

Finalmente, cabe destacar que antes de la realización de este estudio, en Chile no se utilizaba la medición de TBA para el diagnóstico y seguimiento de la CIE. Al transcurrir

este proyecto y dando a conocer sus resultados, así como también los publicados en la literatura, es que se ha ido implementando esta técnica en laboratorios y se ha incluido en los protocolos de manejo de la enfermedad. Así mismo, a medida que se ha difundido el estudio, también se ha incorporado la evaluación del intervalo PR e Índice TEI, para los casos de CIE severas, en diversos centros hospitalarios del país.

#### 7.4 FORTALEZAS

Este estudio presenta varias fortalezas. Por un lado, los resultados apoyan los hallazgos de estudios similares, aportando robustez a la evidencia científica respecto a la asociación de intervalo PR e índice TEI más largos.

Por otro lado, nuestro estudio es de los pocos estudios que han encontrado una correlación entre el intervalo PR y el índice TEI con los niveles de ácidos biliares.

Y, por último, también nuestro estudio aporta nueva evidencia sobre el acortamiento del intervalo PR y el índice TEI tras la administración de AUDC en mujeres con CIE.

#### 7.5 LIMITACIONES

En nuestro estudio no observamos niveles de ácidos biliares por encima de 100  $\mu\text{mol/L}$ . Según el estudio PROSPERO<sup>60</sup>, los niveles más altos de ácidos biliares se asocian con malos resultados obstétricos. Aumentar el tamaño de la muestra mediante un estudio multicéntrico y correlacionar el intervalo PR con los diferentes parámetros mencionados

en este estudio puede ayudar a identificar la asociación entre el intervalo PR e índice TEI con los resultados perinatales adversos. Así mismo, en nuestro estudio se utilizó el cut off clásico de BA de 2 puntos para definir casos leves ( $>10 \mu\text{mol/L}$ ) y severos ( $>40 \mu\text{mol/L}$ ); sin embargo resulta interesante el poder, en estudios posteriores, reemplazar esta clasificación por una que se base en los resultados arrojados por el estudio PROSPERO y que estaría orientada hacia riesgos fetales según niveles de TBA: Bajo riesgo ( $10 -39 \mu\text{mol/L}$ ), mediano riesgo ( $40-99 \mu\text{mol/L}$ ), alto riesgo ( $100 \mu\text{mol/L}$  o más) y combinar las pruebas cardíacas fetales que hemos propuesto para los seguimientos de fetos de mediano y alto riesgo, para así evaluar mejor su real implicancia como prueba predictiva/diagnóstica de un feto en riesgo de morir.<sup>60</sup>

El grupo control no tenía el mismo rango de edad gestacional que el grupo con CIE. Esto es debido a que se utilizó como grupo control a pacientes de término, con cesárea o parto programado. Al ser el hospital San José un centro de derivación terciaria, no se controlan pacientes con gestaciones normales sino hasta el momento de la atención del parto/cesárea. Esto se hace particularmente relevante al comparar los resultados de ambos grupos ya que, en el grupo control se finalizó el embarazo y se tomaron las muestras a una mayor edad gestacional, siguiendo las normas locales de manejo obstétrico, comparado con el grupo afecto. Por este motivo, se empleó un análisis de regresión múltiple para poder controlar el efecto de esta variable de confusión.

Otra limitación, al tratarse de un estudio no financiado, no se pudo realizar una determinación semanal de AUDC a todas las pacientes con CIE. Tan sólo en 15 gestantes se pudo repetir el AUDC una segunda vez.

Al ser un estudio de carácter más bien observacional, no se realizó aleatorización en el tratamiento con AUCD, debido a su recomendación por las distintas sociedades científicas, ya mencionado en apartados anteriores. Esto resulta particularmente interesante si nos remontamos a los resultados del estudio PITCHES, en el que se cuestionaba la real utilidad del uso de AUCD en colestasis. Respecto a esto se puede argumentar por un lado que nuestro estudio comenzó antes de la publicación del PITCHES, por lo que el protocolo en curso ya no era modificable. Y, por otro lado, en dicho estudio no se evaluó la utilidad del AUCD sobre los marcadores cardíacos que hemos desarrollado.<sup>65</sup>



## **8 CONCLUSIONES**



## 8 CONCLUSIONES

1. En fetos de gestantes diagnosticadas con colestasis intrahepática del embarazo, el intervalo PR se encuentra prolongado y el índice TEI aumentado, en comparación con fetos de mujeres sin colestasis intrahepática del embarazo.
2. En fetos de mujeres gestantes diagnosticadas de colestasis intrahepática gestacional existe una correlación positiva entre el intervalo PR e índice TEI con los niveles de ácidos biliares en sangre maternal.
3. En fetos de mujeres gestantes diagnosticadas de colestasis intrahepática gestacional se observa una disminución del intervalo PR y el índice TEI fetal tras la administración de ácido ursodesoxicólico.



## 9 REFERENCIAS



## 9 REFERENCIAS

1. Lorente S, Montoro MA. Colestasis gravídica. *Gastroenterol Hepatol*. 2007;30(9):541-547. doi:10.1157/13111695
2. Pizarro Madrigal M, Guerrero Hines C, Chacón Campos N. Colestasis intrahepática del embarazo: una revisión sistemática. *Rev Méd Sinerg*. 2022;7(3):e771. doi:10.31434/rms.v7i3.771
3. Vasavan T, Deepak S, Jayawardane IA, Lucchini M, Martin C, Geenes V, Yang J, Lövgren-Sandblom A, Seed PT, Chambers J, Stone S, Kurlak L, Dixon PH, Marschall HU, Gorelik J, Chappell L, Loughna P, Thornton J, Pipkin FB, Hayes-Gill B, Fifer WP, Williamson C. Fetal cardiac dysfunction in intrahepatic cholestasis of pregnancy is associated with elevated serum bile acid concentrations. *J Hepatol*. 2021;74(5):1087-1096. doi:10.1016/j.jhep.2020.11.038
4. Smith DD, Rood KM. Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy. *Clin Obstet Gynecol* . 2020;63(1):134-151. doi:10.1097/GRF.0000000000000495
5. Lammert F, Marschall HU, Glantz A, Matern S. Intrahepatic cholestasis of pregnancy: molecular pathogenesis, diagnosis and management. *J Hepatol*. 2000;33(6):1012-1021. doi:10.1016/S0168-8278(00)80139-7
6. Xiao J, Li Z, Song Y, Sun Y, Shi H, Chen D, Zhang Y. Molecular Pathogenesis of Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy. Abergel A, ed. *Can J Gastroenterol Hepatol*. 2021;2021:1-10. doi:10.1155/2021/6679322

7. Piechota J, Jelski W. Intrahepatic Cholestasis in Pregnancy: Review of the Literature. *J C Med.* 2020;9(5):1361. doi:10.3390/jcm9051361
8. Kondrackiene J, Kupcinskas L. Intrahepatic cholestasis of pregnancy-current achievements and unsolved problems. *World J Gastroenterol.* 2008;14(38):5781. doi:10.3748/wjg.14.5781
9. Zu Y, Yang J, Zhang C, Liu D. The Pathological Mechanisms of Estrogen-Induced Cholestasis: Current Perspectives. *Front Pharmacol.* 2021;12:761255. doi:10.3389/fphar.2021.761255
10. Šarenac TM, Mikov M. Bile Acid Synthesis: From Nature to the Chemical Modification and Synthesis and Their Applications as Drugs and Nutrients. *Front Pharmacol.* 2018;9:939. doi:10.3389/fphar.2018.00939
11. Nagengast FM, Grubben MJAL, van Munster IP. Role of bile acids in colorectal carcinogenesis. *Eur J Cancer.* 1995;31(7-8):1067-1070. doi:10.1016/0959-8049(95)00216-6
12. Hofmann AF, Roda A. Physicochemical properties of bile acids and their relationship to biological properties: an overview of the problem. *Journal of Lipid Research.* 1984;25(13):1477-1489. doi:10.1016/S0022-2275(20)34421-7
13. Hofmann AF. The Continuing Importance of Bile Acids in Liver and Intestinal Disease. *Arch Intern Med.* 1999;159(22):2647. doi:10.1001/archinte.159.22.2647

14. Hofmann AF, Hagey LR. Bile Acids: Chemistry, Pathochemistry, Biology, Pathobiology, and Therapeutics. *Cell Mol Life Sci.* 2008;65(16):2461-2483. doi:10.1007/s00018-008-7568-6
15. di Gregorio MC, Cautela J, Galantini L. Physiology and Physical Chemistry of Bile Acids. *Int J Mol Sci.* 2021;22(4):1780. doi:10.3390/ijms22041780
16. Guzior DV, Quinn RA. Review: microbial transformations of human bile acids. *Microbiome.* 2021;9(1):140. doi:10.1186/s40168-021-01101-1
17. Dawson PA, Karpen SJ. Intestinal transport and metabolism of bile acids. *J Lipid Res.* 2015;56(6):1085-1099. doi:10.1194/jlr.R054114
18. Agellon LB, Torchia EC. Intracellular transport of bile acids. *Biochim Biophys Acta .* 2000;1486(1):198-209. doi:10.1016/S1388-1981(00)00057-3
19. Mishra R, Mishra S. Updates in bile acid-bioactive molecule conjugates and their applications. *Steroids.* 2020;159:108639. doi:10.1016/j.steroids.2020.108639
20. Perez MJ, Briz O. Bile-acid-induced cell injury and protection. *World J Gastroenterol.* 2009;15(14):1677. doi:10.3748/wjg.15.1677
21. Guzior DV, Quinn RA. Review: microbial transformations of human bile acids. *Microbiome.* 2021;9(1):140. doi:10.1186/s40168-021-01101-1
22. Arefai WA, Gill RK. Bile Acid Transporters: Structure, Function, Regulation and Pathophysiological Implications. *Pharm Res.* 2007;24(10):1803-1823. doi:10.1007/s11095-007-9289-1

23. Xie C, Huang W, Young RL, Jones KL, Horowitz M, Rayner CK, Wu T. Role of Bile Acids in the Regulation of Food Intake, and Their Dysregulation in Metabolic Disease. *Nutrients*. 2021;13(4):1104. doi:10.3390/nu13041104
24. Li T, Chiang JYL. Bile acids as metabolic regulators: *Curr Opin Gastroenterol* . 2015;31(2):159-165. doi:10.1097/MOG.000000000000156
25. Pavlović N, Goločorbin-Kon S, Đanić M, Stanimirov B, Al-Salami H, Stankov K, Mikov M. Bile Acids and Their Derivatives as Potential Modifiers of Drug Release and Pharmacokinetic Profiles. *Front Pharmacol*. 2018;9:1283. doi:10.3389/fphar.2018.01283
26. Sokol RJ, Straka MS, Dahl R, Devereaux MW, Yerushalmi B, Gumpricht E, Elkins N, Everson G. Role of Oxidant Stress in the Permeability Transition Induced in Rat Hepatic Mitochondria by Hydrophobic Bile Acids. *Pediatr Res*. 2001;49(4):519-531. doi:10.1203/00006450-200104000-00014
27. Ding L, Yang L, Wang Z, Huang W. Bile acid nuclear receptor FXR and digestive system diseases. *Acta Pharm Sin B*. 2015;5(2):135-144. doi:10.1016/j.apsb.2015.01.004
28. Tagliacozzi D, Mozzi AF, Casetta B, Bertucci P, Bernardini S, Ilio CD, Urbani A, Federici G. Quantitative Analysis of Bile Acids in Human Plasma by Liquid Chromatography-Electrospray Tandem Mass Spectrometry: A Simple and Rapid One-Step Method. *Clin Chem Lab Med* . 2003;41(12). doi:10.1515/CCLM.2003.247

29. Staels B, Fonseca VA. Bile Acids and Metabolic Regulation. *Diabetes Care*. 2009;32(suppl\_2):S237-S245. doi:10.2337/dc09-S355
30. Hofmann AF, Hagey LR, Krasowski MD. Bile salts of vertebrates: structural variation and possible evolutionary significance. *J Lipid Res*. 2010;51(2):226-246. doi:10.1194/jlr.R000042
31. Enhnen A, Kramer W, Wess G. Bile acids in drug discovery. *Drug Discovery Today*. 1998;3(9):409-418. doi:10.1016/S1359-6446(96)10046-5
32. Woolbright BL, Jaeschke H. Inflammation and Cell Death During Cholestasis: The Evolving Role of Bile Acids. *Gene Expr*. 2019;19(3):215-228. doi:10.3727/105221619X15614873062730
33. Fickert P, Fuchsbichler A, Wagner M, Zollner G, Kaser A, Tilg H, Krause R, Lammert F, Langner C, Zatloukal K, Marschall HU, Denk H, Trauner M. Regurgitation of bile acids from leaky bile ducts causes sclerosing cholangitis in Mdr2 (Abcb4) knockout mice. *Gastroenterology*. 2004;127(1):261-274. doi:10.1053/j.gastro.2004.04.009
34. Gupta B, Liu Y, Chopyk DM, Rai RP, Desai C, Kumar P, Farris AB, Nusrat A, Parkos CA, Anania FA, Raeman R. Western diet-induced increase in colonic bile acids compromises epithelial barrier in nonalcoholic steatohepatitis. *FASEB j*. 2020;34(5):7089-7102. doi:10.1096/fj.201902687R
35. Li T, Francl JM, Boehme S, Ochoa A, Zhang Y, Klaassen CD, Erickson SK, Chiang JYL. Glucose and Insulin Induction of Bile Acid Synthesis. *J Biol Chem*. 2012;287(3):1861-1873. doi:10.1074/jbc.M111.305789

36. Hylemon PB, Zhou H, Pandak WM, Ren S, Gil G, Dent P. Bile acids as regulatory molecules. *J Lipid Res.* 2009;50(8):1509-1520. doi:10.1194/jlr.R900007-JLR200
37. Chiang JY. Recent advances in understanding bile acid homeostasis. *F1000Res.* 2017;6:2029. doi:10.12688/f1000research.12449.1
38. Brufau G, Bahr MJ, Staels B, Claudel T, Ockenga J, Böker KH, Murphy EJ, Prado K, Stellaard F, Manns MP, Kuipers F, Tietge UJ. Plasma bile acids are not associated with energy metabolism in humans. *Nutr Metab (Lond).* 2010;7(1):73. doi:10.1186/1743-7075-7-73
39. Tribe RM, Dann AT, Kenyon AP, Seed P, Shennan AH, Mallet A. Longitudinal Profiles of 15 Serum Bile Acids in Patients With Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy. *Am J Gastroenterol.* 2010;105(3):585-595. doi:10.1038/ajg.2009.633
40. Chen J, Deng W, Wang J, Shao Y, Ou M, Ding M. Primary bile acids as potential biomarkers for the clinical grading of intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Int J Gynaecol Obstet.* 2013;122(1):5-8. doi:10.1016/j.ijgo.2013.02.015
41. Chivers S, Williamson C. Intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Obstetrics, Gynaecology & Reproductive Medicine.* 2018;28(7):215-217. doi:10.1016/j.ogrm.2018.06.003
42. Tang B, Tang L, Li S, Liu S, He J, Li P, Wang S, Yang M, Zhang L, Lei Y, Tu D, Tang X, Hu H, Ouyang Q, Chen X, Yang S. Gut microbiota alters host bile acid metabolism to contribute to intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Nat Commun.* 2023;14(1):1305. doi:10.1038/s41467-023-36981-4

43. Wang J, Lun W, Shi W. Effects of elevated bile acid levels on fetal myocardium in intrahepatic cholestasis of pregnancy, a retrospective study from a neonatal perspective. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2022;46(8):102013. doi:10.1016/j.clinre.2022.102013
44. Vasavan T, Ferraro E, Ibrahim E, Dixon P, Gorelik J, Williamson C. Heart and bile acids – Clinical consequences of altered bile acid metabolism. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2018;1864(4):1345-1355. doi:10.1016/j.bbadis.2017.12.039
45. Desai MS, Penny DJ. Bile acids induce arrhythmias: old metabolite, new tricks. *Heart.* 2013;99(22):1629-1630. doi:10.1136/heartjnl-2013-304546
46. Ibrahim E, Diakonov I, Arunthavarajah D, Swift T, Goodwin M, McIlvride S, Nikolova V, Williamson C, Gorelik J. Bile acids and their respective conjugates elicit different responses in neonatal cardiomyocytes: role of Gi protein, muscarinic receptors and TGR5. *Sci Rep.* 2018;8(1):7110. doi:10.1038/s41598-018-25569-4
47. Germain A, Gonzalez R, Gomez R, Guzman E, Insunza A, Muñoz H, Oyarzún E, Parra M. *Guía Perinatal 2015.* 2015th ed. Ministerio de Salud, Chile [https://www.minsal.cl/sites/default/files/files/GUIA%20PERINATAL\\_2015\\_%20PARA%20PUBLICAR.pdf](https://www.minsal.cl/sites/default/files/files/GUIA%20PERINATAL_2015_%20PARA%20PUBLICAR.pdf)
48. Yanque-Robles OF. Colestasis Intrahepática gestacional. *Rev Peru Investig Salud.* 2020;4(1):37-42. doi:10.35839/repis.4.1.608
49. Williamson C, Geenes V. Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2014;124(1):120-133. doi:10.1097/AOG.0000000000000346

50. Bicocca MJ, Sperling JD, Chauhan SP. Intrahepatic cholestasis of pregnancy: Review of six national and regional guidelines. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol .Biology.* 2018;231:180-187. doi:10.1016/j.ejogrb.2018.10.041
51. Ye L, Liu S, Wang M, Shao Y, Ding M. High-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry for the analysis of bile acid profiles in serum of women with intrahepatic cholestasis of pregnancy. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2007;860(1):10-17. doi:10.1016/j.jchromb.2007.09.031
52. Lee NM, Brady CW. Liver disease in pregnancy. *World J Gastroenterol.* 2009;15(8):897. doi:10.3748/wjg.15.897
53. Luo M, Wang L, Yao H, Wen Y, Cao D, Shen W, Liu C. Diagnostic and prognostic value of blood inflammation and biochemical indicators for intrahepatic cholestasis of pregnancy in Chinese pregnant women. *Sci Rep.* 2022;12(1):20833. doi:10.1038/s41598-022-22199-9
54. Ambros-Rudolph CM, Glatz M, Trauner M, Kerl H, Müllegger RR. The Importance of Serum Bile Acid Level Analysis and Treatment With Ursodeoxycholic Acid in Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy: A Case Series From Central Europe. *Arch Dermatol.* 2007;143(6). doi:10.1001/archderm.143.6.757
55. Kondrackiene J, Kupcinskas L. Intrahepatic cholestasis of pregnancy-current achievements and unsolved problems. *World Journal Gastroenterol.* 2008;14(38):5781. doi:10.3748/wjg.14.5781

56. Wikström Shemer EA, Stephansson O, Thuresson M, Thorsell M, Ludvigsson JF, Marschall HU. Intrahepatic cholestasis of pregnancy and cancer, immune-mediated and cardiovascular diseases: A population-based cohort study. *J Hepatol.* 2015;63(2):456-461. doi:10.1016/j.jhep.2015.03.010
57. Beuers U, Puhl T. Intrahepatic cholestasis of pregnancy — A heterogeneous group of pregnancy-related disorders? *Hepatology.* 2006;43(4):647-649. doi:10.1002/hep.21156
58. Rook M, Vargas J, Caughey A, Bacchetti P, Rosenthal P, Bull L. Fetal Outcomes in Pregnancies Complicated by Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy in a Northern California Cohort. Middleton P, ed. *PLoS ONE.* 2012;7(3):e28343. doi:10.1371/journal.pone.0028343
59. Zecca E, De Luca D, Marras M, Caruso A, Bernardini T, Romagnoli C. Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy and Neonatal Respiratory Distress Syndrome. *Pediatrics.* 2006;117(5):1669-1672. doi:10.1542/peds.2005-1801
60. Ovadia C, Seed PT, Sklavounos A, Geenes V, Di Illio C, Chambers J, Kohari K, Bacq Y, Bozkurt N, Brun-Furrer R, Bull L, Estiú MC, Grymowicz M, Gunaydin B, Hague WM, Haslinger C, Hu Y, Kawakita T, Kebapcilar AG, Kebapcilar L, Kondrackienė J, Koster MPH, Kowalska-Kańka A, Kupčinskas L, Lee RH, Locatelli A, Macias RIR, Marschall HU, Oudijk MA, Raz Y, Rimon E, Shan D, Shao Y, Tribe R, Tripodi V, Yayla Abide C, Yenidede I, Thornton JG, Chappell LC, Williamson C. Association of adverse perinatal outcomes of intrahepatic cholestasis of pregnancy with biochemical

markers: results of aggregate and individual patient data meta-analyses. *Lancet*. 2019;393(10174):899-909. doi:10.1016/S0140-6736(18)31877-4

61. Keller J, Frederking D, Layer P. The spectrum and treatment of gastrointestinal disorders during pregnancy. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2008;5(8):430-443. doi:10.1038/ncpgasthep1197
62. Joutsiniemi T, Timonen S, Linden M, Suvitie P, Ekblad U. Intrahepatic cholestasis of pregnancy: observational study of the treatment with low-dose ursodeoxycholic acid. *BMC Gastroenterol*. 2015;15(1):92. doi:10.1186/s12876-015-0324-0
63. Kong X, Kong Y, Zhang F, Wang T, Yan J. Evaluating the effectiveness and safety of ursodeoxycholic acid in treatment of intrahepatic cholestasis of pregnancy: A meta-analysis (a prisma-compliant study). *Medicine*. 2016;95(40):e4949. doi:10.1097/MD.0000000000004949
64. Grand'Maison S, Durand M, Mahone M. The Effects of Ursodeoxycholic Acid Treatment for Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy on Maternal and Fetal Outcomes: A Meta-Analysis Including Non-Randomized Studies. *J Obstet Gynaecol Can*. 2014;36(7):632-641. doi:10.1016/S1701-2163(15)30544-2
65. Chappell LC, Bell JL, Smith A, Linsell L, Juszczak E, Dixon PH, Chambers J, Hunter R, Dorling J, Williamson C, Thornton JG, Ahmed I, Arya R, Beckett V, Bhide A, Brown H, Bugg G, Cameron H, Deole N, Dey M, Dwyer J, Fahel L, Gada R, Girling J, Haestier A, Hughes S, Indusekhar R, Jones B, Khan R, Kirkpatrick A, Knox E, Lincoln K, MacDougall M, Majoko F, McIntyre K, Noori M, Oakley W, Preston J, Ranka P,

- Rashid M, Salloum M, Samyraj M, Schram C, Sen S, Stone S, Tan B. Ursodeoxycholic acid versus placebo in women with intrahepatic cholestasis of pregnancy (PITCHES): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2019;394(10201):849-860. doi:10.1016/S0140-6736(19)31270-X
66. Rioseco AJ, Ivankovic MB, Manzur A, Hamed F, Kato SR, Parer JT, Germain AM. Intrahepatic cholestasis of pregnancy: A retrospective case-control study of perinatal outcome. *Am J Obstet Gynecol*. 1994;170(3):890-895. doi:10.1016/S0002-9378(94)70304-3
67. Cançado ELR, Cubero Leitão RM, Carrilho FJ, Laudanna AA. Unexpected Clinical Remission of Cholestasis After Rifampicin Therapy in Patients With Normal or Slightly Increased Levels of  $\Gamma$ -Glutamyl Transpeptidase. *Am J Gastroenterol*. 1998;93(9):1510-1517. doi:10.1111/j.1572-0241.1998.00472.x
68. Hirvioja ML, Tuimala R, Vuori J. the treatment of intrahepatic cholestasis of pregnancy by dexamethasone. *Br J Obstet Gynaecol* 1992;99(2):109-111. doi:10.1111/j.1471-0528.1992.tb14465.x
69. Puljic A, Kim E, Page J, Esakoff T, Shaffer B, LaCoursiere DY, Caughey AB. The risk of infant and fetal death by each additional week of expectant management in intrahepatic cholestasis of pregnancy by gestational age. *Am J Obstet Gynecol*. 2015;212(5):667.e1-667.e5. doi:10.1016/j.ajog.2015.02.012
70. Henderson CE, Shah RR, Gottimukkala S, Ferreira KK, Hamaoui A, Mercado R. Primum non nocere: how active management became modus operandi for

intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 2014;211(3):189-196.  
doi:10.1016/j.ajog.2014.03.058

71. Kotake H, Itoh T, Watanabe M, Hisatome I, Hasegawa J, Mashiba H. Effect of bile acid on electrophysiological properties of rabbit sino-atrial node in vitro. *Br J Pharmacol*. 1989;98(2):357-360.
72. Nolan DG, Martin LS, Natarajan S, Hume RF. Fetal compromise associated with extreme fetal bile acidemia and maternal primary sclerosing cholangitis. *Obstet Gynecol*. 1994;84(4 Pt 2):695-696.
73. Gorelik J, Harding SE, Shevchuk AI, Koralage D, Lab M, Swiet M de, Korchev Y, Williamson C. Taurocholate induces changes in rat cardiomyocyte contraction and calcium dynamics. *Clin Sci (Lond)*. 2002;103(2):191. doi:10.1042/CS20010349
74. Miragoli M, Kadir SHSA, Sheppard MN, Salvarani N, Virta M, Wells S, Lab MJ, Nikolaev VO, Moshkov A, Hague WM, Rohr S, Williamson C, Gorelik J. A protective antiarrhythmic role of ursodeoxycholic acid in an in vitro rat model of the cholestatic fetal heart. *Hepatology*. 2011;54(4):1282-1292. doi:10.1002/hep.24492
75. Rodriguez M, Bombin M, Ahumada H, Bachmann M, Egaña-Ugrinovic G, Sepúlveda-Martínez A. Fetal cardiac dysfunction in pregnancies affected by intrahepatic cholestasis of pregnancy: A cohort study. *J Obstet Gynaecol Res*. 2022;48(7):1658-1667. doi:10.1111/jog.15283
76. Binah O, Rubinstein I, Bomzon A, Better OriS. Effects of bile acids on ventricular muscle contraction and electrophysiological properties: studies in rat papillary

muscle and isolated ventricular myocytes. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1987;335(2). doi:10.1007/BF00177718

77. Zhang L Juan, Xiang H, Ding Y ling. [Influence of total bile acid in maternal serum and cord blood on neonatal cardiac function from intrahepatic cholestasis of pregnancy]. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* 2009;44(3):188-190.
78. Fan X, Zhou Q, Zeng S, Zhou J, Peng Q, Zhang M, Ding Y. Impaired Fetal Myocardial Deformation in Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy. *J Ultrasound Med.* 2014;33(7):1171-1177. doi:10.7863/ultra.33.7.1171
79. Ataalla WM, Ziada DH, Gaber R, Ossman A, Bayomy S, Elemery BR. The impact of total bile acid levels on fetal cardiac function in intrahepatic cholestasis of pregnancy using fetal echocardiography: a tissue Doppler imaging study. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016;29(9):1445-1450. doi:10.3109/14767058.2015.1051020
80. Henry A, Welsh AW. Monitoring intrahepatic cholestasis of pregnancy using the fetal myocardial performance index: a cohort study. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015;46(5):571-578. doi:10.1002/uog.14769
81. Adeyemi O, Alvarez-Laviada A, Schultz F, Ibrahim E, Trauner M, Williamson C, Glukhov AV, Gorelik J. Ursodeoxycholic acid prevents ventricular conduction slowing and arrhythmia by restoring T-type calcium current in fetuses during cholestasis. *PLoS One.* 2017;12(9):e0183167. doi:10.1371/journal.pone.0183167

82. Henry A, Welsh AW. Monitoring intrahepatic cholestasis of pregnancy using the fetal myocardial performance index: a cohort study. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015;46(5):571-578. doi:10.1002/uog.14769
83. Strehlow SL, Pathak B, Goodwin TM, Perez BM, Ebrahimi M, Lee RH. The mechanical PR interval in fetuses of women with intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2010;203(5):455.e1-455.e5. doi:10.1016/j.ajog.2010.05.035
84. Rodríguez M, Moreno J, Márquez R, Eltit R, Martínez F, Sepúlveda-Martínez A, Parra-Cordero M. Increased PR Interval in Fetuses of Patients with Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy. *Fetal Diagn Ther.* 2016;40(4):298-302. doi:10.1159/000444297
85. Yakut K, Öcal FD, Öztürk M, Öztürk FH, Oğuz Y, Çelen Ş. Assessment of Mechanical Fetal PR Interval in Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy and Its Relationship with the Severity of the Disease. *Am J Perinatol.* 2020;37(14):1476-1481. doi:10.1055/s-0039-1694726
86. Du Q, Pan Y, Zhang Y, Zhang H, Zheng Y, Lu L, Wang J, Duan T, Chen J. Placental gene-expression profiles of intrahepatic cholestasis of pregnancy reveal involvement of multiple molecular pathways in blood vessel formation and inflammation. *BMC Med Genomics.* 2014 Jul 7;7:42. doi: 10.1186/1755-8794-7-42

87. Dixon PH, Williamson C. The pathophysiology of intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2016 Apr;40(2):141-53. doi: 10.1016/j.clinre.2015.12.008