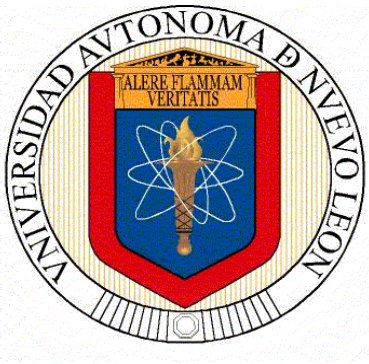
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE MEDICINA



DETERMINACIÓN DE POTENCIALES BIOMARCADORES DE PREECLAMPSIA EN ETAPAS TEMPRANAS DEL EMBARAZO MEDIANTE UN ANÁLISIS PROTEÓMICO

Tesis que presenta:

GUILLERMO JACOBO BACA

Como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN MEDICINA

OCTUBRE 2020

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE MEDICINA

DETERMINACIÓN DE POTENCIALES BIOMARCADORES DE PREECLAMPSIA EN ETAPAS TEMPRANAS DEL EMBARAZO MEDIANTE UN ANÁLISIS PROTEÓMICO.

Por:

GUILLERMO JACOBO BACA

Como requisito parcial para obtener el grado de
DOCTOR EN MEDICINA

Octubre, 2020

DETERMINACIÓN DE POTENCIALES BIOMARCADORES DE PREECLAMPSIA EN ETAPAS TEMPRANAS DEL EMBARAZO MEDIANTE UN ANÁLISIS PROTEÓMICO.

Aprobación de tesis:

Dr. C. Víctor Torres de la Cruz
Director de Tesis

Dr. med. Abel Guzmán López
Co-Director de Tesis

Dr. med. Santos Guzmán López
Miembro de la Comisión de Tesis

Dra. med. Laura Elia Martínez Garza
Miembro de la Comisión de Tesis

Dr. C. Rodrigo E. Elizondo Omaña
Miembro de la Comisión de Tesis

Dr. med. Felipe Arturo Morales Martínez
Subdirector de Estudios de Posgrado

DETERMINACIÓN DE POTENCIALES BIOMARCADORES DE PREECLAMPSIA EN ETAPAS TEMPRANAS DEL EMBARAZO MEDIANTE UN ANÁLISIS PROTEÓMICO.

Por:

Guillermo Jacobo Baca

Este trabajo se realizó en los Departamentos de Genética, Ginecología y Obstetricia y Anatomía Humana de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González" de la Universidad Autónoma de Nuevo León (U.A.N.L.). Bajo la dirección del Dr. C. Víctor Torres de la Cruz y la Co-Dirección del Dr. med. Abel Guzmán López.

Firmas:

Dr. C. Víctor Torres de la Cruz Director de Tesis	**Dr. med. Abel Guzmán López** Co-Director de Tesis

DEDICATORIA

Con todo mi corazón a las personas que más amo en el mundo **Ana Margarita López Zertuche, Guillermo Jacobo López y Héctor Herminio Jacobo López**, que me apoyaron, me inspiraron y sacrificaron parte de su tiempo para que pudiera cumplir con mis metas. Ustedes me impulsaron y me dieron la fuerza para no bajar los brazos incluso en los momentos más frustrantes, siempre fueron mi faro a donde dirigí mi rumbo.

A mis Padres y Hermanas que me formaron y se sacrificaron muchas veces para que yo pudiera estar en el sitio en el que actualmente estoy. A usted Don **Guillermo Jacobo Alcocer** que a la fecha sigue siendo mi ejemplo a seguir. A mi madre Doña **Glafira Baca Vélez** que me enseño los valores de la vida para llegar a ser un hombre de bien. A mis hermanas **Judith, Lorena y Araceli** que fueron cómplices, amigas y consejeras en todo momento.

A mi Suegra **Margarita Zertuche Moreno** y a mi cuñado **Hermino López Zertuche** que me recibieron en su casa y me hicieron sentir como uno mas de la familia y que me siguen impulsando a alcanzar grandes metas.

Quisiera dedicar muy especialmente esta tesis a 2 personas que ya no están con nosotros pero que representaron mucho en mi vida mi suegro el Dr. **Herminio López Bernal** que me enseñó mucho de la vida y me trató como a uno mas de sus hijos y mi Padrino Don **Rogelio Mota Alcocer** que en ausencia de mi padre veía en Él la figura paterna que se encontraba lejana.

Este nuevo logro es en gran parte gracias a ustedes; he logrado concluir con éxito un proyecto que en un principio podría parecer tarea titánica e interminable. Quisiera dedicar mi tesis a ustedes, personas de bien, seres que ofrecen amor, bienestar y los finos deleites de la vida.

Finalmente a mi Dios que siempre estuvo moviendo los hilos de mi vida y a quien estoy enormemente agradecido ya que ha llenado mi corazón de amor y dicha.

AGRADECIMIENTOS

Al **Dr. med. Edelmiro Pérez Rodríguez**, Director de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González" de la U.A.N.L. por confiar en mi y hacerme parte de su proyecto institucional. Le agradezco todas las enseñanzas que en cada oportunidad logro aprenderle.

Al **Dr. med. Santos Guzmán López**, Jefe del Departamento de Anatomía Humana de la Facultad de Medicina de la U.A.N.L. y Secretario General de la U.A.N.L. por todo su apoyo incondicional, por ser mi ejemplo a seguir y por aceptar participar como miembro de mi comisión de tesis, pero sobre todo por su impulso, consejos y amistad, mil gracias por su confianza, estaré eternamente agradecido.

Al **Dr. C. Víctor Torres de la Cruz** mi director de Tesis, quien me mostró el maravilloso mundo de la proteómica y que compartió conmigo su tiempo y conocimiento para alcanzar este objetivo.

Al **Dr. med. Abel Guzmán López** mi codirector de Tesis y Jefe del Servicio de Obstetricia del Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González" de la U.A.N.L. quien ha sido mi mentor ginecológico y siempre ha estado conmigo en los momentos mas importantes de mi vida.

Al **Dr. C. Rodrigo E. Elizondo Omaña,** Profesor del Departamento de Anatomía Humana y Subdirector de Pregrado de la Facultad de Medicina de la U.A.N.L., por mostrarme el maravilloso mundo de la investigación científica

y aceptar participar como miembro de la comisión de mi tesis, pero sobre todo por su gran amistad ya que además de mi jefe es mi hermano y cómplice.

Muy especialmente a la **Dra. med. Laura Elia Martínez Garza** Jefa del Departamento de Genética por todos sus consejos y ayuda para la realización de la presente tesis, tiene y tendrá mi respeto, admiración y agradecimiento ya que encontró siempre tiempo para estar conmigo en la realización de este proyecto.

Al **Dr. med. José Félix Vilchez Cavazos,** Profesor del Servicio de Traumatología y Subdirector de Educación Continua de la Facultad de Medicina de la U.A.N.L., por siempre tener un consejo para mí y ser la conciencia que me susurraba al oído de que rumbo resultaba mas conveniente desde nuestro paso por la facultad hasta la fecha.

A mi querido maestro el Dr. **Juan Antonio Soria López,** que a la fecha me sigue apoyando con sus conocimientos ya que siempre estuvo presente dándome asesoría en compartiendo conmigo sus conocimientos médicos.

A la **Sra. Martha Adriana Tovar Álvarez** por darme toda su confianza y darme el impulso para conseguir mis objetivos, pero sobre todo por ser una segunda madre que en su momento me supo reprender y alentar para conseguir mis objetivos.

A los Doctores **Alejandro Quiroga Garza** y **Pablo Patricio Zárate Garza** ya que gracias a su trabajo tuve la oportunidad de poder desarrollarme en otras actividades siempre con la tranquilidad de que tenían todo bajo control en el Departamento de Anatomía.

Al **Dr. Rodolfo A. Salazar-Ybarra** que invirtió mucho tiempo y conocimiento en sacar adelante este proyecto, gracias por ponerle todo el corazón y empeño para llevarnos a buen puerto.

Al **Dr. Miguel Ángel Vázquez Barragán** que en el inicio del proyecto me acompañó estoicamente en el arduo trabajo de reclutar pacientes.

A la **Q.C.B. Liliana Nayeli Romero Gutiérrez** que nos apoyó durante el procesamiento de las muestras, ayudando a desarrollar la metodología del proyecto.

A los Doctores **Rodolfo Morales Avalos, Xavier Gerardo Quiróz Perales, Andrés Murillo Mendoza y Adrián Salazar Charles** por participar activamente como colaboradores del presente estudio y ayudarme a cristalizar este esfuerzo conjunto.

A todo el personal académico y administrativo de los Departamentos de Anatomía Humana, Ginecología y Obstetricia, Genética y de la Secretaría de Asuntos Estudiantiles de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario “Dr.

José Eleuterio González" de la U.A.N.L. por su constante apoyo, soporte y confianza.

Finalmente a mis pacientes y alumnos esperando que este conocimiento adquirido redunde en una mejor atención para ellos, pretendiendo dejar un legado que pueda trascender a través del tiempo.

“Los conocimientos y las habilidades se pueden adquirir, la clave del éxito es la actitud”

GJB…

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo I Página

1. RESÚMEN 1

Capítulo II

2. INTRODUCCIÓN 3

Capítulo III

3. HIPÓTESIS 66

Capítulo IV

4. OBJETIVOS 68

Capítulo V

5. MATERIAL Y MÉTODOS 70

Capítulo VI

6. RESULTADOS 90

Capítulo VII

7. DISCUSIÓN 103

Capítulo VIII

8. CONCLUSIÓN 116

Capítulo IX

9. ANEXOS (ejemplo) 119

9.0 Encuesta de datos clínicos y demográficos 120

9.2 Carta de Consentimiento 122

Capítulo X

10. BIBLIOGRAFÍA 129

Capítulo XI

11. RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO 157

INDICE DE TABLAS

Tabla **Página**

1. Presentación de trastornos hipertensivos del embarazo ……..……10
   en el periodo comprendido entre el 200
   Hospital Universitario de la U.A.N.L.
2. Factores de riesgo placentarios y maternos bien……16
   establecidos que aumentan el riesgo de desarrollo de
   preeclampsia.
3. Factores de riesgo bien establecidos para el desarrollo de……18
   preeclampsia y sus riesgos relativos asociados.
4. Diferencias en los parámetros clínicos y bioquímicos……25
   entre la preeclampsia leve y la preeclampsia severa.
5. Marcadores bioquímicos descritos como predictores de……35
   Preeclampsia.
6. Valores predictivos de marcadores bioquímicos para……63
   preeclampsia
7. Valores predictivos de estrategias combinadas de……64
   diferentes marcadores bioquímicos previamente
   estudiados en preeclampsia.
8. Composición de las fracciones realizadas en cada ……..83
   muestra
9. Composición de la separación analítica. ……84

10. Condiciones de operación de la separación cromatográfica. ……85
11. Parámetros y condiciones para el calibrado del instrumento. ……86
12. Comparación de características clínicas y antropométricas entre madres y sus recién nacidos. ……92
13. Las 12 proteínas seleccionadas, sus vías asociadas, fenotipo y varias enfermedades documentadas. ……94
14. Análisis cualitativo. …..……97
15. Análisis cuantitativo. ……98
16. Procesos relacionados con las proteínas más relevantes. ……...100

INDICE DE FIGURAS

Figura **Página**

1. Eventos fisiopatológicos durante la preeclampsia……..……...19
2. Esquema de la invasión trofoblástica en una mujer no……..27 embarazada (izquierda), con preeclampsia (centro) y un embarazo normal (derecha).
3. La microfotografía muestra una vasculopatía decidual……..28 hipertrófica, un hallazgo histológico durante la hipertensión gestacional (un componente de la preeclampsia). Tinción H&E.
4. Esquema representativo del equilibrio normal entre los……..30 factores angiogénicos circulantes y la disfunción endotelial inducida por la PE.
5. Sensibilidad de la ecografía Doppler de arterias uterinas …..…..…32 (IP>p95) en primer y segundo trimestre para preeclampsia precoz y tardía.
6. Variaciones en los valores del PAPP-A durante la……..40 gestación normal.
7. Estrategia general del estudio.…….....72
8. Fórmula utilizada para el cálculo del tamaño de la muestra……..75 del presente estudio.
9. Diagrama de conexiones del sistema nanoAcquity para ……83 las separaciones.

10. Diagrama del sistema de espectrometría de masas q-TOF premier XE. ……87
11. Cromatogramas representativos de los grupos estudiados. Cada cromatograma muestra las seis fracciones de (A) las pacientes control y (B) con PE. ……95
12. Análisis cualitativo ……....96
13. (A) Proteínas con relevancia cuantitativa y cualitativa. (B) Representación de la PE: Control las concentraciones relativas de las 11 proteínas. ……101
14. Análisis bioinformático con el sistema de clasificación PANTHER de 11 proteínas que presentaron niveles de concentración diferencial. …..……102

LISTA DE ABREVIATURAS

A1M: α1-microglobulina

a-a: Aminoácidos

ACN: Acetronilo

ACOG: Colegio Americano de Obstetricia y Ginecologia

ADAM12: Desintegrina y Metaloproteinasa A dominio 12

ADMA: Dimetilarginina asimétrica

ApoE: Apolipoproteína E

ARN: Acido desoxirribonucleico

AT1-AA: Autoanticuerpos agonistas de los receptores de angiotensina

BNP: Peptido B natriuretico

BR: Bilirrubina

circRNA: RNA Circular

COR: C-terminal de ROC

CRELD2: Cisteina enriquecida con Factor de Crecimiento Epitelial-liga de dominio de proteina 2

CRF: Factor liberador de corticotropina

CRF-BP: Proteína fijadora de corticotropina

CYP2D6: Citocromo P450 2D6

CYTB: Citocromo b

dl: Decilitro

DTT: Ditiotreitol

E: Especificidad

EGFR: Receptor del Factor de Crecimeinto Epidérmico

EHE: Estados hipertensivos del embarazo

EHMT2: Histona eucromática lisina metiltransferasa 2

EM: Espectrometría de masas

EMRT: Masa Exacta de Tiempo de Retención

ETS: Sistema de Transferencias del Electrón

FIV: Fecundación in vitro

FUM: Fecha de Ultima Menstruación

g: Fuerza Relativa Centrifugal

GlyFn: Fibronectina sérica glicosilada materna

GO: Ontología de genes

gr: Gramos

Hb: Hemoglobina

Hbf: Hemoglobina fetal

HCG: Gonadotropina Coriónica Humana

HDL: Lipoproteínas de alta densidad

HEATR5A: Proteína Contenedora de Calor Repetido 5A

HLA-A: Cadena A del Antígeno de Histocompatibilidad clase I

HLA-G: Antígeno Leucocitario Humano tipo G

HOX: Homeobox

HRC: Proteína Fijadora de Calcio Rica en Histidina del Retículo Sarcoplásmico

HTA: Hipertensión arterial

HTG: Hipertensión Gestacional

IC: Intervalo de confianza

IGF: Factor de Crecimiento Insulínico

IGF-1: Factor de crecimiento similar a la insulina

IGFBP-3: Proteína de unión 3 al factor de crecimiento similar a la insulina.

IgG: Inmunoglobulina G

IgM: Inmunoglobulina M

IL-6: Interleucina 6

IL-8: Interleucina 8

IMC: Índice de masa corporal

IP: Índice de pulsatilidad

IPO4: Importina-4

Kda: Kilodalton

LDH: Lactato deshidrogenasa

LDL: Lipoproteínas de baja densidad

LH: Hormona luteinizante

LRRK1: Proteína Quinasa Serina / treonina repetida rica en Leucina 1

LRRK2: Proteína Quinasa Serina / treonina repetida rica en Leucina 2

MAP4: Microtúbulo Asociado a proteína 4

mARNs: micro RNA´s

mg: Miligramos

miRNA: microRNA

ml: Mililitros

mmHg: Milímetros de Mercurio

mRNA: RNA Mensajero

MS: Epectrometria de Masa

MT-ATP6: ATP sintasa subunidad 6

MT-ND2: NADH-ubiquinona oxidoreductasa cadena 2

NE: No Embarazadas

NK: Células Asesinas Naturales

NOS: Sintasa de óxido nítrico

NUP205: Complejo Nuclear de poro 205

OMS: Organización mundial de la salud

OR: Razón de probabilidades

OVF: Onda de velocidad de flujo

PA: Presión arterial

PAI: Inhibidor del activador del plasminógeno

PANTHER: Análisis de Proteínas a Través de Relaciones Evolutivas

PAPP-A: Proteína Plasmática A Asociada a Embarazo

PCR: Proteína C reactiva

PE: Preeclampsia

PIFG: Factor de crecimiento placentario

PLGS: ProteinLynx Global SERVER™

PP13: Proteína placentaria 13

PRRC2B: Proteína 2B en espiral rica en prolina

PRRC2C: Proteína 2C en espiral rica en prolina

RBM25: Proteína de unión a ARN 25

RCIU: Restricción del crecimiento intrauterino

ROC: Complejo de Ras

rpm: Revoluciones por minuto

RVP: Rango de verosimilitud positiva

S: Sensibilidad

SCN3A: Subunidad alfa de la proteína del canal de sodio tipo 3

SDG: Semanas de gestación

SEGO: Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia

sEng: Endoglina soluble

SENP: Proteasas Específicas SUMO

sFlt-1: Forma soluble de la tirosina quinasa

SHBG: Globulina fijadora de hormonas sexuales

sP-Selectina:P-Selectina soluble

SREK1: Empalme de ácido glutámico regulador y proteína rica en lisina 1

TFG: Tasa de filtración glomerular

TFP: Tasa de falsos positivos

TGF-β: Factor de crecimiento transformante beta

TNF: Factor de Necrosis Tumoral

UI: Unidades Internacionales

VEGF: Factor de crecimiento endotelial vascular

VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad.

VPN: Valor predictivo negativo

VPP: Valor predictivo positivo

WDR43: Dominio de repetición WD 43

ZC3H13: Proteína que contiene el dominio CCCH de dedo de zinc 13

CAPÍTULO I
Resumen

Capítulo 1

RESUMEN

La preeclampsia (PE) es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad materna y neonatal asociadas al embarazo. La detección de pacientes en riesgo antes del inicio clínico de la PE es una prioridad. La proteómica se ha convertido en una valiosa herramienta para el descubrimiento de nuevos biomarcadores. El objetivo del presente estudio fue determinar nuevos biomarcadores potenciales para la detección precoz de la PE mediante enfoques proteómicos cuantitativos y cualitativos. Se obtuvieron muestras de sangre de mujeres embarazadas a las 10-12 semanas de gestación. Se analizaron ocho muestras de pacientes que desarrollaron PE y ocho de mujeres no afectadas mediante cromatografía líquida nano 2-D y qTOF-MS. Se consideraron relevantes doce proteínas. Diez proteínas mostraron diferencias cuantitativas: Por arriba de 1.5 veces: PRRC2C (217.02), HEATR5A (179.46), ATP6 (162.38), PRRC2B (83.09), RBM25 (5.36), NUP205 (3.38), HLA-I (2.27), ZCCCH13 (2,15) SREK1 (1,66) y dos por debajo de 0,66: Importina-4 (0,55) y Citocromo b (0,26). Cualitativamente solo LRRK1 se expresó significativamente en PE ($p = 0.044$), aunque: PRRC2B ($p = 0.121$), PRRC2C ($p = 0.134$) y NUP205 ($p = 0.134$) mostraron una marcada tendencia a estar presentes en PE estos últimos estuvieron presentes en ambos grupos. Proponemos que las últimas cuatro proteínas podrían actuar como posibles biomarcadores tempranos de PE. Sin embargo, se necesitan más estudios para continuar con la verificación, validación y finalmente la de transferencia a la clínica.

CAPÍTULO 2
Introducción

2.0 Mortalidad materna durante el embarazo
2.1 Estados Hipertensivos del Embarazo (Definiciones)
2.1.1 Hipertensión crónica
2.1.2 Preeclampsia – Eclampsia
2.1.3Hipertensión crónica con preeclampsia sobreañadida
2.1.4 Hipertensión transitoria
2.2 Generalidades sobre la Preeclampsia
2.3 Definición e Incidencia
2.4 Etiología
2.4.1 Factores Placentarios
2.4.2 Factores maternos
2.4.3 Lesión endotelial
2.5 Factores de Riesgo
2.6 Fisiopatología
2.6.1 Sistema Cardiovascular
2.6.2 Sistema Renal
2.6.3 Sistema de coagulación y hemático
2.6.4 Sistema Hepático
2.6.5 Sistema Neurológico
2.7 Diagnostico
2.8 Clasificación de la Preeclampsia
2.9 Patogenia de la Preeclampsia
2.9.1 Establecimiento de una deficiente circulación placentaria
2.9.2 Aparición de una respuesta sistémica materna
2.10 Predicción de la aparición de Preeclampsia
2.11 Estudio Doppler de las resistencias en las arterias uterinas
2.12 Marcadores propuestos como predictores de preeclampsia
2.13 Prevención de la Preeclampsia
2.14 Proteómica
2.15 Aplicaciones de la proteómica en la Salud Publica
2.16 Biomarcadores
2.17 Marcadores bioquímicos para preeclampsia
2.18 Proteína plasmática A asociada al embarazo
2.19 Gonadotropina coriónica humana
2.20 Factor de crecimiento endotelial vascular, factor de crecimiento placentario y Kinasa de tirosina soluble similar al FMS soluble
2.21 Endoglina soluble

2.22 Proteína Placentaria 13
2.23 Pentraxina larga 3
2.24 Visfatina, Inhibina y Activina A
2.25 Desintegrina y Metaloproteinasa 12 (ADAM 12)
2.26 Alfafetoproteína
2.27 Globulina fijadora de hormonas sexuales
2.28 Homocisteína
2.29 Dimetilarginina asimétrica
2.30 Autoanticuerpos agonistas de los receptores de angiotensina 1
2.31 Adiponectina
2.32 Leptina
2.33 Factor 1 de crecimiento similar a la insulina
2.34 Proteína C reactiva
2.35 Ácido úrico
2.36 Calcio
2.37 Hipercolesterolemia y preeclampsia
2.38 Hemoglobina fetal y α1-microglobulina
2.39 Apolipoproteína E
2.40 Factor liberador de corticotropina y proteína fijadora de corticotropina
2.41 Eritroblastos fetales y ADN libre de células fetales en suero materno
2.42 Péptido B natriurético
2.43 Creatinina
2.44 Cistatina C y los nuevos biomarcadores
2.45 Modelos combinados y perspectivas futuras

La preeclampsia (PE) es una enfermedad multifactorial caracterizada por desarrollar hipertensión y proteinuria asociada al embarazo. Por lo general, ocurre después de la semana 20 de embarazo (1)(2), mayormente en el último trimestre del embarazo (3). Si no se trata, esta afección podría progresar a una afección más grave conocida como eclampsia (3). La PE es una de las principales causas de morbimortalidad materna y neonatal asociadas al embarazo (3)(4).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que anualmente cerca de 63.000 muertes maternas son causadas por esta condición (5). Además, las mujeres de los países en desarrollo tienen una probabilidad 300 veces mayor de muerte asociada a PE en comparación con sus contrapartes que viven en un país desarrollado (6). Afecta al 3-5% de las mujeres embarazadas en todo el mundo, con una incidencia del 3-7% y del 1-3% en mujeres nulíparas y multíparas, respectivamente (7). En América Latina, los trastornos hipertensivos son la causa del 25,7% de las muertes maternas (8). Los factores de riesgo incluyen obesidad, hipertensión arterial, tener PE antes, diabetes, patología renal, nulíparas, embarazos múltiples, enfermedades autoinmunes como el síndrome antifosfolípido o el lupus eritematoso sistémico y el embarazo en los extremos de la vida fértil: madres adolescentes o aquellas con 40 años o más (9).

Se han descrito varios métodos para la detección de pacientes con alto riesgo de presentar PE. Algunas proteínas propuestas como biomarcadores, cuando se estudian junto con parámetros biofísicos y antecedentes clínicos, permiten un cribado adecuado para predecir la PE (10). Algunos ejemplos son PAPP-A, PlGF y ADAM12, involucrados en procesos de implantación placentaria y desarrollo de arterias espirales; se ha demostrado que la medición de estas proteínas y la complementación del resultado con

la evaluación del flujo de la arteria uterina presentan una buena sensibilidad y especificidad (11) (12) (13) (14) Sin embargo, además de requerir equipo especializado y personal de salud debidamente capacitado, este enfoque requiere un estudio dependiente del operador (15). Además, el uso de información combinada utilizando características maternas e historia clínica, junto con el uso de pruebas biofísicas y bioquímicas en las semanas 11-13 de embarazo, ha demostrado ser capaz de predecir pacientes con aparición futura de PE con alta sensibilidad (11,14). No obstante, los pacientes sin factores de riesgo también pueden presentar esta patología (16) . Por lo tanto, se ha buscado un método de detección simple y eficaz para predecir el desarrollo temprano de la PE en las primeras etapas del embarazo.

En los últimos años, los enfoques proteómicos que utilizan espectrometría de masas se han convertido en alternativas prometedoras para el descubrimiento de nuevos biomarcadores y para determinar los mecanismos fisiopatológicos implicados en la PE (17). Sobre esta base, se ha propuesto el uso de proteínas como biomarcadores como una estrategia de cribado con suficiente sensibilidad, especificidad y accesibilidad para identificar mujeres en riesgo de desarrollar PE pero, a pesar de los avances en este campo, hasta la fecha no existe ningún biomarcador sérico conocido. con las características adecuadas para ciertamente poder predecir la PE al principio del embarazo.

El objetivo de este estudio fue determinar los posibles biomarcadores de la PE al comienzo del embarazo. Se analizaron los perfiles proteómicos de mujeres entre las 10 y las 12 semanas de gestación con el fin de determinar las diferencias cualitativas y cuantitativas entre los proteomas de las que desarrollaron PE y las que no.

Marco Teórico

2.0 Mortalidad materna durante el embarazo

El número de muertes a nivel mundial por causas relacionadas al embarazo asciende a más de medio millón cada año, de éstas, el 99% ocurre en países en vías de desarrollo. Durante el embarazo al menos el 10% de las mujeres sufren hipertensión, la preeclampsia es la causa en un 2 a 8% de este padecimiento a nivel mundial (18). En Latinoamérica y el Caribe, los desórdenes hipertensivos son responsables del 25,7% de las muertes maternas (5).

2.1 Estados Hipertensivos del Embarazo (Definiciones)

Debido a su importancia en la patología de la gestación, los estados hipertensivos en el embarazo (EHE), son uno de los principales factores de mortalidad y morbilidad materna y fetal, a pesar de esto, no existe una definición y clasificación universal, el American College of Obstetricians and Gynecologist (ACOG) ha hecho una propuesta, misma que ha sido adaptada por la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO, 2006):

2.1.1 Hipertensión crónica

Hipertensión que se detecta antes del embarazo o antes de las 20 semanas de gestación (SDG) del mismo (19).

2.1.2 Preeclampsia – Eclampsia

Se define como preeclamsia a el hallazgo de hipertensión acompañada de proteinuria después de la semana 20 de embarazo (con excepción de hidrops fetal, enfermedad trofoblastica, y embarazo múltiple), si no se trata, esta afección podría progresar a una afección más grave conocida como eclampsia (3), la eclampsia es la ocurrencia de convulsiones en una paciente con preeclampsia que no pueden ser atribuidas a otras causas (19).

2.1.3 Hipertensión crónica con preeclampsia sobreañadida

La hipertensión crónica con preeclampsia sobreañadida implica un peor pronóstico materno-fetal. El diagnóstico resulta ser complicado, debido a esto, ante la aparición de uno o más signos y/o síntomas de afectación multiorgánica descritos anteriormente en preeclampsia deberá sospecharse de esta patología. En gestantes cuya función renal este afectada crónicamente el diagnóstico se realizará al presentarse un incremento súbito de la hipertensión y la proteinuria (19).

2.1.4 Hipertensión transitoria

Hipertensión durante el embarazo o primeras 24 horas del puerperio sin signos sugestivos de preeclampsia o hipertensión preexistente. El diagnóstico es retrospectivo, en caso de existir dudas se deberá clasificar como preeclampsia. (19).

2.2 Generalidades sobre la Preeclampsia

La PE, la hemorragia puerperal y las infecciones forman la triada de complicaciones más temibles durante el embarazo. La PE es la causa del 15% de las muertes maternas relacionadas con el embarazo (20). Afecta a más de 8 millones de mujeres anualmente a nivel mundial y es el principal factor de riesgo de morbimortalidad materno fetal (10% de recién nacidos afectados). A pesar de los importantes avances acontecidos en la última década en la medicina perinatal las cifras antes mencionadas no han disminuido, e incluso en países como el nuestro con un incremento en la edad media materna, la obesidad, los embarazos múltiples derivados de las técnicas de reproducción asistida y la inmigración, estas cifras se han incrementado (20)

2.3 Definición e Incidencia

La PE es una enfermedad multifactorial caracterizada por desarrollar hipertensión y proteinuria asociada al embarazo. Por lo general, ocurre después de la semana 20 (1)(2), más frecuentemente en el último trimestre del embarazo (3), suele acompañarse de edema pero no es imprescindible la presencia de esto para ser diagnosticada. Es una enfermedad propia del embarazo de la que se pueden tratar los síntomas, pero sólo se cura con la finalización de este, si la preeclampsia no es tratada adecuadamente puede ser causa de graves complicaciones tanto para la mujer embarazada como para el feto. La PE afecta aproximadamente el 3% de las gestaciones, pero en presencia de factores de riesgo el porcentaje se eleva hasta el 10% (21).

El porcentaje global de EHE según un estudio realizado fue del 2,59%, de los cuales 1,1% correspondían a preeclampsia, el 0,4% a hipertensión crónica, el 0,3% a

hipertensión crónica más preeclampsia sobreañadida y el 0,5 % a hipertensión transitoria (21).

En un estudio realizado sobre un total de 30.784 gestantes, los autores establecen una tasa de detección de un 33% de los casos de preeclampsia que requirieron la finalización de la gestación antes de las 34 semanas, exclusivamente con la utilización de los datos de la historia clínica (raza, índice de masa corporal, paridad, hábito tabáquico, parto pretérmino en gestación anterior y preeclampsia previa) (22)

En el Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González" de la U.A.N.L. se han presentado las siguientes estadísticas de presentación de trastornos hipertensivos del embarazo en el periodo comprendido entre el 2002 y el 2008 (Tabla 1).

EDAD MATERNA	NACIMIENTOS	P. LEVE	P. SEVERA	P. LEVE Y SEVERA	ECLAMPSIA
11 – 20 años	11,046	2.5%	3.3%	5.8%	0.9%
21 – 30 años	14,583	3.6%	4.2%	7.6%	0.4%
31 – 40 años	5,091	7.3%	6.7%	14.1%	0.2%
GLOBAL	30,720	13.4%	14.2%	27.5%	1.5%

Tabla 1. Presentación de trastornos hipertensivos del embarazo en el periodo comprendido entre el 2002 y el 2008 en el Hospital Universitario de la U.A.N.L. Datos propios del Servicio de Ginecología y Obstetricia de la U.A.N.L.

1.4 Etiología

La etiología de la preeclampsia tiene un enfoque multifactorial, sin embargo de todos estos factores etiológicos se destacan dos grupos principalmente: factores placentarios y factores maternos (Tabla 2) (23).

2.4.1 Factores Placentarios

La preeclampsia es un síndrome que va de la mano con la gestación. La preeclampsia aparece únicamente en presencia de la placenta, y se resuelve con la desaparición de esta (23).

La anomalía placentaria es producida por perfusión reducida o inadecuada, la placentación anómala y/o un fallo de la dilatación y reorganización de las arterias espirales son causas de esta patología (23).

En el embarazo normal, la placentación implica una reorganización estructural profunda de las arterias espirales de la madre, la cual se lleva cabo en las dos fases de invasión trofoblástica, al sustituir la capa muscular por células trofoblásticas, y producir la destrucción de la lámina elástica interna y de las fibras musculares lisas de estas arterias. Mediante este proceso reestructuración, las arterias espirales puedan dilatarse drásticamente y transportar varias veces su caudal pregestacional, logrando hacer de la placenta un sistema vascular de baja resistencia, que a su vez disminuye la respuesta de estas arterias a las sustancias vasopresoras. Todo lo antes descrito resulta esencial para asegurar el correcto aporte sanguíneo a la unidad feto-placentaria (23).

En la preeclampsia, la segunda fase de la invasión trofoblástica (que se lleva a cabo durante las semanas 14 y 24) no se produce de manera correcta, provocando que las

arterias espirales conserven su anatomía, así como su alta resistencia, además de esto, conservaran su respuesta a las diferentes sustancias vasopresoras que se pierden durante la gestación, ocasionando una reducción del flujo uteroplacentario (24). Las placentas de mujeres con preeclampsia suelen tener las características de ser más pequeñas y tener menos masa de sincitiotrofoblasto (24). Cabe aclarar que estas alteraciones no son provocadas por la hipertensión materna, ya que las placentas de mujeres con hipertensión crónica sin preeclampsia sobreañadida suelen ser normales sin afecciones (23).

Si bien ninguna lesión es característica de la PE existen alteraciones más comunes y extensas de lo habitual, ejemplo de esto son, el engrosamiento de la membrana basal trofoblástica, la proliferación del citotrofoblasto, los brotes sincitiales, los infartos y los hematomas retro placentarios (25).

Los rasgos macroscópicos más evidentes de las placentas de mujeres con PE, son los infartos ocasionados por oclusiones de las arterias espirales maternas (26). La isquemia propagada a la decidua genera múltiples hemorragias y desprendimiento precoz de la placenta como complicación asociada (23).

El rasgo principal del embarazo complicado con PE, es la inhibición de la migración intravascular del trofoblasto, mayormente localizada a las porciones deciduales de las arterias espirales (22). Los segmentos miometriales de dichas arterias no sufren modificaciones, son de menor calibre y conservan su estructura musculo elástica, además de estar desprovistos de los restos habituales de citotrofoblasto infiltrativo en biopsias del lecho placentario (22). En el caso de crecimiento intrauterino retardado, los cambios observados son similares. La placentación deficiente en su cuadro más severo

provoca el aborto; de no ser así, el embarazo puede continuar, desarrollando posteriormente dos síndromes (materno y fetal) secundarios a la isquemia placentaria (22).

Desde el punto de vista inmunológico la unidad feto placentaria tiene las características de un aloinjerto, por lo tanto, la falla de los mecanismos normales de inmunotolerancia entre trofoblasto y tejido materno ocasiona una reacción inmunitaria anormal. En la PE se han demostrado diversas alteraciones inmunológicas, distintos estudios han descrito la disminución de los niveles circulantes de Inmunoglobulina G (IgG) e Inmunoglobulina M (IgM), anticuerpos bloqueantes, así como la funcionalidad de la inmunidad humoral y celular. Se ha identificado la alteración en la PE de el gen de histocompatibilidad denominado Antígeno Leucocitario Humano tipo G (HLA-G), el cual se expresa en el citotrofoblasto y su principal función es la protección inmunológica. Así otros estudios sugieren la participación de citoquinas, como la Interleucina 6 (IL-6) o el Factor de Necrosis Tumoral (TNF), de las moléculas de adhesión y de productos secretados como la elastasa (22).

2.4.2 Factores maternos

La contribución materna se manifiesta a través de la historia clínica antes del embarazo, en los hallazgos patológicos puestos en evidencia durante el mismo y en el seguimiento tras la gestación. Algunos estudios han demostrado que mujeres con preeclampsia presentan un alto riesgo de desarrollar enfermedades sistémicas como: diabetes, hipertensión e incluso enfermedades cardiovasculares (23).

Existen diferentes factores entre los antecedentes familiares y personales de la paciente, así como la historia de la actual gestación cuya presencia se relaciona directamente con el diagnóstico de preeclampsia, por ejemplo (23):

-Edad materna: edad igual o superior a los 40 años presenta dos veces más de riesgo de desarrollar preeclampsia independientemente de la paridad. Al parecer el riesgo aumenta a partir de los 34 años mostrando un incremento de 30% de riesgo por cada año.

-Paridad: La nuliparidad triplica el riesgo de PE.

-Raza: Afroamericanos e hispanos presentan una incidencia mayor.

-Preeclampsia previa: Tener antecedente de una gestación previa con desarrollo de PE aumenta en siete veces el riesgo de padecerla nuevamente.

-Historia familiar de preeclampsia: El antecedente materno de PE en la gestante triplica el riesgo.

-Gestación múltiple: Una gestación gemelar triplica el riesgo.

-Tiempo entre gestaciones: El riesgo de PE aumenta conforme lo hace el intervalo de tiempo entre gestaciones, un intervalo de diez años o más iguala el riesgo de una paciente nulípara.

-Índice de masa corporal (IMC): Un IMC mayor de 35 dobla el riesgo mientras que IMC de 20 lo mantiene significativamente reducido.

- Enfermedad previa:

- **Diabetes insulinodependiente:** El antecedente de diabetes pregestacional cuadruplica el riesgo de padecer preeclampsia.
- **Hipertensión crónica preexistente:** Una hipertensión pregestacional aumenta el riesgo de desarrollar preeclampsia. Hipertensión crónica con preeclampsia sobreañadida tiene mayores tasas de morbilidad perinatal, mayor riesgo de neonatos pequeños para edad gestacional y parto prematuro antes de la semana de gestación 32.
- **Enfermedad renal:** parece existir una asociación entre la prevalencia de enfermedad renal y el desarrollo de preeclampsia.
- **Enfermedad autoinmune:** Gestantes con patologías autoinmunes tienen mayor probabilidad de padecer preeclampsia.
- **Síndrome antifosfolípido:** La presencia de anticuerpos anticardiolipina, anticoagulante lúpico o ambos, aumentan sustancialmente el riesgo de presentar preeclampsia.

Factores Placentarios	Factores Maternos
- Nuliparidad - Aumento de la masa trofoblástica - Gestación Gemelar - Embarazo de compañeros diferentes -Uso previo de un método anticonceptivo de barrera - Embarazo después de donación de ovocito	- Raza - Edad > 40 años - Historia familiar de preeclampsia - Hipertensión crónica - Enfermedad renal crónica - Síndrome antifosfolipídico - Diabetes Mellitus - Gen del angiotensinógen

Tabla 2. Factores de riesgo placentarios y maternos bien establecidos que aumentan el riesgo de desarrollo de preeclampsia.

2.4.3 Lesión endotelial

La lesión endotelial es el punto de convergencia entre las causas maternas y placentarias, aunque también se ha propuesto como un componente importante la disfunción endotelial en la ateroesclerosis (23).

2.5 Factores de Riesgo

Actualmente el único método de cribado para preeclampsia es la identificación de los factores de riesgo (Tabla 3). Algunos de ellos son:

- Edad
- Nuliparidad
- Raza negra

- Tabaco
- PE previa
- Historia familiar de PE
- Embarazo mediante fecundación in vitro (FIV)
- Gestación múltiple
- Enfermedades preexistentes: diabetes mellitus, hipertensión crónica, enfermedad renal, alteraciones de la coagulación que predisponen a trombosis, etc.
- Obesidad
- Dislipemias
- Abortos de repetición
- Infecciones
- Factores genéticos.

Factor de riesgo	Riesgo relativo
Edad menor a 16 o mayor a 40	1.68-1.96
Nuliparidad	1.28-2.91
Preeclampsia previa	5.8-7.1
Historia familiar (Familiar 1er grado)	1.7-2.9
Gestaciones múltiples	2.93
Diabetes insulinodependiente	3.5
Hipertensión previa al embarazo	3.2
Enfermedad renal crónica	1.8
Enfermedades autoinmunes	6.9
Síndrome antifosfolípido	4.3-9.1
Etnia afroamericana	2.6

Tabla 3. Factores de riesgo bien establecidos para el desarrollo de preeclampsia y sus riesgos relativos asociados.

2.6 Fisiopatología

La preeclampsia es un síndrome multiorgánico que no muestra manifestaciones clínicas desde sus inicios. La preeclampsia es un estado de vasoconstricción secundario a la disfunción del endotelio vascular, provocando una isquemia placentaria, que a su vez será la causante de la liberación de factores citotóxicos para el endotelio (27) (Figura 1).

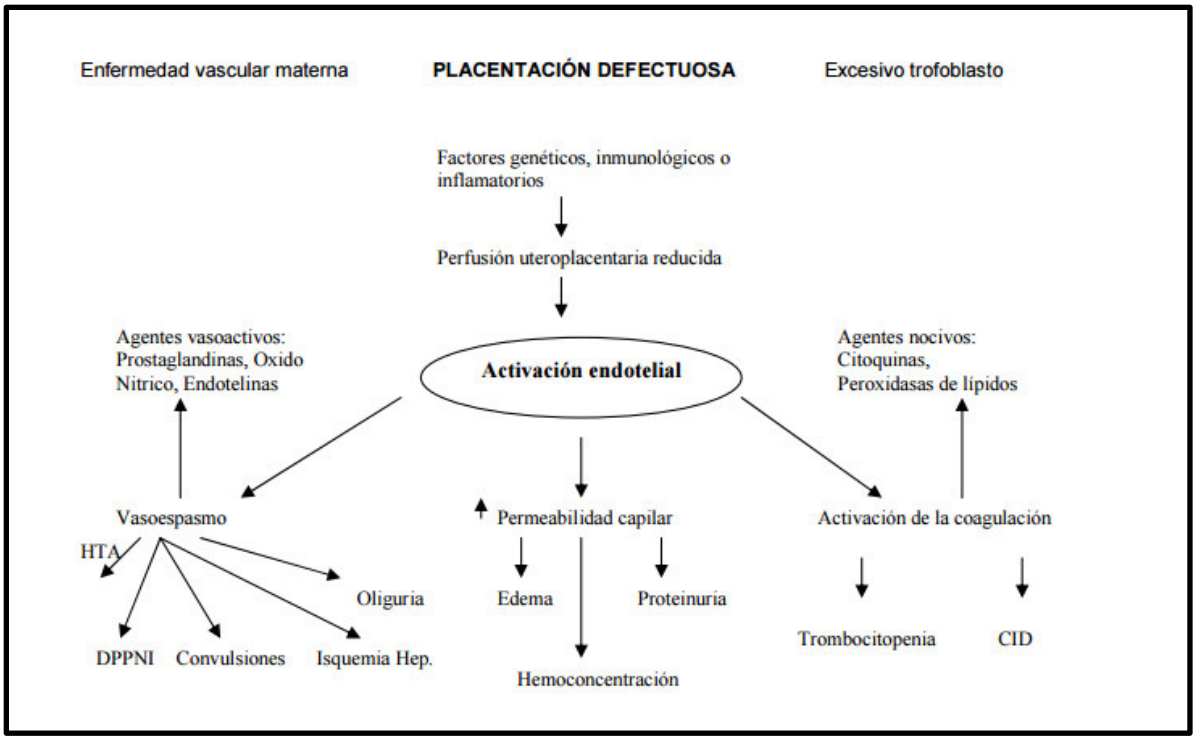


Figura 1. Eventos fisiopatológicos durante la preeclampsia (27).

2.6.1 Sistema Cardiovascular

Los cambios cardiovasculares provocados por la preeclampsia se relacionan principalmente con una mayor poscarga cardiaca debido a la hipertensión y una precarga cardiaca afectada por la hipervolemia producida patológicamente del embarazo. La hipertensión secundaria al vasoespasmo arteriolar conduce a una disminución de la capacidad del sistema vascular, así como del volumen plasmático. La pérdida de integridad vascular a nivel capilar y la hipoproteinemia propician el desarrollo de edema extracelular (28).

2.6.2 Sistema Renal

Durante el embarazo normal, tanto el flujo sanguíneo como la Tasa de Filtración Glomerular (TFG) están aumentados. Durante la preeclampsia se reducen la perfusión renal y la TFG (29), esto ocasionado por la sensibilidad del endotelio glomerular a la vasoconstricción desarrollada en la preeclampsia. Todo el proceso antes descrito nos explicaría la constancia de la proteinuria y la lesión anatomopatológica típica: la endoteliosis glomerular, descrita por Sheehan en 1950 (30).

En la preeclampsia el sistema renina-angiotensina-aldosterona se encuentra alterado, los niveles de renina y angiotensina se encuentran disminuidos. La causa de este fenómeno probablemente sea las modificaciones ocasionadas por la preeclampsia sobre el volumen plasmático y la presión sanguínea (31).

2.6.3 Sistema de coagulación y hemático

El sistema hemático resulta afectado al presentar trombocitopenia, disminución del nivel de factores de la coagulación y la morfología de los eritrocitos puede estar alterada causando hemólisis rápidamente.

La trombocitopenia que acompaña la preeclampsia está producida por el estado de hipercoagulabilidad tras el secuestro de plaquetas en la pared vascular (32,33) y puede asociarse a hemolisis de hematíes en arteriolas y capilares (34).

La hipercoagulabilidad fisiológica del embarazo se acentúa con la preeclampsia. La antitrombina III se encuentra en valores drásticamente disminuidos en mujeres con preeclampsia en comparación con mujeres normotensas (35) . La fibronectina se eleva (35,36). El inhibidor de la proteína C disminuye por el aumento de la calicreína debido a

la activación de la vía intrínseca de la coagulación. El alargamiento del tiempo de la trombina conjugado a el aumento de los productos de degradación del fibrinógeno puede desencadenar un síndrome de coagulación intravascular diseminada (35).

2.6.4 Sistema Hepático

La lesión más prevalente a nivel hepático en la preeclampsia es la necrosis hepatocelular con depósitos de fibrina que produce elevación de las transaminasas acompañada de trombocitopenia (37).

La asociación de necrosis hepática, trombocitopenia y hemólisis se ha definido como síndrome de HELLP: Hemoglobina (Hb) < 10 g/dl; Bilirrubina (BR) > 1,2 mg/dl; Lactado deshidrogenasa (LDH) > 70 UI/l y plaquetas < 100.000/ul (38).

2.6.5 Sistema Neurológico

El sistema vascular cerebral resulta gravemente afectado en la preeclampsia, y las cifras de tensión arterial no pueden ser correlacionadas con el vasoespasmo, esto hace que la encefalopatía en la preeclampsia no pueda considerarse como una encefalopatía hipertensiva. (Brown y cols., 1987). Además del riesgo de convulsiones y hemorragia cerebral, manifestaciones como fotopsias, escotoma y ceguera cortical transitoria son provocadas por la afectación en el área occipital, esto debido a su ubicación anatómica al ser una zona intermedia de dos territorios vasculares (37).

2.7 Diagnostico

El diagnóstico de PE se lleva a cabo mediante la detección de hipertensión arterial (HTA) y proteinuria. La HTA en el contexto de PE, es definida como presión arterial (PA) sistólica con valores ≥ 140 mmHg y/o PA diastólica con valores ≥ 90 mmHg, debe ser

medida en al menos dos ocasiones con un intervalo de ≥6 horas, a partir de la semana 20 de gestación en mujeres previamente normotensas. La proteinuria es definida como una excreción de proteínas en orina ≥ 0,3g en 24 horas. En caso de no existir la posibilidad de determinar proteínas en orina de 24 horas, se realizará una muestra simultánea de orina y en las cuales se deberá obtener dos determinaciones en un intervalo ≥6 horas, considerando como proteinuria los valores ≥ 30 mg/dl o ≥2+ en tira reactiva de orina (39).

2.8 Clasificación de la Preeclampsia

Dado el diagnóstico de PE, se debe distinguir los diferentes tipos de PE de acuerdo con las características que se presenten. (Tabla 4).

Considerándose:

Hipertensión: presión arterial sistólica ≥140 mmHg o diastólica ≥90 mmHg, determinadas en dos ocasiones con un intervalo mínimo de 4 horas.

Proteinuria: existencia de al menos 300 mg de proteínas en orina de 24 horas o bien 30 mg/dl en una muestra aislada o la presencia de 2+ en tira reactiva de orina en dos muestras recolectadas.

Edema: hinchazón clínicamente evidente, si bien el edema es un hallazgo habitual en las gestantes, el edema patológico de la preeclampsia se manifiesta no solo en las partes de declives, sino que suele incluir las manos y la cara.

Preeclampsia grave cuando cumple alguna de las siguientes condiciones:

- Tensión arterial sistólica de 160 y/o diastólica de 110 mmHg o más en dos ocasiones con un intervalo de medición de 6 horas al menos

- Proteinuria de 2 gr o más en 24 horas o tira reactiva de orina ≥ 3+ en dos muestras recolectadas con un intervalo de 4 horas

- Creatinina sérica mayor de 1,2 mg/dl (con excepción de pacientes que presenten anteriormente un valor elevado u oliguria < 500 ml/24 horas)

- Plaquetas con valor menor a 100.000 plaquetas/ml o bien anemia hemolítica con microangiopatía.

- Deterioro de la función hepático (enzimas hepáticas elevadas).

- Cefalea, alteraciones visuales o dolor epigástrico.

- Hemorragia retiniana, exudado en fondo de ojo o papiledema.

- Edema pulmonar.

Preeclampsia tardía: preeclampsia que permite el parto después la semana 34 de gestación.

Preeclampsia precoz: aquella que requiere el parto antes de la semana 34 de gestación, y con la característica de un mayor de riesgo de morbimortalidad perinatal y complicaciones maternas a corto/largo plazo en comparación a la PE tardía (40).

Parámetro	Preeclampsia leve	Preeclampsia severa
Presión arterial sistólica	≥140 y <160 mmHg	≥160 mmHg
Presión arterial diastólica	≥90 y <110 mmHg	≥110 mmHg
Proteinuria	≥0,3 g/24horas	≥5 g/24 horas
Cefaleas	No	Si
Anomalías visuales	No	Si
Dolor abdominal	No	Si
Oliguria	No	<500 ml/24 horas
Convulsiones	No	Si (eclampsia)
Creatinina sérica	Normal/ ligeramente elevada ≤1 mg/dl	>1,2 mg/dl
Aspartato aminotransfersa (AST)	Normal/ ligeramente elevada ≤70 U/L	>70 U/L
Bilirrubina	Normal/ ligeramente elevada ≤1,2 mg/dl	>1,2 mg/dl
Ácido Úrico	Normal/ ligeramente elevado ≤6 mg/dl	>8 mg/dl
Lactato Deshidrogenasa	Normal o ligeramente elevada <600 U/L	≥600 U/L
Plaquetas	Normal/ ligeramente disminuidas ≥100.000/mm3	<100.000/mm
Edema Pulmonar	No	Si

Restricción del Crecimiento Intrauterino	No	Si
Oligohidramnios	No	Si

Tabla 4. Diferencias en los parámetros clínicos y bioquímicos entre la preeclampsia leve y la preeclampsia severa.

2.9 Patogenia de la Preeclampsia

La presencia de la placenta es indispensable para la aparición de PE, no así el feto, ya que la PE puede desarrollarse en gestaciones molares, ni tampoco el útero ya que se han reportado casos de PE en gestaciones abdominales. Los primeros cambios fisiopatológicos para el desarrollo de la PE es la afectación de la circulación uteroplacentaria que resulta en insuficiencia e isquemia placentaria (41)

El origen de la PE parece encontrarse en la placenta, sin embargo, el fallo en la placentación no es suficiente para explicar la alteración endotelial que origina el síndrome materno. Los factores de riesgo maternos para la aparición de PE se relacionan a condiciones que conducen a la disfunción vascular, tales como la obesidad, diabetes mellitus, hipertensión crónica, etc. Todo ello apunta hacia la asociación de una placentación deficiente y el daño vascular materno(23).

La PE consta de dos fases: la primera consiste en una deficiente circulación placentaria durante la primera mitad del embarazo que condiciona un estado de hipoxia placentaria, y la segunda en la aparición de una respuesta sistémica materna durante la mitad final de la gestación (23).

2.9.1 Establecimiento de una deficiente circulación placentaria

La reducción en la perfusión uteroplacentaria como resultado de la invasión fallida de las arterias espirales por el trofoblasto es el factor inicial o detonante de la PE (Figura 2). Las células trofoblásticas invasoras sufren una diferenciación anormal en sincitio (células gigantes), lo que les impide conservar sus habilidades de penetración. Un hallazgo relacionado a lo antes descrito es la mayor frecuencia de PE en nulíparas; esto puede explicarse con el hecho de que las arterias colonizadas previamente logran ser invadidas más fácilmente en embarazos posteriores, lo que llevaría a pensar en una tolerancia inmunológica de los anticuerpos paternos, mediada por las células natural killer (NK) (42).

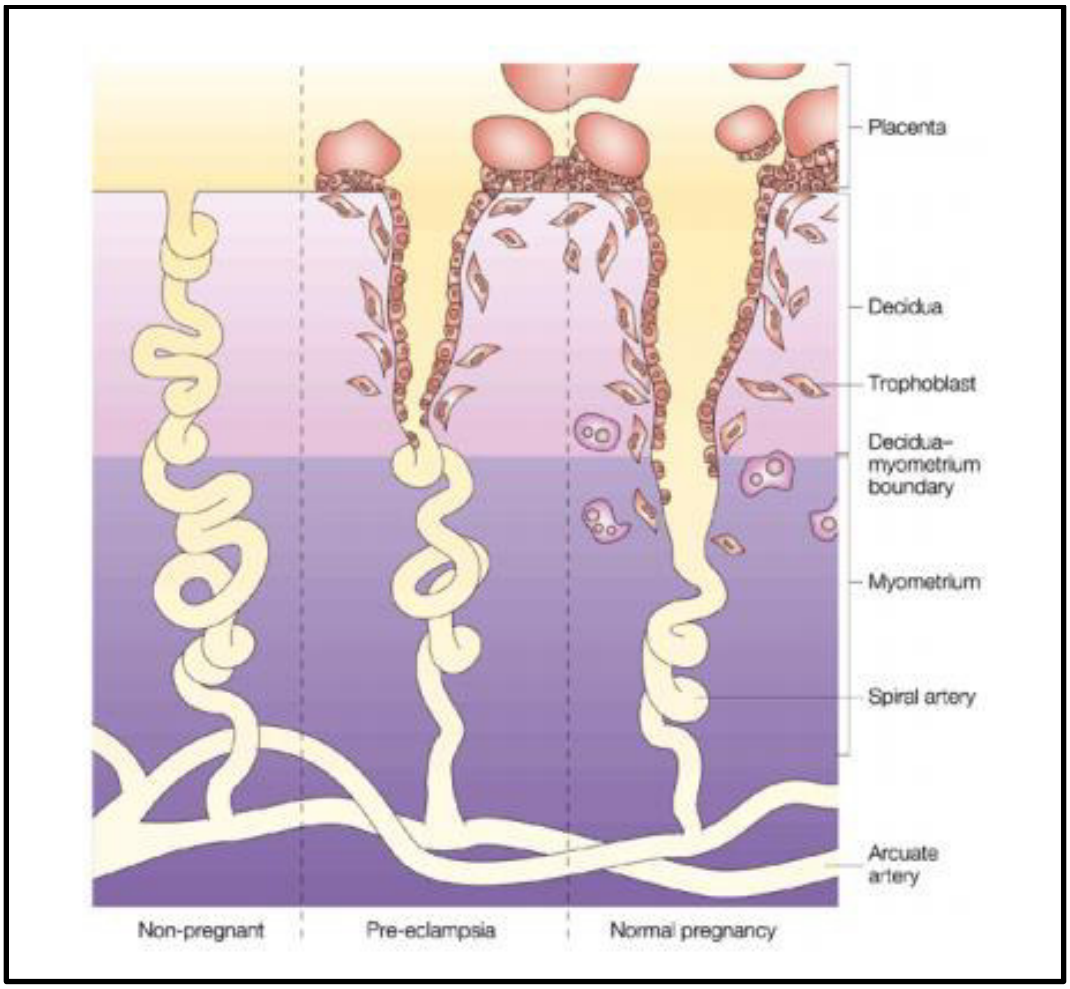


Figura 2. Esquema de la invasión trofoblastica en una mujer no embarazada (izquierda), con preeclampsia (centro) y un embarazo normal (derecha) (42).

La segunda fase de invasión trofoblástica no ocurre o es incompleta. Esto se expresa por la persistencia de vasoconstricción uterina que genera hipoxia que a su vez acentúa la producción de endotelina-1 y disminuye la de óxido nítrico, aunado al aumento de la peroxidación lipídica y de la relación tromboxano A_2/prostaciclina, se genera una retroalimentación positiva provocando mayor vasoconstricción ocasionando la RCIU (43), además de esto, se desarrolla reactividad vascular y se modifica la distribución del

flujo sanguíneo en la pelvis, dando como resultado el inicio de la hipertensión (43) (Figura 3).

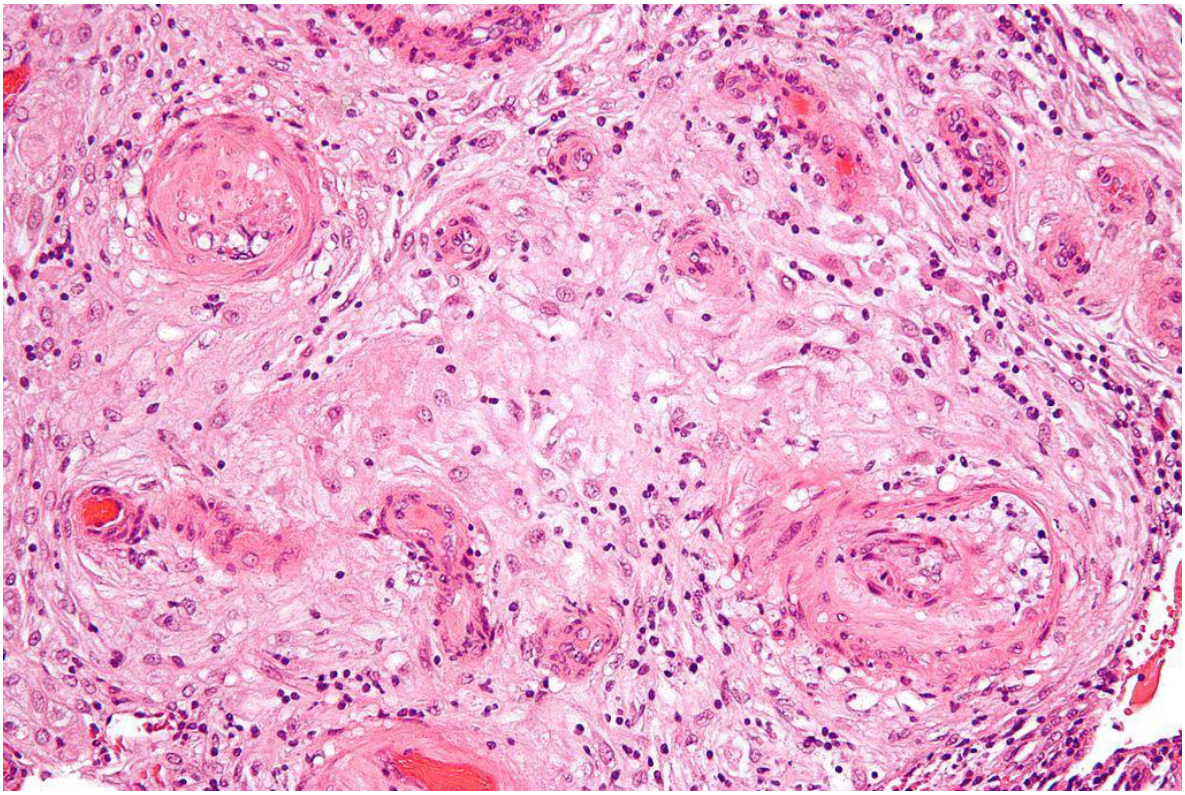


Figura 3. La microfotografía muestra una vasculopatía decidual hipertrófica, un hallazgo histológico durante la hipertensión gestacional (un componente de la preeclampsia). Tinción H&E. Aumento 10x. (43)

2.9.2 Aparición de una respuesta sistémica materna

Los efectos de la alteración en el desarrollo trofoblástico no son visibles al inicio de la PE, hasta que los requerimientos nutricionales para el desarrollo fetal comienzan a superar la capacidad placentaria y la cantidad de flujo sanguíneo resulta insuficiente, es cuando estos efectos se hacen evidentes. Llegado este momento, se produce una

hipoxia placentaria progresiva en la que se cree que la placenta reacciona liberando a la circulación una serie de sustancias responsables de la disfunción endotelial sistémica materna que caracteriza a la PE (41).

El cuadro clínico es causado por la disfunción endotelial y a otras alteraciones vasculares como la vasoconstricción, el aumento de la permeabilidad capilar y la agregación plaquetaria (41). Diversos investigadores han comenzado a preguntarse e interesarse acerca del aumento en la expresión de la tirosina quinasa 1 (sFlt-1), en los tejidos circundantes esto debido a que esta proteína puede actuar como un importante factor en la angiogénesis y la vasculogénesis. Específicamente siendo un potente factor antiangiogénico endógeno antagonista de dos factores proangiogénicos como el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y el factor de crecimiento placentario (PlGF), que se adhiere a los dominios de unión de PlGF y VEGF, variando la configuración de estas proteínas. Esta situación impide su interacción con los receptores endoteliales de superficie y por tanto induce la disfunción endotelial (41) (Figura 4).

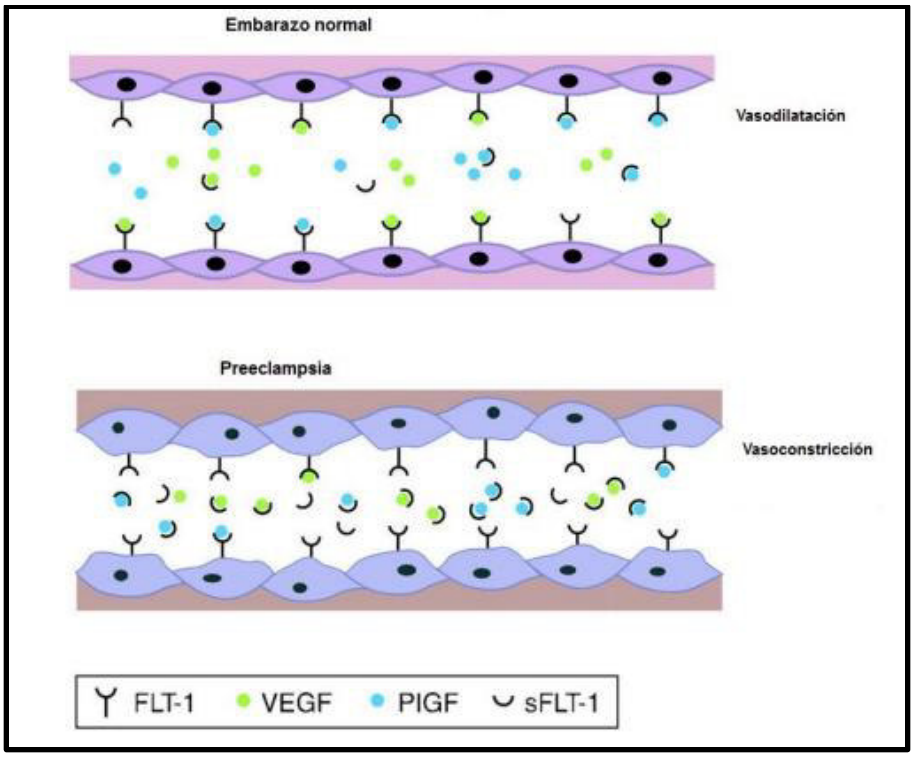


Figura 4. Esquema representativo del equilibrio normal entre los factores angiogénicos circulantes y la disfunción endotelial inducida por la PE (41).

2.10 Predicción de la aparición de Preeclampsia

La principal limitación para un cribado de la PE en la actualidad es la falta de un tratamiento efectivo disponible. Sin embargo, la correcta selección puede beneficiar de medidas profilácticas y de un seguimiento más estricto durante el embarazo a las gestantes con mayor riesgo (23).

La importancia de la predicción de PE radica en:

- La presencia de PE precoz eleva la incidencia de Síndrome de Down tres veces y media.

- La cesárea electiva por PE precoz es una de las causas principales de nacimiento prematuro, con las consecuencias que toda esta situación implica.

- Según un metaanálisis, el 89% de los casos de PE precoz se pueden prevenir iniciando tratamiento con aspirina en una fase temprana del embarazo (44).

2.11 Estudio Doppler de las resistencias en las arterias uterinas

La placentación anormal que ocurre en la preeclampsia genera modificaciones sobre la onda de velocidad de flujo (OVF) a lo largo de la gestación. En 2005, Campbell estableció la aplicabilidad clínica del estudio doppler uterino bajo la premisa antes descrita sobre la alteración de OVF en la arteria uterina, teniendo un valor predictor en determinadas complicaciones por ejemplo la preeclampsia (Campbell, 2005) (45).

En la PE, las resistencias de las arterias uterinas se encuentran elevadas como resultado de la inadecuada o nula transformación de las arterias espirales, evitando las funciones principales de este proceso como el aumento de calibre y la disminución de la resistencia. En consecuencia, el aporte sanguíneo a esta región se ve comprometido (46,47). Esto condujo a la idea de que el estudio Doppler de las arterias uterinas podría ser útil como método de cribado de la PE y la RCI.

El Índice de pulsatilidad (IP) y el valor del Notch protodiastólico de las arterias uterinas en el primer trimestre se usa como cribado de preeclampsia (46). En un metaanálisis acerca de este método de cribado para preeclampsia se establece una sensibilidad (S) del 25% con un especificidad (E) del 95% con una razón de verosimilitud positiva (RVP) de 5.4 en población de bajo riesgo con un valor predictivo negativo (VPN)

de 99% siempre y cuando exista ausencia de notch bilateral y del 90% cuando sea unilateral. En la población de alto riesgo no existen resultados concluyentes (46).

En conclusión, la ecografía Doppler de las arterias uterinas en el primer trimestre de embarazo presenta una sensibilidad baja como predictor de preeclampsia, por lo tanto, no se recomienda como cribado de forma aislada. Sin embargo, este marcador presenta mejor sensibilidad en el segundo trimestre y para aparición de preeclampsia precoz, como se muestra en la figura 5 (47).

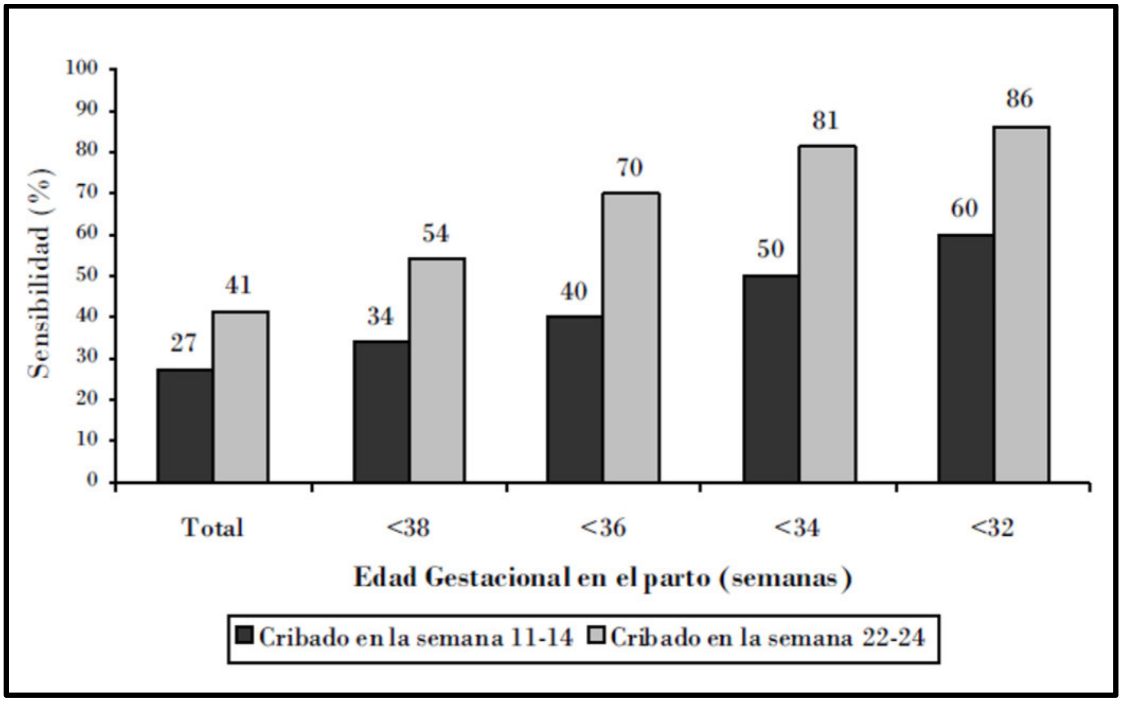


Figura 5. Sensibilidad de la ecografía Doppler de arterias uterinas (IP>p95) en primer y segundo trimestre para preeclampsia precoz y tardía. (47).

La revisión sistemática de Conde-Agudelo y cols. (2004) sobre pruebas de cribado para la PE, establece el momento óptimo de la gestación para predecir la PE mediante

el uso de Doppler en las 20-24 semanas de gestación y, califica la utilidad del estudio Doppler como “moderada” (48).

2.12 Marcadores propuestos como predictores de preeclampsia

A pesar de décadas de investigación y avances en los métodos diagnósticos no se ha logrado esclarecer qué marcador o marcadores permiten identificar a aquellas pacientes con riesgo de desarrollar PE.

Los marcadores bioquímicos que se han propuesto como posibles predictores de PE pueden clasificarse en función de su mecanismo fisiopatológico (Tabla 5).

Mecanismo Fisiopatológico	Biomarcadores bioquímicos descritos
Disfunción de la perfusión placentaria y resistencia vascular	• Renina • Proteína ligadora de la angiotensina II placentaria • Respuesta de calcio plaquetario a la Arginina-vasopresina
Función endocrinológica	• Gonadotropina coriónica humana (HCG) • Proteína plasmática A asociada al embarazo (PAPP-A) • Alfa-fetoproteína • Estriol • Activina A • Inhibina A • ADAM 12 • Proteína placentaria 13 (PP13) • Adiponectina • Resistencia a la insulina • Globulina fijadora de hormonas sexuales (SHBG
Disfunción renal	• Microalbuminuria • Ácido úrico

	• Excreción urinaria de calcio
Disfunción endotelial y estrés oxidativo	• Anticuerpos antifosfolípidos • Antitrombina III • Inhibidor del activador del plasminógeno (PAI) • Apolipoproteína E • 12 • Lípidos séricos • Endotelina • Prostaciclinas • Tromboxano • Citoquinas • Factor de crecimiento placentario (PlGF) • Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) • Forma soluble de la tirosina quinasa 1 (sFlt-1) • Endoglina soluble • Isoprostanos

Tabla 5. Marcadores bioquímicos descritos como predictores de Preeclampsia.

2.13 Prevención de la Preeclampsia

El éxito de una intervención preventiva depende de la posibilidad de identificar estadios precoces de la enfermedad por medio de pruebas predictivas fiables y aceptables (23).

Los trastornos hipertensivos son una de las complicaciones más frecuentes de la gestación, con una prevalencia del 5-10 % en función del país, región, etc. (23).

Existen tres niveles de prevención en cualquier enfermedad: prevención primaria, secundaria y terciaria. La prevención primaria consta de un conjunto de medidas posibles para que no se inicie la enfermedad, en el caso de los estados hipertensivos del embarazo se han demostrado algunos factores de riesgo como la raza, antecedentes personales o familiares, nuliparidad, gestación múltiple, etc., sin embargo, estos son poco modificables (23).

La prevención secundaria es la intervención previa a que aparezca el cuadro clínico. La preeclampsia reúne la mayoría de los criterios establecidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para que sea considerada una enfermedad adecuada para la aplicación de un programa de cribado, sin embargo, la falta de información acerca de (49) la evolución natural de la enfermedad y un tratamiento etiológico efectivo dificultan la aplicación de este tipo de prevención (49).

Gracias a la mejora en el conocimiento de los principales factores que influyen en el desarrollo de la PE las pruebas de detección han ido evolucionando. La primera parte de las pruebas que actualmente son usadas se basan en la detección de signos clínicos bien descritos de forma temprana (hipertensión, proteinuria, aumento de peso,

incremento de la reactividad vascular, etc.) (50). Ninguna de las pruebas actuales son lo suficientemente sensibles y específicas para ser aplicadas como método de cribado eficaz y eficiente (51).

Un problema muy importante y común en las pruebas actualmente disponibles, es su utilización en los diferentes cuadros clínicos que pertenecen a la misma entidad de los estados hipertensivos del embarazo con similares manifestaciones clínicas y un punto de convergencia que es la hipertensión arterial, aun y cuando presentan diferentes patogenias y etiologías (52).

Además de todo lo mencionado una vez establecido el diagnóstico con un método de cribado adecuado, precisaríamos una profilaxis eficaz para evitar su desarrollo. En la actualidad, se cuenta con dos opciones de tratamiento que han sido ampliamente evaluadas: la administración de aspirina a bajas dosis y la utilización de suplementos de calcio, hierro y ácido fólico a dosis altas. El metaanálisis Cochrane respecto al suplemento de calcio, evidencia solamente un claro beneficio sobre población de riesgo con ingesta insuficiente de calcio (53), y con respecto a la administración de aspirina a bajas dosis observa una disminución de la incidencia de preeclampsia del 15% por lo cual no es posible dar una recomendación al respecto (54).

La prevención terciaria es aquella que intenta minimizar las repercusiones una vez que el cuadro clínico ya ha sido instaurado, desgraciadamente, en la actualidad es la prevención con mayor eficacia para prevenir complicaciones en los estados hipertensivos del embarazo (55).

2.14 Proteómica

La proteómica es la rama de la genómica que estudia los proteomas (un proteoma está formado con todas las proteínas que se expresan a partir del genoma de un organismo) (56), por lo tanto, se encarga de la identificación de las proteínas, así como del estudio de su estructura primaria (secuencia de aminoácidos), modificaciones postraduccionales, localización y cuantificación. (57–59).

La principal herramienta de la investigación proteómica es la espectrometría de masas (EM) es la herramienta principal para la investigación de la proteómica, el fundamento de esta tecnología es la medición de la relación masa/carga de una molécula Los espectrómetros de masas consisten en tres componentes fundamentales: la fuente de la ionización, el analizador de masas y el detector, y es de la fusión de estos elementos que depende la exactitud, sensibilidad y nivel de confianza que se tendrá al identificar una proteína (59).

2.15 Aplicaciones de la proteómica en la Salud Publica

La integración de las ciencias genómicas como derecho fundamental para la salud es uno de los retos de la salud pública en el nuevo milenio. Para que esto se lleve a cabo de manera correcta es necesario asimilar los diversos conocimientos generados en el estudio del genoma humano, los avances tecnológicos en genómica, proteómica, metabolómica y la bioinformática (60) La identificación de las proteínas que intervienen en las diferentes etapas de una enfermedad ayudará a la comprensión de las bases moleculares y la identificación de posibles anomalías; así mismo, las diferentes proteínas identificadas pueden utilizarse como biomarcadores de diagnóstico o pronóstico (60).

La principal aplicación de la proteómica en materia de salud pública se ha dado con la identificación en etapas tempranas de biomarcadores que pueden ayudar en la predicción y/o pronóstico de una enfermedad, lo antes descrito se ha logrado con la identificación de un grupo de proteínas que se expresan o se inhiben a muy bajas concentraciones (60).

2.16 Biomarcadores

Los biomarcadores son moléculas que sirven como indicadores sensibles y específicos del estado fisiológico, permiten identificar los cambios que se producen en los diferentes procesos y que concluyen en el desarrollo de una enfermedad (61,62). En la actualidad la búsqueda de biomarcadores para el diagnóstico de preeclampsia es un reto para la investigación genética y la biología molecular.

Antecedentes

2.17 Marcadores bioquímicos para preeclampsia

El valor predictivo de los marcadores bioquímicos de PE varía entre el 10 a 80%, es por eso que las combinaciones de varios marcadores resultan beneficiosas en la detección de la PE, específicamente PE temprana, sin embargo no existe una estrategia de screening definida que permita identificar grupos de alto riesgo a desarrollar PE (63,64).

Los más estudiados se mencionan a continuación:

2.18 Proteína plasmática A asociada al embarazo (PAPP-A)

La PAPP-A es una glicoproteína de gran tamaño con un peso molecular de 200 KDa perteneciente a la superfamilia de las peptidasas dependientes del zinc. Inicialmente la PAPP-A fue aislada en el suero de mujeres embarazadas. La PAPP-A es producida por el trofoblasto placentario secretado desde el día 21 del embarazo. Cuenta con una vida media de 3-4 días y sus niveles en suero materno suelen doblarse cada 6 días (Figura 6), su concentración sigue elevándose hasta el momento del parto, es en este momento donde desciende rápidamente. (65).

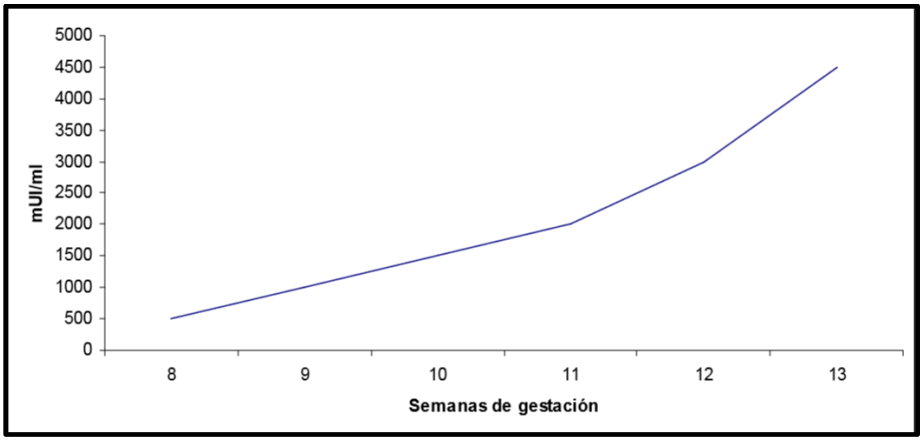


Figura 6. Variaciones en los valores del PAPP-A durante la gestación normal.

Algunos estudios han demostrado la disminución de PAPP-A en pacientes que desarrollan PE, específicamente al principio del segundo. Por el contrario, en el tercer trimestre su concentración es mayor en gestantes con PE respecto a las que no presentan esta patología (66).

El inconveniente de este marcador es su baja sensibilidad y su alta tasa de falsos positivos si se determina de forma aislada como predictor de PE. Se ha encontrado concentraciones bajas de PAPP-A también en otras patologías como RIC, placenta

previa, aborto de repetición e incluso en mujeres no embarazadas y concentraciones elevadas en personas con síndrome coronario agudo, aterosclerosis o en pacientes con enfermedad renal terminal que están siendo tratados con hemodiálisis (66).

La verdadera utilidad de este marcador es su combinación con el estudio Doppler, de esta manera la tasa de detección puede aumentar significativamente. En un estudio realizado por el grupo de Spencer y cols. (2005) obtuvieron una sensibilidad para la PAPP-A de un 14,1 % con una TFP de un 5% para la predicción de PE en el primer trimestre. Pero al combinarlo con el estudio Doppler del segundo trimestre de gestación la sensibilidad se incrementó a un 62,1% (67). Otros estudios han investigado diversas combinaciones para desarrollar un test de cribado. Es el caso del estudio de Kuc y cols. (2013) establecieron un modelo de predicción en el que incluyeron PAPP-A, Metaloproteinasa 12 (ADAM12), PlGF, tensión arterial media y características maternas. Obteniendo una detección de un 72% para PE precoz y 49% PE tardía con una TFP del 10%. En las gestantes con PE y RCI la sensibilidad se incrementó a un 92% para la PE precoz y 57% para la tardía.

Smith y cols. (2002), realizó un estudio de cohortes prospectivos multicéntrico con 8.839 pacientes, con el objetivo de evaluar la posible asociación entre el riesgo de desarrollar eventos adversos perinatales y su relación con la concentración de la PAAP-A en el primer trimestre de embarazo. Observaron que las mujeres que presentaban valores de PAAP-A por debajo del percentil 5 en la semana 8-14 de gestación, tenían un riesgo elevado de RCI, parto pretérmino, preeclampsia (OR= 2,9; IC 95%, 1,6-5,5). Este estudio concluyó que la concentración de la PAPP-A, como proteína específica del

trofoblasto que regula la función del factor de crecimiento insulínico (IGF), es altamente predictiva de complicaciones perinatales en la gestación (68).

Zwahlen y cols. (2007) compararon la alteración de marcadores placentarios contra marcadores no-placentarios en el primer trimestre en mujeres gestantes que desarrollaron preeclampsia, los resultados determinaron una clara asociación de niveles bajos de la PAAP-A con la preeclampsia, y niveles elevados de inhibina A y activina A con la misma (69).

Spencer y cols (2008), un estudio casos y controles en el que compararon los niveles de la PAPP-A en el primer trimestre, tuvieron una muestra de 47,770 gestantes sanas y 224 gestantes que desarrollaron preeclampsia, obteniendo niveles significativamente más bajos en PAPP-A en las pacientes con PE (69).

2.19 Gonadotropina coriónica humana

La HCG es una hormona glucoproteica que se produce durante el embarazo, en el sincitio de la placenta, cuenta con una actividad biológica muy parecida a la hormona luteinizante (LH) (23).

La HCG está compuesta de hidratos de carbono (30%), es un heterodímero compuesto por 2 subunidades distintas (alfa y beta), que se encuentran unidas por enlaces no covalentes. Una característica importante para recalcar es la nula actividad biológica intrínseca de las subunidades separadas (23).

Los primeros estudios realizados acerca de la HCG reportaron elevadas concentraciones en mujeres con PE [207]. Posteriormente, un estudio demostró que, las concentraciones elevadas de HCG a partir de las 15 semanas de gestación, se

asociaban con un mayor riesgo de preeclampsia (70,71) Desafortunadamente, la baja sensibilidad y el bajo valor predictivo positivo (15%) limitan a la HCG como marcador de predicción (72)

La función mejor conocida de la HCG en la gestación es el rescate y mantenimiento de del cuerpo lúteo durante las etapas iniciales del embarazo. La HCG es producida por el trofoblasto, una de sus funciones es promover la formación de progesterona por el ovario hasta que el trofoblasto pueda sintetizar cantidades suficientes de progesterona con el fin de mantener el embarazo (23).

Los estudios realizados acerca de la relación entre la β-HCG y la preeclampsia, muestran resultados no concluyentes (23). Ong y cols. (2000) demostró que los niveles de β-HCG en el suero materno disminuyen en los embarazos que desarrollarán complicaciones gestacionales, como aborto, RCI, HTG o diabetes gestacional, sin embargo los niveles de β-HCG no tenían valor predictivo para el desarrollo de preeclampsia u otras complicaciones perinatales.

Roiz-Hernández y cols. (2006) logro resultados concluyentes al estudiar el valor predictivo de la β-HCG en el segundo trimestre de embarazo en una población en pacientes con PE sin factores de riesgo de patología hipertensiva gestacional previa, los resultados mostraron a la β-HCG en el segundo trimestre como un factor predictor de la preeclampsia (73).

Sin embargo los estudios publicados por Spencer y cols (2008) y Tol y cols. (2008) no obtuvieron resultados estadísticamente significativos al correlacionar los niveles de β-HCG y la preeclampsia en el primer trimestre y en el segundo trimestre respectivamente.

2.20 Factor de crecimiento endotelial vascular, factor de crecimiento placentario y Kinasa de tirosina soluble similar al FMS soluble

La diferenciación del trofoblasto y, específicamente, la remodelación de los vasos sanguíneos durante la parte inicial del embarazo es crucial para la placentación normal y el buen funcionamiento de la interfase materno fetal. El progreso de la investigación en el campo de la preeclampsia ha traído consigo el interés sobre los péptidos relacionados con la angiogénesis y su función, ya que, resulta un proceso imprescindible para el desarrollo de nuevos vasos sanguíneos a partir del endotelio existente, así como el desarrollo normal de la placenta. Se piensa que dos de los factores angiogénicos, el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y el factor de crecimiento placentario (PIGF), resultan preponderantes en la contribución de la proliferación trofoblástica normal y la implantación (74).

Se ha propuesto que el desbalance en la concentración de estos factores resulta crucial para la aparición de la PE. Normalmente conforme el embarazo progresa, se reduce la expresión del VEGF materno (75), pero en pacientes con PE esto sucede más marcadamente, las concentraciones placentarias del ARN mensajero que codifica VEGF son mucho menores que en pacientes normales (76). En forma similar, las concentraciones plasmáticas maternas de PIGF están disminuidas en el segundo trimestre en mujeres que desarrollan preeclampsia (77).

La kinasa de tirosina soluble similar al FMS (sFLT-1) es una variante secretada de la FTL-1. Se ha descubierto que esta kinasa se une y neutraliza la acción angiogénica tanto de VEGF como de PIGF [221] y se piensa que es uno de los péptidos claves en el desarrollo de la preeclampsia. Se ha demostrado que las concentraciones maternas de

sFLT-1 están elevadas al desarrollar PE (78), y se ha logrado correlacionar la severidad de la enfermedad con sus valores (79), además de esto, se ha documentado la disminución marcada de sus valores después del parto (78). Un dato importante para recalcar es la concentración elevada de sFLT-1 en gestantes nulíparas (uno de los principales factores de riesgo asociados a la preeclampsia cuando se compara con pacientes multíparas) (80).

Staff y cols. (2005) encontraron evidencia suficiente del origen placentario de la elevación de la sFLT-1. Debido a que el "parto" incluía tanto al feto como a la placenta, investigaron si las concentraciones fetales y maternas de sFLT-1 se encontraban elevadas por igual en la PE. Sus resultados mostraron que aunque las concentraciones fetales (medidas del cordón umbilical) estaban elevadas en la preeclampsia, las concentraciones maternas eran 29 veces más altas y concluyeron que no existía un aporte significativo del feto a la elevación de las concentraciones de sFLT-1 (81).

2.21 Endoglina soluble (sEng)

La sEng disminuye la capacidad endotelial de generar capilares por su acción competitiva con el Factor de crecimiento transformante beta (TGF-β), induciendo además permeabilidad vascular y elevación de la tensión arterial, se encuentra el valores elevados en pacientes con PE, además se le ha relacionado con la severidad del cuadro clínico y el desarrollo del síndrome de HELLP (82).

Por lo antes descrito se pensaría en su uso como biomarcador sin embargo su poca especificidad limita su utilidad (82). Su mayor utilidad se ha observado cuando se le combina con la cuantificación de sFtl-1 en el segundo trimestre del embarazo. Masuyama

y cols. (2007) (83) determinó que el valor predictivo de la sEng en combinación con el sFtl-1 y el ultrasonido es de aproximadamente 78%.

2.22 Proteína Placentaria 13 (PP 13)

La PP13 es un dímero que es expresado por el sincitiotrofoblasto, diversas investigaciones han mostrado distintos valores en la predicción de preeclampsia en el primer trimestre (84).

Nicolaides y cols. (2006) determinó que la medición única de PP13 presenta un valor predictivo entre 37 a 66%, sin embargo cuando se lo combina con ultrasonido Doppler con índice de pulsatilidad la predicción aumenta hasta aproximadamente el 90% (85).

2.23 Pentraxina larga 3

Las pentraxina larga 3 pertenece a una superfamilia de proteínas responsables de la inmunidad innata. Esta proteína se produce en diferentes tejidos como el trofoblasto, fagocitos mononucleares, células endoteliales vasculares y células del músculo liso, en respuesta a mediadores inflamatorios como la IL-1 y el FNT (86). Aún los datos sobre su utilidad clínica son escasos y son requeridos mas estudios para probar su efectividad.

2.24 Visfatina, Inhibina y Activina A

La visfatina es una adipoquina presente en el tejido adiposo y se relaciona en la biosíntesis de nicotinamida adenina dinucleótido y en la homeostasis de la glucosa, es secretada durante el embarazo por la placenta, el miometrio y saco gestacional. La presencia de niveles disminuidos de visfatina se observa en el retraso del crecimiento intrauterino, preeclampsia, diabetes mellitus 2 y diabetes gestacional. (87).

En cuanto a la inhibina y la activina A, ambas son producidas en el embarazo durante el tercer trimestre por la placenta actuando la inhibina A presenta retroalimentación negativa contra las gonadotropinas, en cambio la activina A es más frecuentemente encontrada en procesos de estrés oxidativo y proliferativos endoteliales a nivel placentario. En combinanación con otros marcadores como la PAPP-A, PP13, PTX3 y ultrasonido Doppler estos biomarcadores tienen un valor predictivo entre 60 a 90% (88).

2.25 Desintegrina y Metaloproteinasa 12 (ADAM 12)

Es una proteasa dependiente de zinc que interviene en la interacción célula-matriz durante la fecundación, estudios recientes han descrito que el punto máximo de secreción es cerca de las 8 semanas (89). Sherbiny y cols. (2012) reportaron una disminución en los niveles de ADAM 12 en pacientes que desarrollaron preeclampsia moderada a severa, encontrando además que niveles bajos en el primer y segundo trimestre se relacionan a preeclampsia severa, complicaciones maternas, y resultados neonatales adversos, con un valor predictivo aproximado de 56%, el cual se incrementa hasta un 71% cuando se combina con ultrasonido Doppler.

2.26 Alfafetoproteína

Los datos sobre el uso de alfafetoproteína como predictor en PE son contradictorios: varios estudios han documentado elevación de las concentraciones en mujeres con preeclampsia (71,90), mientras que otros autores no han encontrado modificaciones (91).

2.27 Globulina fijadora de hormonas sexuales

La resistencia a la insulina ha sido relacionada en la patogénesis de la preeclampsia. La globulina fijadora de hormonas sexuales (SHBG) es una glicoproteína producida por el hígado que fija los estrógenos y la testosterona. La producción de SHBG es inhibida por la insulina. Diversos estudios han encontrado relación entre las bajas concentraciones de SHBG y la resistencia a la insulina en patologías como enfermedad cardiovascular (92) y preeclampsia (67,80,93).

Un estudio realizado en 45 nulíparas con PE, determinó las concentraciones de SHBG durante el primer trimestre, y sus resultados arrojaron concentraciones significativamente menores cuando se compararon con los controles (94). En contraste a los resultados anteriores, otro estudio con 107 embazadas entre 10-14 semanas que desarrollaron preeclampsia, no encontró diferencias significativas en los diferentes grupos (67).

2.28 Homocisteína

Durante la gestación normal las concentraciones séricas de homocisteína disminuyen. La homocisteína está involucrada en procesos como la peroxidación lipídica y el estrés oxidativo (95). Un estudio de casos y controles reportó un incremento en las concentraciones al principio del segundo trimestre en mujeres que desarrollaban preeclampsia severa y leve (96). En contraste, otros estudios no detectaron diferencias en el segundo trimestre entre pacientes afectadas con PE y controles (97–99).

2.29 Dimetilarginina asimétrica

La dimetilarginina asimétrica (ADMA) es un inhibidor endógeno de la sintetasa de óxido nítrico endotelial (NOS). Normalmente durante el embarazo los niveles de ADMA se encuentran aún más bajos que en las mujeres no embarazadas. El óxido nítrico es un potente vasodilatador endógeno con un papel regulador muy importante en el embarazo, ya que controla el flujo sanguíneo y por ende la presión arterial, inhibe la agregación plaquetaria, la adhesión de los leucocitos al endotelio vascular y la proliferación de las células del músculo liso. Se ha propuesto a la ADMA como un factor de riesgo para enfermedad vascular y disfunción endotelial. Diferentes estudios han demostrado que la ADMA está elevada en la preeclampsia (100,101) y podría no solo ser un marcador de riesgo sino una causa de la misma patología.

Se ha encontrado que los valores de ADMA durante el tercer trimestre son más altas en mujeres con PE, y se ha demostrado el incremento de las concentraciones aún ante el desarrollo de PE y de RCI (101).

2.30 Autoanticuerpos agonistas de los receptores de angiotensina 1

En 1999 Wallukat y cols. (102) Describieron por primera vez los autoanticuerpos agonistas de los receptores de angiotensina 1 (AT1-AA), estos autoanticuerpos son detectables en PE pero no son detectables en otros tipos de hipertensión durante el embarazo. Moléculas como IL-6, factor tisular y el sFLT1 parecen aumentar la presencia de estos anticuerpos (103) En diversos estudios se ha postulado que estos anticuerpos pueden ser un blanco terapéutico en la PE debido a que un péptido antagonista de los

AT1-AA disminuye la producción de sFLT-1, lo antes descrito, ha sido realizado en modelos experimentales en ratas (103).

2.31 Adiponectina

La Adiponectina es una citocina derivada del adipocito su función principal se centra en el metabolismo de la grasa y los carbohidratos, es otra proteína que se ha correlacionado con la resistencia a la insulina. Se ha demostrado que las concentraciones séricas de adiponectina se correlacionan con las concentraciones de sENG en la PE (83) y se ha propuesto que niveles disminuidos de adiponectina son un factor de riesgo para padecer PE.

D´Anna y cols. (2006) determinaron que las concentraciones de adiponectina en paacientes con PE, durante el primer trimestre se encontraban más bajas en comparación con los controles. También encontraron que las concentraciones eran significativamente diferentes entre aquellas que desarrollaban síntomas tempranos y tardíos; sugiriendo una patogénesis diferente (99,104).

Ramsay y cols. (2003) estudiaron las concentraciones séricas de adiponectina en el tercer trimestre, encontrando un aumento marcado en pacientes con PE que pacientes con una gestación normal. Concluyeron que la adiponectina forma parte de la respuesta fisiológica a la preeclampsia, tratando de mejorar la sensibilidad a la insulina aumentando significativamente su concentración sanguinea (104,105).

2.32 Leptina

La leptina es una hormona que se produce principalmente en el tejido adiposo (106), también puede producirse en la placenta y puede afectar varios procesos implicados en la angiogénesis, el crecimiento y la inmunomodulación. Se ha sugerido que la leptina puede estar involucrada en la patogénesis de la preeclampsia debido a sus altas concentraciones en el segundo trimestre del embarazo en mujeres con PE (107,108). También se ha estudiado que pacientes con la combinación de PE y un índice de masa corporal mayor de 25 kg/m2 tienen valores más elevados de leptina que los grupos control (109). Sin embargo, las concentraciones séricas en la etapa inicial no muestran diferencias significativas entre las gestantes con PE y los controles (110) resultando poco útil en el primer y segundo trimestre del embarazo.

2.33 Factor 1 de crecimiento similar a la insulina

El factor 1 de crecimiento similar a la insulina (IGF-1) es una hormona que puede estar involucrada en el crecimiento fetal tanto normal como anormal y se piensa que está involucrado en el proceso de implantación (111). Su potencia para inhibir la invasión trofoblástica se ha demostrado *in vitro* (112). Esta hormona estimula la síntesis renal y placentaria de 1,25-hidroxivitamina D. Se ha demostrado que las concentraciones de IGF-1 son más bajas en mujeres con PE que los controles (113). Una disminución cercana a tres veces las concentraciones en la semana 16 de gestación en pacientes que desarrollan preeclampsia comparado con los controles sugiere que las diferencias en las concentraciones pueden ser detectadas en etapas tempranas en el embarazo (114).

2.34 Proteína C reactiva (PCR)

La PCR es un reactante de fase aguda que se incrementa ante la presencia de un proceso inflamatorio. Es sintetizada por los hepatocitos, sus valores normales en suero son de 0,02 a 0,20 mg/dl en el adulto. En cuanto a su cuantificación el rediseño de la determinación de la PCR, con la mejora sustancial en la sensibilidad mediante el uso de nuevos ensayos de inmunoanálisis y quimioluscencia sumado a la automatización del test, han permitido obtener una prueba denominada “ultrasensible” (23)

La PCR y la preeclampsia han sido correlacionadas según estudios recientes, esto debido al papel que la PCR puede jugar en los procesos inflamatorios característicos de la PE [271].

La respuesta inflamatoria presentada en las pacientes con PE resulta exagerada con respecto a la embarazada normotensa. La elevación de la PCR en esta respuesta inflamatoria sistémica, es un tema controvertido que ha llevado a la realización de numerosos estudios de investigación [272].

Teran y cols. (2005) en un estudio de casos y controles, concluyeron que la PCR era un 66% mayor en mujeres con preeclampsia que en los controles.

Wolf y cols. (2005) en un estudio prospectivo de casos y controles demostró que las mujeres con una PCR > 4,1 mg/dl presentaban más riesgo de preeclampsia que las mujeres con una PCR < 1,1 mg/dl. Qiu y cols. (2004) en otro estudio prospectivo, confirmo este hecho.

Por lo tanto, se podría afirmar que la PCR juega un papel importante como marcador de la preeclampsia. Sin embargo actualmente, no hay datos suficientes para utilizarla como marcador precoz de PE en el primer trimestre de gestación de manera aislada (23).

2.35 Ácido úrico

El ácido úrico es sintetizado por la enzima xantina oxidasa en el hígado y es el producto final del metabolismo purínico. El ácido úrico es filtrado por el riñón, principalmente en los túbulos proximales con un 90%; luego es resecretado en un 50% en el asa ascendente (23).

El ácido úrico suele elevarse en sangre en las siguientes situaciones: dieta rica en purinas, gota, acidosis metábolica, alcoholismo, leucemia, diabetes mellitus, hipoparatiroidismo, litiasis renal, preeclampsia, exceso de ejercicio, fallo renal, lesiones graves en los tejidos, psoriasis, etc. (23).

Al inicio de la gestación, el ácido úrico disminuye alrededor de un 30%, posteriormente recupera sus valores normales conforme el embarazo continúa (115).

Múltiples estudios realizados desde los años 80 han demostrado la relación entre hiperuricemia y la preeclampsia; esto debido a la disminución de la filtración glomerular por la disfunción renal que aparece en la PE (115–117).

Algunos estudios actuales han podido observar el aumento de ácido úrico es las primeras semanas de gestación en pacientes que posteriormente desarrollaran PE, apoyando la teoría de que el ácido úrico puede ser un marcador precoz de la preeclampsia (115–117).

2.36 Calcio

Durante años se ha estudiado la asociación del calcio y la PE, algunas alteraciones han sido identificadas, entre ellas: la disminución de la concentración sérica de calcio y el estímulo de la hormona paratiroidea y del sistema renina-angiotensina-aldosterona con el consecuente incremento de calcio intracelular que conduciría a la vasoconstricción.

En un estudio con una muestra de 4.589 mujeres nulíparas, de entre 13 y 21 semanas de gestación, recibieron tratamiento con 2 gramos de calcio elemental o placebo al día hasta el final del embarazo. La conclusión del estudio fue que la administración de calcio a las dosis señaladas no reduce la incidencia de preeclampsia, hipertensión asociada con el embarazo o complicaciones maternas o perinatales (118).

En el 2006 se publicó un estudio multicéntrico con 8,325 mujeres apoyado por la OMS cuyo objetivo era determinar si el suplemento de calcio en mujeres embarazadas con baja ingesta de calcio (menos de 600 mg/día) reducía la preeclampsia y el parto pretérmino. Se administro 1,5 g de calcio o placebo diario a las participantes. La conclusión a la que se llegó fue que el suplemento con calcio no previene la incidencia de preeclampsia, pero si reduce significativamente el riesgo de complicaciones a causa de PE así como la morbilidad y mortalidad materna y neonatal (118).

Los dos estudios con mayor número de pacientes concluyen que el suplemento de calcio tanto en poblaciones de ingesta adecuada (EE. UU., 1997) como en aquellas con baja ingesta (OMS, 2006) no disminuye el riesgo de preeclampsia, aunque si las complicaciones causadas por esta misma.

2.37 Hipercolesterolemia y preeclampsia

El colesterol total, las lipoproteínas y los triglicéridos aumentan de manera moderada durante el embarazo. Estas alteraciones se deben principalmente al aumento de estrógenos y se normalizan en el postparto (23).

El incremento de colesterol LDL y la disminución del colesterol HDL se ha sugerido como factor de riesgo para presentar PE. Se ha estudiado que pacientes que desarrollan PE presentan niveles elevados de lípidos en suero desde el inicio de la gestación (119). La hiperlipidemia favorece la producción de peróxidos lípidos y altera el balance de los componentes vasoactivos, dando lugar a la alteración endotelial y a la vasoconstricción. Thadhani y cols. (1999) realizaron un estudio sobre la relación entre el índice de masa corporal, el incremento del nivel de colesterol en plasma y el desarrollo de patología hipertensiva gestacional; obteniendo como resultados una relación entre el IMC aumentado con la aparición de hipertensión gestacional y la relación de hiperlipidemia con la aparición de preeclampsia (119).

En la literatura se encuentran varias líneas de evidencia que apoyan la asociación del hipercolesterolemia con la aparición de la preeclampsia. La primera: se ha demostrado la presencia de hipercolesterolemia en el primer trimestre de embarazo en mujeres con PE. La segunda: los vasos placentarios de mujeres con hipercolesterolemia están afectados por lesiones arterioescleróticas. La tercera: los productos procedentes de la peroxidación de los lípidos van a favorecer el daño endotelial y la vasoconstricción. Por último, la hipercolesterolemia forma parte de síndrome insulínoresistente, estando la insulínoresistencia asociada a la preeclampsia (119).

2.38 Hemoglobina fetal y α1-microglobulina

La hemoglobina fetal (HbF) ha sido recientemente descrita como parte de la fisiopatología de la PE identificándose además la defensa fisiológica frente a su presencia, en este caso el radical α1-microglobulina (A1M). En el estudio de Anderson y cols. (2011), propuso que las concentraciones séricas de HbF y A1M podrían predecir preeclampsia y ser marcadores bioquímicos adecuados para screening y diagnóstico, bajo la premisa que las concentraciones elevadas de las semanas 10 a 16 dan como resultado el desarrollo de preeclampsia. El valor predictivo de estos biomarcadores para la predicción de preeclampsia es de aproximadamente 69% (120).

2.39 Apolipoproteína E

Uno de los mecanismos que se ha postulado por el cual se produce la preeclampsia es mediante un metabolismo lipídico anormal asociado al estrés oxidativo (121).

La apolipoproteína E (ApoE) es el elemento principal de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), estas proteínas modifican la respuesta inflamatoria así como la remoción del colesterol que se encuentra en la circulación y que normalmente seria recaptado por el hígado. (122). El gen de la ApoE se encuentra en el cromosoma 19 y tiene 3 alelos comunes que codifican las isoformas e2, e3 y e4 de la ApoE. Las isoformas e2 y e4 se han asociado con concentraciones anormalmente elevadas de triglicéridos y VLDL (123). Se ha postulado que las concentraciones y los polimorfismos de su gen están asociados con un incremento en el riesgo de preeclampsia. En 1998 Nagy y cols. (1998) encontraron una elevada incidencia del alelo ApoE e2 en gestantes con PE, sin embargo, Makkonen y cols. (2001) estudiaron 133 pacientes con preeclampsia y no

encontraron ningún alelo de la ApoE presente cuando se compararon pacientes preeclámpticas y controles. Los hallazgos antes descritos han sido confirmados por un estudio posterior, debido a esto, el uso de esta molécula como predicción de la preeclampsia es incierto (122).

2.40 Factor liberador de corticotropina y proteína fijadora de corticotropina

El factor liberador de corticotropina (CRF) y proteína fijadora de corticotropina (CRF-BP) son neurohormonas placentarias. El CRF tiene efectos vasodilatadores sobre la musculatura lisa vascular (124). Durante el embarazo, el CRF es secretado en forma predominante por la placenta, provocando un aumento exponencial en las concentraciones séricas maternas y fetales (125). Debido a que la placenta es incapaz de regular el CRF se ha sugerido una función como regulador del tono vascular. Comparadas con los controles, en las pacientes con y sin hipertensión, se han encontrado diferencias del CRF y de la CRF-BP (126). En un estudio prospectivo, se encontraron aumentos en las concentraciones séricas de CRF y disminución en las de CRF-BP en las pacientes que posteriormente desarrollaron preeclampsia. El valor predictivo positivo para el desarrollo de preeclampsia fue de 82 % para las concentraciones de CRF y 80 % para las concentraciones de CRF-BP (126).

2.41 Eritroblastos fetales y ADN libre de células fetales en suero materno

Fisiológicamente, se produce tránsito de células fetales a través de la placenta. El tránsito de células fetales a la madre es mayor cuando se produce un proceso anormal de placentación como en la preeclampsia (127). Se ha sugerido que el incremento del ingreso de células efectoras inmunes alogénicas o de las células precursoras en la circulación materna podría contribuir a la etiología de la enfermedad (128,129). La

hipótesis de la elevación de los fibroblastos fetales en el suero materno antes de la preeclampsia, ha sido ampliamente estudiada y corroborada (130). Diferentes estudios han documentado altas cantidades de ADN libre proveniente de células fetales en pacientes con preeclampsia establecida comparado con controles normotensas (130).

2.42 Péptido B natriurético

El péptido B natriurético (BNP) es una neurohormona cardiaca liberada desde la membrana granular en los ventrículos cardiacos en respuesta al aumento de la volemia, al aumento de la presión miocárdica y a diferentes problemas fisiopatológicos cardiacos, como es la insuficiencia cardiaca. El sistema de los péptidos natriuréticos y el de la renina-angiotensina interaccionan regulando la presión arterial (23).

Los cambios que produce la PE en el sistema cardiovascular afectan principalmente a la poscarga cardiaca esto debido a la hipertensión que se presenta. La hipertensión es consecuencia lógica del vasoespasmo arteriolar, que produce una disminución de la capacidad del sistema vascular y por tanto del volumen plasmático, en oposición al aumento fisiológico gestacional. Estos cambios van a producir una modificación de la estructura y función del ventrículo izquierdo, reflejándose en un aumento de los niveles en plasma del BNP (131).

Así Borghi y cols. (2000) concluyeron que la determinación del BNP puede ayudar a discriminar a las pacientes con preeclampsia con repercusión de la función ventricular. Itoh y cols. (1993) detectaron un aumento significativo del BNP en mujeres con preeclampsia en comparación con mujeres con gestación normal y en no gestantes. Pouta y cols. (1997) también demostraron un aumento de los péptidos natriuréticos en

mujeres con preeclampsia, con mayor elevación en gestantes con preeclampsia severa. Okuno y cols. (1999) demostraron un aumento de los niveles de BNP en comparación con los niveles de BNP de estas mismas mujeres en el periodo puerperal. Resnik y cols. (2005) en un estudio realizado con 118 mujeres embarazadas con control de niveles en plasma del BNP desde el primer trimestre del embarazo hasta el momento del parto, obtuvieron como resultados concluyentes una disminución del BNP (< 200 pg/ml) en las gestantes sanas, y un aumento en las gestantes con preeclampsia, siendo este aumento más marcado en la preeclampsia severa (132).

En conclusión, la preeclampsia puede asociarse a distintas alteraciones en la función y estructura del ventrículo izquierdo. La elevación de los péptidos natriuréticos podría señalarnos la necesidad de un control más estricto en gestantes con enfermedad cardiaca (23).

2.43 Creatinina

La creatinina es resultado de la degradación de la creatina, en otras palabras es un producto de desecho del metabolismo de los músculos, sus valores sanguíneos se mantienen en un valor constante aunque esto depende de la masa muscular de cada individuo, normalmente es filtrada por los riñones y excretada en la orina, por lo antes mencionado es la manera más simple de monitorizar la función de los riñones (23).

Durante la gestación normal, el flujo sanguíneo renal y el índice de filtración glomerular están aumentados apreciablemente. Con el desarrollo de la preeclampsia, se reduce la perfusión renal y la filtración glomerular (23).

En la mayoría de las mujeres preeclámpsicas, la filtración glomerular de leve a moderadamente disminuida parece ser el resultado del menor volumen plasmático que conduce a valores de creatinina plasmática de dos veces los esperados en el embarazo normal. Sin embargo, en algunos casos de preeclampsia grave, la afectación renal es profunda y la creatinina plasmática puede estar elevada varias veces sobre los valores normales sin embarazo o hasta 2-3 mg/dl. Es probable que esto se deba a cambios renales intrínsecos causados por vasoespasmo grande. En principio, un aumento de la creatinina sérica solamente se observa cuando hay un marcado daño de las nefronas. Por lo tanto, la detección de la creatinina sérica no sería conveniente para detectar estados tempranos de la afectación renal por preeclampsia (23).

En la literatura revisada para este marcador bioquímico, no se han encontrado muchos artículos que hagan referencia a la creatinina sérica como factor predictor de la preeclampsia. Y los que lo estudian no consiguen resultados concluyentes. Sí que aparecen más estudios haciendo referencia a la creatinina urinaria o al cociente albúmina/creatinina (133).

Côté y cols, publicaron en mayo de 2008 una revisión completa de toda la literatura al respecto desde 1980 hasta 2007, en la que concluye que tanto la creatinina como la proteinuria son marcadores insuficientes para predecir la preeclampsia (134).

2.44 Cistatina C y los nuevos biomarcadores

La cistatina C es un inhibidor de la proteasa que indica la tasa de filtración glomerular y se halla elevada en casos de preeclampsia establecida, y su presencia se relaciona a isquemia placentaria, su valor predictor se ha estudiado ampliamente en el segundo trimestre y la asociación con injuria renal previo al inicio de la preeclampsia, actualmente se ha visto su utilidad en el primer trimestre asociado a otros biomarcadores, no resultando en un test de screening inicial (135).

Los micro RNA´s (mARNs) libre y la micro ARN (miRNA) se han postulado como el futuro de los biomarcadores de la preeclampsia, ambos son expresados en la placenta en el sincitiotrofoblasto, endotelio fetal y estroma velloso, elevándose según estudios experimentales en situaciones de hipoxia hacia las 11-26 semanas alcanza una sensibilidad de 75% y una especificidad 67%, siendo el miR-210 el que mejor evidencia presenta hasta el momento como predictor en combinación con otros biomarcadores en especial los angiogénicos y antiangiogénicos (136). La presencia de alteraciones en la interleucina 8 (IL-8), metaloproteinasa de matriz 9 (MMP-9) y la quimiocina CXC son biomarcadores en estudio actual y aún no se ha demostrado su poder predictivo (137).Un nuevo marcador que hace poco tiempo ha sido estudiado es la fibronectina sérica glicosilada materna (GlyFn) determinando que las mujeres con preeclampsia presentaron niveles extremadamente alto de este marcador en el primer trimestre del embarazo con un área bajo la curva de 0.99, y presenta gran valor pronóstico pues la elevación en el primer trimestre no solo que podría determinar preeclampsia, sino también restricción del crecimiento intrauterino, desarrollo de síndrome de HELLP, con

una sensibilidad de 97%, especificidad de 93% y con un valor predictivo entre 41 a 50%, siendo un marcador prometedor en la detección de preeclampsia temprana (136)

2.45 Modelos combinados y perspectivas futuras

En la actualidad el uso de combinaciones de marcadores para la predicción de la PE a causado un gran interés por clínicos e investigadores, debido a la ya aceptada multifactorial etiología de la PE resulta beneficioso la aplicación de estas combinaciones. La principal ventaja de la utilización de varios marcadores es el incremento en la sensibilidad y especificidad de la predicción así como la identificación de diferentes factores etiológicos (23) (Tablas 6 y 7).

Marcador	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VP (%)	FP (%)	Estado
sFit-1	26 - 73	88.5 - 100	52	5	Elevado
PIGF	32 – 92.3	51 - 91	65	5	Disminuido
PIGF:sFit-1	62 – 88.5	51 – 88.5	82 – 88.5	5	Elevado
sEng	18 - 85	69 – 84.6	30	5	Elevado
PP13	79 - 100	80 - 90	37.5 - 80	5	Disminuido
Metabolitos	76.6	95 - 100	77	10	Elevado
GynFn	97	93	41-50	5	Elevado

VP: Valor Predictivo

FP: Falsos Positivos

PE: Preeclampsia

sFit-1: Kinasa de Tirosina simil FMS

PIGF: Factor de Crecimiento Placentario

sEng: Endoglobina soluble

PP13: Proteína Placentaria 13

GlyFn: Fibronectina materna sérica glicosilada.

Tabla 6. Valores predictivos de marcadores bioquímicos para preeclampsia

Este modelo de combinaciones de marcadores pretende ser como el que se establece para el screening de cromosomopatías en el primer trimestre, detectando así aquellas pacientes de riesgo sobre las que realizar un control estricto durante el embarazo y utilizar sobre ellas aquellas medidas preventivas para la aparición de enfermedad como el uso de aspirina, calcio, etc. (23)

Combinación	Valor Predictivo (%)	Falsos Positivos (%)
TAM + Doppler con IP + PAPP-A + PP13 + sEng + Inhibina A + PTX3 + PlGF	61-91	5
PAPP-A + Beta-hCG + PIGF + ADAM 12	44	5
Doppler con IP + PIGF + PAPP-A + Inhibina A	40-100	10
Doppler con IP + PP13 + PAPP-A	60-80	5

TAM: Tensión Arterial Media
IP: Índice de Pulsatilidad
PAPP-A: Proteína A Asociada al Embarazo
PP13: Proteína Placentaria 13,
ADAM 12: Desintegrina y Metaloproteinasa 12.

Tabla 7. Valores predictivos de estrategias combinadas de diferentes marcadores bioquímicos previamente estudiados en preeclampsia.

Modelos combinados de aquellos marcadores que cumplen los criterios para ser usados como método de screening (reproducible, no caro y sensible), que han demostrado una utilidad clínica como la historia materna, el IP de la arteria uterina, la PA materna media, la PAPP-A, y el PIGF (así como otros más específicos como IMC, edad, etnia, tabaco y paridad) han reflejado ser capaces de predecir la aparición de PE en un 93% de los casos precoces pero en un 36% de los tardíos y en el 18% de los casos de hipertensión arterial inducida por el embarazo (FP 5%) (23)

A pesar de años de investigación y numerosos estudios clínicos realizados, el uso de las pruebas de detección con alta precisión predictiva en pacientes con riesgo de PE no es totalmente una realidad y debe continuar investigándose. Si bien la validez de dichos métodos en poblaciones de bajo riesgo resulta controversial por los resultados contradictorios obtenidos en varios estudios, la aplicación de estos métodos puede tener un papel importante en la prevención de la enfermedad en grupos de alto riesgo, convirtiéndolos en un factor importante para la predicción de PE. En la actualidad, la búsqueda de pruebas adicionales se mantiene. La preeclampsia continúa produciendo una significante morbimortalidad materna y perinatal. Su incidencia va en aumento y se debe aprender aun más de su patogénesis. Las alteraciones de la invasión por el sinciciotrofoblasto pueden explicar el aumento temprano de algunos marcadores inflamatorios. Las proteínas y hormonas placentarias y su papel en la etiología y patogénesis de la preeclampsia aún deben ser estudiados, pero pueden servir como marcadores tempranos. Los factores angiogénicos y los antagonistas circulantes prometen suministrar información sobre un síndrome poco comprendido. Todos estos biomarcadores son potencialmente útiles y blancos de terapéuticas es por eso por lo que su estudio debe seguir fomentándose, ya que aun en nuestros días la PE sigue basándose principalmente en parámetros clínicos para su diagnóstico y sin un método totalmente eficaz para su prevención. (135)

CAPÍTULO 3
Hipótesis

3.1 Hipótesis de trabajo

3.2 Hipótesis nula

CAPÍTULO 3

HIPÓTESIS

3.1 Hipótesis de trabajo:

Existen diferencias significativas en el proteoma de pacientes en fases tempranas del embarazo que desarrollaron preeclampsia en comparación con mujeres en etapas tempranas del embarazo que no desarrollaron preeclamsia los cuales podrían ser identificados como posibles biomarcadores para el desarrollo de esta patología.

3.2 Hipótesis nula:

No existen diferencias significativas en el proteoma de pacientes en fases tempranas del embarazo que desarrollaron preeclampsia en comparación con mujeres en etapas tempranas del embarazo que no desarrollaron preeclamsia los cuales podrían ser identificados como posibles biomarcadores para el desarrollo de esta patología.

CAPÍTULO 4
Objetivos

4.1 Objetivo General

4.2 Objetivos Específicos

CAPÍTULO 4

OBJETIVOS

4.1 Objetivo General:

1. Determinar mediante técnicas de análisis proteómico posibles biomarcadores para el desarrollo de preeclampsia en etapas tempranas del embarazo.

4.2 Objetivos Específicos:

1. Reclutar a un grupo de pacientes embarazadas entre las 10 y 12 semanas de gestación las cuales cumplan los criterios de inclusión del estudio.
2. Reclutar a un grupo de pacientes como controles positivos y negativos para su inclusión en los grupos de estudio.
3. Realizar la historia clínica y el cuestionario de ingreso a la totalidad de las pacientes involucradas en el estudio.
4. Caracterizar los perfiles proteómicos de los cuatro grupos de pacientes involucrados en el estudio mediante técnicas de proteómica.
5. Comparar cualitativa y semicuantitativamente mediante pruebas estadísticas y análisis de regresión los perfiles proteómicos de los cuatro grupos involucrados en el estudio.
6. Sugerir posibles biomarcadores para la predicción de preeclampsia en etapas tempranas del embarazo mediante el análisis de los resultados del presente estudio.

CAPÍTULO 5
Materiales y Métodos

5.1 Tipo de estudio

5.2 Diseño del estudio

5.3 Consideraciones éticas

5.4 Fases del Estudio

5.5 Características y criterios de la población

- 5.5.1 Criterios de Inclusión
- 5.5.2 Criterios de Exclusión
- 5.5.3 Criterios de Eliminación

5.6 Tamaño de la población y fundamento del cálculo

5.7 Lugar de referencia

5.8 Método de reclutamiento

5.9 Entrevista y cuestionarios iniciales

5.10 Toma, recolección y transportación de la muestra

5.11 Seguimiento de las pacientes

5.12 Descripción del diseño del estudio

- 5.12.1 Medición de la concentración de proteínas
- 5.12.2 Inmunodepleción de proteínas abundantes en el suero
- 5.12.3 Desalado de las muestras
- 5.12.4 Digestión con tripsina
- 5.12.5 Separación cromatográfica
- 5.12.6 Detección de proteínas

5.8 Recursos materiales

5.9 Análisis estadístico

CAPÍTULO 5

MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Tipo de Estudio

El presente trabajo corresponde a un estudio de tipo Casos y Controles.

5.2 Diseño del Estudio

Observacional, transversal, prospectivo, analítico y comparativo.

5.3 Consideraciones Éticas

El presente trabajo aprobado por el Comité de Ética y el Comité de Investigación de la Subdirección de Investigación de la Facultad de Medicina de la U.A.N.L. con el número de registro GN14-002. No existen ganancias financieras o comerciales por la realización del presente estudio por lo que el autor declara no tener ningún tipo de conflicto de interés.

5.4 Fases del Estudio y Estrategia general

El presente trabajo se dividió en tres fases para su realización:

1. Reclutamiento de pacientes y los controles positivos y negativos.
2. Análisis proteómico de la totalidad de los sujetos de estudio
3. Evaluación, análisis y comparación de resultados entre grupos.

En la Figura 7 se muestra la estrategia general del presente estudio:

Figura 7. Estrategia general del estudio.

5.5 Características y criterios de la población

Pacientes primigestas que cursen de 10 a 12 semanas de embarazo y que acudieron a la consulta de control prenatal del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la Universidad Autonoma de Nuevo León.

A.- Criterios de inclusión:

1. Pacientes nulíparas
2. Entre 10.0 y 11.6 semanas de embarazo fechado por amenorrea y confirmado por ultrasonido
3. Índice de masa corporal entre 20 y 29 k/m^2
4. Edad menor a 34 años de edad.

B.- Criterios de exclusión:

1. Diagnóstico de hipertensión, cardiopatías y diabetes previo al embarazo.
2. Patologías que alteren la presión arterial.
3. Embarazo múltiple.
4. Antecedente de mola hidatidiforme.
5. Diabetes.

C.- Criterios de eliminación:

1. Individuos que retiren su consentimiento para participar en el estudio.
2. Muestra sanguínea insuficiente.
3. Paciente cuya muestra sanguínea no sea procesada adecuadamente.
4. Pacientes que no cumplan con los criterios diagnósticos de preeclampsia.
5. Pacientes que no hayan contestado el cuestionario de datos demográficos.
6. Pacientes cuyos embarazos no lleguen al tercer trimestre.

Los controles positivos fueron obtenidos de pacientes de la sala de Tococirugía del Hospital Universitario de la U.A.N.L. siguiendo los criterios del ACOG para el diagnóstico de preeclampsia, el proceso de las muestras fue el mismo que para la de los casos.

5.6 Tamaño de la población y fundamento del cálculo

Utilizando una fórmula para prueba de hipótesis y diferencia de dos proporciones (figura 8), con un valor zα de 1.96 con nivel de significancia del 95% para dos colas, y un valor zβ de 1.28 con una potencia de 90%, se obtuvo una muestra de 9 participantes por grupo.Si tomamos en cuenta la incidencia de la enfermedad esperamos encontrar un mínimo de 5 pacientes y un máximo de 21 pacientes que desarrollen preeclampsia, de acuerdo al cálculo estadístico se requiere de al menos 5 casos, para tener una diferencia estadísticamente significativa, utilizando una fórmula para prueba de hipótesis y diferencia de dos proporciones. Durante el estudio se lograron reclutar 8 casos y se seleccionaron 8 pacientes control lo cual se hizo aleatoriamente.

$$n = \frac{(p_1 q_1 + p_2 q_2)(K)}{(p_1 - p_2)^2}$$

Figura 8. Fórmula utilizada para el cálculo del tamaño de la muestra del presente estudio.

5.7 Lugares de referencia

Este trabajo se realizó en los Departamentos de Genética, Ginecología y Obstetricia (Consulta Externa No. 4 del Hospital Universitario) y Anatomía Humana de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González" de la Universidad Autónoma de Nuevo León (U.A.N.L.).

5.8 Método de reclutamiento

Se solicitó al personal de enfermería y administrativo de la Consulta de Obstetricia del Hospital Universitario de la U.A.N.L. que toda paciente que acudiera para solicitar consulta para control prenatal y que contara con una prueba de embarazo positivo y/o un ultrasonido confirmatorio del embarazo se notificara al Investigador Principal (Dr. Guillermo Jacobo Baca) para su probable inclusión en el estudio.

5.9 Entrevista y cuestionarios iniciales

A toda paciente que cumpliera con los criterios de inclusión previamente mencionados se le invito a participar en el estudio, explicándosele a detalle los por

menores del mismo. Las pacientes que aceptaban participar en el estudio se les pidieron firmar un formato de consentimiento informado (ANEXO 1) elaborado por el Investigador Principal. Posterior a su inclusión en el estudio se le aplico a las pacientes un formato de entrevista (ANEXO 2) en que se incluían datos demográficos e historial clínico, esto con la finalidad de cumplir con los criterios del estudio, del mismo modo se realizaron mediciones antropométricas a las pacientes participantes (peso, talla e IMC).

5.10 Toma, recolección y transportación de la muestra

Se utilizó un procedimiento previamente descrito y estandarizado en el Departamento de Genética Clínica de la Facultad de Medicina de la U.A.N.L. para la obtención y almacenamiento de la muestra, contribuyendo así a la reproducibilidad de la toma de las muestras.

La separación inmediata del suero de los elementos celulares provee estabilidad del analito. El tiempo entre la punción venosa y el congelamiento, proceso/almacén de contenedores, tiempo de coagulación/remoción del coágulo de fibrina con plaquetas asociadas y otros elementos celulares, la velocidad de centrifugación y la temperatura de almacenamiento son variables críticas para el suero; las cuales fueron tomadas en consideración en el presente estudio.

Se tomaron 2 muestras de 6 cc de sangre periférica. Una en un tubo de tapón verde el cual contiene heparina, la cual se almaceno para futuros ensayos que continúen la línea de investigación en preeclampsia de acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio. Una segunda muestra se recolecto para la extracción de

suero y análisis proteico, en un tubo sin anticoagulante (tapón rojo), al cual se le ha añadido previamente un inhibidor de proteasas, esto se realizó a 180 mujeres que acudieron a la consulta de control prenatal del Hospital Universitario cursando entre 10.0 y 11.6 semanas de gestación. Las muestras de sangre se transportaron a temperatura ambiente al laboratorio de Proteómica del Departamento de Genética del Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González" de la U.A.N.L. En el laboratorio y durante la primera hora posterior a la toma, las muestras se centrifugaron a 2500 rpm a 25ºC durante 15 minutos. Inmediatamente después del centrifugado se extrajo el suero, y se colocaron en tubos Eppendorf cónicos de 2 ml y se congelaron en forma gradual a -80ºC, almacenándolos a esta temperatura hasta su análisis.

Equipo:

- Centrífuga Beckman Coulter Allegra™ refrigerada.
- Jeringas de 10 ml.
- Tubos de ensayo desechables, al vacío y sin aditivo.
- Pipeta Pasteur de vidrio de 9''.
- Microtubos Eppendorf cónicos de 2 ml.

5.11 Seguimiento de las pacientes

Posterior a la toma y conservación de las muestras, las pacientes llevaron a cabo su control prenatal de rutina, para posteriormente utilizar las muestras de aquellas pacientes que desarrollaron preeclampsia y de las que se seleccionaron como

controles positivos y negativos. Se les proporciono a las pacientes el número telefónico del investigador principal para reportar cualquier efecto adverso o anomalía en su control prenatal. El seguimiento de las pacientes se realizó también por vía telefónica y mediante la revisión de su expediente clínico individual.

5.12 Descripción del diseño del estudio

5.12.1 Medición de la concentración de proteínas

Se determinó la concentración de proteínas de las muestras seleccionadas usando la espectrofotómetría del NanoDrop® ND-1000, de espectro completo (220-250nm) utilizando 2µl de muestra. La medición se llevó a cabo usando la aplicación de análisis de proteínas a 280, Este equipo muestra el espectro UV, mide la absorbancia de la proteína a 280nm (A280) y calcula la concentración (mg/ml).

El espectrofotómetro NanoDrop® ND-1000 mide con precisión muestras de proteínas por arriba de 100mg/ml sin dilución. Para hacer esto el instrumento detecta automáticamente la alta concentración y utiliza la longitud de recorrido de 0.2mm para calcular la absorbancia.

5.12.2 Inmunodepleción de proteínas abundantes en el suero

Se eliminaron dos de las proteínas abundantes del suero, utilizando el Kit manual de remoción de albúmina e inmunoglobulina G de QIAGEN®, basado en columnas de resina de anticuerpos monoclonales que unen albúmina e inmunoglobulina G con alta afinidad y especificidad. La fracción del flujo obtenida a través de la columna que contiene la muestra depletada, se mezcló con el líquido de lavado de la resina, para asegurar que todas las proteínas no asociadas a albúmina se recuperen. Posterior a este proceso de eliminación de proteínas abundantes del suero, las muestras se sometieron nuevamente a medición de la concentración de proteínas utilizando el NanoDrop® ND-1000, donde se eliminó el 80% de albúmina y 80 % de la IgG. Se siguió la siguiente metodología:

Se combinaron 25 uL de suero + 75 uL de PBS (determinar proteínas totales a 280 nm en el nanoDrop), posteriormente se agito en bortex para mezclarlo por 1 minuto, se dreno la resina (cortando el tapón inferior), se acondiciono con PBS y se dejó drenar por gravedad. A continuación, se cargó la muestra y se incubo por 10 minutos a temperatura ambiente (tapándolo para que no se drene). Se deja drenar por gravedad y se colecto en un tubo de 1mL, lavando con 100 uL de PBS y colectando en el segundo lavado con un spin para drenar completamente. Se colectaron tres porciones en el mismo tubo y se determinaron las proteínas totales.

5.12.3 Desalado de las muestras

Dado que en la columna de eliminación de albúmina e inmunolobulina G se utilizó buffer fosfatado salino (PBS, Phosphate buffered saline), fue necesario quitar el exceso de sales de las muestras, para continuar con su análisis.

Para el proceso de desalado utilizamos filtros de centrifugado Microcon®, Millipore, estas unidades desechables incorporan una membrana de celulosa regenerada YM de baja unión con 3000 Daltons de límite de peso molecular nominal (Capacidad de retener moléculas por encima de un peso molecular especificado). Se trata de membranas de celulosa regenerada, ultracelular de baja unión, anisotrópica e hidrofílica.

5.12.4 Digestión con tripsina

Previo a la introducción de las muestras al equipo de espectrometría, se realizó una fracción de las proteínas del suero, para lo cual las muestras fueron sometidas a una digestión en solución con tripsina, bajo el siguiente protocolo:

Reducción con 200mM ditiotreitol (DTT) a 66ºC, alcalinizado en 500mM iodoacetamida a temperatura ambiente en la obscuridad, se neutralizó el exceso de iodoacetamida con 20 µL de DDT. Las muestras fueron adicionadas con tripsina a una relación de 1:20 (concentración tripsina: proteína) y digeridas durante 16 horas a 37ºC. Se siguió la siguiente metodología:

Se tomaron 100uLde la muestra ajustada a 1.0 mg/mL, esto equivale a 100uG de proteína, para la reducción se agregaron 5 uL de DTT (anotando la concentración), posteriormente se dejó incubar por 45 minutos a 65 grados centígrados. Para la derivatización se agregaron 20uL de yodoacetamida (anotando la concentración) y se incubo por 45 minutos a temperatura ambiente en oscuridad. Se detuvo la reacción agregando 20uL de DTT y se dejó incubar 45 minutos a temperatura ambiente, agregando 5 uL de Tripsina grado secuencia (promega) a una concentración de 1.0 uG/uL (se utilizó usar una relación 1:20 a 1:50 tripsina/proteína) y se dejó incubar a 37ªC durante 16 horas. Parar la reacción se agregaron 10 uL de TFA y se centrifugo por 10 minutos a 10,000 rpm a temperatura ambiente. Por último, se agregaron 10uL del estándar MassPrep MIX 1 en cual fue diluido del vial original con 1.0 mL de formiato de amonio 200mM. Se colocó el contenido total en un vial de recuperación total con tapa pre-cortada

5.12.5 Separación cromatográfica

Todas las muestras fueron sometidas a la separación cromatográfica bidimensional previo al análisis en el espectrómetro de masas usando un sistema nanoUPCL, modelo nanoAccquity, Waters, corp., para lo cual se inyectaron 5µL en una columna de intercambio ionico SCX, 5 micras, 2.1 x 300micras, de la cual se hicieron las elusiones con 5 concentraciones distintas de NaCl, cada fracción fue capturada en una precolumna RP-C18 de donde fue lavada para eliminar el NaCl y transferida a una columna C-18, 1.7 micras, 75 micras x 150 mm, la separación se

realizó aplicando un gradiente lineal con agua 0.1% de ácido fórmico/acetonitrilo 97:3 a 20:80 en 50 minutos con flujo de 10µL/min con un tiempo de estabilización de 10 minutos.

El sistema usado es un equipo nanoAcquity con el siguiente esquema de conexiones para la realización de separaciones 2D con la modalidad On line, bajo este esquema se realizó una estrategia de fraccionamiento de 5 fracciones una fracción de lavado, cabe mencionar que se inyectó un blanco de acetonitrilo 100% después de cada muestra para evitar efectos de arrastre entre muestra y muestra (Figura 9).

La columna señalada como columna de carga es la responsable de recibir directamente la muestra, de la cual se inyectaron 1.0 uL considerando tener 1.0 microgramo de proteína en carga aproximadamente, en esta se aplican 6 gradientes con diferentes concentraciones de acetonitrilo como fase B y usando formiato de amonio 20mM como fase A, esta separación es de contenido básico (Tabla 8).

La columna de carga, es una columna X-Bridge C-18, 5 micras, 300 micras x 5cms. La columna de trampa es una columna Symmetry C-18, 5 micras, 150 micras x 2 cms y la columna analítica es una columna BEH, 1.7 micras, 75micras x 25 cms, se usó como fase B acetonitrilo con 0.1% de ácido fórmico, la columna fue acondicionada a 40ªC, esta fue conectada a la interface nanoelectro Spray de la cual se muestra el esquema (Tabla 9).

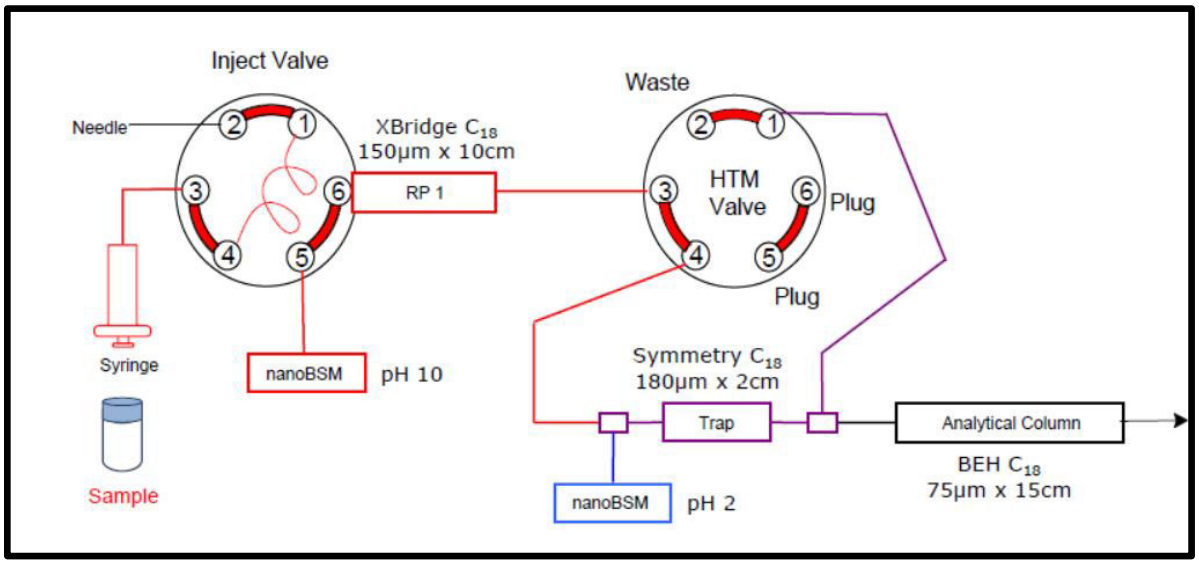


Figura 9. Diagrama de conexiones del sistema nanoAcquity para las separaciones

Fracción	% de Acetonitrilo
1	11.1
2	14.5
3	17.4
4	20.8
5	45
6	65

Tabla 8. Composición de las fracciones realizadas en cada muestra.

Tiempo (minutos)	Flujo(uL/min)	Agua/ 0.1% AF	Acetonitrilo	Curva de gradiente
Inicial	0.300	99.0	1.0	Inicial
5.00	0.300	90.0	10.0	6
45.00	0.300	50.0	50.0	6
50.00	0.300	50.0	50.0	6
65.00	0.300	40.0	60.0	6
75.00	0.300	95.0	5.0	6

Tabla 9. Composición de la separación analítica.

5.12.6 Detección de proteínas

El flujo de la columna fue dirigido hacia el espectrómetro de masas modelo QTOF premier XE equipado con una interface nanelectrospray (Figura 10), operando con las siguientes condiciones (Tabla 10).

Condiciones de operación de la separación cromatográfica	
PARÁMETRO	**VALOR**
Voltaje del capilar (V)	3200
Cono de extracción (V)	40
Cono de muestra (V)	5

Temperatura de sonda	100ºC
Temperatura de desolvatación	250ºC
Flujo de nitrógeno	750 L/h
Resolución óptica V	~10,000
Rango de calibración	120-1856
Lock mass (Glufip m/z 2)	785.8416
Modo de adquisición de datos	MS^e
Rango MS (m/z)	100-2000
Rango MS/MS (m/z)	50-1700

Tabla 10. Condiciones de operación de la separación cromatográfica

EL sistema fue controlado por medio del software MassLynx 4.1, Waters Corp., y también la adquisición de la información, la cual fue exportada para ser procesada por el software ProteinLynx Global Server 3.0, usando MASCOT y la base de datos Uniprot-Swissprot en formato FASTA para el proteoma humano. Las condiciones del procesamiento fueron las siguientes (Tabla 11).

PARÁMETRO	VALOR O MODALIDAD
Resolución	Automática
Ancho de pico cromatográfico	0.5
Tolerancia para precursores	Automática
Tolerancia para fragmentos	Automática
Modificaciones variables	Carbamidometil
Modificaciones fijas	Oxidación de metionina
Lockspray	785.8
Ruido	1000 cps

Tabla 11. Parámetros y condiciones para el calibrado del instrumento.

Las proteínas reportadas fueron tomadas como positivamente identificadas con un intervalo de confianza del 95%, con más de 3 péptidos por proteína y cada péptido con más de 7 aminoácidos. La información final de cada fracción de cada muestra será integrada en un solo reporte por medio del proceso denominado merge.

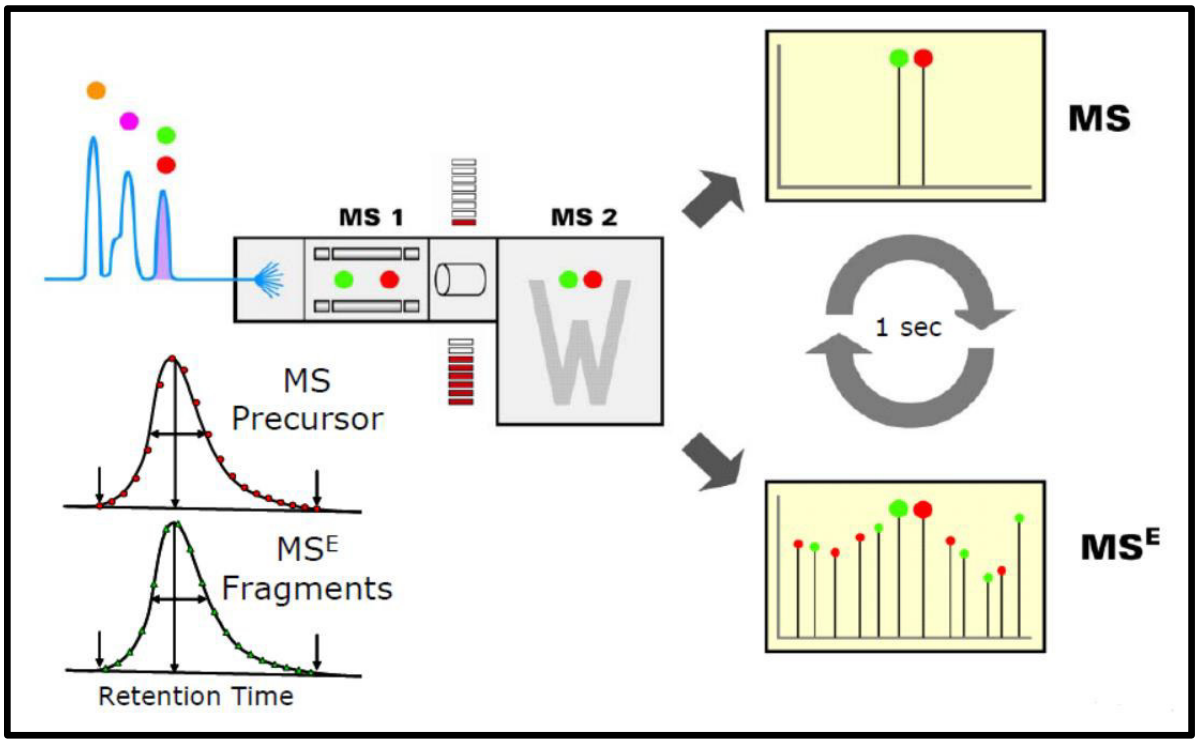


Figura 10. Diagrama del sistema de espectrometría de masas q-TOF premier XE.

Todas las fracciones de cada muestra fue exportada en formato RAW para ser procesadas con el software ProteinLinx Global Server ver 3.0 usando la base de datos Uniprot y el algoritmo MASCOT.

5.8 Recursos materiales

- Espectrofotómetro NanoDrop® ND-1000.
- Centrífuga Beckman Coulter Allegra™ refrigerada.

- Centrífuga Eppendorf® 5415C.
- Termociclador compacto Eppendorf®.
- Espectrómetro de masas modelo nanoAccquity, Waters, corp.
- Espectrómetro de masas modelo QTOF premier XE equipado con una interfase nanelectrospray.
- Software MassLynx 4.1, Waters Corp.
- Software ProteinLynx Global Server 3.0.
- Base de datos MASCOT y Uniprot-Swissprot en formato FASTA para el proteoma humano.
- Jeringas de 10 ml.
- Tubos de ensayo desechables, al vacío y sin aditivo.
- Pipeta Pasteur de vidrio de 9''.
- Microtubos Eppendorf cónicos de 2 ml
- NanoDrop® ND-1000.
- Micropipeta de 0.5-10 µL.
- Agua libre de proteasas.
- Puntas de 10 µL.
- Toallas absorbentes Kimwipes.
- Columnas de eliminación Albúmina / IgG, QIAGEN®.

- Filtro de centrifugado Microcon® Millipore ultracelular YM-3.

5.9 Análisis estadístico

Se utilizara el programa computacional SPSS Versión 21.0 para Windows XP (Chicago, IL, USA). La estadística descriptiva consistió en obtener las frecuencias porcentuales y relativas de cada parámetro estudiado, del mismo modo para los casos de datos cuantitativos se obtuvo la media y desviación estándar. La estadística inferencial consistió en utilizar una prueba de ANOVA así como pruebas de t student de dos colas para variables independientes para los datos de tipo cuantitativo y en el caso de las variables categóricas (no paramétricas) se utilizó la prueba de chi-cuadrada para comparar los resultados entre los grupos. Se realizó un análisis univarianza y multivarianza entre las diferentes variables del estudio y el desarrollo de preeclampsia para determinar la significancia individual y colectiva de cada una de ellas. Se consideró como significativo un valor de p inferior a 0.05. Los resultados del presente estudio se representaran en gráficas y tablas.

CAPÍTULO 6
Resultados

6.1. Características maternas y fetales.

6.2. Selección de proteínas

6.3. Análisis bioinformático

CAPÍTULO 6

RESULTADOS

6.1. Características maternas y fetales.

Ocho de un total de 136 pacientes (5,88%) cumplieron los criterios de preeclampsia. Se seleccionaron al azar ocho individuos de los que cursaron un embarazo normal y se consideraron como grupo de control.

La tabla 12 muestra las variables cuantitativas y cualitativas comparadas entre grupos. El IMC materno y la longitud del recién nacido fueron significativamente diferentes. Las madres con PE tenían un peso más alto en comparación con las madres control (p = 0.01) y los recién nacidos (p = 0.02) de las madres con PE mostraron una altura significativamente menor.

	Control (n = 8)	**PE (n = 8)**	**Prueba Estadística p**
Cuantitativo			Prueba Bilateral t
Materna			
Edad (Años)	23 +/- 6.71	26.37 +/- 9.31	0.420
Peso (kg)	**57.62 +/- 12.65**	**79.58 +/- 19.05**	**0.017***
IMC	**23.12 +/- 4.93**	**30.25 +/- 7.98**	**0.038***
Edad gestacional al momento de la toma (Semanas)	10.6 +/- 0.3	10.6 +/- 0.5	0.858
Edad gestacional al nacimiento	38.2 +/- 2.4	35.4 +/- 5.5	0.239
Recién nacido			
Peso al nacer (gr)	3187 +/- 390.08	2333.12 +/- 1366.95	0.119
Talla al nacimiento (cm)	**52.12 +/- 2.69**	**43.5 +/- 9.59**	**0.028***

Cualitativo			Prueba bilateral exacta de Fisher
Genero del recién nacido			
Hombre	2 (25%)	2 (25%)	1.000
Mujer	6 (75%)	6 (75%)	
Vía de nacimiento			
Parto Vaginal	3 (37.5)	3 (37.5)	1.000
Cesárea	5 (62.5%)	5 (62.5%)	
Hábito de fumar positivo	1 (12.5%)	2 (25%)	0.250

Tabla 12. Comparación de características clínicas y antropométricas entre madres y sus recién nacidos.

El valor de p se calculó mediante la prueba U de Mann-Whitney.

**: diferencia estadísticamente significativa*

6.2. Selección de proteínas

Se obtuvo una tabla de expresión diferencial EMRT con 14.024 entradas utilizando el software ProteinLynx, cada entrada correspondiente a una proteína. Todas las entradas se filtraron según su probabilidad de identidad dada por el software. Posteriormente, se seleccionaron 5223 entradas con una probabilidad de identidad superior al 90%. Usando ProteinLynx Global Server Protein Expression, se eligieron las entradas presentes en 3 o más individuos de cualquiera de los grupos, lo que resultó en una lista final de 12 proteínas que se consideraron para un análisis comparativo adicional. La Tabla 13 muestra las proteínas seleccionadas. Los cromatogramas representativos de ambos grupos se muestran en la Figura 11.

Nombre de la Proteína	Símbolo del Gen	Locus	Identificación de UniProt	Proceso Biológico	Fenotipo	Razón PE:Control
Proteina PRRC2C	*PRRC2C*	1q24.3	Q9Y520	Unión de proteína C-terminal, RNA de Unión.	Alopecia androgénica; deterioro cognitivo; cáncer de vejiga.	217.02
Proteina Contenedora de Calor Repetido 5A	*HEATR5A*	14q12	Q86XA9	Regulación de la vía Wnt / beta-catenina, transporte nucleocitoplasmático, organización y segregación cromosómica, endocitosis, transporte del endosoma a Golgi	No se informaron trastornos	179.47
ATP sintasa subunidad 6	*MT-ATP6*	Mitocondrial	P00846	Fosforilación oxidativa	Neuropatía, ataxia y retinitis pigmentosa; Síndrome de Leigh; morfología vascular anormal	162.39
Proteina PRRC2B	*PRRC2B*	9q34.13	Q5JSZ5	Unión de RNA	Potenciador del factor estimulante de colonias de macrófagos	83.10
Proteína de motivo de unión de ARN 25	*RBM25*	14q24.2	P49756	Empalme de ARNm	Early-onset familial Alzheimer disease	5.37
Proteína del complejo de poros nucleares Nup205	*NUP205*	7q33	Q92621	Subunidad del complejo de poros nucleares que desempeña un papel en el transporte activo entre el núcleo y el citosol	Steroid-resistant nephrotic syndrome, focal Paget's disease of bone	3.39
HLA class I antígeno de histocompatibilidad, A-3 alpha chain	*HLA-A*	6p22.1	P04439	Presentación de antígenos extraños	Se han relacionado varios polimorfismos HLA con la PE	2.27
Proteína que contiene el dominio CCCH de dedo de zinc 13	*ZC3H13*	13q14.13	Q5T200	Componente asociado del complejo WMM, un complejo que media la metilación de N6-metiladenosina (m6A) de ARN, una modificación que desempeña un papel en la eficiencia del empalme de ARNm y el procesamiento de ARN; requerido para unir WTAP con el componente de	Tumor de Wilms	2.16

				unión de ARN RBM15		
Empalme de ácido glutámico regulador y proteína rica en lisina 1	*SREK1*	5q12.3	Q8WXA9	Empalme de ARNm	No se informaron trastornos	1.67
Serina / treonina-proteína quinasa repetida rica en leucina 1	*LRRK1*	15q26.3	Q38SD2	Actividad quinasa	Enfermedad de Parkinson, displasia metafisaria osteosclerótica	1.04
Importina-4	*IPO4*	14q12	Q8TEX9	Transporte nuclear	No se informaron trastornos	0.55
Citochrome b	*CYTB*	Mitocondrial	F5BAA0	Fosforilación oxidativa	Morfología vascular anormal, como se ve en la neuropatía óptica hereditaria de Leber; encefalomiopatía mitocondrial; cáncer colorrectal familiar	0.26

Table 13. Las 12 proteínas seleccionadas, sus vías asociadas, fenotipo y varias enfermedades documentadas.

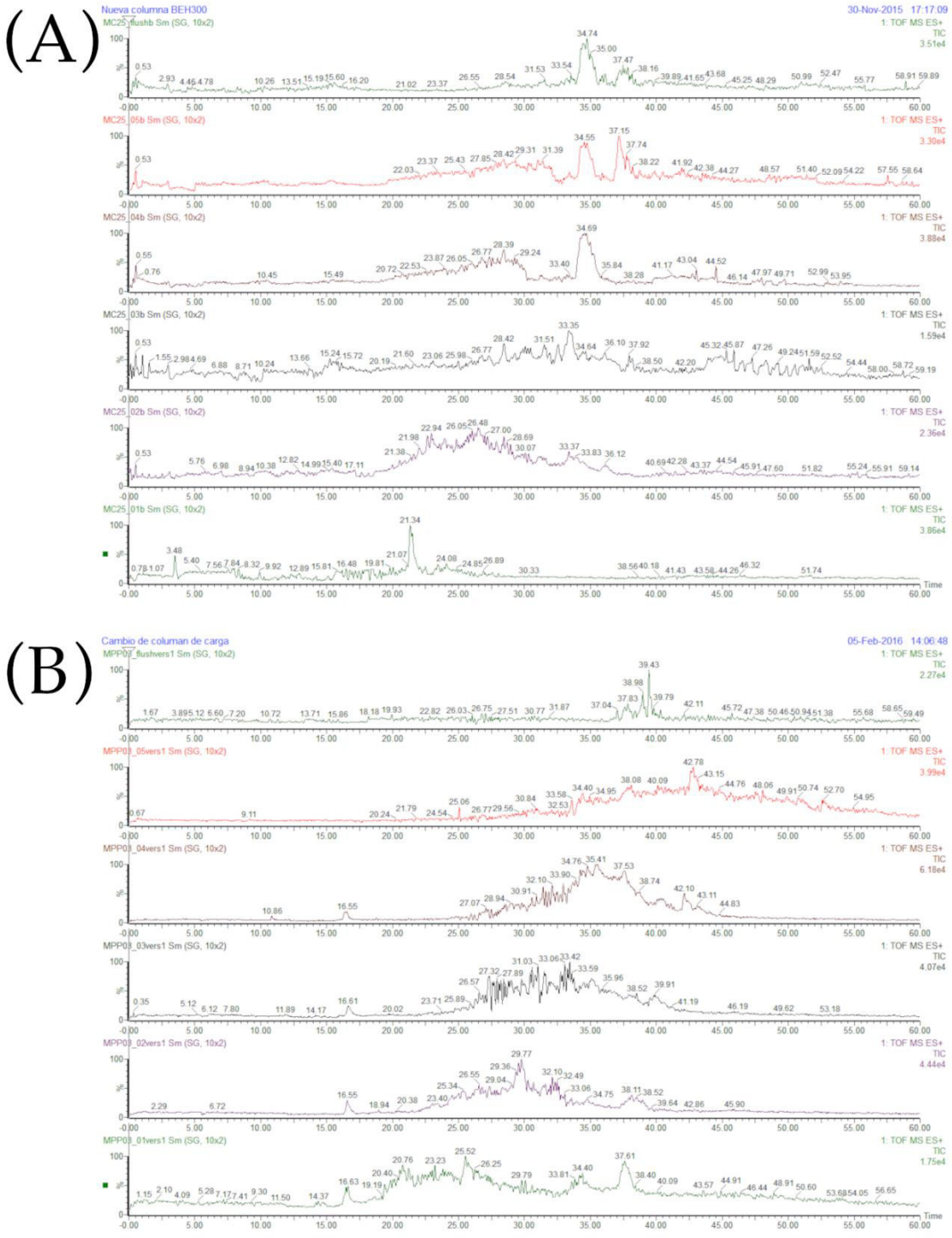


Figure 11. Cromatogramas representativos de los grupos estudiados. Cada cromatograma muestra las seis fracciones de (A) las pacientes control y (B) con PE.

Para el enfoque cualitativo, la Figura 12 muestra la comparación de frecuencias de proteínas entre grupos. LRRK1 estuvo presente en el 75% de las mujeres con PE (p = 0,044). Otras tres proteínas mostraron tendencia a estar presentes con mayor frecuencia en el grupo PE en comparación con los controles: PRRC2C (PE = 6; C = 2; p = 0,134), PRRC2B (PE = 5; C = 1; p = 0,121) y NUP205 (PE = 6; C = 2; p = 0,134). Ninguna proteína tuvo tendencia a predominar en el grupo Control (Tabla 14).

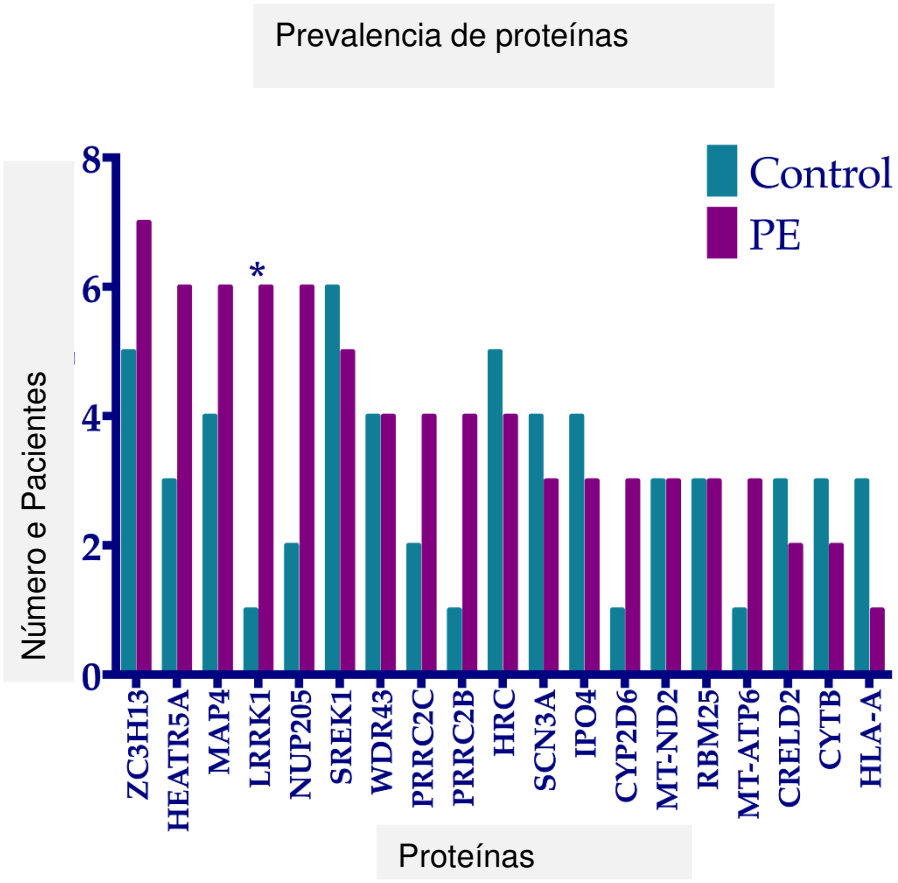


Figura 12. Análisis cualitativo. Las proteínas se organizan en orden descendente según su frecuencia en mujeres con PE. Algunas proteínas mostraron

una tendencia hacia uno de los grupos. Solo LRRK1 tuvo un resultado estadísticamente significativo usando la prueba exacta de Fisher (p = 0.044). Otras 3 proteínas, a pesar de no tener significación estadística, mostraron predominar en el grupo PE: PRRC2C, PRRC2B y NUP205. * p <0,05.

Nombre de la proteína	N		Fisher's exact test
	Control	PE	
Serina / treonina-proteína quinasa repetida rica en leucina 1	**1**	**6**	**0.044***
Proteina PRRC2B	1	5	0.121
Proteina PRRC2C	2	6	0.134
Proteína del complejo de poros nucleares Nup205	2	6	0.134

Tabla 14. análisis cualitativo.

El análisis cuantitativo mostró que nueve proteínas exhibían una concentración relativa de PE:Control por encima de 1,5 y dos proteínas por debajo de 0,66 (Tabla 15).

	Nombre de la proteína	PE:Control Concentración relativa
	PE:Control > 1.5	
1	Proteina PRRC2C	217.02
2	HEAT repeat-containing protein 5A	179.47
3	ATP synthase subunit 6	162.39
4	Proteina PRRC2B	83.10
5	Proteína de unión a ARN 25	5.37
6	Proteína del complejo de poros nucleares Nup205	3.39
7	Antígeno de histocompatibilidad HLA clase I, A-3 Cadena alpha	2.27
8	Proteína 13 que contiene el dominio CCCH de dedo de zinc	2.16
9	Empalme de ácido glutámico regulador y proteína rica en lisina 1	1.67
	PE:Control < 0.66	
10	Importina-4	0.55
11	Citocromo b	0.26

Table 15. Análisis cuantitativo. Las proteínas se enumeran en orden descendente según su concentración relativa.

La información de las interacciones de las proteínas y los posibles mecanismos se muestra en la Tabla 16. Las proteínas se agrupan en función de su papel en los posibles procesos involucrados en el desarrollo de la PE (por ejemplo, implantación, remodelación vascular, inflamación y sistema inmunológico, alteración de la energía, regulación y desarrollo del ciclo celular), así como sus probables mecanismos implicados y sus respectivos genes codificadores. Algunas proteínas no se han asociado previamente directamente a PE: LRRK1, PRRC2C, PRRC2B y NUP205; sin embargo, sus funciones sugieren posibles procesos subyacentes en la PE.

Proceso	Proteína	Interacción	Mecanismo
Implantación	LRRK1	EGFR	Podría jugar un papel en la decidualización a través de la regulación del EGFR.
Remodelación vascular	**PRRC2B**	EHMT2 (G9a)	EHMT2 participa en la maduración vascular placentaria. PRRC2B y PRRC2C podrían jugar un papel en este proceso a través de su interacción con EHMT2.
	PRRC2C	EHMT2 (G9a)	
Inflamación y sistema inmunológico	LRRK1	CARMA1	Maduración y regulación de las células B.
	HLA-A	-	Se ha informado que las alteraciones en ciertas formas de HLA, como HLA-G, HLA-C y HLA-F, están relacionadas con la EP.
Interrupción energética	MT-ATP6	-	Estrés oxidativo.
	CYTB	-	Estrés oxidativo.
Regulación del ciclo celular	**NUP205**	SUMO	Los nups participan en el transporte nucleocitoplasmático y también pueden regular la expresión génica. Se ha encontrado que Nup205 es el objetivo de la SUMOilación. Además, se ha encontrado SUMOilación alterada en patología placentaria.

	PRRC2B	HOXA	Interacción con el factor de transcripción Hoxa1.
Desarrollo			
	NUP205	HOXA	Represión del grupo de genes HOXA junto con Nup93 y Nup88.

Tabla 16. Procesos relacionados con las proteínas más relevantes. Las proteínas en negrita fueron relevantes en ambos enfoques.

La Figura 13A muestra un diagrama de Venn que representa proteínas relevantes en ambos enfoques. Tres proteínas (PRRC2B, PRRC2C, NUP205), que tienen funciones en la remodelación y el desarrollo vascular, resultaron relevantes en ambos enfoques en el grupo PE. Las concentraciones relativas se muestran a través de un mapa de calor en la Figura 113B.

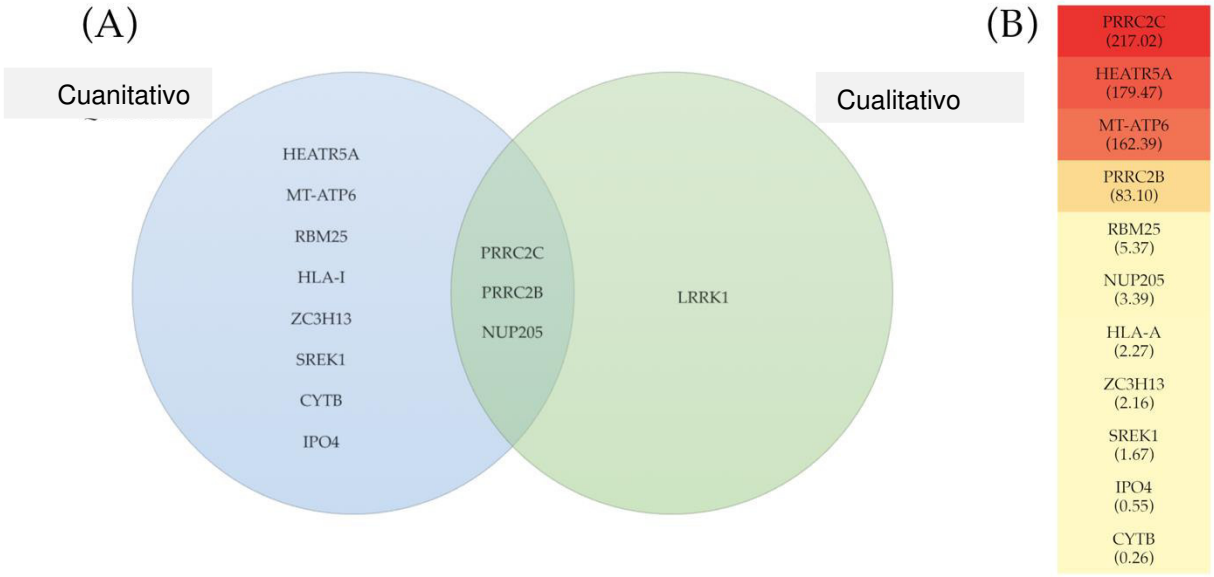


Figura 13. (A) Proteínas con relevancia cuantitativa y cualitativa. 3 proteínas tuvieron importancia en ambos enfoques en mujeres con PE. (B) Representación de la PE: Control las concentraciones relativas de las 11 proteínas.

6.3. Análisis bioinformático

El análisis bioinformático de las 12 proteínas expresadas diferencialmente se realizó utilizando la Base de Datos PANTHER para clasificar las proteínas en función de su localización y funciones biológicas y moleculares de Ontología Genética; Además, el análisis clasificó las proteínas en sus propias clases de proteínas PANTHER, un sistema adaptado de la ontología PANTHER / X que incluye clases que no siempre están incluidas en la función molecular GO. A pesar de que PANTHER no contó con la información de algunas proteínas, existen algunas observaciones interesantes. Los resultados más relevantes fueron: Unión para la función molecular, que hace referencia a la función que tiene determinada

proteína sobre sus blancos moleculares directos; Localización y biogénesis en el caso de procesos biológicos, incluidos los sistemas biológicos en los que una proteína tiene un papel contribuyente; Organelo para componente celular, que hace referencia al lugar donde la proteína realiza su función; finalmente, la unión de ácidos nucleicos en el caso de Protein Class, una clasificación perteneciente a PANTHER. En la Figura 14 se presentan más resultados.

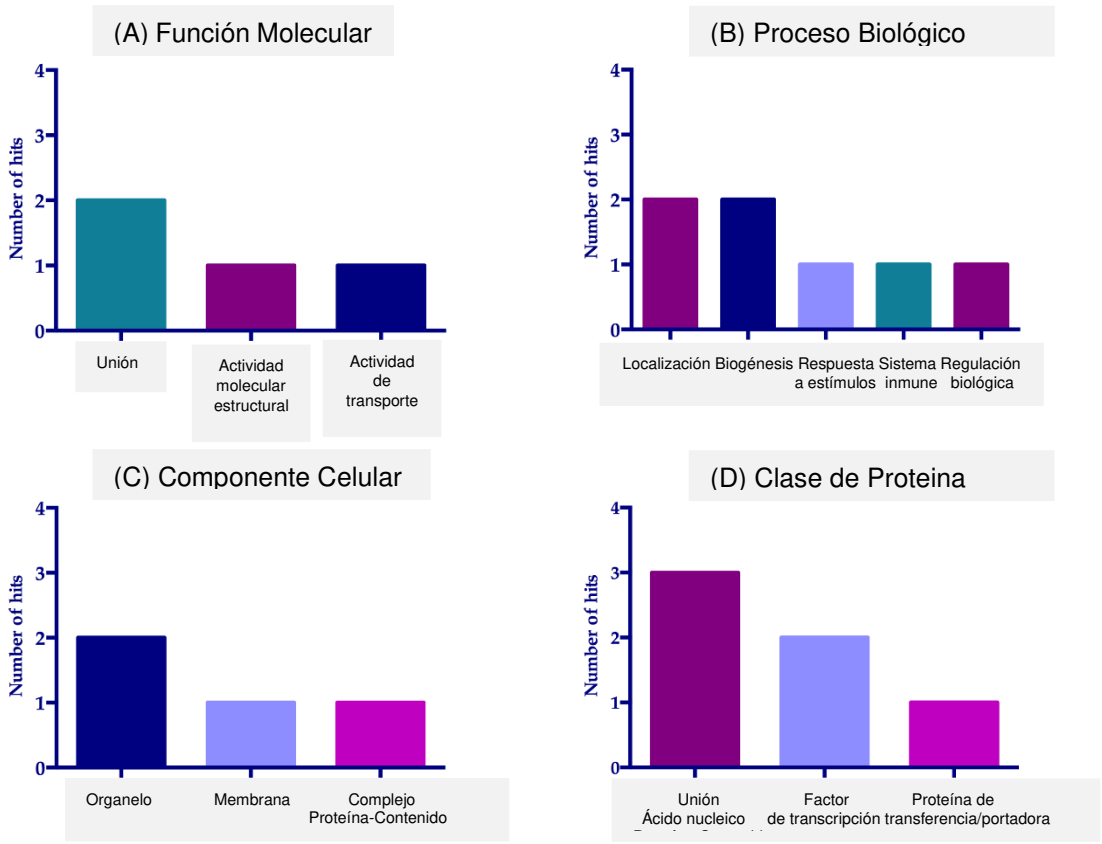


Figure 14. Análisis bioinformático con el sistema de clasificación PANTHER de 12 proteínas que presentaron niveles de concentración diferencial, mostrando (A) Función Molecular, (B) Proceso Biológico, (C) Componente Celular y (D) Clase Proteica. El análisis implicó una clasificación basada en sus anotaciones de Ontología Genética y la propia clasificación de PANTHER.

CAPÍTULO 7
Discusión

CAPÍTULO 7

DISCUSIÓN

Aunque la PE se conoce desde hace al menos 100 años y a pesar de la gran cantidad de información publicada, su patogenia y fisiopatología aún no se conocen bien. En los últimos años se ha reconocido como un síndrome multisistémico y se ha producido un cambio de perspectiva en la forma en que se investiga. Se ha denominado la enfermedad de las múltiples teorías y se asocia a estrés oxidativo y disfunción endotelial (138), desequilibrio en los factores angiogénicos y antiangiogénicos (10,139), alteraciones del sistema inmunológico (140,141) activación de la inflamación exacerbada alteraciones en el proceso de placentación (142,143), predisposición genética (144,145) y alteraciones metabólicas.

Además, varios factores de riesgo se han asociado a esta enfermedad. Entre ellos se encuentran el síndrome antifosfolípido, los antecedentes de PE, la hipertensión crónica, la diabetes pregestacional y el sobrepeso (146). En el presente estudio, la PE mostró una incidencia similar a los informes anteriores (7). Además, las pacientes que desarrollaron PE tenían un IMC significativamente más alto que las mujeres Control, lo que concuerda con el hecho de que el sobrepeso y la obesidad son factores de riesgo importantes para desarrollar trastornos hipertensivos del embarazo, como han informado varios autores (147,148); sin embargo, los mecanismos específicos involucrados no están claros (149). Sobre la base de que el sobrepeso es un estado inflamatorio, con

inflamación sistémica evidenciada en el primer trimestre de las mujeres que desarrollaron PE (150), podría explicar una mayor prevalencia en mujeres con un IMC más alto. Sin embargo, considerando que no todas las mujeres con sobrepeso durante el embarazo padecen PE, se necesita más investigación para dilucidar los mecanismos involucrados.

Nuestros resultados mostraron un menor peso y longitud de los recién nacidos de mujeres con PE en comparación con las mujeres Control. Aunque sólo la longitud fue estadísticamente significativa, la PE se ha relacionado anteriormente con la reducción del peso y la longitud de los recién nacidos de madres con PE (151,152).

La etiología de la EP, un trastorno grave del embarazo, sigue siendo difícil de alcanzar y el único tratamiento es el parto de la placenta (153). Se cree que la placenta contribuye a la aparición del síndrome materno a través de la invasión aberrante del trofoblasto y la remodelación arterial espiral que conduce al estrés oxidativo placentario (154). La hipótesis central es que la EP es el resultado de una remodelación defectuosa de la arteria espiral, que conduce a una isquemia celular en la placenta, que a su vez da lugar a un desequilibrio entre los factores angiogénicos y antiangiogénicos. Este desequilibrio a favor de los factores antiangiogénicos conduce a una disfunción endotelial generalizada que afecta a todos los sistemas de órganos maternos (139).

El análisis proteómico del presente estudio reveló que varias proteínas se expresan de manera diferente en mujeres que desarrollaron PE en comparación con el grupo control, en el primer trimestre del embarazo. Nueve proteínas estaban sobrexpresadas cuantitativamente y dos subexpresadas en la EP, mientras que en el análisis cualitativo la proteína LRRK1 estaba presente en una proporción significativa de pacientes en comparación con los controles.

Estas proteínas pueden jugar un papel en la fisiopatología de la EP ya que participan en varios procesos como: implantación (LRRK1), remodelado vascular (PRRC2C, PRRC2B, LRRK1), inflamación y sistema inmunológico (HLA-A, LRRK1), energía y estrés oxidativo (MT-ATP6, CYTB), regulación y desarrollo del ciclo celular (NUP205, PRRC2B). Curiosamente, aparecen tres proteínas en ambos enfoques: PRRC2C, PRRC2B y NUP205.

PRRC2C y PRRC2B (proteína en espiral rica en prolina 2C y 2B, respectivamente) son genes paralelos. Se ha demostrado que sus proteínas codificadas interactúan con EHMT2 (histona eucromática lisina metiltransferasa 2), un regulador epigenético y represor de la transcripción asociado a la maduración vascular placentaria (155). En particular, se ha demostrado que el PRRC2C se regula al alza hasta 11,7 veces en placentas espontáneas antes del nacimiento (promedio de 32 semanas de gestación) en comparación con su contraparte de nacimiento espontáneo a término (156). EHMT2 actúa a través de la vía Notch para pasar de la fase de desarrollo placentario a la fase de maduración, siendo un regulador importante en las enfermedades placentarias secundarias a una maduración vascular defectuosa (155). La hipótesis central en la patogenia y patología de la PE es que esto es el resultado de una remodelación defectuosa de la arteria espiral, que conduce a una isquemia celular en la placenta, lo que resulta en un desequilibrio entre los factores angiogénicos y antiangiogénicos. Este desequilibrio a favor de los factores antiangiogénicos conduce a una disfunción endotelial generalizada (139). En el presente estudio, PRRC2C mostró la concentración relativa más alta en pacientes con PE en comparación con su contraparte de Control (83 veces),

lo que indica que esta proteína podría desempeñar un papel importante en las primeras etapas de la PE al interactuar con EHMT2.

Además, PRRC2B interactúa con HOXA1 (157). Los genes Homeobox (Hox) son un grupo de genes conservados evolutivamente que codifican una familia de factores de transcripción que regulan los procesos morfogenéticos del desarrollo temprano y continúan expresándose hasta la edad adulta (158). A través de un proceso de duplicación en tándem y diversificación evolutiva, una variedad de grupos de genes Hox se originaron a partir de un gen Hox prototípico (159). En los vertebrados hay 4 grupos diferentes y en humanos, estos se asignan a 4 cromosomas diferentes y contienen entre 9 y 11 genes. Estos grupos, denominados HOXA, HOXB, HOXC y HOXD, tienen su locus en 7p14, 17q21, 12q13 y 2q31, respectivamente (158). La implantación se define como la etapa del embarazo en la que se crea una adhesión estable entre el embrión y el tejido materno y se produce la placentación (160). Los estudios en ratones revelan que Hoxa están presentes en las células del estroma uterino y son necesarios para los procesos de diferenciación e implantación. Hoxa-10 regula la respuesta de las células del estroma uterino a la progesterona durante la implantación y decidualización en el ratón (161), mientras que Hoxa-11 es necesaria para la diferenciación glandular y de células estromales uterinas normales durante el embarazo. Además, se ha informado de que estos factores de transcripción son significativamente más bajos en el endometrio de las mujeres infértiles (86). Se deben realizar más estudios para identificar posibles roles y mecanismos de PRRC2B y PRRC2C en PE.

La proteína NUP205, que fue relevante en pacientes con PE en ambos enfoques de nuestro estudio, pertenece a una familia de complejos de poros nucleares (NPC)

presentes en la envoltura nuclear que son responsables del transporte entre el núcleo y el citoplasma (162). Hay cerca de 30 proteínas llamadas Nup y se ensamblan por interacción de subcomplejos. Contienen tres anillos apilados: citoplasmático, nucleoplasmático y, entre ellos, un anillo interior (162); las alteraciones de esta familia de proteínas se han relacionado con varias enfermedades (163). NUP205 forma parte del complejo del anillo interior. Aunque no se ha informado de una relación con las proteínas Nup y la PE, Guffanti y cols. encontraron que la presencia de nucleoporinas del endometrio humano se solapaba con la ventana de implantación. Mediante técnicas de tinción inmunitaria y microscopía focal, observaron la presencia de canales nucleolares en el 44% de las células endometriales durante la implantación(163,164). El papel de estas proteínas y el aumento de los niveles relativos cuantificados en mujeres con PE debe dilucidarse en la PE.

La regulación genética es otro sello distintivo de Nups. Los componentes NPC tienen influencia sobre las funciones del genoma de una manera independiente del transporte [59], desempeñando un papel importante en la organización espacial de la cromatina y en la regulación transcripcional (165). El subcomplejo Nup93 está compuesto por Nup93, Nup188, Nup205, Nup155 y Nup53 (162,166,167). Labade y cols. informaron que Nup93, con la ayuda de Nup188 y Nup205, media la represión del grupo de genes HOXA. Nuestros resultados indicaron un aumento de los niveles de concentración relativa en las mujeres con PE, lo que sugiere que esto podría tener un efecto sobre la expresión de este grupo.

Se reconoce que la disfunción placentaria desempeña un papel clave en la fisiopatología de la EP (167). NUP205 podría desempeñar un papel en este proceso a

través de SUMOilación, una modificación postraduccional. La SUMOilación de VEGFR2 regula el tráfico intracelular de este factor y se ha observado una angiogénesis alterada cuando VEGFR2 está SUMOilado (168). La SUMOilación se puede revertir mediante una familia de proteasas específicas de SUMO (SENP), y las NPC se han descrito como sitios de asociación para SENP1 y SENP2 (169,170). Varias condiciones, como la isquemia, conducen a la expresión de SENP1, lo que provoca la desconjugación de VEGFR2 SUMOilado para que pueda ser transportado a la membrana citoplasmática para iniciar una respuesta angiogénica (168); por otro lado, se ha demostrado que afecciones patológicas como la hiperglucemia y la diabetes regulan a la baja e inactivan la SENP1, lo que conduce a una hiper-SUMOilación de VEGFR y una respuesta angiogénica alterada (168). Se ha propuesto un desequilibrio entre factores angiogénicos y anti-angiogénicos como mecanismos fisiopatológicos de la EP (171), así como la diabetes se ha relacionado con un mayor riesgo de desarrollarla (172), quizás a través del mismo mecanismo. Además, se ha informado de una sobreexpresión de ARNm de los genes SUMO 1, 2 y 3 en placentas de pacientes con EP (173). Como se mencionó anteriormente, la SUMOilación es inducida por hipoxia, lo que también ha sido demostrado por Baczyk et al, quienes expusieron tejido parental desde el primer trimestre de gestación, demostrando la sobreexpresión de genes SUMO. Los resultados mencionados sustentan nuestro hallazgo de un posible papel de NUP205 en la EP.

Una proteína interesante es la cinasa de repetición 1 rica en leucina (LRRK1), parálogo de LRRK2. Su gen se encuentra en el cromosoma 15q26.3. Presenta expresión de ARNm en diferentes tejidos, siendo predominante en tejido linfoide y con expresión moderada en placenta (174). Esta proteína pertenece a la familia ROCO, caracterizada

por tener un dominio ROC (Ras de proteínas complejas) / GTPasa seguido de un COR (C-terminal de ROC). Los estudios han documentado que LRRK1 interactúa con el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR). Esta última proteína es miembro de la familia ERBB y se ha demostrado que está presente en el endometrio de ratón (175), desempeñando un papel importante en la implantación embrionaria (176). También se ha demostrado que EGFR es un regulador clave de la decidualización humana, actuando a través de sus efectores WNT4 y BMP2 en sentido descendente. Además, Jiang y sus colegas estudiaron el perfil de expresión de los ARN circulares (circRNA) en las células sanguíneas de pacientes que presentaban EP antes de las 20 semanas de embarazo. El circRNA es un tipo de RNA endógeno no codificante endógeno implicado en la regulación de la transcripción, cuyo mecanismo de acción propuesto es una inhibición competitiva que actúa como esponjas al unirse a miRNA y bloquear su función inhibidora sobre el mRNA (177). Se ha observado una expresión diferencial de los ARNcirc en los tejidos del PE placentario, lo que posiblemente contribuya a la patogenia de esta enfermedad (177). Previamente, se ha reportado un aumento en la expresión de circRNA de LRRK1 (177). Aunque no encontramos una diferencia marcada en la concentración relativa, hubo una diferencia en el enfoque cualitativo, predominando en el 75% de las mujeres con EF (n = 6) sobre el 12,5% de las mujeres Control (n = 1) (p = 0,044).

LRRK1, como LRRK2, también se ha relacionado con un mayor riesgo de desarrollar la enfermedad de Parkinson (178). Recientemente, Ijomone y cols. encontraron que las mujeres con PE presentan cambios en la estructura y función del cerebro años más tarde (179), siendo estas alteraciones similares a la demencia. Además, los antecedentes de

PE se han asociado con un deterioro cognitivo más adelante en la vida (180). Sobre esta base, LRRK1 podría desempeñar un papel en este proceso a través de una vía aún desconocida.

Es bien sabido que la PE es un trastorno en el que la inflamación juega un papel clave. Los tejidos placentarios están relacionados con hormonas y citocinas implicadas en la inmunomodulación. Se ha propuesto que algunos de estos factores se liberan en la interfase fetal-materna o en la circulación materna y, de esta manera, estos factores guían los cambios inmunitarios necesarios para una gestación satisfactoria (181,182). Además, anteriormente se ha informado de una producción aberrante de factores inmunomoduladores (183). Además, se han documentado alteraciones en la inmunomodulación asociadas con la activación anormal de células del sistema inmunológico como las células Th1, Th2 y NK en mujeres con PE (141,184,185).

También se ha informado que LRRK1 está involucrado en la regulación y maduración de las células B y en la respuesta inmune humoral a través de su interacción con CARMA1 (186). Aunque la inmunidad mediada por células desempeña un papel principal en el rechazo fetal por parte de la madre, se ha observado que varias subpoblaciones de células B están implicadas en la EP (187). La mayor prevalencia de LRRK1 en el grupo de PE podría sugerir una participación de esta quinasa en la patología de la PE a través de un mecanismo aún desconocido.

Además, la EP se asocia con disfunción endotelial y esto contribuye a la exacerbación del proceso de inflamación que ocurre en un embarazo normal (138,188). El complejo principal de histocompatibilidad humano HLA se encuentra en el locus 6p21 y su función principal es la regulación de la respuesta inmunitaria (189). El MHC humano se puede

dividir en tres regiones: clase I, II y III. La clase I de HLA se puede encontrar en la superficie celular de casi todas las células nucleadas. HLA-G, HLA-C y HLA-F, formas no clásicas de HLA de clase I se expresan en la superficie del trofoblasto extravelloso (190), siendo el HLA-G un componente clave de la tolerancia materno-fetal (191). Además, se ha informado que las alteraciones en ciertas formas de HLA, como HLA-G, HLA-C y HLA-F, están relacionadas con la EP (148), lo que respalda la teoría de un proceso inflamatorio subyacente.

Hasta el día de hoy, no hay demasiada información sobre HLA-A y su relación con la EP. Anteriormente, se informó que ciertos tipos de asociaciones genéticas materno-fetal HLA-A y HLA-B son más frecuentes en mujeres con EP. Además, Small et al. Encontraron un cambio de 2,30 veces en las muestras de sangre total de mujeres en la semana 28 de embarazo que desarrollaron EP en comparación con sus contrapartes sanas (192); sin embargo, no encontraron el mismo resultado en los tejidos placentarios, por lo que concluyeron que el aumento de HLA debe tener un origen materno. Nuestros resultados son similares. Por tanto, el aumento del nivel de HLA-A observado en este estudio, además de no ser el HLA informado con mayor frecuencia, podría reflejar la implicación inmunológica temprana en este proceso patológico.

La PE se ha descrito como una enfermedad con dos fases (193). El primero es una mala placentación, secundaria a hipoxia de la placenta. En la segunda fase, la inflamación sistémica y la disfunción de las células endoteliales se producen como resultado de factores proinflamatorios liberados por la placenta hipóxica (193). Se han descrito niveles altos de ATP como una señal de peligro (194) y se encuentran en la PE (194,195). El tejido hipóxico y necrótico libera ATP a la circulación (196,197), lo que da

lugar a la activación de las células inmunes y endoteliales (194). Asimismo, estas células también producen ATP, lo que da lugar a una cascada de activación (194,198). Como mecanismo de protección, el ATP puede hidrolizarse en adenosina mediante diversas enzimas extracelulares presentes en múltiples células, incluidas las células endoteliales y las células trofoblásticas placentarias (199). También se ha informado que la adenosina aumenta en la PE y tiene efectos opuestos al ATP. Este problema concuerda con nuestros resultados, ya que la concentración relativa de ATP sintasa PE: control fue 162 veces mayor. Estos niveles aumentados podrían ser secundarios a inflamación, hipoxia o isquemia, todos reportados en estos pacientes.

Se ha informado de que los defectos tempranos de la placenta provocan una perturbación del flujo sanguíneo materno hacia la placenta a medida que avanza el embarazo, lo que provoca más daño placentario y estrés oxidativo (200–202). La interrupción del suministro de sangre, con isquemia e hipoxia posteriores, induce daño al sistema de transferencia de electrones mitocondrial (ETS), lo que aumenta la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) (202). Se sabe que el estrés celular y las respuestas al estrés juegan un papel importante en la biología celular (200). Sin embargo, un desequilibrio entre ROS y los mecanismos de defensa puede dar lugar a efectos nocivos de ROS (203). Esta es la razón por la que una célula debe estar equipada con mecanismos homeostáticos para sobrevivir a ella. Los sistemas antioxidantes (p. Ej., Superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa) y algunos procesos coordinados, como las adaptaciones mitocondriales (p. Ej., Biogénesis, fisión, fusión) y celulares (p. Ej., Autofagia, apoptosis), son parte de estos mecanismos y reflejan la respuesta de la célula a ROS y su daño inducido (204,205). La disfunción del citocromo b, un

componente del complejo II del ETS, se ha relacionado con niveles más altos de superóxido, lo que conduce a un aumento del estrés oxidativo (206). Es posible que los niveles bajos observados de citocromo b, que participan en el ETS, puedan indicar este daño. No obstante, se deben realizar más estudios para aclarar este problema.

Según el momento de inicio o reconocimiento de la PE, se puede clasificar en dos tipos principales: de inicio temprano y tardío, siendo el más común el tardío. En el tipo de inicio temprano, los signos clínicos aparecen antes de las 34 semanas de gestación, mientras que en el tipo de inicio tardío ocurren a las 34 semanas y después (207). La PE de inicio temprano está relacionada con la hipoperfusión placentaria, mientras que en el tipo de inicio tardío no hay ningún cambio o una ligera modificación de las arterias espirales, lo que en algunos casos conduce a una hiperperfusión de la placenta (139,208). Salas y cols. Determinaron que hay una disminución del volumen plasmático entre las semanas 14 y 17 de gestación, antes del inicio clínico de la enfermedad. En nuestro estudio, el 75% de los pacientes desarrollaron PE de inicio tardío; sin embargo, las muestras fueron tomadas en el primer trimestre, lo que indica que el proceso se está desarrollando desde las primeras etapas del embarazo. Recientemente, Holland y cols. han propuesto que en los embarazos con PE que llegaron a término y en los que nacieron antes de término, la respuesta placentaria a la PE fue intrínsecamente diferente, con posibles mecanismos de adaptación principalmente a nivel mitocondrial (202).

En el análisis bioinformático, el predominio de elementos reguladores podría ser un reflejo de lo comentado anteriormente. La desregulación de los elementos reguladores también se ha encontrado en varios estudios, como se describió anteriormente en algunas revisiones interesantes (209).

Al final, el presente estudio proteómico mostró un patrón diferencial de proteínas en el suero de mujeres en el primer trimestre de gestación que luego desarrollaron PE. Las proteínas encontradas en ambos enfoques, tanto cuantitativos como cualitativos, tienen plausibilidad con los eventos fisiopatológicos tempranos que se han asociado a esta patología. Algunos de estos podrían usarse como posibles biomarcadores, aunque se deben realizar más estudios para confirmar estos hallazgos.

CAPÍTULO 8
Conclusión

CAPÍTULO 12

CONCLUSION

En nuestro estudio, de abordaje cuantitativo y cualitativo, pudimos encontrar 12 proteínas que eran cuantitativa o cualitativamente relevantes y sugerían posibles mecanismos de acción a través de diferentes vías que podrían explicar tales alteraciones. Tres de estas proteínas estaban presentes en ambos enfoques, lo que sugiere un papel importante en las primeras etapas de una PE aún asintomática.

Somos conscientes de que nuestro estudio tiene sus limitaciones. Primero, el tamaño de la muestra fue pequeño por la dificultad de obtener pacientes con las características requeridas; en segundo lugar, solo utilizamos la EM y, aunque la falta de una prueba de validación posterior como el Western blot es un defecto, la sensibilidad de la EM es suficientemente buena para un primer enfoque.

Ninguna de las proteínas aquí reportadas se ha asociado directamente con la PE y pensamos que son un reflejo de los primeros pasos de la cascada de eventos que finalmente culminan en la EP y, por tanto, estas proteínas podrían actuar como potenciales biomarcadores de una incipiente enfermedad futura. Los estudios posteriores con una muestra más grande para probar específicamente estas proteínas recuperarán una perspectiva más amplia de su utilidad.

Finalmente, la patogenia de la PE aún no se ha esclarecido y es importante recuperar nueva información sobre los mecanismos de la PE para el descubrimiento y la prueba de nuevos biomarcadores potenciales. Por lo tanto, se requieren más estudios para comprender los mecanismos de los biomarcadores potenciales propuestos y la validación futura.

CAPÍTULO 9
Anexos

9.0 Encuesta de datos clínicos y demográficos

9.1 Consentimiento informado

ANEXO 1. Encuesta de datos clínicos y demográficos

DATOS DEMOGRÁFICOS

NOMBRE DEL ESTUDIO:
Determinación de potenciales biomarcadores de preeclampsia en etapas tempranas del embarazo mediante un análisis proteómico.

Fecha: _____

DATOS GENERALES
Nombre: _____
No. De Identificación: _____Edad: _____
Dirección: _____
Teléfono de casa: _____ Teléfono móvil: _____
Correo electrónico: _____
Edo. Civil: _____ Ocupación: _____Religión: _____
Escolaridad:_____ Ciudad de origen: _____
Ciudad donde vive actualmente: _____

ANTECEDENTES
Padres o Hermanos con diabetes o hipertensión: Si ( ) No ( )
Si respondió "si" especifique: _____
Fuma: Si ( ) No ( )
Si respondió "si" especifique cuantas cajetillas diarias: _____
Consume bebidas alcohólicas regularmente: Si ( ) No ( )
Si respondió si especifique cuantas cervezas o copas por dia y/o semana: _____
_____
Utiliza algún tipo de droga: Si ( ) No ( )
Si respondió si especifique tipo y cantidad: _____
Padece algún tipo de las siguientes enfermedades:
Hipertensión: Si ( ) No ( )
Enfermedades cardiacas: Si ( ) No ( )
Diabetes: Si ( ) No ( )
Hipertiroidismo: Si ( ) No ( )
Otras: _____
Le han realizado algún tipo de cirugía: Si ( ) No ( )
Si respondió si especifique: _____
¿Cuantos embarazos ha tenido? _____
Partos: ____ Cesáreas: ____ Abortos: ____ Ectópicos: ____ Embarazos molares: ____
Fecha en que inició la última menstruación: _____

DATOS DIETÉTICOS:
N°.DE COMIDAS AL DÍA:_____ QUIEN PREPARA LOS ALIMENTOS:
_____
TOMA VITAMINAS:_____ CUALES:
_____
PRÁCTICA DEPORTE:_____ CUAL:
_____

MENCIONE QUE DESAYUNO,COMIO Y CENO EL DÍA DE AYER.

DESAYUNO **HORA:**	**COMIDA** **HORA:**	**CENA** **HORA:**

DATOS ANTROPOMETRICOS.
PESO ACTUAL:_____TALLA ACTUAL:_____ EDAD: _____
IMC:_____

DX:_____

FRECUENCIA ALIMENTARIA

LO CONSUME

ALIMENTO	SI	NO	CUANTAS VECES POR SEMANA	CANTIDAD POR COMIDA.
CALDO DE FRIJOL				
FRIJOL COCIDO				
HABAS COCIDAS				
LENTEJAS COCIDAS				
GARBANZOS COCIDOS				
HIGADO DE RES				
HIGADO DE POLLO				
ATÚN				
POLLO				
SARDINAS				
CARNE DE RES				
CARNE DE CERDO				
LECHE				
HUEVO				
PAN INTEGRAL				
ARROZ COCIDO				
PAN BLANCO				
SOPA DE PASTA FORTIFICADA				
CEREALES DE DESAYUNO				
ESPINACAS				
ACELGAS				
AGUACATE				
REPOLLO				
COLIFLOR				
CHICHARO				
LECHUGA				
QUELITES				
NOPALES				
BROCOLI				
CALABAZA				
PAPA				
CEBOLLA				
ZANAHORIA				
TOMATE				
NARANJA				
JUGO DE NARANJA				
MELON				
MANDARINA				
PEPINO				
PLÁTANO				
LIMÓN				
CERVEZA				

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Titulo del Estudio	Determinación de potenciales biomarcadores de preeclampsia en etapas tempranos del embarazo mediante un análisis proteómico.
Nombre del Investigador Principal	Dr. Guillermo Jacobo Baca
Institución	Facultad de Medicina y Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González. Universidad Autónoma de Nuevo León"
Servicio/Departamento	Genética
Teléfono de Contacto	8112557617
Persona de Contacto	Dr. Guillermo Jacobo Baca

Esta forma de consentimiento informado puede contener palabras que usted no entienda. Por favor pídale a su médico del estudio o al personal del estudio que le explique cualquier palabra o información que no le quede clara.
Su participación en este estudio es voluntaria. Es importante que lea y entienda la siguiente explicación de los procedimientos propuestos. Este documento describe el propósito, los procedimientos, beneficios, riesgos conocidos, molestias, precauciones del estudio incluyendo la duración y la naturaleza de su participación.
También describe las terapias o tratamientos alternativos conocidas que pueden estar disponibles y su derecho a retirarse del estudio en cualquier momento. No se pueden dar garantías respecto a los resultados del estudio de investigación.
Para ingresar al estudio, Usted como sujeto debe de firmar y fechar este documento con la presencia de dos testigos y finalmente recibirá una copia del mismo.

1.- PROPOSITO DEL ESTUDIO

La preeclampsia es una enfermedad que afecta a mujeres después de las 20 semanas de embarazo, se caracteriza por presentar alta presión y salida de proteínas por la orina, esta enfermedad puede llegar a ser mortal si no se trata correctmente. A pesar de muchos estudios que se han realizado no se cuenta con un examen de laboratorio o de ultrasonido que

nos pueda avisar al inicio del embarazo que personas puedan tener en un futuro esta enfermedad. Es por eso que el propósito de este estudio es encontrar un examen de sangre que se pueda utilizar para detectar a las personas que pudieran enfermarse de preeclampsia al final del embarazo y asi poder cambiar la forma de tratar a las personas con riesgo y que el final el bebé y la mamá tengan mejores resultados al nacimiento.

2.- CRITERIOS DE INCLUSION Y EXCLUSION

El médico del estudio verificará que Usted cumpla con los siguientes requisitos antes de considerar su ingreso al estudio de investigación.

Que no haya tenido partos, que se encuente entre 10 y 11 semanas de embarazo, que su peso sea el adecuado (Ni muy flaca ni muy gorda), tener menos de 35 años de edad, no tener presión alta, que su embarazo sea de un solo bebe, no haber tenido tres o mas abortos, no haber tenido un embarazo molar (degeneración de un embarazo) y no tener diabetes.

3.- MEDICAMENTO/DISPOSITIVO DE ESTUDIO

No aplica.

4.- PROCEDIMIENTOS

Se realizará una sola punción para obtener 2 tubos de sangre de las venas del codo (6 ml cada uno) durante las semanas 10 y 11 de embarazo, estas muestras se almacenarán y con una de ellas se realizarán estudios de proteínas en caso de desarrollar preeclampsia, la otra muestra se utilizará para la realización de futuros estudios genéticos dentro de la misma línea de investigación. Además se le pedirá que llenen un cuestionario de datos generales y una encuesta sobre lo que comió las últimas 24 hrs. A los 6 meses se le va a llamar al teléfono que nos proporcionó para saber si presentó preeclampsia durante el embarazo, de ser así se revisará su expediente médico para confirmar que se haya hecho los estudios necesarios para confirmar la enfermedad y se realizarán estudios a la sangre que se tomó al inicio del embarazo para buscar las proteínas que nos puedan servir para desarrollar un examen que nos permita detectar a las mujeres que tienen riesgo de presentar preeclampsia.

5.- TERAPIAS ALTERNATIVOS
No aplica

6.- RIESGOS Y MOLESTIAS
Existen riesgos y molestias minimos en este estudio, los cuales consisten en presentar dolor al sacar la sangre, además de presentar salida de sangre en el sitio donde se tomó la muestra (moretón).

7.- POSIBLES BENEFICIOS
Usted puede verse beneficiado por su participación en este estudio, aunque no hay garantías de que tenga un beneficio directo por participar en este estudio.

No aplica.

8.- NUEVOS HALLAZGOS
El médico del estudio le informará a usted o a su representante legar acerca de cualquier hallazgo significativo que se desarrolle durante el transcurso de este estudio que pudiera afectar el deseo de seguir participando en este estudio. Usted tiene el derecho de conocerla y tomar la decisión si continúa o no en el estudio.

9.- RETIRO Y TERMINACIÒN
Su participación es estrictamente voluntaria. Si desea suspender su participación, puede hacerlo con libertad en cualquier momento. Si elige no participar o retirarse del estudio, su atención medica presente y/o futura no se verá afectada y no incurrirá en sanciones ni perderá los beneficios a los que usted tendría derecho de algún otro modo.
El médico podrá suspender su participación en el estudio, sin su consentimiento, por cualquiera de las siguientes circunstancias:
1.- Que el patrocinador del estudio cancele el estudio.
2.- Que el médico considere que es lo mejor para Usted.
3.- Que necesita algún procedimiento o medicamento que interfiere con esta investigación.
4.- Su participación se suspende para cumplir con los requisitos del estudio.
5.- Que no ha seguido las indicaciones del médico lo que pudiera traer como consecuencias problemas en Usted.

Se Usted decide retirarse de este estudio, deberá realizar lo siguiente:
1.- Notificar a su médico tratante del estudio

2.- Deberá de regresar todo el material que su médico le solicite.

Si su participación en el estudio se da por terminada, cualquier que sea la razón, el médico por su seguridad, continuará con seguimientos clínicos, además de podrá utilizar la información médica que se recabó antes de su terminación.

10.- COSTOS, REEMBOLSOS Y PAGOS

Los medicamentos, procedimientos y pruebas relacionadas con el estudio no tendrán ningún costo.
Sin embargo puede incurrir en gastos propios a la atención que normalmente recibiría.
No aplica ningún reembolso o pago.

11.- CONFIDENCIALIDAD/EXPEDIENTE CLINICO

Si acepta participar en la investigación, el médico del estudio recabará y registrará información personal confidencial acerca de su salud y de su tratamiento. Esta información no contendrá su nombre completo ni su domicilio, pero podrá contener otra información acerca de Usted, tal como iniciales y su fecha de nacimiento. Toda esta información tiene como finalidad garantizar la integridad científica de la investigación. Su nombre no será conocido fuera de la Institución al menos que lo requiera nuestra Ley.

Usted tiene el derecho de controlar el uso de sus datos personales de acuerdo a la Ley Federal de Protección de datos Personales en Posición de Particulares, así mismo de solicitar el acceso, corrección y oposición de su información personal. La solicitud será procesada de acuerdo a las regulaciones de protección de datos vigentes. Sin embargo, cierta información no podrá estar disponible hasta que el estudio sea completado, esto con la finalidad de proteger la integridad del Estudio.

La Facultad de Medicina y Hospital Universitario así como el Investigador serán los responsables de salvaguardar la información de acuerdo con las regulaciones locales. Usted tiene el derecho de solicitar por escrito al medico un resumen de su expediente clínico.

La información personal acerca de su salud y de su tratamiento del estudio podrá procesarse o transferirse a terceros en otros países para fines de investigación y de reportes de seguridad, incluyendo Agencias reguladoras

(Secretaria de Salud SSA) locales así como a comité de Ética en Investigación y de Investigación de nuestra Institución.

Para los propósitos de este estudio, autoridades sanitarias como Secretaria de Salud y Comité de Ética en Investigación y de Investigación de nuestra Institución podrán inspeccionar el expediente clínico, incluso los que fueron recabados antes de su inicio de participación, los cuales pueden incluir su nombre, domicilio y otra información personal. En caso necesario estas auditorías o inspecciones podrán hacer fotocopias de parto o de todo su expediente clínico. La razón de esto es asegurar que el estudio se está llevando a cabo apropiadamente con la finalidad de salvaguardar sus derechos como pacientes en investigación.

Los resultados de este estudio de investigación podrán presentarse en reuniones o en publicaciones.

La información recabada durante este estudio será recopilada en bases de datos del investigador, los cuales podrán ser usados en otros estudios en el futuro. Estos datos no incluirán información médica personal confidencial. Se mantendrá el anonimato.

Al firmar este documento, Usted así como su representante autorizan el uso y revelaciones de la información acerca de su estado de salud y tratamiento identificado en esta forma de consentimiento. No perderá ninguno de sus derechos legales como sujeto de investigación. Si hay cambios en el uso de su información, su médico le informará.

12.- INTERVENCIÓN DEL MEDICO FAMILIAR

Se le informará a su médico de cabecera acerca de su participación en este estudio, enviándole la información médica pertinente si lo solicita así como cualquier información médica relevante.
Para que los médicos de la Institución conozcan de su participación en el estudio, los expedientes clínicos cuentan con un identificador para que el médico de cabecera se ponga en contacto con el Investigador.

13.- COMPENSACION Y TRATAMIENTO DE LESIONES

Si se enferma o se lesiona debido a una complicación o adversidad que sea resultado directo del uso del medicamento/dispositivo o procedimiento en estudio, deberá Usted notificar a su Médico para que el proporcione los cuidados

necesarios para el tratamiento de dicha complicación. El tratamiento recibido no tendrá ningún costo y será cubierto por la Institución, así como la indemnización a la cual tendría derecho en caso de requerirla.

Si desea mayor información podrá contactar Lic. Antonio Zapata de la Riva al teléfono (81) 83294050 exts 2870 a 2874.

13.- DECLARACIÓN

Reconozco que me han dado la oportunidad de hacer preguntas relacionadas al estudio de investigación y que todas estas se me han respondido de manera clara y precisa.

Entiendo además si tengo preguntas relacionadas al estudio, así como en el caso de lesiones o complicaciones deberé de notificar de inmediato al investigador con la siguiente información de contacto.

Nombre del Investigador Principal	Dr. Guillermo Jacobo Baca
Teléfono de Contacto	83294171
Teléfono de emergencias	8112557617

Además entiendo que el Comité de Ética en Investigación cuenta con un numero de emergencias para estos casos y que podré contactarlos para notificar de una complicación.

Urgencias Médicas. Comité de Ética en Investigación. Teléfono 044-8119085882

En caso de tener alguna pregunta relacionada a mis derechos como sujeto de investigación de la Facultad de Medicina podre contactar al Comité de Ética en Investigación y de Investigación de nuestra Institución al Presidente, **Dr. José Gerardo Garza Leal,** o al Represente legal de los sujetos de Investigación al **Lic Antonio Zapata de la Riva.**

Comité de Ética en Investigación y de Investigación
Av. Francisco I Madero Pte. s/n y Av. Gonzalitos, Col. Mitras Centro, 66460 en Monterrey, Nuevo León México.
Teléfonos: 81-83294050 exts 2870 a 2874
www.investigacion-medunal.com
email. investigacionclinica@meduanl.com

Al firmar este consentimiento reconozco que mi participación es voluntaria y que puedo negarme a participar o suspender mi participación en cualquier momento sin sanciones ni perdidas de los beneficios a los que de otro modo tengo derechos.
Acepto además que mi información personal de mi salud puede utilizarse y transferirse para nuevos estudios de investigación clínica con la finalidad de brindar más información y así contar con nuevas opciones de tratamiento. Entiendo que mi información puede ser auditada o inspeccionada por agencias reguladoras como la Secretaria de Salud así como por la misma Institución.
Se me entrega una copia del consentimiento informado.

13.- FIRMAS

_____	_____	_____
Fecha	*Firma de la Sujeto*	*Nombre en letra de molde*
_____	_____	_____
Fecha	*Firma del Primer Testigo*	*Nombre en letra de molde*

_____
Relación del Primer Testigo con la Sujeto del Estudio Dirección

_____	_____	_____
Fecha	*Firma del Segundo Testigo*	*Nombre en letra de molde*

_____
Relación del Primer Testigo con la Sujeto del Estudio Dirección

II. ASEGURAMIENTO DEL INVESTIGADOR O DEL MIEMBRO DEL EQUIPO

He discutido lo anterior con esta persona. A mi más leal saber y entender, el sujeto está proporcionando su consentimiento tanto voluntariamente como de una manera informada, y él/ella posee el derecho legal y la capacidad mental suficiente para otorgar este consentimiento.

_____	_____	_____
Fecha	*Firma de la Persona que Obtuvo el Consentimiento/Investigador Principal*	*Nombre en letra de molde*

CAPÍTULO 10
Bibliografía

1. M. B, M.T. M, M.A. B, S. W, R. P, J. C, et al. A proteomic approach identifies early pregnancy biomarkers for preeclampsia: Novel linkages between a predisposition to preeclampsia and cardiovascular disease. Proteomics. 2009;

2. Salem MAA, Ammar IMM. First-Trimester Uterine Artery Pulsatility Index and Maternal Serum PAPP-A and PlGF in Prediction of Preeclampsia in Primigravida. J Obstet Gynecol India. 2018 Jun 1;68(3):192–6.

3. Al-Jameil. A Brief Overview of Preeclampsia. J Clin Med Res. 2013;

4. Ghulmiyyah L, Sibai B. Maternal Mortality From Preeclampsia/Eclampsia. Semin Perinatol [Internet]. 2012 Feb [cited 2020 Sep 23];36(1):56–9. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0146000511001571

5. Khan KS, Wojdyla D, Say L, Gülmezoglu AM, Van Look PF. WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review. Lancet [Internet]. 2006 Apr 1 [cited 2020 Sep 23];367(9516):1066–74. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673606683979

6. Sanjay G, Girija W. Preeclampsia-Eclampsia. jogi.co.in [Internet]. 2014 Feb [cited 2020 Sep 23];64(1):4–13. Available from: https://www.jogi.co.in/mar_apr_14/pdf_high_res/12_RA_PREECLAMPSIA.pdf

7. Jiménez Cotes E, Martínez Sánchez L, Vargas Grisales N, Agudelo Vélez C, Ortiz Trujillo I. Preeclampsia: la evolución diagnóstica desde la genómica y la proteómica. Rev Chil Obstet Ginecol. 2013;

8. Villaseñor-Hidalgo R, … MG-R-A, 2017 undefined. Aptitud clínica del médico

familiar sobre preeclampsia-eclampsia en la unidad de medicina familiar no. 94 del IMSS [Internet]. medigraphic.com. [cited 2020 Sep 23]. Available from: https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=70087

9. Grotegut CA. Prevention of preeclampsia. Journal of Clinical Investigation. 2016.

10. Young BC, Levine RJ, Karumanchi SA. Pathogenesis of preeclampsia. Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease. 2010.

11. Akolekar R, Syngelaki A, Poon L, Wright D, Nicolaides KH. Competing risks model in early screening for preeclampsia by biophysical and biochemical markers. Fetal Diagn Ther. 2013;

12. Goetzinger KR, Zhong Y, Cahill AG, Odibo L, Macones GA, Odibo AO. Efficiency of first-trimester uterine artery doppler, a-disintegrin and metalloprotease 12, pregnancy-Associated plasma protein a, and maternal characteristics in the prediction of preeclampsia. J Ultrasound Med. 2013;

13. Tarasevičienė V, Grybauskienė R, Mačiulevičienė R. sFlt-1, PlGF, sFlt-1/PlGF ratio and uterine artery Doppler for preeclampsia diagnostics. Med. 2016;

14. Wright D, Akolekar R, Syngelaki A, Poon LCY, Nicolaides KH. A Competing Risks Model in Early Screening for Preeclampsia. Fetal Diagn Ther [Internet]. 2012 [cited 2020 Sep 23];32(3):171–8. Available from: https://www.karger.com/Article/FullText/338470

15. Pinto A, Pinto F, Faggian A, Rubini G, Caranci F, Macarini L, et al. Sources of error in emergency ultrasonography. Vol. 5, Critical Ultrasound Journal. Springer-Verlag

Italia s.r.l.; 2013. p. 1–5.

16. Fantasia HC. Low-Dose Aspirin for the Prevention of Preeclampsia. Nursing for Women's Health. 2018.

17. Dahabiyeh L. The Discovery of Protein Biomarkers in Pre-eclampsia: The Promising Role of Mass Spectrometry. Taylor Fr [Internet]. 2018 Oct 3 [cited 2020 Sep 23];23(7):609–21. Available from: https://doi.org/10.1080/1354750X.2018.1474257

18. Duley L. The Global Impact of Pre-eclampsia and Eclampsia. Seminars in Perinatology. 2009.

19. Pregnancy-Induced (ACOG) Hypertension in. Hype Rte N Sion. Hypertension in Pregnancy. 2013.

20. Zhang J, Meikle S, Trumble A. Severe Maternal Morbidity Associated with Hypertensive Disorders in Pregnancy in the United States. Hypertens Pregnancy. 2003;

21. Sibai B, Dekker G, Lancet MK-T, 2005 undefined. Seminar [Internet]. Elsevier. [cited 2020 Sep 28]. Available from: www.thelancet.com

22. Fisher SJ. The placental problem: Linking abnormal cytotrophoblast differentiation to the maternal symptoms of preeclampsia. Reproductive Biology and Endocrinology. 2004.

23. De Medicina F, Montalvo Montes J, Herráiz Martínez MA, Aragón JAV. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID CRIBADO PRECOZ BIOQUÍMICO

Y ECOGRÁFICO DE LA PREECLAMPSIA Y DE OTRAS COMPLICACIONES GESTACIONALES. MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR PRESENTADA POR Leyre Navarro Echevarría Bajo la dirección de los doctores [Internet]. 2010 [cited 2020 Sep 28]. Available from: https://core.ac.uk/download/pdf/19713445.pdf

24. BOYD PA, SCOTT A. Quantitative structural studies on human placentas associated with pre-eclampsia, essential hypertension and intrauterine growth retardation. BJOG An Int J Obstet Gynaecol. 1985;

25. Bishop PW, Malam JE, Morris JA, Fox H. Accelerated expression of Ca antigen by placental villous trophoblast in preeclampsia. Placenta. 1990;

26. Brosens IA. Morphological changes in the utero-placental bed in pregnancy hypertension. Clin Obstet Gynecol. 1977;

27. Vergani P, Roncaglia N, Andreotti C, Arreghini A, Teruzzi M, Pezzullo JC, et al. Prognostic value of uterine artery Doppler velocimetry in growth-restricted fetuses delivered near term. In: American Journal of Obstetrics and Gynecology. 2002.

28. Cotton DB, Gonik B, Dorman KF. Cardiovascular alterations in severe pregnancy-induced hypertension: Acute effects of intravenous magnesium sulfate. Am J Obstet Gynecol. 1984;

29. Williams D, medicine MDS-I care, 1997 undefined. The pathophysiology of pre-eclampsia [Internet]. search.proquest.com. [cited 2020 Sep 28]. Available from: http://search.proquest.com/openview/7fa50e4774a7f8059a6e14c253a9acd8/1?pq-origsite=gscholar&cbl=48752

30. Sheehan HL. Pathological Lesions in the Hypertensive Toxbmias of Pregnancy. In 2008.

31. Brown MA, Gallery EDM, Ross MR, Esber RP. Sodium excretion in normal and hypertensive pregnancy: A prospective study. Am J Obstet Gynecol. 1988;

32. Katz VL, Thorp JM, Rozas L, Bowes WA. The natural history of thrombocytopenia associated with preeclampsia. Am J Obstet Gynecol. 1990;

33. Leduc L, Wheeler JM, Kirshon B, Mitchell P, Cotton DB. Coagulation profile in severe preeclampsia. Obstet Gynecol. 1992;

34. Miller KW, Keith JC. Erythrocyte morphologic features and serum chemistry studies in ovine pregnancy-induced hypertension treated with thromboxane synthetase inhibitors. Am J Obstet Gynecol. 1988;

35. Kitzmiller JL, Lang JE, Yelonosky PF, Lucas WE. Hematologic assays in pre eclampsia. Am J Obstet Gynecol. 1974;

36. Taylor RN, Casal DC, Jones LA, Varma M, Martin JN, Roberts JM. Selective effects of preeclamptic sera on human endothelial cell procoagulant protein expression. Am J Obstet Gynecol. 1991;

37. Brown CE, Cunningham FG, Pritchard JA. Convulsions in hypertensive, proteinuric primiparas more than 24 hours after delivery. Eclampsia or some other cause? J Reprod Med. 1987;

38. Sibai B, Ramadan M, … RC-A journal of, 1995 undefined. Pregnancies complicated by HELLP syndrome (hemolysis, elevated liver enzymes, and low

platelets): subsequent pregnancy outcome and long-term prognosis. Elsevier [Internet]. [cited 2020 Sep 28]; Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0002937895900993

39. Sibai BM. Diagnosis and management of gestational hypertension and preeclampsia. Obstetrics and Gynecology. 2003.

40. Pridjian G, Puschett JB. Preeclampsia. Part 1: Clinical and pathophysiologic considerations. Obstetrical and Gynecological Survey. 2002.

41. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF, et al. Circulating Angiogenic Factors and the Risk of Preeclampsia. N Engl J Med. 2004;

42. Pennington KA, Schlitt JM, Jackson DL, Schulz LC, Schust DJ. Preeclampsia: Multiple approaches for a multifactorial disease. DMM Dis Model Mech. 2012;

43. Lam C, Lim KH, Karumanchi SA. Circulating angiogenic factors in the pathogenesis and prediction of preeclampsia. Hypertension. 2005.

44. Roberge S, Villa P, Nicolaides K, Giguére Y, Vainio M, Bakthi A, et al. Early administration of low-dose aspirin for the prevention of preterm and term preeclampsia: A systematic review and meta-analysis. Fetal Diagnosis and Therapy. 2012.

45. Papageorghiou AT, Campbell S. First trimester screening for preeclampsia. Current Opinion in Obstetrics and Gynecology. 2006.

46. Papageorghiou AT, Yu CKH, Erasmus IE, Cuckle HS, Nicolaides KH. Assessment of risk for the development of pre-eclampsia by maternal characteristics and uterine

artery Doppler. BJOG An Int J Obstet Gynaecol. 2005;

47. Papageorghiou AT, Yu CKH, Nicolaides KH. The role of uterine artery Doppler in predicting adverse pregnancy outcome. Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology. 2004.

48. Conde-Agudelo A, Villar J, Lindheimer M. World Health Organization systematic review of screening tests for preeclampsia. Obstetrics and Gynecology. 2004.

49. Sibai BM. Prevention of preeclampsia: A big disappointment. In: American Journal of Obstetrics and Gynecology. 1998.

50. Stamilio DM, Sehdev HM, Morgan MA, Propert K, Macones GA. Can antenatal clinical and biochemical markers predict the development of severe preeclampsia? Am J Obstet Gynecol. 2000;

51. Milne F, Redman C, Walker J, Baker P, Bradley J, Cooper C, et al. The pre-eclampsia community guideline (PRECOG): How to screen for and detect onset of pre-eclampsia in the community. British Medical Journal. 2005.

52. Davey DA, Macgillivray I. The classification and definition of the hypertensive disorders of pregnancy: Proposals submitted to the international society for the study of hypertension in pregnancy. Hypertens Pregnancy. 1986;B5(1):97–133.

53. Hofmeyr GJ, Lawrie TA, Atallah ÁN, Duley L, Torloni MR. Calcium supplementation during pregnancy for preventing hypertensive disorders and related problems. Cochrane Database of Systematic Reviews. 2014.

54. Knight M, Duley L, Henderson-Smart D, King J. Antiplatelet agents for preventing

and treating pre-eclampsia. In: The Cochrane Database of Systematic Reviews. 2000.

55. Roberts JM, Pearson G, Cutler J, Lindheimer M. Summary of the NHLBI Working Group on research on hypertension during pregnancy. Hypertension. 2003;

56. Wilkins MR, Sanchez JC, Gooley AA, Appel RD, Humphery-Smith I, Hochstrasser DF, et al. Progress with proteome projects: Why all proteins expressed by a genome should be identified and how to do it. Biotechnol Genet Eng Rev. 1996;

57. Aebersold R, Mann M. Mass spectrometry-based proteomics. Nature. 2003.

58. Hanash S. Disease proteomics. Nature. 2003.

59. Steen H, Mann M. The ABC's (and XYZ's) of peptide sequencing. Nature Reviews Molecular Cell Biology. 2004.

60. Pando-Robles RV, Lanz-Mendoza H. La importancia de la proteómica en la salud pública. Salud Publica Mex. 2009;

61. Kulasingam V, Diamandis EP. Strategies for discovering novel cancer biomarkers through utilization of emerging technologies. Nature Clinical Practice Oncology. 2008.

62. Ludwig JA, Weinstein JN. Biomarkers in cancer staging, prognosis and treatment selection. Nature Reviews Cancer. 2005.

63. Kanagasabai S. Biochemical markers in the prediction of pre-eclampsia, are we there yet? Internet Journal of Gynecology and Obstetrics. 2010.

64. Briceo-Prez C, Briceo-Sanabria L, Vigil-De Gracia P. Prediction and prevention of

preeclampsia. Hypertens Pregnancy. 2009;

65. T.M. L, S.P. H, W.N. S, S. G. Human pregnancy associated plasma proteins during the postpartum period. American Journal of Obstetrics and Gynecology. 1976.

66. Kalousová M, Zima T, Krane V, März W, Wanner C, Tesarˇ V, et al. Pregnancy-associated plasma protein A associates with cardiovascular events in diabetic hemodialysis patients. Atherosclerosis. 2014;

67. Spencer K, Yu CKH, Cowans NJ, Otigbah C, Nicolaides KH. Prediction of pregnancy complications by first-trimester maternal serum PAPP-A and free β-hCG and with second-trimester uterine artery Doppler. Prenat Diagn. 2005;

68. Smith GCS, Stenhouse EJ, Crossley JA, Aitken DA, Cameron AD, Michael Connor J. Early pregnancy levels of pregnancy-associated plasma protein A and the risk of intrauterine growth restriction, premature birth, preeclampsia, and stillbirth. J Clin Endocrinol Metab. 2002;

69. Zwahlen M, Gerber S, Bersinger NA. First trimester markers for pre-eclampsia: Placental vs. non-placental protein serum levels. Gynecol Obstet Invest. 2007;

70. Muller PR, James AH, Murtha AP, Yonish B, Jamison MG, Dekker G. Circulating angiogenic factors and abnormal uterine artery Doppler velocimetry in the second trimester. Hypertens Pregnancy. 2006;

71. Audibert F, Benchimol Y, Benattar C, Champagne C, Frydman R. Prediction of preeclampsia or intrauterine growth restriction by second trimester serum screening and uterine Doppler velocimetry. Fetal Diagn Ther. 2005;

72. Reyna-Villasmil E, Briceño-Pérez C, Torres-Cepeda D. Marcadores bioquímicos para la predicción de la preeclampsia. Rev Obstet Ginecol Venez. 2010;

73. Roiz-Hernández J, Cabello-Martínez JDJ, Fernández-Mejía M. Human chorionic gonadotropin levels between 16 and 21 weeks of pregnancy and prediction of pre-eclampsia. Int J Gynecol Obstet. 2006;

74. Thadhani R, Mutter WP, Wolf M, Levine RJ, Taylor RN, Sukhatme VP, et al. First Trimester Placental Growth Factor and Soluble Fms-Like Tyrosine Kinase 1 and Risk for Preeclampsia. J Clin Endocrinol Metab. 2004;

75. Ong S, Lash G, Baker PN. Angiogenesis and placental growth in normal and compromised pregnancies. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2000;

76. Cooper JC, Sharkey AM, Charnock-Jones DS, Palmer CR, Smith SK. VEGF mRNA levels in placentae from pregnancies complicated by pre-eclampsia. BJOG An Int J Obstet Gynaecol. 1996;

77. Kim SY, Ryu HM, Yang JH, Kim MY, Han JY, Kim JO, et al. Increased sFlt-1 to PlGF ratio in women who subsequently develop preeclampsia. J Korean Med Sci. 2007;

78. Koga K, Osuga Y, Yoshino O, Hirota Y, Ruimeng X, Hirata T, et al. Elevated serum soluble vascular endothelial growth factor receptor 1 (sVEGFR-1) levels in women with preeclampsia. J Clin Endocrinol Metab. 2003;

79. Chaiworapongsa T, Romero R, Espinoza J, Bujold E, Mee Kim Y, Gonçalves LF, et al. Evidence supporting a role for blockade of the vascular endothelial growth

factor system in the pathophysiology of preeclampsia: Young Investigator Award. In: American Journal of Obstetrics and Gynecology. 2004.

80. Wolf M, Shah A, Lam C, Martinez A, Smirnakis K V., Epstein FH, et al. Circulating levels of the antiangiogenic marker sFLT-1 are increased in first versus second pregnancies. Am J Obstet Gynecol. 2005;

81. Staff AC, Braekke K, Harsem NK, Lyberg T, Holthe MR. Circulating concentrations of sFlt1 (soluble fms-like tyrosine kinase 1) in fetal and maternal serum during pre-eclampsia. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2005;

82. Levine RJ, Lam C, Qian C, Yu KF, Maynard SE, Sachs BP, et al. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. N Engl J Med. 2006;

83. Masuyama H, Nakatsukasa H, Takamoto N, Hiramatsu Y. Correlation between soluble endoglin, vascular endothelial growth factor receptor-1, and adipocytokines in preeclampsia. J Clin Endocrinol Metab. 2007;

84. Akolekar R, Syngelaki A, Sarquis R, Zvanca M, Nicolaides KH. Prediction of early, intermediate and late pre-eclampsia from maternal factors, biophysical and biochemical markers at 11-13 weeks. Prenat Diagn. 2011;

85. Stamatopoulou A, Cowans NJ, Matwejew E, Von Kaisenberg C, Spencer K. Placental protein-13 and pregnancy-associated plasma protein-a as first trimester screening markers for hypertensive disorders and small for gestational age outcomes. Hypertens Pregnancy. 2011;

86. Matsuzaki S, Canis M, Darcha C, Pouly JL, Mage G. HOXA-10 expression in the

mid-secretory endometrium of infertile patients with either endometriosis, uterine fibromas or unexplained infertility. Hum Reprod. 2009;

87. Hu W, Wang Z, Wang H, Huang H, Dong M. Serum visfatin levels in late pregnancy and pre-eclampsia. Acta Obstet Gynecol Scand. 2008;

88. Spencer K, Yu CKH, Rembouskos G, Bindra R, Nicolaides KH. First trimester sex hormone-binding globulin and subsequent development of preeclampsia or other adverse pregnancy outcomes. Hypertens Pregnancy. 2005;

89. Sahraravand M, Järvelä IY, Laitinen P, Tekay AH, Ryynänen M. The secretion of PAPP-A, ADAM12, and PP13 correlates with the size of the placenta for the first month of pregnancy. Placenta. 2011;

90. Leung TN, Chung TKH, Madsen G, Lam CWK, Lam PKW, Walters WAW, et al. Analysis of mid-trimester corticotrophin-releasing hormone and α-fetoprotein concentrations for predicting pre-eclampsia. Hum Reprod. 2000;

91. Wald NJ, Morris JK, Ibison J, Wu T, George LM. Screening in early pregnancy for pre-eclampsia using Down syndrome Quadruple test markers. Prenat Diagn. 2006;

92. Sherif K, Kushner H, Falkner BE. Sex hormone-binding globulin and insulin resistance in African-American women. Metabolism. 1998;

93. Carlsen SM, Romunostad P, Jacobsen G. Early second-trimester maternal hyperandrogenemia and subsequent preeclampsia: A prospective study. Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica. 2005.

94. Wolf M, Sandler L, Muñoz K, Hsu K, Ecker JL, Thadhani R. First trimester insulin

resistance and subsequent preeclampsia: A prospective study. J Clin Endocrinol Metab. 2002;

95. Murphy MM, Scott JM, McPartlin JM, Fernandez-Ballart JD. The pregnancy-related decrease in fasting plasma homocysteine is not explained by folic acid supplementation, hemodilution, or a decrease in albumin in a longitudinal study1-3. Am J Clin Nutr. 2002;

96. Cotter AM, Molloy AM, Scott JM, Daly SF. Elevated plasma homocysteine in early pregnancy: a risk factor for the development of nonsevere preeclampsia. Am J Obstet Gynecol. 2003;

97. Yu C, Lakasing L, Papageorghiou A, Spencer K, Nicolaides K. Uterine artery Doppler and mid-trimester maternal plasma homocysteine in subsequent pre-eclampsia. J Matern Neonatal Med. 2004;

98. Onalan R, Onalan G, Gunenc Z, Karabulut E. Combining 2nd-trimester maternal serum homocysteine levels and uterine artery doppler for prediction of preeclampsia and isolated intrauterine growth restriction. Gynecol Obstet Invest. 2006;

99. D'Anna R, Baviera G, Corrado F, Ientile R, Granese D, Stella NC. Plasma homocysteine in early and late pregnancies complicated with preeclampsia and isolated intrauterine growth restriction. Acta Obstet Gynecol Scand. 2004;

100. Holden DP, Fickling SA, Whitley GS, Nussey SS. Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine, a natural inhibitor of nitric oxide synthase, in normal pregnancy and preeclampsia. Am J Obstet Gynecol. 1998;

101. Savvidou MD, Hingorani AD, Tsikas D, Frölich JC, Vallance P, Nicolaides KH. Endothelial dysfunction and raised plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine in pregnant women who subsequently develop pre-eclampsia. Lancet. 2003;

102. Wallukat G, Homuth V, Fischer T, Lindschau C, Horstkamp B, Jüpner A, et al. Patients with preeclampsia develop agonistic autoantibodies against the angiotensin AT1 receptor. J Clin Invest. 1999;

103. Xia Y, Zhou CC, Ramin SM, Kellems RE. Angiotensin Receptors, Autoimmunity, and Preeclampsia. J Immunol. 2007;

104. Fasshauer M, Waldeyer T, Seeger J, Schrey S, Ebert T, Kratzsch J, et al. Circulating high-molecular-weight adiponectin is upregulated in preeclampsia and is related to insulin sensitivity and renal function. Eur J Endocrinol. 2008;

105. Ramsay JE, Jamieson N, Greer IA, Sattar N. Paradoxical Elevation in Adiponectin Concentrations in Women with Preeclampsia. Hypertension. 2003;

106. Jéquier E. Leptin signaling, adiposity, and energy balance. In: Annals of the New York Academy of Sciences. 2002.

107. Reprod MH-B, 2006 undefined. Leptin in pregnancy. ci.nii.ac.jp [Internet]. [cited 2020 Sep 28]; Available from: https://ci.nii.ac.jp/naid/10022603659/

108. Teppa RJ, Ness RB, Crombleholme WR, Roberts JM. Free leptin is increased in normal pregnancy and further increased in preeclampsia. Metabolism. 2000;

109. Chappell LC, Seed PT, Briley A, Kelly FJ, Hunt BJ, Charnock-Jones DS, et al. A

longitudinal study of biochemical variables in women at risk of preeclampsia. Am J Obstet Gynecol. 2002;

110. L.J. S, C. B, F. A, H. F, M. D, J. T, et al. Severe preeclampsia is associated with high inhibin A levels and normal leptin levels at 7 to 13 weeks into pregnancy. Am J Obstet Gynecol. 2003;

111. Chard T. Insulin-like growth factors and their binding proteins in normal and abnormal human fetal growth. Growth Regulation. 1994.

112. Irwin JC, Giudice LC. Insulin-like growth factor binding protein-1 binds to placental cytotrophoblast α5β1 integrin and inhibits cytotrophoblast invasion into decidualized endometrial stromal cultures. Growth Horm IGF Res. 1998;

113. Giudice LC, Martina NA, Crystal RA, Tazuke S, Druzin M, Roberts JM, et al. Insulin-like growth factor binding protein-1 at the maternal-fetal interface and insulin-like growth factor-I, insulin-like growth factor-II, and insulin-like growth factor binding protein-1 in the circulation of women with severe preeclampsia. Am J Obstet Gynecol. 1997;

114. Anim-Nyame N, Hills FA, Sooranna SR, Steer PJ, Johnson MR. A longitudinal study of maternal plasma insulin-like growth factor binding protein-1 concentrations during normal pregnancy and pregnancies complicated by pre-eclampsia. Hum Reprod. 2000;

115. Powers RW, Bodnar LM, Ness RB, Cooper KM, Gallaher MJ, Frank MP, et al. Uric acid concentrations in early pregnancy among preeclamptic women with gestational hyperuricemia at delivery. Am J Obstet Gynecol. 2006;

116. Lam C, Lim KH, Kang DH, Karumanchi SA. Uric acid and preeclampsia. Semin Nephrol. 2005;

117. Roberts JM, Bodnar LM, Lain KY, Hubel CA, Markovic N, Ness RB, et al. Uric acid is as important as proteinuria in identifying fetal risk in women with gestational hypertension. Hypertension. 2005;

118. Atallah AN, Hofmeyr GJ, Duley L, Atallah AN, Hofmeyr GJ, Duley L. Calcium supplementation during pregnancy for preventing hypertensive disorders and related problems.[update in Cochrane Database Syst Rev. 2006;3:CD001059; PMID: 16855957][update of Cochrane Database Syst Rev. 2000;(3):CD001059; PMID: 10908483]. Cochrane Database Syst Rev. 2002;

119. Thadhani R, Stampfer MJ, Hunter DJ, Manson JE, Solomon CG, Curhan GC. High body mass index and hypercholesterolemia: Risk of hypertensive disorders of pregnancy. Obstet Gynecol. 1999;

120. Anderson U, Olsson M, … SR-A journal of, 2011 undefined. Fetal hemoglobin and α1-microglobulin as first-and early second-trimester predictive biomarkers for preeclampsia. Elsevier [Internet]. [cited 2020 Sep 28]; Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002937811001517

121. SATTAR N, BENDOMIR A, BERRY C, SHEPHERD J, GREER I, PACKARD C. Lipoprotein subfraction concentrations in preeclampsia: Pathogenic parallels to atherosclerosis. Obstet Gynecol. 1997;

122. Belo L, Gaffney D, Caslake M, Santos-Silva A, Pereira-Leite L, Quintanilha A, et al. Apolipoprotein e and cholesteryl ester transfer protein polymorphisms in normal

and preeclamptic pregnancies. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2004;

123. Francoual J, Audibert F, Claise C, Chalas J, Trioche P, Frydman R, et al. Implication of Apolipoprotein E and the L-arginine-nitric oxide system in preeclampsia. Hypertens Pregnancy. 1999;

124. Clifton VL, Crompton R, Read MA, Gibson PG, Smith R, Wright IMR. Microvascular effects of corticotropin-releasing hormone in human skin vary in relation to estrogen concentration during the menstrual cycle. J Endocrinol. 2005;

125. Florio P, Severi FM, Ciarmela P, Fiore G, Calonaci G, Merola A, et al. Placental stress factors and maternal-fetal adaptive response: The corticotropin-releasing factor family. Endocrine. 2002;

126. Perkins A V., Linton EA, Eben F, Simpson J, Wolfe CDA, Redman CWG. Corticotrophin-releasing hormone and corticotrophin- releasing hormone binding protein in normal and pre-eclamptic human pregnancies. BJOG An Int J Obstet Gynaecol. 1995;

127. Byrne BM, Crowley A, Taulo F, Anthony J, O'Leary JJ, O'Herlihy C. Fetal DNA Quantitation in Peripheral Blood Is Not Useful as a Marker of Disease Severity in Women with Preeclampsia. Hypertens Pregnancy. 2003;

128. Holzgreve W, Ghezzi F, Di Naro E, GäNshirt D, Maymon E, Hahn S. Disturbed feto-maternal cell traffic in preeclampsia. Obstet Gynecol. 1998;

129. Holzgreve W, Li JC, Steinborn A, Külz T, Sohn C, Hodel M, et al. Elevation in erythroblast count in maternal blood before the onset of preeclampsia. Am J Obstet

Gynecol. 2001;

130. Al-Mufti R, Hambley H, Albaiges G, Lees C, Nicolaides KH. Increased fetal erythroblasts in women who subsequently develop pre-eclampsia. Hum Reprod. 2000;

131. Kale A, Kale E, Yalinkaya A, Akdeniz N, Canoruç N. The comparison of amino-terminal probrain natriuretic peptide levels in preeclampsia and normotensive pregnancy. J Perinat Med. 2005;

132. Resnik JL, Hong C, Resnik R, Kazanegra R, Beede J, Bhalla V, et al. Evaluation of B-type natriuretic peptide (BNP) levels in normal and preeclamptic women. Am J Obstet Gynecol. 2005;

133. Poon LCY, Kametas N, Bonino S, Vercellotti E, Nicolaides KH. Urine albumin concentration and albumin-to-creatinine ratio at 11 +0 to 13+6 weeks in the prediction of pre-eclampsia. BJOG An Int J Obstet Gynaecol. 2008;

134. Côté AM, Brown MA, Lam E, Von Dadelszen P, Firoz T, Liston RM, et al. Diagnostic accuracy of urinary spot protein:creatinine ratio for proteinuria in hypertensive pregnant women: Systematic review. BMJ. 2008;

135. Saleh S, Antoniou A, Harrington K, Aquilina J. Second trimester maternal serum cystatin C levels in preeclamptic and normotensive pregnancies: A small case-control study. Hypertens Pregnancy. 2010;

136. Rasanen J, Quinn MJ, Laurie A, Bean E, Roberts CT, Nagalla SR, et al. Maternal serum glycosylated fibronectin as a point-of-care biomarker for assessment of

preeclampsia. Am J Obstet Gynecol. 2015;

137. Kar M. Role of biomarkers in early detection of preeclampsia. J Clin Diagnostic Res. 2014;

138. Roberts JM, Taylor RN, Musci TJ, Rodgers GM, Hubel CA, McLaughlin MK. Preeclampsia: An endothelial cell disorder. Am J Obstet Gynecol. 1989;

139. Gathiram P, Moodley J. Pre-eclampsia: Its pathogenesis and pathophysiolgy. Cardiovascular Journal of Africa. 2016.

140. Perez-Sepulveda A, Torres MJ, Khoury M, Illanes SE. Innate immune system and preeclampsia. Frontiers in Immunology. 2014.

141. Redman CWG, Sargent IL. Immunology of Pre-Eclampsia. American Journal of Reproductive Immunology. 2010.

142. Fisher SJ. Why is placentation abnormal in preeclampsia? American Journal of Obstetrics and Gynecology. 2015.

143. EL ORIGEN DE LA PREECLAMPSIA Y LA ECLAMPSIA: LA PLACENTACIÓN. Rev Peru Ginecol y Obstet. 2006;

144. Valenzuela FJ, Pérez-Sepúlveda A, Torres MJ, Correa P, Repetto GM, Illanes SE. Pathogenesis of preeclampsia: The genetic component. Journal of Pregnancy. 2012.

145. Haram K, Mortensen JH, Nagy B. Genetic aspects of preeclampsia and the hellp syndrome. Journal of Pregnancy. 2014.

146. Bartsch E, Medcalf KE, Park AL, Ray JG, Al-Rubaie ZTA, Askie LM, et al. Clinical

risk factors for pre-eclampsia determined in early pregnancy: Systematic review and meta-analysis of large cohort studies. BMJ. 2016;

147. Keightley JA, Anitori R, Burton MD, Quan F, Buist NRM, Kennaway NG. Mitochondrial encephalomyopathy and complex III deficiency associated with a stop-codon mutation in the cytochrome b gene. Am J Hum Genet. 2000;

148. Dunk C, Pinnaduwage L, Zhang J, Lye SJ, Geraghty D, Hackmon R. The Placental Expression of Human Leukocyte Antigen HLA-G, HLA-C and HLA-Fin Severe Preeclampsia and Labor. Placenta. 2017;

149. Walsh SW. Obesity: a risk factor for preeclampsia. Trends Endocrinol Metab. 2007;

150. Wolf M, Kettyle E, Sandler L. Obesity and preeclampsia: The potential role of inflammation. Obstet Gynecol. 2001;

151. Ødegård RA, Vatten LJ, Nilsen ST, Salvesen KÅ, Austgulen R. Preeclampsia and fetal growth. Obstet Gynecol. 2000;

152. Rasmussen S, Irgens LM. Fetal growth and body proportion in preeclampsia. Obstet Gynecol. 2003;

153. Powe CE, Levine RJ, Karumanchi SA. Preeclampsia, a Disease of the Maternal Endothelium. Circulation. 2011;

154. Burton GJ, Jauniaux E, Charnock-Jones DS. The influence of the intrauterine environment on human placental development. Int J Dev Biol. 2010;

155. Chi L, Ahmed A, Roy AR, Vuong S, Cahill LS, Caporiccio L, et al. G9a controls placental vascular maturation by activating the Notch Pathway. Dev. 2017;

156. Chim SSC, Lee WS, Ting YH, Chan OK, Lee SWY, Leung TY. Systematic identification of spontaneous preterm birth-associated RNA transcripts in maternal plasma. PLoS One. 2012;

157. Lambert B, Vandeputte J, Remacle S, Bergiers I, Simonis N, Twizere JC, et al. Protein interactions of the transcription factor Hoxa1. BMC Dev Biol. 2012;

158. Quinonez SC, Innis JW. Human HOX gene disorders. Molecular Genetics and Metabolism. 2014.

159. Carroll SB. Homeotic genes and the evolution of arthropods and chordates. Nature. 1995;

160. Aplin JD, Ruane PT. Embryo-epithelium interactions during implantation at a glance. J Cell Sci. 2017;

161. Lim H. Hoxa-10 Regulates Uterine Stromal Cell Responsiveness to Progesterone during Implantation and Decidualization in the Mouse. Mol Endocrinol. 1999;

162. Kosinski J, Mosalaganti S, Von Appen A, Teimer R, Diguilio AL, Wan W, et al. Molecular architecture of the inner ring scaffold of the human nuclear pore complex. Science (80-). 2016;

163. Nofrini V, DI Giacomo D, Mecucci C. Nucleoporin genes in human diseases. European Journal of Human Genetics. 2016.

164. Guffanti E, Kittur N, Brodt ZN, Polotsky AJ, Kuokkanen SM, Heller DS, et al. Nuclear pore complex proteins mark the implantation window in human endometrium. J Cell Sci. 2008;

165. Sood V, Brickner JH. Nuclear pore interactions with the genome. Current Opinion in Genetics and Development. 2014.

166. Sachdev R, Sieverding C, Flötenmeyer M, Antonin W. The C-terminal domain of Nup93 is essential for assembly of the structural backbone of nuclear pore complexes. Mol Biol Cell. 2012;

167. Schneider H. Placental Dysfunction as a Key Element in the Pathogenesis of Preeclampsia. Dev period Med. 2017;

168. Zhou HJ, Xu Z, Wang Z, Zhang H, Simons M, Min W. SUMOylation of VEGFR2 regulates its intracellular trafficking and pathological angiogenesis. Nat Commun. 2018;

169. Hang J, Dasso M. Association of the human SUMO-1 protease SENP2 with the nuclear pore. J Biol Chem. 2002;

170. Goeres J, Chan PK, Mukhopadhyay D, Zhang H, Raught B, Matunis MJ. The SUMO-specific isopeptidase SENP2 associates dynamically with nuclear pore complexes through interactions with karyopherins and the Nup107-160 nucleoporin subcomplex. Mol Biol Cell. 2011;

171. Erez O, Romero R, Espinoza J, Fu W, Todem D, Kusanovic JP, et al. The change in concentrations of angiogenic and anti-angiogenic factors in maternal plasma between the first and second trimesters in risk assessment for the subsequent development of preeclampsia and small-for-gestational age. J Matern Neonatal Med. 2008;

172. Weissgerber TL, Mudd LM. Preeclampsia and Diabetes. Current Diabetes Reports. 2015.

173. Wilkinson KA, Henley JM. Mechanisms, regulation and consequences of protein SUMOylation. Biochemical Journal. 2010.

174. Korr D, Toschi L, Donner P, Pohlenz HD, Kreft B, Weiss B. LRRK1 protein kinase activity is stimulated upon binding of GTP to its Roc domain. Cell Signal. 2006;

175. Das SK, Tsukamura H, Paria BC, Andrews GK, Dey SK. Differential expression of epidermal growth factor receptor (EGF-R) gene and regulation of EGF-R bioactivity by progesterone and estrogen in the adult mouse uterus. Endocrinology. 1994;

176. Paria BC, Das SK, Mead RA, Dey SK. Expression of epidermal growth factor receptor in the preimplantation uterus and blastocyst of the western spotted skunk. Biol Reprod. 1994;

177. Qian Y, Lu Y, Rui C, Qian Y, Cai M, Jia R. Potential Significance of Circular RNA in Human Placental Tissue for Patients with Preeclampsia. Cell Physiol Biochem. 2016;

178. Dachsel JC, Nishioka K, Vilariño-Güell C, Lincoln SJ, Soto-Ortolaza AI, Kachergus J, et al. Heterodimerization of Lrrk1-Lrrk2: Implications for LRRK2-associated Parkinson disease. Mech Ageing Dev. 2010;

179. Ijomone OK, Shallie P, Naicker T. Changes in the structure and function of the brain years after Pre-eclampsia. Ageing Research Reviews. 2018.

180. Fields JA, Garovic VD, Mielke MM, Kantarci K, Jayachandran M, White WM, et al.

Preeclampsia and cognitive impairment later in life. Am J Obstet Gynecol. 2017;

181. Bowen JM, Chamley L, Mitchell MD, Keelan JA. Cytokines of the placenta and extra-placental membranes: Biosynthesis, secretion and roles in establishment of pregnancy in women. Placenta. 2002.

182. Bowen JM, Chamley L, Keelan JA, Mitchell MD. Cytokines of the placenta and extra-placental membranes: Roles and regulation during human pregnancy and parturition. Placenta. 2002.

183. Rusterholz C, Hahn S, Holzgreve W. Role of placentally produced inflammatory and regulatory cytokines in pregnancy and the etiology of preeclampsia. Seminars in Immunopathology. 2007.

184. Sargent IL, Borzychowski AM, Redman CWG. Immunoregulation in normal pregnancy and pre-eclampsia: An overview. Reprod Biomed Online. 2006;

185. Gerard C. 10 workshops on Immunology of preeclampsia. In: Journal of Reproductive Immunology. 2017.

186. Morimoto K, Baba Y, Shinohara H, Kang S, Nojima S, Kimura T, et al. LRRK1 is critical in the regulation of B-cell responses and CARMA1-dependent NF-κB activation. Sci Rep. 2016;

187. Eledel R, Bassuoni M, Radwan W, Masoud A, Eldeeb S. CD19 + CD5 + B-cell expansion and risk of pre-eclampsia . Menoufia Med J. 2016;

188. Granger JP, Alexander BT, Llinas MT, Bennett WA, Khalil RA. Pathophysiology of hypertension during preeclampsia linking placental ischemia with endothelial

dysfunction. Hypertension. 2001;

189. Bjorkman PJ, Saper MA, Samraoui B, Bennett WS, Strominger JL, Wiley DC. The foreign antigen binding site and T cell recognition regions of class I histocompatibility antigens. Nature. 1987;

190. Hackmon R, Pinnaduwage L, Zhang J, Lye SJ, Geraghty DE, Dunk CE. Definitive class I human leukocyte antigen expression in gestational placentation: HLA-F, HLA-E, HLA-C, and HLA-G in extravillous trophoblast invasion on placentation, pregnancy, and parturition. Am J Reprod Immunol. 2017;

191. Ferreira LMR, Meissner TB, Tilburgs T, Strominger JL. HLA-G: At the Interface of Maternal–Fetal Tolerance. Trends in Immunology. 2017.

192. Small HY, Akehurst C, Sharafetdinova L, McBride MW, McClure JD, Robinson SW, et al. HLA gene expression is altered in whole blood and placenta from women who later developed preeclampsia. Physiol Genomics. 2017;

193. Roberts JM, Hubel CA. The Two Stage Model of Preeclampsia: Variations on the Theme. Placenta. 2009;

194. Bours MJL, Swennen ELR, Di Virgilio F, Cronstein BN, Dagnelie PC. Adenosine 5′-triphosphate and adenosine as endogenous signaling molecules in immunity and inflammation. Pharmacology and Therapeutics. 2006.

195. Bakker WW, Donker RB, Timmer A, Van Pampus MG, Van Son WJ, Aarnoudse JG, et al. Plasma hemopexin activity in pregnancy and preeclampsia. Hypertens Pregnancy. 2007;

196. Gerasimovskaya E V., Woodward HN, Tucker DA, Stenmark KR. Extracellular ATP is a pro-angiogenic factor for pulmonary artery vasa vasorum endothelial cells. Angiogenesis. 2008;

197. Iyer SS, Pulskens WP, Sadler JJ, Butter LM, Teske GJ, Ulland TK, et al. Necrotic cells trigger a sterile inflammatory response through the Nlrp3 inflammasome. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009;

198. Gödecke S, Roderigo C, Rose CR, Rauch BH, Gödecke A, Schrader J. Thrombin-induced ATP release from human umbilical vein endothelial cells. Am J Physiol - Cell Physiol. 2012;

199. Yegutkin GG. Nucleotide- and nucleoside-converting ectoenzymes: Important modulators of purinergic signalling cascade. Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research. 2008.

200. Redman CWG, Staff AC. Preeclampsia, biomarkers, syncytiotrophoblast stress, and placental capacity. Am J Obstet Gynecol. 2015;

201. Redman CWG, Sargent IL. Placental debris, oxidative stress and pre-eclampsia. Placenta. 2000;

202. Holland OJ, Cuffe JSM, Dekker Nitert M, Callaway L, Kwan Cheung KA, Radenkovic F, et al. Placental mitochondrial adaptations in preeclampsia associated with progression to term delivery. Cell Death Dis. 2018;

203. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. World Allergy Organization Journal. 2012.

204. Marengo B, Nitti M, Furfaro AL, Colla R, Ciucis C De, Marinari UM, et al. Redox homeostasis and cellular antioxidant systems: Crucial players in cancer growth and therapy. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2016.

205. Youle RJ, Van Der Bliek AM. Mitochondrial fission, fusion, and stress. Science. 2012.

206. Ishii N, Fujii M, Hartman PS, Tsuda M, Yasuda K, Senoo-Matsuda N, et al. A mutation in succinate dehydrogenase cytochrome b causes oxidative stress and ageing in nematodes. Nature. 1998;

207. E. G, Akurati L, Radhika K. Early onset and late onset preeclampsia-maternal and perinatal outcomes in a rural teritiary health center. Int J Reprod Contraception, Obstet Gynecol. 2018;

208. Sohlberg S, Mulic-Lutvica A, Lindgren P, Ortiz-Nieto F, Wikström AK, Wikström J. Placental perfusion in normal pregnancy and early and late preeclampsia: A magnetic resonance imaging study. Placenta. 2014;

209. F. L, C. M-S, J. R, A. R, J. Y. A lesson for cancer research: Placental microarray gene analysis in preeclampsia. Oncotarget. 2012;

CAPÍTULO 11
Resumen Autobiográfico

CAPÍTULO 11

RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

Dr. Guillermo Jacobo Baca

Candidato para el grado de Doctor en Medicina

Tesis: Determinación de potenciales biomarcadores de preeclampsia en etapas tempranas del embarazo mediante un análisis proteómico.

Campo de Estudio: Ciencias de la Salud (Ginecologia y Obstetricia/ Genetica)

Biografia

Datos Personales: Nacio en Tuxpan de Rodriguez Cano en el estado de Veracruz de Ignacio de la Llave el dia 2 de Agosto de 1977.

Estudios de Licenciatura: Médico Cirujano y Partero, egresado de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México. Periodo 1995 a 2001.

Estudios de Postgrado: Especialidad en Ginecología y Obstetricia Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México. Periodo 2003 a 2007.

Docencia: Profesor del Departamento de Anatomía Humana desde el 2001 a la fecha. Actualmente profesor Asociado “A” de Tiempo Completo. Perfil Promep desde Julio del 2013 a la fecha.

Administrativo: Coordinador académico del Departamento de Anatomía Humana. Coordinador del Grupo de Investigación en Anatomía del Sistema Reproductivo del Departamento de Anatomía Humana de la Facultad de Medicina de la UANL. Secretario de Asuntos Estudiantiles de la Facultad de Medicina de la UANL.

Práctica clínica: Oca Medical Center Consultorio 202. Certificado por el Consejo Mexicano de Ginecología y Obstetricia desde el 2007.