

Universidad Autónoma de Baja California

FACULTAD DE MEDICINA MEXICALI



“Evaluación de las proteínas Isthmin 1 (ISM1) e Isthmin 2 (ISM2)
como biomarcadores en preeclampsia”

Trabajo terminal para obtener el Diploma de Especialidad en
GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

PRESENTA

Cynthia Martínez Reyes

Mexicali B.C. México, 20 de Abril del 2018

Universidad Autónoma de Baja California

FACULTAD DE MEDICINA MEXICALI

“Evaluación de las proteínas Isthmin 1 (ISM1) e Isthmin 2 (ISM2)
como biomarcadores en preeclampsia”

Presenta

Cynthia Martínez Reyes

Asesor del trabajo terminal

Dra. Marina Montañez Hinojosa

Médico Ginecólogo y Obstetra

Hospital Materno Infantil

Mexicali, B.C. México

Asesor metodológico

Dr. Raúl Díaz Molina

Coordinador de Posgrado e Investigación

Facultad de Medicina

Universidad Autónoma de Baja California

Mexicali, B.C. México

Mexicali B.C. México, 20 de Abril del 2018

Agradecimiento

A la paciente obstétrica, porque con su dolor nos enseña de medicina, nos enseña de humanismo, nos enseña la vida y nos enseña de muerte.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN	ix
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Antecedentes	1
1.2 Proyecto Genoma Humano (PGH)	2
CAPÍTULO 2. MARCO TEÓRICO	3
2.1 Familia de los genes isthmin (ISM)	3
2.2 Características del gen ISM1	3
2.3 Características del gen ISM2	6
2.4 Placenta	8
2.5 Enfermedad hipertensiva del embarazo (EHE)	9
2.5.1 Preeclampsia-eclampsia	9
2.5.2 Criterios diagnósticos de preeclampsia	10
2.5.3 Eclampsia	12
2.5.4 Hipertensión crónica	13
2.5.5 Hipertensión crónica con preeclampsia sobreagregada	13
2.5.6 Hipertensión gestacional	14
2.5.7 Etiología de la preeclampsia	14
2.5.8 Desequilibrio angiogénico en preeclampsia	14
2.5.9 Preeclampsia y estrés oxidativo	16
2.6 Planteamiento del Problema	18
2.6.1 Pregunta de Investigación	19
2.7 Justificación	19
2.8 Objetivos	20
2.8.1 Objetivo general	20
2.8.2 Objetivos específicos	20
2.9 Hipótesis	21
2.9.1 Hipótesis Nula	21
2.9.2 Hipótesis Alternativa	21

CAPÍTULO 3. MATERIALES Y MÉTODOS	22
3.1 Diseño del estudio	22
3.2. Selección de las pacientes	22
3.2.1 Criterios de inclusión	22
3.2.2 Criterios de exclusión	22
3.3 Grupo control	22
3.4 Método de muestreo	23
3.5 Población y muestra	23
3.6 Instrumentos y procedimientos	23
3.6.1 Obtención de la muestra	23
3.6.2 Cuantificación sérica de ISM1 e ISM2	24
3.7 Variables	24
3.7.1 Independiente	24
3.7.2 Dependiente	24
3.8 Plan de análisis	24
3.9 Aspectos éticos, normativos y de seguridad	25
CAPÍTULO 4. RESULTADOS	26
4.1 Niveles séricos de la proteína ISM1 en preeclampsia	28
4.2 Niveles séricos de la proteína ISM1 en hipertensión gestacional	29
4.3 Niveles séricos de la proteína ISM2 en preeclampsia	30
4.4 Niveles séricos de la proteína ISM2 en hipertensión gestacional	31
CAPÍTULO 5. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	32
5.1 Discusión	32
5.2 Conclusiones	35
CAPÍTULO 6. REFERENCIAS	36
ANEXOS	50
Anexo 1. Lista de abreviaturas	50
Anexo 2. Carta de consentimiento informado	51
Anexo 3. Formato de historia clínica	52

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Sitios de mayor expresión del gen ISM1 en humanos	4
Tabla 2. Sitios de mayor expresión del gen ISM2 en humanos	6
Tabla 3. Criterios diagnósticos de preeclampsia	11
Tabla 4. Datos de severidad de preeclampsia	12
Tabla 5. Características maternas y perinatales de pacientes y controles	26
Tabla 6. Resultados de laboratorios de pacientes y controles	27

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Localización del gen ISM1 en el cromosoma humano 20	3
Figura 2. Localización del gen ISM2 en el cromosoma humano 14	3
Figura 3. Perfil de expresión del gen ISM1 en el cuerpo humano	4
Figura 4. Estructura de la proteína ISM1	5
Figura 5. Perfil de expresión del gen ISM2 en el cuerpo humano	6
Figura 6. RCP punto final de la expresión del gen ISM2 en tejidos humanos	7
Figura 7. Estructura de la proteína ISM2	7
Figura 8. Perfil de expresión del gen ISM2 en enfermedades	8
Figura 9. Niveles séricos de la proteína ISM1 en preeclampsia y grupo control	28
Figura 10. Niveles séricos de la proteína ISM1 en hipertensión gestacional y grupo control	29
Figura 11. Niveles séricos de la proteína ISM2 en preeclampsia y grupo control	30
Figura 12. Niveles séricos de la proteína ISM2 en hipertensión gestacional y grupo control	31

RESUMEN

Introducción: La preeclampsia es una patología específica del embarazo, multisistémica, de etiología desconocida y fisiopatología poco entendida. Representa la primera causa de mortalidad materna, con aumento de la morbilidad perinatal a nivel mundial. El único tratamiento que suprime la enfermedad es la interrupción del embarazo, por lo que lo más aceptado es que la placenta sea el órgano central en su patogénesis, que genera un desequilibrio entre factores angiogénicos y antiangiogénicos. En este contexto, resulta interesante estudiar a las proteínas Isthmin 1 (ISM1) e Isthmin 2 (ISM2), las cuales son expresadas y secretadas por la placenta bajo condiciones normales, y de las que al menos ISM1 es un factor con función dual en la angiogénesis (antiangiogénico y angiogénico). No existe ningún reporte en la literatura que haya investigado las proteínas ISM1 e ISM2 en pacientes con preeclampsia. **Objetivo:** Comparar los niveles séricos de las proteínas ISM1 e ISM2 en pacientes con preeclampsia, hipertensión gestacional y embarazo normoevolutivo. **Material y métodos:** Estudio clínico, descriptivo, transversal, analítico que incluyó pacientes que ingresaron al Hospital Materno Infantil de Mexicali, B.C., con un embarazo mayor a 20 semanas con diagnóstico de preeclampsia y de hipertensión gestacional. El grupo control lo integraron pacientes con embarazo normoevolutivo mayor a 20 semanas sin comorbilidades. Se obtuvieron muestras de sangre y se midieron las concentraciones séricas de las proteínas ISM1 e ISM2 mediante un ensayo inmunoenzimático. **Resultados:** Se incluyeron un total de 81 pacientes, 30 con preeclampsia, 21 con hipertensión gestacional y 30 controles. La proteína ISM2 se encontró disminuida únicamente y de manera significativamente en pacientes con preeclampsia en comparación con el grupo control ($P=0.036$). La proteína ISM1, no mostró diferencia significativa en ninguno de los tres grupos. **Conclusiones:** Este es el primer trabajo que estudia las proteínas ISM1 e ISM2 en pacientes con preeclampsia. La proteína ISM2 representa una nueva proteína proangiogénica, nunca antes descrita. Nuestros hallazgos abren la posibilidad de nuevos estudios que nos permitan elucidar la participación de la proteína ISM2 en el desarrollo de preeclampsia.

CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

La preeclampsia es un síndrome específico del embarazo, multisistémico, caracterizado por una reducción de la perfusión tisular generada por vasoespasmo y activación de los sistemas de coagulación¹. Se presenta después de la semana 20 de la gestación, durante el parto o -menos frecuente- en el puerperio.

En nuestro país y en países desarrollados representa la primera causa de muerte materna, y se asocia con un aumento de 20 veces en la mortalidad perinatal². La incidencia estimada según la Organización Mundial de la Salud (OMS) es del 5 al 15% y se registran entre 70,000 a 80,000 muertes maternas con 500,000 muertes perinatales anualmente de manera global³⁻⁴.

La etiología de la preeclampsia es desconocida, sin embargo, lo más aceptado es que la placenta sea el órgano central en su patogénesis⁵, ya que solo la eliminación de la placenta suprime la enfermedad. De hecho, sólo la placenta y no el feto se requiere para su desarrollo⁵⁻⁷. Muchas líneas de investigación continúan apoyando la hipótesis de que la preeclampsia resulta de la liberación de factores placentarios a la circulación, que lleva a su vez a una disfunción endotelial materna. Desde esta perspectiva, la enfermedad se caracteriza por la disfunción endotelial de todo el sistema materno y del lecho placentario, debido a un desequilibrio de los factores que promueven la angiogénesis normal a favor de factores antiangiogénicos⁸⁻¹¹.

El estrés oxidativo se ha propuesto como uno de los factores humorales claves generados por la placenta disfuncional¹²⁻¹³, el cual induce la adhesión de leucocitos y plaquetas al endotelio, así como la liberación de citocinas y factores antiangiogénicos¹⁴. En general, el deterioro de la homeostasis circulatoria es causada principalmente por la disfunción endotelial vascular. La consecuencia de este daño endotelial, es el aumento de la permeabilidad vascular, pérdida de la

capacidad vasodilatadora por alteración enzimática para síntesis normal del óxido nítrico, seguido de estrés oxidativo en todos los endotelios maternos y placentarios, con estímulo del sistema renina-angiotensina, aumento de la resistencia periférica y finalmente vasoconstricción generalizada con afección multiorgánica.

1.2 Proyecto Genoma Humano (PGH)

El PGH fue una colaboración internacional de una duración de 13 años (1990-2003), que permitió la secuenciación completa del genoma humano. De acuerdo a lo encontrado, el ADN humano contiene alrededor de 23,000 genes distintos y más de 3,000,000,000 de pares de bases (pb)¹⁵⁻¹⁷.

El conocimiento de la secuencia completa del genoma humano vino a revolucionar los estudios de biomedicina y genética clínica y permitió la asociación de genes específicos con enfermedades poco comprendidas, aceleró el desarrollo de nuevas medicinas, y mejoró los diagnósticos moleculares. A pesar de lo anterior, se desconoce la función de la mayor parte de los genes, por lo que la prioridad actual de la comunidad científica es caracterizar y definir las funciones de los genes en salud y enfermedad¹⁷.

CAPÍTULO 2

MARCO TEÓRICO

2.1 Familia de los genes isthmin (ISM)

Isthmin (ISM) representa una familia de genes recientemente descubiertos y que codifican para proteínas de secreción^{18,19}. El nombre isthmin hace referencia a que el primer miembro de esta familia se describió por su alta expresión en el cerebro de *Xenopus*, en una región llamada istmo, motivo por el cual se le asignó el nombre de isthmin¹⁸. En el genoma humano hay dos genes ISM: isthmin 1 (ISM1) e isthmin 2 (ISM2)²⁰. El gen ISM1 se localiza en el cromosoma 20 (figura 1), mientras que el gen ISM2 se localiza en el cromosoma 14 (figura 2).

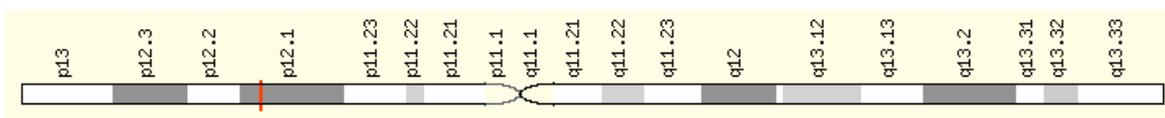


Figura 1. Localización del gen ISM1 en el cromosoma humano 20. El gen ISM1 se localiza en la subbanda 1 de la banda 2 de la región 1 del brazo corto del cromosoma 20 (20p12.1), identificado en la figura con una línea roja²¹.

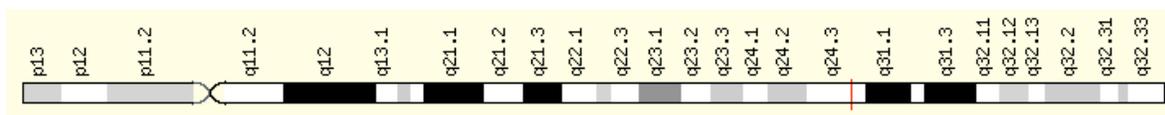


Figura 2. Localización del gen ISM2 en el cromosoma humano 14. El gen ISM2 se localiza en la subbanda 3 de la banda 4 de la región 2 del brazo largo del cromosoma 14 (14q24.3), identificado en la figura con una línea roja²².

2.2 Características del gen ISM1

Recientemente publicamos la expresión del gen ISM1 en humanos²⁰ y mostramos que los sitios de mayor expresión son pericardio, tejido sinovial, glándula tiroides, y placenta en el cuarto lugar (Tabla 1, Figura 3). Posteriormente, se encuentra en mucosa oral, en células mononucleares de sangre periférica activadas (CMSPa),

en glándula mamaria, en piel y en linfocitos T CD4+ activados, así como también en hígado en el lugar número 15.

Tabla 1. Sitios de mayor expresión del gen ISM1 en humanos

Orden	Sitio	Expresión relativa
1	Pericardio	292
2	Tejido sinovial	229
3	Glándula tiroides	182
4	Placenta	162
5	Mucosa oral	162
6	CMSP activadas	159
7	Glándula mamaria	110
8	Piel	105
9	Linfocitos T CD4 ⁺ activados	103
10	Tráquea	99

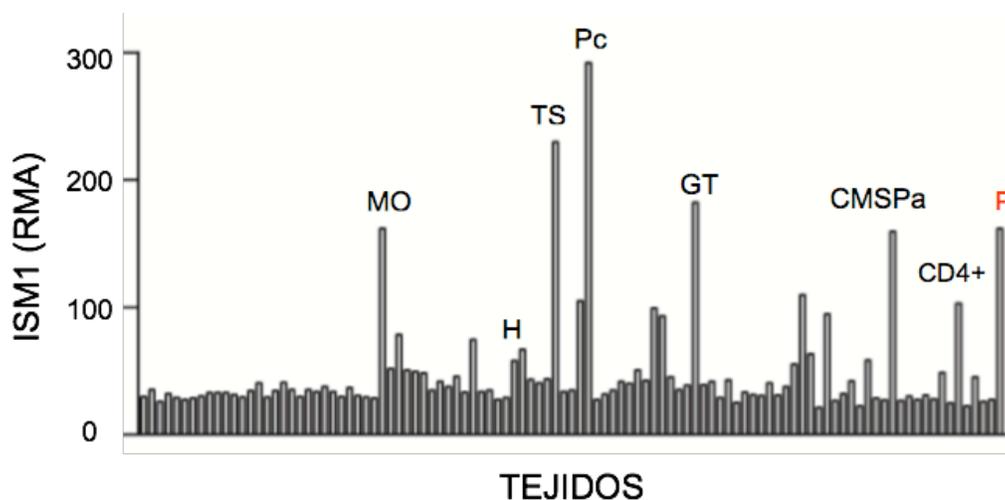


Figura 3. Perfil de expresión del gen ISM1 en el cuerpo humano. Microarreglos de ADN muestran valores normalizados por promedio de multichip robusto (RMA) de la expresión del gen ISM1 en el cuerpo humano. Pc = pericardio, TS = tejido sinovial, GT = glándula tiroides, P = placenta, MO = mucosa oral, CMSPa = células mononucleares de sangre periférica activadas, CD4+ = linfocitos T CD 4+ activados, H = hígado²⁰.

El gen ISM1 codifica para una proteína de secreción de aproximadamente 50 kDa que contiene en su estructura un péptido señal, un dominio trombospondina tipo 1 (TSP1) localizado en el centro de la proteína y un dominio de adhesión asociado en MUC4 y otras proteínas (AMOP, del inglés *adhesion associated domain in MUC4 and other proteins*) el cual se localiza en la región C-terminal de la proteína¹⁸⁻²⁰.

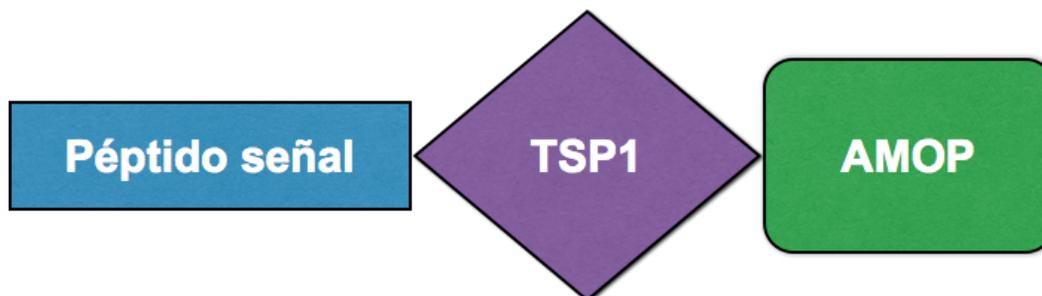


Figura 4. Estructura de la proteína ISM1. Se muestra el péptido señal, el dominio TSP1 en el centro de la proteína y el dominio AMOP en la región C-terminal.

El dominio TSP1 forma parte de la estructura de proteínas inhibitoras de la angiogénesis²³. Por otro lado, el dominio AMOP está presente en proteínas antagonistas de la agregación plaquetaria, en proteínas de secreción involucradas en el sistema inmune y se observó su participación en mecanismos de adhesión celular²⁴. Por motivo de su estructura, trabajos previos centraron su investigación en la potencial función de ISM1 en la angiogénesis, encontrando que es una proteína con actividad antiangiogénica²⁵⁻²⁷. ISM1 inhibió significativamente la proliferación de células endoteliales inducida por el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF, del inglés *vascular endothelial growth factor*) de una manera dosis-dependiente. Del mismo modo, otro potente factor de crecimiento angiogénico el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF, del inglés *fibroblast growth factor*) fue inhibido ante la presencia de ISM1²⁵. Interesantemente, ISM1 también exhibe propiedades proangiogénicas, de acuerdo al estado físico en que se encuentre la proteína²⁶. ISM1 inmovilizada en el endotelio, pierde su función antiangiogénica y en su lugar promueve la adhesión, supervivencia y migración de células endoteliales a través de la integrina $\alpha V\beta 5$. ISM1 tiene función dual en la angiogénesis (antiangiogénica y angiogénica)²⁶⁻²⁷.

2.3 Características del gen ISM2

El gen ISM2 muestra su expresión más alta en placenta^{19,20,30} y en menor cantidad en otros tejidos como riñón, cerebro, páncreas, músculo esquelético, corazón y pulmones (Tabla 2, Figura 5 y 6)¹⁹.

Tabla 2. Sitios de mayor expresión del gen ISM2 en humanos

Orden	Sitio	Expresión relativa
1	Placenta	0.79
2	Riñón	0.20
3	Cerebro	0.10
4	Páncreas	0.06



Figura 5. Perfil de expresión del gen ISM2 en el cuerpo humano. Microarreglos de ADN muestran valores normalizados por promedio de multichip robusto (RMA) de la expresión del gen ISM2 en el cuerpo humano. P = placenta²⁸.

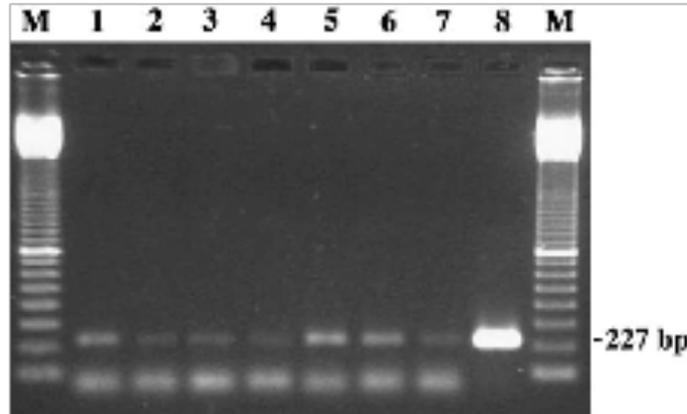


Figura 6. Reacción en cadena de la polimerasa (RCP) punto final de la expresión del gen ISM2 en tejidos humanos. La amplificación con cebadores de ISM2 de ADNc a partir de 1= páncreas, 2 = corazón, 3 = hígado, 4 = pulmón, 5= riñón 6 = cerebro, 7 = músculo esquelético, 8 = placenta¹⁹.

El gen ISM2 codifica para una proteína de secreción de un peso molecular de aproximadamente 63.9 kDa que contiene en su estructura un péptido señal, un grupo de residuos cargados negativamente en la región central, (posiblemente mediando la unión a iones positivos), un dominio TSP1 que muestra un motivo de unión a heparina WSXW, un motivo de unión a CD36 y finalmente un dominio AMOP que se localiza en la región C-terminal (Figura 7)¹⁹.

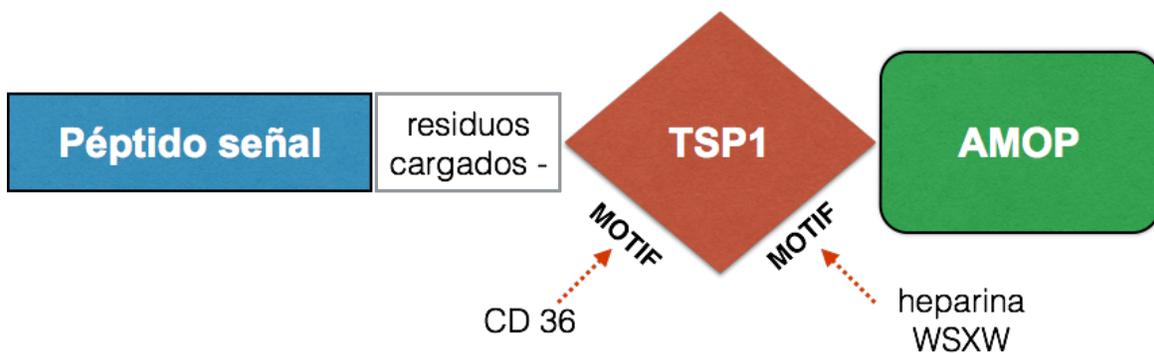


Figura 7. Estructura de la proteína ISM2. Se muestra el péptido señal, un grupo de residuos cargados negativamente, el dominio TSP1 en el centro de la proteína que contiene un motivo de unión a CD 36 y un motivo de unión a heparina y el dominio AMOP en la región C-terminal¹⁹.

La función de la proteína se desconoce y no hay publicaciones acerca de esta molécula, sin embargo en una base de datos de expresión génica²⁸ se señala que

ISM2 presentó una alta expresión en coriocarcinoma y en cáncer pulmonar de células grandes (Figura 8).



Figura 8. Perfil de expresión del gen ISM2 en enfermedades. Microarreglos de ADN muestran valores normalizados por promedio de multichip robusto (RMA) de la expresión del gen ISM2 en tejidos provenientes de 53 enfermedades. C = coriocarcinoma, CPCG = cáncer pulmonar de células grandes²⁸.

2.4 Placenta

La placenta es un órgano transitorio que tiene una multitud de papeles críticos en el mantenimiento y protección del feto en su desarrollo durante todo el embarazo²⁹. Sin embargo, es vital no solo para la supervivencia y salud del feto, sino también para la supervivencia y salud de la madre³⁰. Al servir como interfaz entre el entorno fetal y materno, la placenta está involucrada en el intercambio de gases, nutrientes y productos de desecho entre la madre y el feto en crecimiento³¹. Por otra parte, la placenta sirve como un órgano endocrino, con producción de factores asociados con el embarazo y hormonas de crecimiento lo que garantiza la protección del feto de un ataque inmune materno³².

No obstante lo anterior, la placenta y factores producidos por ella, representan el origen central de patologías gestacionales importantes, como son la enfermedad hipertensiva del embarazo -principalmente preeclampsia-³³ y la enfermedad trofoblástica gestacional³⁴.

2.5 Enfermedad hipertensiva del embarazo (EHE)

Bajo el término de enfermedad hipertensiva del embarazo (EHE), se engloban un conjunto de desórdenes que acontecen durante la gestación cuyo nexo común es la presencia de hipertensión arterial³⁵⁻³⁶.

Nos encontramos en siglo XXI y pese a décadas de extensa investigación, aun no se conoce la manera en que el embarazo precipita la hipertensión o la agrava.

De hecho, los trastornos hipertensivos figuran entre los problemas más importantes e interesantes no resueltos en obstetricia.

Su gran importancia radica en que son la principal causa de muerte materna en México y en países desarrollados como los Estados Unidos de Norte América³⁷⁻⁴⁰. Complican alrededor del 10% de los embarazos^{41,42} y se sabe que para algunos países en vías de desarrollo puede alcanzar una incidencia cercana al 18%⁴³⁻⁴⁴.

El Colegio Americano de Ginecología y Obstetricia (ACOG, por sus siglas en inglés *American College of Obstetrics and Gynecology*)⁴¹ avala la clasificación de hipertensión en el embarazo implementada por el Programa Nacional de Educación sobre Presión Arterial Alta (NHBPEP, por sus siglas en inglés *National High Blood Pressure Education Program*) que considera cuatro categorías⁴⁵:

1. Preeclampsia-eclampsia.
2. Hipertensión crónica.
3. Hipertensión crónica con preeclampsia sobreagregada.
4. Hipertensión gestacional.

2.5.1 Preeclampsia-eclampsia

Esta enfermedad descrita hace más de 2000 años, continúa siendo uno de los mayores problemas para la salud de las madres y sus recién nacidos^{43,44}.

A nivel mundial, la incidencia de preeclampsia oscila entre 5-15% de los embarazos^{41,42,44}. La prevalencia en México es de alrededor el 8%, y en otros

países va desde el 1.8% hasta el 18%⁴⁶. En efecto, cada 3 minutos muere una mujer en el mundo debido a complicaciones de la preeclampsia (OMS-OPS-CLAP)⁴⁴. Es responsable de alrededor de 80 000 muertes maternas por año en el mundo, y se asocia con un aumento de 20 veces en la mortalidad perinatal⁴⁴.

La preeclampsia-eclampsia es un síndrome específico del embarazo, que se puede presentar después de la semana 20, en el anteparto, intraparto y durante el puerperio, con capacidad de afectación a múltiples órganos y sistemas.

Esta entidad se manifiesta como un síndrome materno: hipertensión y evidencia clínica de daño de órgano blanco (corazón, riñones, hígado, sistema hematopoyético y sistema nervioso central) por la lesión endotelial sistémica desarrollada, y/o como un síndrome fetal: restricción del crecimiento intrauterino, reducción del líquido amniótico e hipoxia fetal⁴².

Aunado a lo anterior, las mujeres con antecedente de preeclampsia tienen un mayor riesgo de por vida de desarrollar enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares⁶.

2.5.2 Criterios diagnósticos de preeclampsia

Los criterios para el diagnóstico de preeclampsia según el ACOG 2013⁴¹ se describen en la Tabla 3. La presencia de hipertensión es indispensable, la cual se define como una presión arterial sistólica (PAS) \geq 140 mmHg y/o una presión arterial diastólica (PAD) \geq 90 mmHg después de la semana 20 de gestación en mujeres con presión arterial previamente normal más proteínas en orina (Tabla 3).

En ausencia de proteinuria, la preeclampsia debe ser diagnosticada con hipertensión asociada a trombocitopenia (plaquetas $<$ 100,000/ μ L), deterioro de la función hepática: aspartato aminotransferasa (AST) y alanina aminotransferasa (ALT) al doble de la concentración normal, desarrollo de insuficiencia renal: creatinina sérica $>$ 1.1 mg/dL o una duplicación de la creatinina sérica en ausencia de otra enfermedad renal, edema pulmonar así como también trastornos cerebrales y/o visuales de nueva aparición⁴¹.

Tabla 3. Criterios diagnósticos de preeclampsia

Presión arterial (PA)	<p>- PAS \geq 140 mmHg y/o PAD \geq 90 mmHg en dos ocasiones separadas por 4 horas de diferencia después de 20 semanas de gestación en una mujer con presión arterial previamente normal.</p> <p>- PAS \geq 160 mm Hg sistólica o y/o PAD \geq 110 mmHg, la hipertensión puede ser confirmada dentro de un corto intervalo de tiempo (minutos) para facilitar la terapia antihipertensiva oportuna.</p>
y	
Proteinuria	<p>\geq 300 mg en una recolección de orina de 24 horas (o esta cantidad extrapolada en un tiempo de colección).</p> <p>Relación proteína/creatinina \geq 0.3 mg/dL.</p> <p>Tira reactiva de 1+ (sólo si los métodos cuantitativos no están disponibles).</p>
En ausencia de proteinuria, hipertensión con 1 o más de los siguientes criterios:	
Trombocitopenia	Plaquetas $<$ 100,000/ μ L.
Insuficiencia renal	Creatinina sérica $>$ 1.1 mg/dL o duplicación de la creatinina sérica en ausencia de enfermedad renal.
Insuficiencia hepática	Concentraciones sanguíneas elevadas de transaminasas hepáticas (el doble o más de lo normal).
Edema pulmonar	
Síntomas cerebrales o visuales	

A pesar de ser clasificada previamente la preeclampsia como leve y severa, el ACOG no considera estas clasificaciones actuales y recomienda que sea evitado el diagnóstico de preeclampsia leve y severa. El grupo de trabajo recomienda que los términos “preeclampsia leve” y “preeclampsia severa” se sustituyan por preeclampsia sin datos de severidad y preeclampsia con datos de severidad respectivamente (Tabla 4) ⁴¹.

Tabla 4. Datos de severidad de preeclampsia *

PAS \geq 160 mmHg o PAD \geq 110 mmHg -En 2 ocasiones con 4 horas de diferencia.
Trombocitopenia -Plaquetas $<$ 100,000/ μ L.
Alteración de la función hepática -Elevación de las enzimas hepáticas (2 veces la concentración normal). -Dolor en el cuadrante superior derecho y/o epigástrico.
Insuficiencia renal progresiva -Creatinina $>$ 1.1 mg/dL. -Duplicación de la creatinina (en ausencia de enfermedad renal).
Edema pulmonar.
Trastornos cerebrales o visuales.

* Uno o más criterios

2.5.3 Eclampsia

El inicio de convulsiones que no pueden atribuirse a otras causas en una mujer con preeclampsia se conoce como eclampsia ^{35,42}.

Las crisis convulsivas son generalizadas y pueden aparecer antes, durante o después del trabajo de parto ⁴⁸. En estudios anteriores, hasta 10% de las mujeres eclámpticas, en especial nulíparas, no desarrollaba crisis convulsivas sino hasta 48 horas después del parto ⁴⁹.

Otros refieren que hasta una cuarta parte de las crisis convulsivas de origen eclámpico aparece más allá de las 48 horas postparto⁵⁰.

2.5.4 Hipertensión crónica

Durante el embarazo, la hipertensión crónica se define como alta presión arterial que está presente antes del embarazo o que es diagnosticada antes de la semana 20 de la gestación^{35,42}. La hipertensión que se diagnostica durante el embarazo y que no resuelve 12 semanas después del parto también clasifica como tal³⁵.

2.5.5 Hipertensión crónica con preeclampsia sobreagregada

La preeclampsia puede ocurrir en mujeres hipertensas crónicas conocidas, y el pronóstico para la madre y el feto será más severo que con cualquiera de estas condiciones aisladas⁴².

Aunque la evidencia de los estudios de biopsia renal sugiere que el diagnóstico de preeclampsia sobreagregada puede ser a menudo errónea, el diagnóstico es más probable en los siguientes escenarios^{41,42}:

-Mujeres con hipertensión crónica que desarrollan proteinuria después de 20 semanas de gestación.

-Mujeres con proteinuria antes de las 20 semanas de gestación que:

- 1) Experimenten una exacerbación súbita de hipertensión, o la necesidad de intensificar la dosis del fármaco antihipertensivo.
- 2) Manifiesten repentinamente otros signos, como un aumento de las enzimas hepáticas a niveles anormales.
- 3) Presenten disminución en los niveles de plaquetas $<100,000/\mu\text{L}$.
- 4) Presenten dolor en el cuadrante superior derecho o cefalea intensa.
- 5) Desarrollen congestión pulmonar o edema.
- 6) Desarrollen insuficiencia renal.
- 7) Presenten incrementos en la excreción de proteínas.

2.5.6 Hipertensión gestacional

Mujeres en las que las cifras elevadas de tensión arterial se detectan por primera vez pasado la mitad del embarazo sin proteinuria son clasificadas como hipertensión gestacional^{35,41}.

Se trata de un término poco específico que puede incluir a mujeres con preeclampsia que todavía no han manifestado proteinuria tan bien como a mujeres que no tienen el síndrome.

El diagnóstico final de que la mujer que no tiene un síndrome de preeclampsia podrá hacerse sólo después del parto; si la preeclampsia no se ha desarrollado y la presión sanguínea retorna a lo normal en las 12 semanas después del parto el diagnóstico de hipertensión gestacional podrá hacerse, si la presión arterial persiste elevada se tratará entonces de una hipertensión crónica. El diagnóstico de hipertensión gestacional es usado durante el embarazo sólo hasta que un diagnóstico más específico puede ser hecho en el postparto⁴⁵.

2.5.7 Etiología de la preeclampsia

La etiología de la preeclampsia es desconocida, sin embargo se describen factores genéticos, inmunológicos, inflamatorios e infecciosos⁵¹. Hay autores que la definen como la culminación de factores maternos, placentarios y fetales⁴⁸.

No obstante la anterior, lo más aceptado es que la placenta es el órgano central en la patogénesis de la preeclampsia ya que solo la eliminación de la placenta suprime la enfermedad⁵². De hecho, sólo la placenta y no el feto se requiere para su desarrollo⁴⁷. Esto se demuestra mejor por el caso de un embarazo molar, en el que no existe un feto y a pesar de esto conlleva un riesgo elevado para preeclampsia⁵³.

2.5.8 Desequilibrio angiogénico en preeclampsia

Desde 1989, se estudió la hipótesis de que la preeclampsia resulta de la liberación de factores placentarios a la circulación, que lleva a su vez a una disfunción

endotelial materna⁵⁴⁻⁵⁵. Muchas líneas de investigación continúan apoyando esta teoría⁴⁷.

Desde esta perspectiva, la enfermedad se caracteriza por la disfunción endotelial de todo el sistema materno y del lecho placentario, debido a un desequilibrio de los factores que promueven la angiogénesis normal a favor de factores antiangiogénicos⁴²⁻⁴⁶. Los factores proangiogénicos son los miembros de la familia del VEGF, las angiopoyetinas, y el factor de crecimiento placentario (PIGF, del inglés *placental growth factor*)⁵⁶⁻⁶⁰, mientras que los factores anti-angiogénicos son: la tirosinacinas-1 similar a fms soluble (sFlt-1, del inglés *soluble fms-like tyrosine kinase-1*) y la endoglina soluble (sEng, del inglés *soluble endoglina*).

La sFlt-1 es una variante del receptor Flt-1 para el VEGF y el PIGF. El aumento de la cantidad materna de sFlt-1 desactiva y reduce las concentraciones circulantes libres de estos factores proangiogénicos lo que conduce a la disfunción endotelial⁶¹.

Por su parte, la sEng, es una proteína de un peso molecular de 65 kDa derivada de la placenta, que se expresa cuatro veces más en placenta de pacientes preeclámplicas en comparación con placentas de mujeres sin preeclampsia⁶². La sEng bloquea a la endoglina (también llamada CD105) un correceptor para la familia del factor de crecimiento transformante beta (TGF- β , del inglés *transforming growth factor beta 1*). Esta forma soluble de endoglina impide que varios isótopos de TGF- β se unan con los receptores endoteliales y reduce la vasodilatación dependiente del óxido nítrico endotelial^{62,63}. Estas dos moléculas (sFlt-1, sEng) están presentes en exceso en la circulación de pacientes preeclámplicas, varias semanas antes de la aparición de las primeras manifestaciones clínicas^{62,63}. La consecuencia es el daño endotelial, con aumento de la permeabilidad endotelial, pérdida de la capacidad vasodilatadora y de la función antiagregante plaquetaria, con alteración enzimática para síntesis normal del óxido nítrico, que conduce al estrés oxidativo en todos los endotelios maternos y placentarios, con aumento del tromboxano A2 y disminución de prostaciclina,

con el consecuente estímulo del sistema renina-angiotensina, aumento de la resistencia periférica así como con una vasoconstricción generalizada⁴².

Lo anterior reduce el flujo útero-placentario, lo que genera trombosis del lecho vascular placentario, depósitos de fibrina, isquemia e infartos de la placenta que son evidentes en el estudio histopatológico de placentas de mujeres con preeclampsia donde se observan varias anomalías, incluyendo infartos, aterosclerosis, trombosis, e inflamación crónica⁶⁴.

Por su parte, en el riñón se genera una lesión patognomónica conocida como endoteliosis glomerular, en la que el glomérulo se edematiza y las fenestraciones endoteliales se pierden^{65,66}.

2.5.9 Preeclampsia y estrés oxidativo

En 1939 Page EW⁶⁷ formuló, a partir de hallazgos clínicos, el concepto de que la perfusión placentaria se encuentra reducida en la preeclampsia, mientras que en la década de los 70s se estableció la asociación entre una pobre placentación y la preeclampsia⁶⁸.

Se ha sugerido que la preeclampsia es un desorden de dos etapas o estadios⁶⁹:

El primero de ellos es una reducida perfusión placentaria debido a una implantación anormal. El segundo estadio es una respuesta materna a la reducida perfusión placentaria causando un síndrome materno y los típicos hallazgos clínicos de esta enfermedad.

En el primer estadio (etapa preclínica), la invasión citotrofoblástica endovascular se encuentra restringida dando como resultado una remodelación arterial dañada, denominada placentación superficial⁷⁰⁻⁷¹. Si bien la etiología de esta placentación defectuosa se desconoce, se cree que la causa principal podría ser una inadecuada adaptación inmunológica materno-fetal⁷² así como a una hipoxia por isquemia placentaria⁷³, lo que provoca activación y daño endotelial, lo que a su vez dispara la liberación de factores solubles hacia la circulación sistémica involucrando estrés oxidativo, angiogénesis e inflamación.

Algunos factores en la circulación sanguínea como los neutrófilos, la xantina oxidasa, hemoglobina extracelular y citocinas, inducen la formación y liberación de radicales libres de oxígeno que reaccionan con células endoteliales, incrementado con esto la posibilidad de disfunción endotelial dependiente de radicales libres, en sitios distantes de la fuente primaria. Como consecuencia de esta disfunción endotelial, la perfusión de muchos órganos incluyendo la placenta, se reduce⁷⁴.

En el segundo estadio, los hallazgos clínicos de la preeclampsia parecen surgir a partir de una respuesta inflamatoria sistémica, donde la placenta estresada oxidativamente y la disfunción endotelial están claramente involucradas^{75,76}. La disfunción endotelial da lugar a vasoespasmo debido a un decremento en la producción y actividad de prostaglandinas vasodilatadoras (como la prostaciclina) y óxido nítrico^{77,78}. La disfunción endotelial se cree que también activa la cascada de la coagulación, con formación de microtrombos oclusivos y pérdida de fluidos del espacio intravascular⁷⁹. Los componentes antes mencionados pueden contribuir a reducir la perfusión, algo que se observa casi en cualquier órgano en las mujeres con preeclampsia, incluyendo el útero⁸⁰. A nivel renal, el daño endotelial da lugar a proteinuria y produce endoteliosis glomerular, una característica lesión de la preeclampsia⁸¹.

Como resultado de la reducción de la perfusión uterina, la placenta llega a ser más hipóxica. Los factores liberados de la placenta hipóxica alteran el balance en la circulación materna y puede por lo tanto causar las características clínicas de la preeclampsia. Estos factores actúan como puente entre los dos estadios antes mencionados, donde el estrés oxidativo parece estar involucrado^{84,85}. En este sentido se han estudiado algunos de estos factores, incluyendo componentes tanto de la placenta dañada como del feto, entre estos se pueden mencionar al ADN fetal^{84,85}, fragmentos de membranas de la microvellocidades cincitiotrofoblástica⁸⁶, hemoglobina fetal y alfa-1-microglobulina⁸⁷⁻⁸⁸ y factores antiangiogénicos como el sFlt-1⁹⁰.

2.6 Planteamiento del Problema

La preeclampsia no solo representa un importante problema de morbilidad y mortalidad materna y perinatal a nivel mundial, sino que su incidencia va en aumento. Si bien no se conoce la fisiopatología completa de la preeclampsia, se han propuesto varias teorías respecto a la invasión trofoblástica deficiente y su alcance a las arterias espirales, las cuales consideran la participación de factores vasculares locales y el papel del óxido nítrico, el estrés oxidativo, así como factores ambientales, genéticos e inmunológicos. A pesar de los esfuerzos realizados por décadas de investigación en preeclampsia, no se ha logrado predecir con exactitud qué mujeres desarrollarán esta patología antes de la aparición de los síntomas, ni se ha logrado diferenciarla de manera oportuna de otras alteraciones hipertensivas¹⁰⁸.

En la práctica médica diaria se utilizan los factores de riesgo maternos (antecedentes personales y familiares de preeclampsia, edad materna, obesidad, síndrome antifosfolípidos, desnutrición, primigesta, entre otros) para establecer el riesgo de desarrollar preeclampsia. El problema cuando se utilizan estos factores es que millones de mujeres en todo el mundo los presentan y no desarrollan preeclampsia. Además, la mayoría de ellos no son modificables¹⁰⁹⁻¹¹².

Por lo anterior, y con base en el conocimiento parcial de la fisiopatología de la preeclampsia, se ha puesto especial atención a la búsqueda de marcadores bioquímicos que permitan predecir pacientes de alto riesgo para el desarrollo de preeclampsia¹¹³.

En la actualidad no existe una prueba o biomarcador de detección fiable y rentable para establecer la predicción o el diagnóstico de preeclampsia y su grado de severidad que pueda ser recomendada para su uso rutinario. Un marcador con estas características facilitaría una supervisión cercana de la paciente, orientaría hacia la investigación de potenciales agentes terapéuticos y diagnósticos más precisos, permitiría realizar esfuerzos de prevención primaria.

En este contexto, resulta particularmente interesante evaluar el uso potencial como biomarcador en preeclampsia de las proteínas ISM1 e ISM2, ya que se trata de dos proteínas que se expresan de manera importante en tejido placentario.

Por las características estructurales de estas proteínas, los sitios de expresión de sus genes, y su función antiangiogénica, los hace candidatos a ser investigados en enfermedades cuya base es la placenta, como es el caso de la preeclampsia.

El presente estudio es el primero que se desarrolla para evaluar a las proteínas ISM1 e ISM2 como posibles biomarcadores en preeclampsia.

2.6.1 Pregunta de Investigación

¿Existe diferencia en la concentración sérica de las proteínas ISM1 e ISM2 en pacientes con preeclampsia, en relación con pacientes con hipertensión gestacional y embarazo normoevolutivo?

2.7 Justificación

La preeclampsia, un desorden hipertensivo del embarazo, se presenta en todas las poblaciones con una incidencia general que varía entre el 2 y 8%¹¹⁶; sin embargo, las diferencias geográficas, socioeconómicas y raciales son responsables de que esta incidencia sea hasta tres veces mayor en algunas áreas¹¹⁷. Esta patología permanece como la principal causa de morbilidad y mortalidad materna y perinatal. En países desarrollados como Estados Unidos e Inglaterra, la preeclampsia presenta una incidencia de muerte materna directa de aproximadamente el 15%^{116,117}, incidencia que en México se calcula alcanza hasta un 34%¹¹⁸. Por otra parte, esta condición patológica aumenta la mortalidad perinatal hasta en 5 veces, en gran parte a través de la prematuridad iatrogénica¹¹⁹.

Su diagnóstico conlleva un alto grado de morbilidad con complicaciones materno-fetales y disfunción en múltiples órganos, retraso en el crecimiento intrauterino, prematuridad, así como mortinatalidad. Por otro lado, la preeclampsia es responsable de casi la quinta parte de los ingresos hospitalarios antenatales y la cuarta parte de las admisiones en cuidados intensivos de pacientes obstétricas.

Se estima que en los Estados Unidos los costos anuales directos debidos a los cuidados maternos y neonatales derivados de la preeclampsia son de aproximadamente 7 billones de dólares según “*The Preeclampsia Foundation*” sin considerar que las mujeres que desarrollan preeclampsia tienen un riesgo mayor de padecer complicaciones cardiovasculares a lo largo de su vida¹²⁰.

El campo de la fisiopatología de los estados hipertensivos del embarazo se encuentra en constante investigación y con múltiples incógnitas por resolver.

Particularmente en lo que respecta a la preeclampsia, resulta de suma importancia la búsqueda de marcadores moleculares que permitan predecir el desarrollo de ésta o que tengan utilidad en su patogénesis, como podría ser el caso de las proteínas ISM1 e ISM2, cuya expresión génica se ha demostrado es alta en placenta sana^{19,20,28}, que tienen propiedades dual en angiogénesis (ISM1)²⁵⁻²⁷, y que no se conocen en el contexto de enfermedades por patología placentaria como la preeclampsia.

2.8 Objetivos

2.8.1 Objetivo general

Comparar los niveles séricos de las proteínas ISM1 e ISM2 en pacientes con preeclampsia, hipertensión gestacional y embarazo normoevolutivo mayor a 20 semanas de gestación, del periodo de agosto de 2016 a marzo de 2017.

2.8.2 Objetivos específicos

- Realizar perfil toxémico a las pacientes que ingresen al Hospital Materno Infantil como enfermedad hipertensiva del embarazo a clasificar (EHEC).
- Aplicar el cuestionario para la recolección de datos clínicos y antropométricos (Anexo 3), y recabar la firma del consentimiento informado (Anexo 2), en las pacientes diagnosticadas con preeclampsia, hipertensión gestacional y en el grupo control.

- Medir los niveles séricos de las proteínas ISM1 e ISM2 en mujeres con preeclampsia, hipertensión gestacional y embarazo normoevolutivo.
- Comparar los niveles séricos de las proteínas ISM1 e ISM2 en mujeres preeclampsia, hipertensión gestacional y embarazo normoevolutivo.

2.9 Hipótesis

2.9.1 Hipótesis Nula

No existe diferencia significativa en los niveles séricos de las proteínas ISM1 e ISM2, en pacientes con preeclampsia, en relación a pacientes con hipertensión gestacional y embarazo normoevolutivo.

2.9.2 Hipótesis Alterna

Si existe diferencia significativa en los niveles séricos de las proteínas ISM1 e ISM2, en pacientes con preeclampsia, en relación a pacientes con hipertensión gestacional y embarazo normoevolutivo.

CAPÍTULO 3

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Diseño del estudio

El presente trabajo es un estudio clínico, descriptivo, transversal, analítico, comparativo de más de dos grupos independientes, que emplea casos incidentes.

3.2. Selección de las pacientes

Los pacientes se eligieron de acuerdo con los siguientes requisitos.

3.2.1 Criterios de inclusión

1. Gestantes con embarazo mayor a 20 semanas.
2. Embarazo único.
3. Pacientes con diagnóstico de preeclampsia y de hipertensión gestacional según el consenso 2013 del ACOG⁴¹.
4. Sin comorbilidad asociada.
5. Firma de consentimiento informado.

3.2.2 Criterios de exclusión

1. Recién nacido con anomalías cromosómicas o malformaciones congénitas.
2. Gestación con óbito/mortinato.

3.3 Grupo control

El grupo control se formó con gestantes de embarazo único, mayor a 20 semanas de gestación que acudieron al Hospital Materno Infantil de Mexicali, normotensas y sin comorbilidad asociada.

3.4 Método de muestreo

Muestreo de casos y controles no consecutivos seleccionados al azar.

3.5 Población y muestra

Se consideraron a las pacientes que ingresaron durante el periodo de agosto de 2016 a marzo de 2017 al Hospital Materno Infantil de Mexicali, B.C., con diagnóstico de enfermedad hipertensiva del embarazo a clasificar (EHEC). Las cuales posteriormente fueron clasificadas como preeclampsia e hipertensión gestacional. Se incluyó además un grupo control de gestantes con embarazo mayor a 20 semanas de gestación, normotensas. Los pacientes y controles recibieron una hoja informativa que leyeron, y firmaron una carta de consentimiento informado. De cada paciente se obtuvo una muestra de sangre y de orina. Al final del periodo comprendido se incluyeron un total de 81 pacientes que reunieron los criterios de inclusión, 30 con diagnóstico de preeclampsia, 21 con diagnóstico de hipertensión gestacional y 30 pacientes participaron en el grupo control.

3.6 Instrumentos y procedimientos

3.6.1 Obtención de la muestra

Previa asepsia y antisepsia de la piel, se obtuvieron 2 muestras de sangre, una para la determinación del perfil toxémico y otra para la cuantificación sérica de las proteínas ISM1 e ISM2. Se incluyeron las siguientes determinaciones: biometría hemática completa, creatinina, urea, nitrógeno ureico en sangre (BUN, del inglés blood urea nitrogen), lactato deshidrogenasa (LDH), aspartato transaminasa (AST), alanino transaminasa (ALT), bilirrubinas (total, directa e indirecta), ácido úrico, glucosa, tiempo de protrombina (TP), tiempo de tromboplastina parcial (TTP). Se obtuvo muestra de orina para examen general de orina y recolección de orina de 24 horas. Las muestras de sangre destinadas para la cuantificación de parámetros bioquímicos así como para las proteínas ISM1 e ISM 2 se centrifugaron inmediatamente para

la obtención del suero, el cual fue congelado y almacenado a -20°C hasta el procesamiento de las muestras.

3.6.2 Cuantificación sérica de ISM1 e ISM2

Se utilizaron las muestras de suero de pacientes y controles para la cuantificación de las proteínas ISM1 e ISM2 utilizando el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA, del inglés enzyme-linked immunosorbent assay). Para la determinación de ISM1 en suero, el procedimiento se llevó a cabo de acuerdo con el protocolo *Cloud-Clone Corp.* (Katy, TX, USA). Para la determinación de ISM2 en suero, el procedimiento se llevó a cabo de acuerdo con el protocolo *MyBioSource Inc.* (San Diego, CA, USA). Se utilizó un lavador automático y espectrofotómetro para microplacas (BioTek).

3.7 Variables

3.7.1 Independiente

Preeclampsia, hipertensión gestacional.

3.7.2 Dependiente

Concentración sérica de las proteínas ISM1 e ISM2.

3.8 Plan de análisis

Se realizó la prueba de normalidad y con base en el resultado de esta prueba se decidió utilizar la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney para diferentes muestras con un programa estadístico (GraphPad prism versión 7.0), que nos permitió comparar las medianas de la concentración sérica de las proteínas ISM1 e ISM2, en preeclampsia, hipertensión gestacional y embarazo normoevolutivo, con un nivel de significancia estadística de P menor de 0.05. Los datos demográficos y los resultados del perfil toxémico, se compararon con la prueba de Kruskal-Wallis (método no paramétrico para tres o más grupos independientes).

3.9 Aspectos éticos, normativos y de seguridad

Este estudio se desarrolló en apego a las disposiciones legales de la Ley General de Salud de los Estados Unidos Mexicanos, la Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012, que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos; a la legislación aplicable en materia de protección al ambiente como la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo; así como de conformidad con los principios éticos emanados de la décimo octava Asamblea Médica Mundial de Helsinki, Finlandia en 1964 y sus respectivas modificaciones hechas por dicha asamblea¹²¹.

Se explicó a cada paciente la naturaleza del estudio, su objetivo, procedimientos involucrados, duración esperada, riesgos potenciales y beneficios derivados.

Con base en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación, se obtuvo el consentimiento bajo información por escrito de cada participante en el estudio. Para tal efecto, el documento mencionado (Anexo 2) fue firmado por la participante y por el investigador responsable.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS

Se incluyeron un total de 81 pacientes, de las cuales 30 fueron diagnosticadas con preeclampsia, 21 con hipertensión gestacional y 30 pacientes con embarazo normoevolutivo participaron como grupo control.

Las características demográficas y los resultados de laboratorio de pacientes y controles se presentan en la Tabla 5 y 6.

Tabla 5. Características maternas y perinatales de pacientes y controles

Variable	Preeclampsia N=30	Hipertensión gestacional N=21	Sanas N=30	P
Edad [años]	20.5 (19-27)	19 (18-22)	21.5 (20-25)	0.17
Peso [kg]	86.9 (72-98)	87.7 (68.7-101.8)	78.2 (69-85.4)	0.07
IMC [kg/m ²]	35.4 (29.6-37.5)	35.5 (28-39.1)	30.5 (28.7-33.3)	0.05
Gesta	1 (1-3)	1 (1-2)	2 (1-2)	0.43
Paridad	0 (0-1)	1 (0-1)	1 (0-2)	0.53
PA Sistólica [mmHg]	150 (140-160)	140 (130-147)	110 (102-116)	0.00
PA Diastólica [mmHg]	100 (100-100)	90 (90-100)	70 (66-76)	0.00
Síntomas neurrológicos	6 [20%]	-	-	-
Cesárea	18 [60%]	6 [28%]	10 [33.3%]	0.03
Peso del RN [g]	2810 (2470-3340)	3220 (2880-3520)	3315 (2950- 3590)	0.01
Apgar	9/9	9/9	9/9	-
Sexo M	18 [60%]	12 [57.1%]	9 [30%]	-
Capurro	38.2 (37.2-39.5)	39.1 (39-40.3)	39.3 (38.4-40.1)	0.05

N, número. IMC, índice de masa corporal. PA, presión arterial. RN, recién nacido. M, masculino.

Se muestran la mediana y rango intercuartil en paréntesis o N [%].

Significancia estadística: P menor que 0.05.

Tabla 6. Resultados de laboratorios de pacientes y controles

Variable	Preeclampsia N=30	Hipertensión gestacional N=21	Sanas N=30	P
Hb [g/dL]	12.2 (11.6-13.5)	12.3 (11.9-12.8)	12.6 (11.7-13.6)	0.74
Hto [%]	37.5 (34.6-40.3)	38 (36.4-39.8)	39.1 (35.5-40)	0.83
Plaquetas*	200 (151-235)	199 (162-223)	228 (201-260)	0.83
AST [U/L]	17 (14-26)	16 (12-18)	16 (14-21)	0.50
ALT [U/L]	12 (8-18)	10 (14)	10 (8-16)	0.72
Bilirrubinas totales [mg/dL]	0.3 (0.3-0.4)	0.4 (0.3-0.4)	0.5 (0.3-0.6)	0.02
LDH [U/L]	327 (282-409)	299 (272-356)	322 (261-355)	0.65
Creatinina [mg/dL]	0.6 (0.5-0.7)	0.6 (0.5-0.6)	0.5 (0.5-0.6)	0.00
Urea [mg/dL]	17.1 (12.8-21.4)	17.1 (6.4)	12.8 (4.2)	0.01
BUN [mg/dL]	8 (6-10)	8 (6-9)	6 (10-15)	0.02
Acido úrico [mg/dL]	4.9 (4.3-6.3)	4.6 (3.9-5.5)	3.8 (3.1-4.5)	0.00
Glucosa [mg/dL]	87 (75-97)	84 (77-99)	89 (82.5-96.5)	0.78
Proteínas en orina de 24 H**	972 (425-1652)	152 (97-190)	-	0.00
Leucocitos*	10.4 (3.51)	9.0 (7.7-10.5)	9.4 (8.5-11.7)	0.33
TP [s]	10.4 (0.9)	10.9 (10.5-11.3)	11.1 (10.6-11.4)	0.00
TTP [s]	25.7 (6)	27.4 (23.2-28.1)	26.7 (25.6-29.7)	0.30
ISM1 [pg/mL]	2.5 (2-3.2)	2.8 (2.4-3)	2.6 (2-3)	0.68
ISM2 [pg/mL]	51.7 (27.9-86.2)	82.6 (26.9-125.3)	110 (32.6-209.4)	0.03

N, número. Hb, hemoglobina, Hto, hematocrito. AST, aspartato aminotransferasa. ALT, alanina aminotransferasa. LDH, lactato deshidrogenasa. BUN, nitrógeno ureico en sangre. TP, tiempo de protrombina. TTP, tiempo de tromboplastina parcial. H, horas. s, segundos.

Se muestran las medianas y el rango intercuartil en paréntesis.

Significancia estadística: P menor que 0.05.

*[10³/μL].

**mg/24 horas (se utilizó prueba U de Mann Whitney).

4.1 Niveles séricos de la proteína ISM1 en preeclampsia

Se analizaron los niveles de la proteína ISM1 en 30 pacientes con preeclampsia y en 30 pacientes con embarazo normoevolutivo. La proteína ISM1 no mostró diferencia significativa en preeclampsia en comparación con el grupo control (Figura 9).

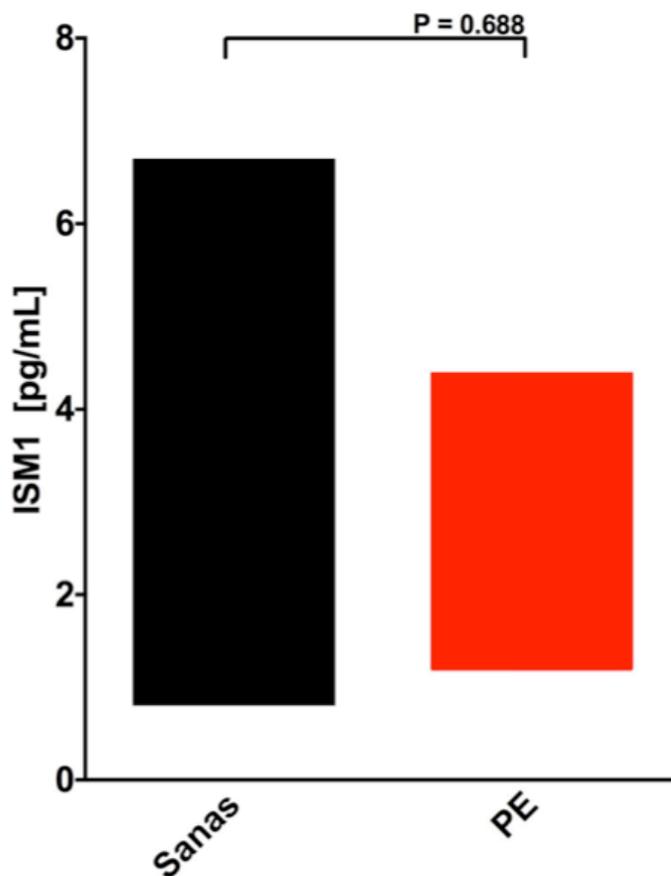


Figura 9. Niveles séricos de la proteína ISM1 en preeclampsia y grupo control.

4.2 Niveles séricos de la proteína ISM1 en hipertensión gestacional

Se analizaron los niveles de la proteína ISM1 en 21 pacientes con hipertensión gestacional y en 30 pacientes con embarazo normoevolutivo. La proteína ISM1 no mostró diferencia significativa en hipertensión gestacional en comparación con el grupo control (Figura 10).

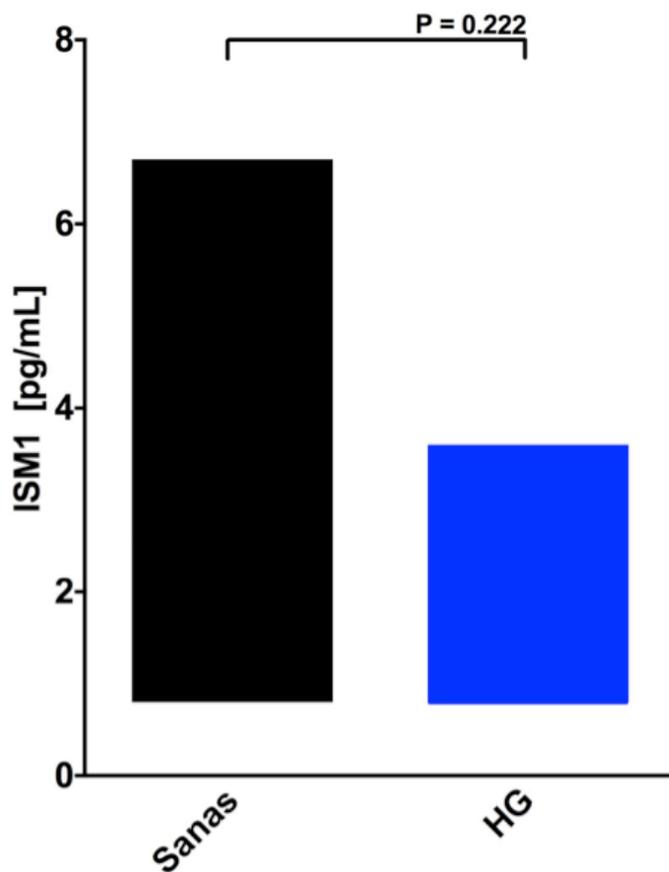


Figura 10. Niveles séricos de la proteína ISM1 en hipertensión gestacional y grupo control

4.3 Niveles séricos de la proteína ISM2 en preeclampsia

Se analizaron los niveles de la proteína ISM2 en 30 pacientes con diagnóstico de preeclampsia. Los resultados se compararon con 30 pacientes que cursaron con embarazo normoevolutivo. La proteína ISM2 se encontró disminuida en pacientes con preeclampsia en comparación con el grupo control, estadísticamente significativa, con una P igual a 0.036 (Figura 11).

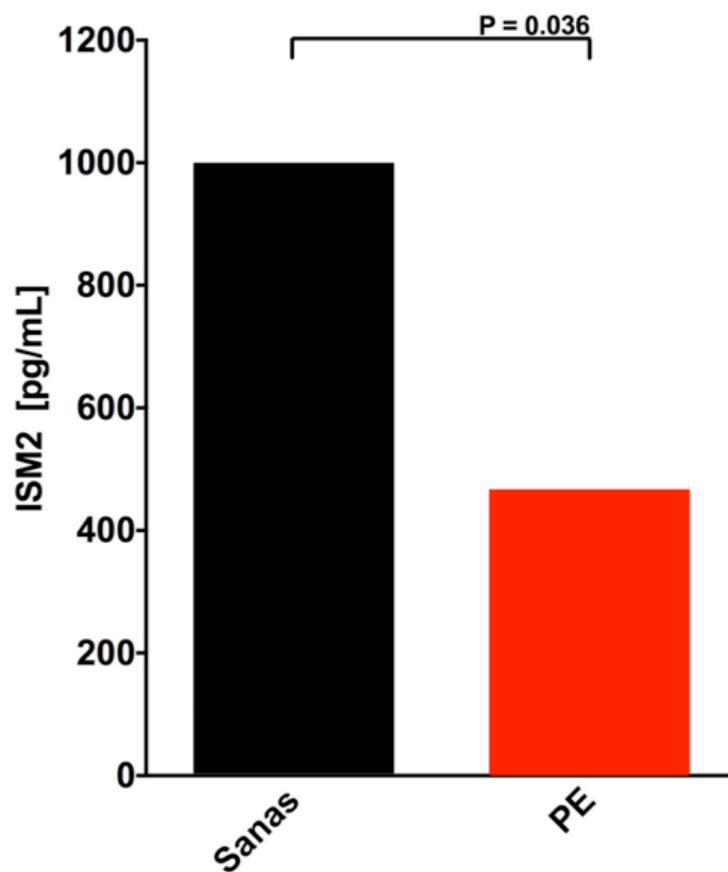


Figura 11. Niveles séricos de la proteína ISM2 en preeclampsia y grupo control

4.4 Niveles séricos de la proteína ISM2 en hipertensión gestacional

Se analizaron los niveles de la proteína ISM2 en 21 pacientes con hipertensión gestacional y en 30 pacientes con embarazo normoevolutivo. La proteína ISM2 no mostró diferencia significativa en hipertensión gestacional en comparación con el grupo control (Figura 12).

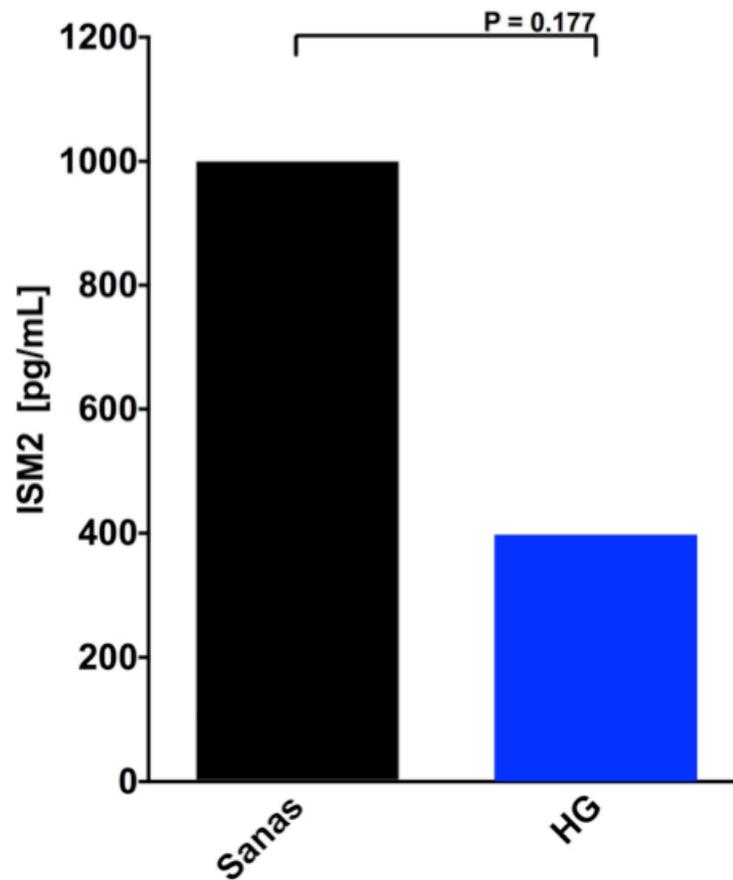


Figura 12. Niveles séricos de la proteína ISM2 en hipertensión gestacional y grupo control

CAPÍTULO 5

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

5.1 Discusión

En el presente estudio se demostró que las pacientes con preeclampsia tienen niveles séricos disminuidos de la proteína ISM2, en relación con embarazo normoevolutivo y con hipertensión gestacional. Resultado que fue estadísticamente significativo. Por su parte no se encontraron diferencias en los niveles séricos de la proteína ISM1 en ninguno de los grupos estudiados.

De una manera general y simplificada, podemos decir que nuestros genes codifican para proteínas, y que son gracias a las proteínas y su correcto funcionamiento que todos los fenómenos biológicos que suceden en nuestro organismo pueden llevarse a cabo. A partir de los sitios de mayor expresión de una proteína, de la estructura de la proteína y de los elementos que componen a su estructura, podemos dilucidar su funcionamiento en salud y en enfermedad.

Por lo anterior, resultó interesante el estudio en preeclampsia, de dos proteínas (ISM1 e ISM2) con alta expresión en placenta en una enfermedad (preeclampsia) cuyo órgano central en su patogénesis es la placenta. Además, estas proteínas poseen en su estructura elementos proteicos con función en la angiogénesis.

Al respecto, la preeclampsia cuya etiología es desconocida, se caracteriza por un desbalance entre proteínas de carácter proangiogénico a favor de proteínas antiangiogénicas. Los factores antiangiogénicos previamente estudiados como la sFlt-1 y sEng se encuentran elevados en preeclampsia, mientras que factores proangiogénicos como el VEGF y PlGF se encuentran disminuidos⁶¹. Por estos antecedentes, han mostrado tener un alto potencial como biomarcadores en esta patología. La proteína ISM1 ha sido estudiada como una proteína con función dual en angiogénesis (antiangiogénica y angiogénica)²⁶⁻²⁷. Por una parte, Zhang y cols demostraron que ISM1 inhibe la proliferación de células endoteliales inducida por el VEGF, y por otra parte, ISM1 inmovilizada en el endotelio, promueve la adhesión, supervivencia y migración de células endoteliales, lo que caracteriza a

un factor proangiogénico. Con base a esto y por su alta expresión en placenta, decidimos estudiarla en preeclampsia. No obstante, no encontramos diferencias en los niveles séricos de ISM1 en pacientes gestantes que cursaron normotensas, en comparación con pacientes que presentaron preeclampsia.

Por el contrario, los niveles séricos de la proteína ISM2 se encontraron disminuidos en nuestras pacientes con preeclampsia en comparación con las pacientes sanas.

La proteína ISM2 tiene una expresión casi específica en placenta^{19,20}, lo que nos permite afirmar que tiene una función placentaria fundamental y que su alteración afecta el correcto funcionamiento de este órgano. No hay trabajos publicados de esta proteína. Lo que se encuentra en la literatura es la información que proporciona una base de datos de expresión génica donde se muestra su alta expresión en neoplasias (coriocarcinoma y cáncer de pulmón)²⁸. Bien es conocido que en las neoplasias se lleva a cabo una angiogénesis importante como parte del desarrollo del cáncer, lo que le permite a éste perpetuar su crecimiento. No así en la preeclampsia donde la angiogénesis se ve afectada por una disminución en los niveles de factores proangiogénicos -como el VEGF- y disminución en vasodilatadores claves -como el óxido nítrico- lo que genera un vasoespasmo generalizado, con disminución de la perfusión tisular y consecuente daño multisistémico en el endotelio materno, afectando el cerebro, riñón, hígado, y manifestándose clínicamente con cefalea, visión borrosa, dolor abdominal y laboratorialmente con proteinuria, transaminasemia, plaquetopenia, entre otras.

Por lo anterior, la disminución de la proteína ISM2 en preeclampsia nos permite inferir que es una proteína de carácter proangiogénica en esta enfermedad (y probablemente en otras no estudiadas), ya que sabemos se incrementa en padecimientos donde la angiogénesis es activa (neoplasia). Estudios recientes sugieren que el VEGF y FGF son los principales factores angiogénicos en la placenta^{55,61} y describen una disminución de estos factores en el desarrollo de preeclampsia. Por lo tanto, la proteína ISM2 (nunca antes descrita en preeclampsia) representaría un nuevo factor angiogénico placentario con

participación en la fisiopatología de la preeclampsia, donde su disminución en los niveles séricos de las pacientes, contribuyera al daño endotelial, favoreciendo el vasoespasmo generalizado, con hipoperfusión secundaria, lo que a su vez genera el desarrollo de hipertensión, glomeruloendoteliosis, proteinuria y daño hepático.

5.2 Conclusiones

En este trabajo se compararon los niveles séricos de las proteínas ISM1 e ISM2 en pacientes con preeclampsia, hipertensión gestacional y embarazo normoevolutivo. Encontramos que la proteína ISM1, no muestra diferencia significativa ninguno de los tres grupos. Por el contrario la proteína ISM2 se expresa diferencialmente, de tal manera que observamos niveles en suero disminuidos estadísticamente significativa en pacientes con preeclampsia en relación a pacientes con embarazo normoevolutivo. Lo anterior nos permitió aceptar la hipótesis alterna y rechazar la hipótesis nula. La proteína ISM2 podría ser una proteína de carácter proangiogénico en preeclampsia, en la que su disminución en pacientes genera vasoespasmo y disfunción endotelial. Este es el primer trabajo que estudia las proteínas ISM1 e ISM2 en pacientes con preeclampsia (proteínas con alta expresión en placenta y con función en la angiogénesis). Nuestros hallazgos abren la posibilidad de nuevos estudios que nos permitan elucidar la participación de la proteína ISM2 en el desarrollo de preeclampsia, para caracterizar su potencial función proangiogénica en esta enfermedad y en otras patologías.

CAPÍTULO 6

REFERENCIAS

1. Redman CW, Sargent IL. Latest advances in understanding preeclampsia. *Science*. 2005;308:1592-4).
2. WHO 2002. Global Program to Conquer Preeclampsia/Eclampsia. 2002:1.
3. Hutcheon JA, Lisonkova S, Joseph KS. Epidemiology of preeclampsia and the other hypertensive disorders of pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2011;25(4):391–403.
4. Duley L. The global impact of pre-eclampsia and eclampsia. *Semin. Perinatol*; 2009; 33(3): 130-7. Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Preeclampsia. *Lancet*; 2005; 365(9461):785-799.
5. Cross J.C, Formation of the placenta and extraembryonic membranes. *Ann N Y Acad Sci* 1998;857:23–32.
6. Moodley J. Maternal deaths associated with hypertensive disorders of pregnancy: a population-based study. *Hypertens Pregnancy* 2004;23:247-256.
7. Cunningham FG, Leveno KJ, Bloom SL, Hauth JC, Rouse DJ, Spong CY. *Obstetricia de Williams. Hipertensión en el embarazo*. 23ª. Edición McGraw-Hill, 2011; 706-756.
8. Khan KS, Woydyla D, Say L, Gulmezoglu AM Van Look PF. WHO analysis of causes of maternal death: A systematic review. *Lancet* 2006;367:1066-1074.
9. World Health Organization. *The world health report: 2005: make every mother and child count*. Geneva: WHO. 2005;1-219.

10. Duley L. Maternal mortality associated with hypertensive disorders of pregnancy in Africa, Asia, Latin America and the Caribbean. *Br J Obstet Gynaecol* 1992; 99:547–553.
11. American College of Obstetricians and Gynecologists. Task Force on Hypertension in Pregnancy. 2013;1-89.
12. Regnault, T.R., Galan, H.L., Parker, T.A., Anthony, R.V., Placental development in normal and compromised pregnancies – a review. *Placenta* 2002; 23 (Suppl. A), S119–S129.
13. Roberts JM, Hubel CA. Is oxidative stress the link in the two stage model of pre-eclampsia? *Lancet*. 1999; 354(9181):788-9.
14. Buehler PW, D'Agnillo F. Toxicological consequences of extracellular hemoglobin: biochemical and physiological perspectives. *Antioxid Redox Signal*. 2010 Feb;12(2):275-91).
15. Cantor CR. Orchestrating the Human Genome Project. *Science* 1990;248:49-51.
16. Little PF. Structure and function of the human genome. *Genome Res* 2005;15:1759-1766.
17. The ENCODE Project consortium. The ENCODE (ENCyclopedia Of DNA Elements) Project. *Science* 2004;306:636-640.
18. Pera EM, Kim JI, Martinez SL, Brechner M, Li SY, Wessely O, De Robertis EM. Isthmin is a novel secreted protein expressed as part of the Fgf-8 synexpression group in the *Xenopus* midbrain-hindbrain organizer. *Mech Dev* 2002;116:169-172.
19. Rossi V, Beffagna G, Rampazzo A, Bauce B, Danieli GA. TAIL1: an isthmin-like gene, containing type 1 thrombospondin-repeat and AMOP domain, mapped to ARVD1 critical region. *Gene* 2004;335:101-108.

20. Valle-Rios R, Maravillas-Montero J, Burkhardt A, Martinez C, Buhren B, Homey B, Gerber P, Robinson O, Hevezi P, Zlotnik A. Isthmin1 Is a Secreted Protein Expressed in Skin, Mucosal Tissues and NK, NKT and Th17 cells. *J Interferon Cytokine Res* 2014, Oct; 34(10):795-801.
21. Obtenido en agosto de 2014 de <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=ISM1>.
22. Obtenido en agosto de 2014 de <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=ISM2>.
23. Adams JC, Lawler J. The thrombospondins. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2011;3:a009712.
24. Ciccarelli FD, Doerks T, Bork P. AMOP, a protein module alternatively spliced in cancer cells. *Trends Biochem Sci* 2002;27:113-115.
25. Xiang W, Ke Z, Zhang Y, Cheng GH, Irwan ID, Sulochana KN, Potturi P, Wang Z, Yang H, Wang J, Zhuo L, Kini RM, Ge R. Isthmin is a novel secreted angiogenesis inhibitor that inhibits tumour growth in mice. *J Cell Mol Med* 2011;15:359-374.
26. Zhang Y, Chen M, Venugopal S, Zhou Y, Xiang W, Li YH, Lin Q, Kini RM, Chong YS, Ge R. Isthmin exerts pro-survival and death-promoting effect on endothelial cells through alphavbeta5 integrin depending on its physical state. *Cell Death Dis* 2011;2:e153.
27. Yuan B, Xian R, Ma J, Chen Y, Lin C, Song Y. Isthmin inhibits glioma growth through antiangiogenesis in vivo. *J Neurooncol* 2012;109:245-252.
28. Base de datos de <http://www.medicalgenomics.org>.
29. Anin SA, Vince G, Quenby S. Trophoblast invasion. *Hum Fertil (Camb)* 2004;7:169-174.

30. Rossant, J, Cross JC, Placental development: lessons from mouse mutants. *Nat Rev Genet* 2001;2:538–548.
31. Cross J.C, Formation of the placenta and extraembryonic membranes. *Ann N Y Acad Sci* 1998;857:23–32.
32. Regnault, T.R., Galan, H.L., Parker, T.A., Anthony, R.V., Placental development in normal and compromised pregnancies – a review. *Placenta* 2002;23 (Suppl. A), S119–S129.
33. Tsai S, Hardison NE, James AH, Motsinger-Reif AA, Bischoff SR, Thames BH, Piedrahita JA. Transcriptional profiling of human placentas from pregnancies complicated by preeclampsia reveals dysregulation of sialic acid acetyltransferase and immune signalling pathways. *Placenta* 2011;32:175-182.
34. Nguyen NM, Slim R. Genetics and Epigenetics of Recurrent Hydatidiform Moles: Basic Science and Genetic Counselling, *Curr Obstet Gynecol Rep* 2014; 21;3:55-64.
35. Sánchez-Padrón A, Sánchez-Valdivia A, Bello-Vega M, Somoza ME. Enfermedad hipertensiva del embarazo. *Rev Cub Med Int Emerg* 2004;3(1)62-96.
36. Huarte M, Modroño A, Larrañaga C. Conducta ante los estados hipertensivos del embarazo. *An Sist Sanit Navar* 2009; 32 (Supl. 1): 91-103.
37. Zezza L, Ralli E, Conti E, Passerini J, Autore C, Caserta D. Hypertension in pregnancy: the most recent findings in pathophysiology, diagnosis and therapy. *Minerva Ginecol* 2014;66:103-126.
38. Khan KS, Woydyla D, Say L, Gulmezoglu AM Van Look PF. WHO analysis of causes of maternal death: A systematic review. *Lancet* 2006; 367:1066-1074.
39. World Health Organization. The world health report: 2005: make every mother and child count. Geneva: WHO. 2005;1-219.

40. Duley L. Maternal mortality associated with hypertensive disorders of pregnancy in Africa, Asia, Latin America and the Caribbean. *Br J Obstet Gynaecol* 1992;99:547–553.
41. American College of Obstetricians and Gynecologists. Task Force on Hypertension in Pregnancy. 2013;1-89.
42. Di Marco I, Basualdo MN, Di Pietrantonio E, Paladino S, Ingilde M, Domergue G, Velarde CN. "GUÍA DE PRÁCTICA CLÍNICA: Estados hipertensivos del embarazo 2010". *Revista del Hospital Materno Infantil Ramón Sardá* 2011; 70-93.
43. Moodley J. Maternal deaths associated with hypertensive disorders of pregnancy: a population-based study. *Hypertens Pregnancy* 2004;23:247-256.
44. WHO 2002. Global Program to Conquer Preeclampsia/Eclampsia. 2002:1.
45. Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:S1–S22.
46. Vargas M, Acosta GA, Moreno MA. La preeclampsia un problema de salud pública mundial. *Revis Chil Obstet Ginecol* 2012; 77(6): 471- 476.
47. Powe CE, Levine RJ, Karumanchi SA. Preeclampsia, a disease of the maternal endothelium: the role of antiangiogenic factors and implications for later cardiovascular disease. *Circulation* 2011; 21;123:2856-2869.
48. Cunningham FG, Leveno KJ, Bloom SL, Hauth JC, Rouse DJ, Spong CY. *Obstetricia de Williams. Hipertensión en el embarazo*. 23ª. Edición McGraw-Hill, 2011; 706-756.
49. Sibai BM. Diagnosis, prevention, and management of eclampsia. *Obstet Gynecol* 2005;105:402-410.

50. Chames MC, Livingston JC, Ivester TS, Barton JR, Sibai BM. Late postpartum eclampsia: a preventable disease?. *Am J Obstet Gynecol* 2002;186:1174-1177.
51. Martinez-Fierro ML, Garza-Veloz I, Carrillo-Sanchez K, Martinez-Gaytan V, Cortes-Flores R, Ochoa-Torres MA, Guerrero GG, Rodriguez-Sanchez IP, Cancela-Murrieta CO, Zamudio-Osuna M, Badillo-Almaraz JI, Castruita-De la Rosa C. Expression levels of seven candidate genes in human peripheral blood mononuclear cells and their association with preeclampsia. *Hypertens Pregnancy* 2014;33:191-203.
52. Matsuo K, Kooshesh S, Dinc M, Sun CC, Kimura T, Baschat AA. Late postpartum eclampsia: report of two cases managed by uterine curettage and review of the literature. *Am J Perinatol* 2007;24:257-266
53. Soto-Wright V, Bernstein M, Goldstein DP, Berkowitz RS. The changing clinical presentation of complete molar pregnancy. *Obstet Gynecol* 1995;86:775-779.
54. Roberts JM, Taylor RN, Musci TJ, Rodgers GM, Hubel CA, McLaughlin MK. Preeclampsia: an endothelial cell disorder. *Am J Obstet Gynecol* 1989;161:1200-1204.
55. Rodgers GM, Taylor RN, Roberts JM. Preeclampsia is associated with a serum factor cytotoxic to human endothelial cells. *Am J Obstet Gynecol* 1988;159:908-914.
56. Geva E, Ginzinger DG, Zaloudek CJ, Moore DH, Byrne A, Jaffe RB. Human placental vascular development: vasculogenic and angiogenic (branching and non branching) transformation is regulated by vascular endothelial growth factor-A, angiopoietin-1, and angiopoietin-2. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:4213-4224.

57. Goldman-Wohl D, Ariel I, Greenfield C, Lavy Y, Yagel S. Tie- 2 and angiopoietin-2 expression at the fetal-maternal interface: a treceptor ligand model for vascu- lar remodeling. *Mol Hum Reprod* 2000;6:81-87.
58. Dunk C, Shams M, Nijjar S, Rhaman M, Qiu Y, Bussolati B, et al. Angiopoietin-1 and angiopoitin- 2 activate trophoblast Tie-2 to promote growth and migration during placental development. *Am J Pathol* 2000;156:2185-2199.
59. Wulff C, Wilson H, Dickson SE, Wiegand SJ, Fraser HM. Hemochorial placentation in the primate: expresion of vascular endothelial growth factor, angiopoietins, and their receptors throughout pregnancy. *Biol Reprod* 2002;66:802-812.
60. Tsatsaris V, Goffin F, Munaut C, Brichant JF, Pignon MR, et al. Overexpression of the soluble vascular endothelial growth factor receptor in preeclamptic patients: pathophysiological consequences. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:5555-5563.
61. Maynard SE, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li J, Mondal S, Libermann TA, Morgan JP, Sellke FW, Stillman IE, Epstein FH, Sukhatme VP, Karumanchi SA. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest* 2003;111:649-658.
62. Venkatesha S, Toporsian M, Lam C, Hanai J, Mammoto T, Kim YM, Bdolah Y, Lim KH, Yuan HT, Libermann TA, Stillman IE, Roberts D, D'Amore PA, Epstein FH, Sellke FW, Romero R, Sukhatme VP, Letarte M, Karumanchi SA. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med* 2006;12:642-649.
63. Levine RJ1, Lam C, Qian C, Yu KF, Maynard SE, Sachs BP, Sibai BM, Epstein FH, Romero R, Thadhani R, Karumanchi SA; CPEP Study Group.

- Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med* 2006;355:992-1005.
64. Salafia CM, Pezzullo JC, Lopez-Zeno JA, Simmens S, Minior VK, Vintzileos AM. Placental pathologic features of preterm preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:1097–1105.
65. Lafayette RA, Druzin M, Sibley R, Derby G, Malik T, Huie P, Polhemus C, Deen WM, Myers BD. Nature of glomerular dysfunction in pre-eclampsia. *Kidney Int* 1998;54:1240–1249.
66. Stillman IE, Karumanchi SA. The glomerular injury of preeclampsia. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18:2281–2284.
67. Page E. The relation between hydatid moles, relative ischemia of the gravid uterus, and the placental origin of eclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1939;37:291-3).
68. Brosens IA, Robertson WB, Dixon HG. The role of the spiral arteries in the pathogenesis of preeclampsia. *Obstet Gynecol Annu.* 1972;1:177-91).
69. Redman CW. Current topic: pre-eclampsia and the placenta. *Placenta.* 1991 Jul-Aug;12(4):301-8).
70. Brosens IA, Robertson WB, Dixon HG. The role of the spiral arteries in the pathogenesis of preeclampsia. *Obstet Gynecol Annu.* 1972;1:177-91.
71. Redman CW, Sargent IL. Latest advances in understanding preeclampsia. *Science.* 2005 Jun 10;308(5728):1592-4.
72. Roberts JM, Lain KY. Recent Insights into the pathogenesis of pre-eclampsia. *Placenta.* 2002 May;23(5):359-72).
73. Genbacev O, Zhou Y, Ludlow JW, Fisher SJ. Regulation of human placental development by oxygen tension. *Science.* 1997 Sep 12;277(5332):1669-72).

74. Kontic-Vucinic, O., Terzic, M., Radunovic, N., 2008. The role of antioxidant vitamins in hypertensive disorders of pregnancy. *J. Perinat. Med.* 36 (4), 282-290).
75. Roberts JM, Taylor RN, Musci TJ, Rodgers GM, Hubel CA, McLaughlin MK. Preeclampsia: an endothelial cell disorder. *Am J Obstet Gynecol.* 1989 Nov;161(5):1200-4.
76. Karumanchi SA, Bdolah Y. Hypoxia and sFlt-1 in preeclampsia: the "chicken-and-egg" question. *Endocrinology.* 2004 Nov;145(11):4835-7.
77. Chesley LC. Vascular reactivity in normal and toxemic pregnancy. *Clin Obstet Gynecol.* 1966; 9(4):871-81.
78. Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Pre-eclampsia. *Lancet.* 2005;365(9461):785-99.
79. Lain KY, Roberts JM. Contemporary concepts of the pathogenesis and management of preeclampsia. *JAMA.* 2002; 287(24):3183-6.
80. Roberts JM, Pearson GD, Cutler JA, Lindheimer MD. Summary of the NHLBI Working Group on Research on Hypertension During Pregnancy. *Hypertens Pregnancy.* 2003;22(2):109-27.
81. Fisher KA, Luger A, Spargo BH, Lindheimer MD. Hypertension in pregnancy: clinical-pathological correlations and remote prognosis. *Medicine (Baltimore).* 1981; 60(4):267-76.
82. Roberts JM, Hubel CA. Is oxidative stress the link in the twostage model of pre-eclampsia? *Lancet.* 1999; 354(9181):788-9.
83. Buehler PW, D'Agnillo F. Toxicological consequences of extracellular hemoglobin: biochemical and physiological perspectives. *Antioxid Redox Signal.* 2010 Feb;12(2):275-91.

84. Lo YM, Leung TN, Tein MS, Sargent IL, Zhang J, Lau TK, et al. Quantitative abnormalities of fetal DNA in maternal serum in preeclampsia. *Clin Chem*. 1999; 45(2):184-8.
85. Sifakis S, Zaravinos A, Maiz N, Spandidos DA, Nicolaides KH. First-trimester maternal plasma cell-free fetal DNA and preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2009; 201(5):472 e1-7.
86. Smarason AK, Sargent IL, Starkey PM, Redman CW. The effect of placental syncytiotrophoblast microvillous membranes from normal and pre-eclamptic women on the growth of endothelial cells in vitro. *Br J Obstet Gynaecol*. 1993 Oct;100(10):943-9.
87. Olsson MG, Centlow M, Rutardottir S, Stenfors I, Larsson J, Hosseini-Maaf B, et al. Increased levels of cell-free hemoglobin, oxidation markers, and the antioxidative heme scavenger alpha(1)-microglobulin in preeclampsia. *Free Radic Biol Med*. 2010; 48(2):284-91.
88. Anderson UD, Olsson MG, Rutardottir S, Centlow M, Kristensen KH, Isberg PE, et al. Fetal hemoglobin and alpha1-microglobulin as first- and early second-trimester predictive biomarkers for preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2011; 204(6):520 e1-5.
89. Anderson UD, Olsson MG, Kristensen KH, Akerstrom B, Hansson SR. Review: Biochemical markers to predict preeclampsia. *Placenta*. 2012; 33 Suppl:S42-7.
90. Maynard SE, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li J, Mondal S, et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest*. 2003; 111(5):649-58.
91. Redman CW, Sargent IL. Latest advances in understanding preeclampsia. *Science*. 2005;308:1592-4.

92. Powe CE, Levine RJ, Karumanchi SA. Preeclampsia, a disease of the maternal endothelium: the role of antiangiogenic factors and implications for later cardiovascular disease. *Circulation*. 2011, 123(24):2856-69.
93. Buhimschi CS, Norwitz ER, Funai E, Richman S, Guller S, Lockwood CJ, et al. Urinary angiogenic factors cluster hypertensive disorders and identify women with severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2005 Mar;192(3):734-41.
94. Luttun A, Carmeliet P. Soluble VEGF receptor Flt1: the elusive preeclampsia factor discovered? *J Clin Invest* 2003 Mar;111(5):600-602.
95. Levine RJ, Karumanchi SA. Circulating angiogenic factors in preeclampsia. *Clin Obstet Gynecol* 2005 Jun;48(2):372-386.
96. Vuorela P, Helske S, Hornig C, Alitalo K, Weich H, Halmesmaki E. Amniotic fluid-soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 in preeclampsia. *Obstet and Gynecol*. 2000; 95: 353-7.
97. Rajakumar A, Michael HM, Rajakumar PA, Shibata E, Hubel CA, Karumanchi SA, Thadnani R, Wolf M, Harger G, Markovic N. Extraplacental expression of vascular endothelial growth factor receptor-1, (Flt-1) and soluble Flt-1 (sFlt-1), by peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) in normotensive and preeclamptic pregnant women. *Placenta*. 2005;26:563-573.
98. Hertig A, Berkane N, Lefevre G, Toumi K, Marti HP, Capeau J, Uzan S, Rondeau E. Maternal serum sFlt1 concentration is an early and reliable predictive marker of preeclampsia. *Clin Chem* 2004;50:1702-3.
99. Madazli R, Kuseyrioglu B, Uzun H, Uludag S, Ocak V. Prediction of preeclampsia with maternal midtrimester placental growth factor, activin a, fibronectin and uterine artery doppler velocimetry. *Int J Gynaecol Obstet* 2005;89:251-257.

100. De Vivo A, Baviera G, Giordano D, Todarello G, Corrado F, D'Anna R. Endoglin, PIGF and sFlt-1 as markers for predicting pre-eclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2008;87:837-842.
101. Lim JH, Kim SY, Park SY, Yang JH, Kim MY, Ryu HM. Effective prediction of preeclampsia by a combined ratio of angiogenesis-related factors. *Obstet Gynecol* 2008;111:1403–1409.
102. De Vivo A, Baviera G, Giordano D, Todarello G, Corrado F, D'Anna R. Endoglin, PIGF and sFlt-1 as markers for predicting pre-eclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2008;87:837-842.
103. Verlohren S, Galindo A, Schlembach D, Zeisler H, Herraiz I, Moertl MG, Pape J, Dudenhausen JW, Denk B, Stepan H. An automated method for the determination of the sFlt-1/PIGF ratio in the assessment of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2010;202:161e1- e11.
104. Kim Y, Ryu HM, Yang JH, Kim MY, Han JY, Kim JO, Chung JH, Park SY, Lee MH, Kim DJ. Increased sFlt-1 to PIGF ratio in women who subsequently develop preeclampsia. *J Korean Med Sci*; 2007;22(5):873-877.
105. Chaiworapongsa T, Romero R, Gotsch F, Espinoza J, Nien JK, Goncalves L, Edwin S, Kim Y, Erez O, Kusanovic JP, Pineles BL, Papp Z, Hassan S. Low maternal concentration of soluble vascular endothelial growth factor receptor-2 in preeclampsia and small for gestational age. *J Matern Fetal Neonatal Med*; 2008;21(1):41-52.
106. Conde-Agudelo A, Villar J, Lindheimer M. World Health Organization systematic review of screening tests for preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2004;104:1367–1391.
107. Conde-Agudelo A, Romero R, Lindheimer MD. Tests to predict preeclampsia. *Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy*. Third Edition. Elsevier; 2009.

108. Dekker G, Sibai B. Primary, secondary, and tertiary prevention of preeclampsia. *Lancet*. 2001;357:209-215.
109. González A, Ulloa Galván G, Alpuche G, Romero Arauz J. Risk factors for preeclampsia. Multivariate analysis. *Ginecol Obstet Mex*. 2000;68:357-362.
110. Conde-Agudelo A, Villar J, Lindheimer M. World Health Organization systematic review of screening tests for preeclampsia. *Obstet Gynecol*. 2004;104:1367-1391.
111. Teppa A, Terán J. Factores de riesgo asociados con la preeclampsia. *Rev Obstet Ginecol Venez*. 2001;61:49-56.
112. Briceño-Pérez C, Briceño-Sanabria L, Vigil-De Gracia P. Prediction and prevention of preeclampsia. *Hypertens Pregnancy*. 2009;28:138-155.
113. Monte S. Biochemical markers for prediction of preeclampsia: review of the literature. *J Prenat Med*; 2011;5(3):69-77.
114. Steegers EA, von Dadelszen P, Duvekot JJ, Pijnenborg R. Pre-eclampsia. *Lancet*. 2010;376(9741):631-644.
115. Serrano NC, Páez MC, Martínez MP, Casas JP, Gil L, Navarro A. Bases Genéticas y moleculares de la preeclampsia. *MEDUNAB*. 2002;5:185-194.
116. Khan KS, Wojdyla D, Say L, Gülmezoglu AM, Van Look PFA. WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review. *Lancet*. 2006;367(9516):1066-1074.
117. Hogan MC, Foreman KJ, Naghavi M. Maternal mortality for 181 countries, 1980-2008: a systematic analysis of progress towards Millennium Development Goal 5. *Lancet*. 2010;375(9726):1609-1623.
118. Sánchez-Rodríguez EN, Nava-Salazar S, Morán C, Romero-Arauz JF, Cerbón-Cervantes MA. Estado actual de la preeclampsia en México: de lo

epidemiológico a sus mecanismos moleculares. Revista de Investigación Clínica. 2010, 62(3):252-260.

119. English FA, Kenny LC, McCarthy FP. Risk factors and effective management of preeclampsia. Integr Blood Press Control. 2015; 8:7-12.
120. www.preeclampsia.org.
121. WMA Declaration of Helsinki - Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. (2008).

ANEXOS

Anexo 1. Lista de abreviaturas

Abreviatura	Significado
ACOG	Colegio Americano de Ginecología y Obstetricia
ADN	ácido desoxirribonucleico
ADNc	ácido desoxirribonucleico complementario
AMOP	dominio de adhesión asociado en MUC4 y otras proteínas
AST	aspartato aminotransferasa
ALT	alanina aminotransferasa
BUN	nitrógeno ureico en sangre
CLAP	Centro Latinoamericano de Perinatología
CMSPa	células mononucleares de sangre periférica activadas
EHE	Enfermedad hipertensiva del embarazo
EHEC	Enfermedad hipertensiva del embarazo a clasificar
ELISA	ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas
FGF	factor de crecimiento de fibroblastos
IMC	índice de masa corporal
ISM	isthmin
ISM1	isthmin 1
ISM2	isthmin 2
LDH	lactato deshidrogenasa
NHBPEP	Programa Nacional de Educación sobre Presión Arterial Alta
OMS	Organización Mundial de la Salud
OPS	Organización Panamericana de la Salud
PAD	presión arterial diastólica
PAS	presión arterial sistólica
pb	pares de bases
PGH	Proyecto Genoma Humano
PIGF	factor de crecimiento placentario
RCP	reacción en cadena de la polimerasa
RMA	promedio de multichip robusto
sFlt-1	tirosinacinas-1 similar a fms soluble
sEng	endoglina soluble
TGF- β	factor de crecimiento transformante beta
TSP1	dominio trombospondina tipo 1
TP	tiempo de protrombina
TTP	tiempo de tromboplastina parcial
VEGF	factor de crecimiento endotelial vascular

Anexo 2. Carta de consentimiento informado

Título del Proyecto:

Evaluación de las proteínas Isthmin 1 (ISM1) e Isthmin 2 (ISM2) como biomarcadores en preeclampsia.

He sido informado acerca de mi participación en el proyecto aquí citado. Estoy consciente que me tomarán una muestra de sangre y posterior al nacimiento de mi bebe se tomara muestra de placenta, requerida para esta investigación. Se me han explicado todas las dudas acerca de la participación en el estudio, los riesgos y los beneficios. Se me ha asegurado que es libre de costo y que se me informarán de los resultados derivados de los estudios realizados si así lo deseo.

De manera voluntaria acepto participar, y se me garantiza la confidencialidad de la investigación.

Nombre y firma del paciente o representante legal:

Nombre y firma del investigador:

Nombre y firma, testigo I:

Nombre y firma, testigo II:

Fecha: _____

Anexo 3. Formato de historia clínica

HISTORIA CLÍNICA DE PACIENTES OBSTÉTRICAS

Datos generales

Nombre completo del paciente: _____

Edad: _____ Fecha de elaboración: _____ Hora: _____ Expediente: _____

Antecedentes heredo familiares

Diabetes mellitus SI NO _____ Hipertensión arterial SI NO _____

Cáncer (CA) de mama SI NO _____ CA cervicouterino SI NO _____

Cardiopatías SI NO _____ Malformaciones SI NO _____

Tuberculosis SI NO _____

Antecedentes personales no patológicos

Lugar de nacimiento: _____ Escolaridad: _____

Estado civil: _____ Ocupación: _____

Religión: _____ Grupo sanguíneo: _____

Calidad de alimentación: buena _____ mala _____ regular _____

Higiene personal: buena _____ mala _____ regular _____

Antecedentes personales patológicos

Médicos: _____ Alcoholismo: _____

Quirúrgicos: _____ Tabaquismo: _____

Transfusionales: _____ Toxicomanías: _____

Alérgicos: _____ Otros: _____

Antecedentes gineco-obstétricos

Menarca: _____ Ritmo: _____ Inicio de vida sexual: _____ Gestas: _____ Para: _____

Abortos: _____ Cesáreas: _____ Historial obstétrico: _____

Hijos vivos: _____ Fecha de última menstruación: _____ Fecha probable de parto: _____ Fecha de último parto: _____ Método anticonceptivo: _____

_____ Detección oportuna de CA de mama: _____ Papanicolau: _____

_____ Número de contactos sexuales: _____ Prueba inmunológica de embarazo: _____

Control prenatal: _____ Multivitamínicos: _____

Toxoide tetánico: _____ Sintomatología neurovegetativa: _____

Percepción de movimientos fetales: _____ Infección de vías urinarias:

_____ Infecciones vaginales: _____

Interrogatorio por aparatos y sistemas

Cefalea _____ Acúfenos _____ Fosfenos _____ Dolor epigastrio _____

Otros _____

Exploración física

Peso _____ Talla _____ Frecuencia cardiaca _____ Frecuencia respiratoria

_____ Tensión arterial _____ Temperatura _____

General _____

Cabeza y cuello _____

Tórax _____

Abdomen _____

Genitales _____

Extremidades _____

Laboratorios

Biometría hemática completa

Leucocitos _____

Neutrófilos % _____

Linfocitos % _____

Monocitos % _____

Eosinófilos % _____

Basófilos % _____

Eritrocitos _____

Hemoglobina _____

Hematocrito _____

Volumen corpuscular medio _____

Hemoglobina corpuscular media (HCM) _____

Concentración de HCM _____

Distribución media eritrocitaria (Rwd) _____

Plaquetas _____

Química sanguínea

Glucosa _____

Urea _____

Creatinina _____

Acido úrico _____

Bilirrubina total _____

Bilirrubina directa _____

ALT _____

AST _____

Fosfatasa alcalina _____

Proteínas totales _____

Albúmina _____

Deshidrogenasa láctica _____

Pruebas de coagulación

Grupo y Rh _____

Tiempo de Protombina _____

Tiempo de Tromboplastina Parcial _____

Examen general de orina

Aspecto _____ Cilindros _____ Cetonas _____

Color _____ Glucosa _____ Cristales _____

Olor _____ Leucocitos _____

pH _____ Eritrocitos _____

Proteínas _____ Gravedad específica _____

Nitritos _____ Esterasa leucocitaria _____

Proteínas en recolección de orina de 24 horas _____**Gabinete**

Ultrasonido obstétrico Fecha _____

Interpretación _____

Terapéutica empleada

Alfa-metildopa SI NO dosis _____

Hidralazina SI NO dosis _____

Nifedipino SI NO dosis _____

Otros _____

Diagnóstico _____

