

11217
163

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**



FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO, O. D.

DESCRIPCION CLINICA E IDENTIFICACION DEL
POLIMORFISMO DE LOS GENES DEL COMPLEJO PRINCIPAL
DE HISTOCOMPATIBILIDAD CLASE II Y DE TNF α EN
PACIENTES CON PREECLAMPSIA LEVE Y SEVERA

SECRETARIA DE SALUD
HOSPITAL GENERAL DE MEXICO
ORGANISMO DESCENTRALIZADO



DIRECCION DE ENSEÑANZA

TESIS DE POSGRADO
PARA OBTENER EL TITULO
EN LA ESPECIALIDAD DE
GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA
P R E S E N T A
DRA. ALICIA MENDEZ BARAJAS



HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO, O. D. MEXICO, D. F.,

FEBRERO DEL 2002

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DESCRIPCIÓN CLÍNICA E IDENTIFICACIÓN DEL POLIMORFISMO DE LOS GENES DEL COMPLEJO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDAD CLASE II Y DE TNF α EN PACIENTES CON PREECLAMPSIA LEVE Y SEVERA

AUTOR DE TESIS.



Dra. Alicia Méndez Barajas.

Residente de la Especialidad de Ginecología y Obstetricia del Hospital General de México.

TUTOR DE TESIS.



Dr. Arturo Ortiz Pavón.

Médico Adscrito de Perinatología del Servicio de Ginecología y Obstetricia del HGM. OD.

CO-ASESOR DE TESIS.

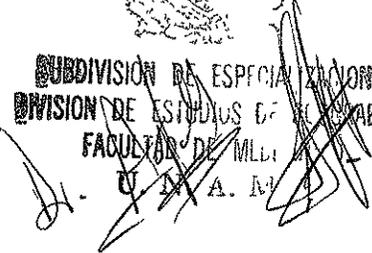


Dr. Julio Granados Arriola.

Investigador Titular del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán
Sistema Nacional de Investigadores SIN Nivel III.



**SUBDIVISION DE ESPECIALIZACION
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**



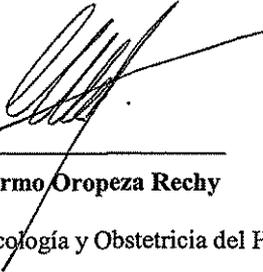
TESIS CON FALLA DE ORIGEN

AUTORIZACION



Dr Rubén Burgos Vargas.

Director de Investigación del HGM. O.D.



Dr. Guillermo Oropeza Rechy

Jefe del Servicio de Ginecología y Obstetricia del HGM. O.D.



Dr. Gregorio Magaña Contreras.

Jefe de Enseñanza de Ginecología y Obstetricia del HGM. O D

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

*DESCRIPCIÓN CLÍNICA E IDENTIFICACIÓN DEL POLIMORFISMO DE LOS
GENES DEL COMPLEJO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDAD CLASE II Y DE
TNF α EN PACIENTES CON PREECLAMPSIA LEVE Y SEVERA*

*Esta tesis quedo registrada y aprobada por
el Comité de Ética y la Dirección de Investigación del
Hospital General de México O.D.
con clave DIC/01/406B/03/069
el día 28 de Agosto del 2001*

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

*DESCRIPCIÓN CLÍNICA E IDENTIFICACIÓN DEL POLIMORFISMO DE LOS
GENES DEL COMPLEJO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDAD CLASE II Y DE
TNF α EN PACIENTES CON PREECLAMPSIA LEVE Y SEVERA*

RECONOCIMIENTO

El presente trabajo de tesis, se realizó bajo la dirección del Dr. Julio Granados Arriola, Investigador Titular del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

Gracias por su asesoría, orientación y apoyo en la realización de este trabajo



AGRADECIMIENTOS

A DIOS.

El permitirme concluir esta etapa y el tener
la vida para crecer como ser humano

CON INMENSO AMOR Y GRATITUD A MIS PADRES.

A TI MAMA.

Porque me amaste antes de nacer y darme la vida,
por estar siempre conmigo en los momentos alegres
como en los difíciles. Muchas gracias por tu cariño,
paciencia y comprensión, porque de ti aprendí
que cuando quiere uno lograr algo en la vida, se puede.
Este trabajo es para ti.

“Te Quiero Mucho.”

A TU MEMORIA PAPA.

Con lagrimas en mi rostro de tristeza,
porque ya no estas conmigo, pero a la vez de alegría
por todo tu amor y cariño que me diste,
pero sé que detrás de cada lagrima, de cada sonrisa
o de cada reto te encuentro y sé que siempre te encontrare,
gracias por enseñarme a ser tenaz en la vida
a pesar de lo difícil que esta pueda ser.
Te dedico este trabajo a tu memoria.
“Siempre estarás en mi corazón.”



***A MIS HERMANOS : GABRIEL, RAFAEL Y LUIS
Y SUS FAMILIAS.***

Por todo su apoyo, comprensión y tolerancia durante estos años en los que muchas veces las circunstancias me hicieron alejarme de ustedes, pero siempre han estado cerca de mí.

TIO ARTURO.

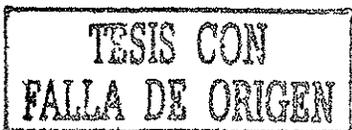
Por la confianza en mi carrera
y todo el apoyo que me brindaste.

MIS MAESTROS.

Porque son el pilar de mi formación como especialista.
Gracias

A los amigos incondicionales y sinceros
a los que recordare siempre con gran cariño.

A todas las personas que de una o de otra forma
ayudaron en la realización de este trabajo
Muchas gracias



Al noble paciente del Hospital General de México
que me permitió formarme como especialista

INDICE

Resumen.....	1
Historia.....	3
Epidemiología.....	5
Clasificación.....	6
Fisiopatología.....	11
Etiología.....	17
El concepto de MHC y las moléculas HLA.....	22
Genes HLA clase I.....	24
Genes HLA clase II.....	24
Genes HLA clase III.....	26
Asociación de los genes HLA en enfermedad.....	26
Preeclampsia y su relación con HLA.....	35
Planteamiento del problema.....	39
Hipótesis.....	39
Objetivos.....	40
Objetivo General.....	40
Objetivos específico.....	40
Diseño y duración.....	41

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Metodología	42
Diseño del estudio..... 1.....	42
Población en estudio.....	42
Criterios de inclusión.....	42
Criterios de exclusión.....	43
Criterios de eliminación.....	43
Variable independiente.....	44
Variable dependiente.....	44
 Material y Método.....	 44
Actividades y procedimientos	44
Grupo de controles sanos.....	45
Obtención del DNA.....	45
Tipificación de genes clase II del MHC.....	47
 Análisis de datos.....	 48
 Recursos físicos.....	 49
 Resultados.....	 50
 Conclusiones.....	 71
 Discusión.....	 72
 Anexos.....	 75
 Glosario.....	 77
 Bibliografía.....	 79



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

DESCRIPCIÓN CLÍNICA E IDENTIFICACIÓN DEL POLIMORFISMO DE LOS GENES DEL COMPLEJO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDAD CLASE II Y DE TNF α EN PACIENTES CON PREECLAMPSIA LEVE Y SEVERA

RESUMEN

JUSTIFICACIÓN: Durante el desarrollo fisiológico del embarazo se encuentra elevación en los niveles de citocinas proinflamatorias en especial del factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), cuya hiperproducción se ha asociado con el desarrollo de Preeclampsia.^{1,2,3,4}

HIPÓTESIS: En pacientes con preeclampsia leve y severa existen algunos de los alelos del gen HLA-DRB1 y del gen de TNF, ambos ubicados dentro del Complejo Principal de Histocompatibilidad (MHC), clase II;

OBJETIVOS: Describir los polimorfismos del gen HLA-DRB1 y del TNF α , en pacientes con preeclampsia comparado con un grupo control. **DISEÑO:** Se utilizará un estudio de casos y controles. **POBLACIÓN Y MUESTRA:** Se estudiarán 100 pacientes embarazadas, de las cuales, 50 cursan con embarazo normal, (control), y, 50 pacientes cursarán con preeclampsia (casos). **VARIABLES POR ANALIZAR:** Preeclampsia leve, preeclampsia severa, TNF α .

PROCEDIMIENTO. Se interrogará a la paciente con relación a síntomas de vasoespasmo (cefalea, acúfenos, fosfenos, edema, así como la toma de la presión arterial y la toma de bililabstix) Extracción de DNA genómico a partir de células mononucleares de sangre

periférica, mediante la técnica de expulsión salina (Salting out). ANÁLISIS DE RESULTADOS: Tipificación de los alelos del gen HLA-DRB1 , mediante oligonucleótidos específicos de alelo (ASO), posterior a la amplificación mediante la reacción de polimerasa en cadena (PCR). los polimorfismos se enfocaran en la región promotora del gen en particular en la posición 308.

ANALISIS ESTADISTICO: Para analizar las diferencias entre los casos y controles, se analizaron pruebas de estadística no paramétrica tales como Chi cuadrada y exacta de Fischer, estableciendo el riesgo relativo (RR) como razón de momios (OR) y corrigiendo el valor de "p" por el número de comparaciones (Método de Bonferroni).

Todo ello usando el paquete estadístico EPIINFO.

HISTORIA

La Preeclampsia en sus inicios no fue diferenciada de la epilepsia durante 16 siglos. Celso (siglo I d.c.), Aecio (siglo VI) y Pablo de Egipto (siglo VII 9), escribieron que las convulsiones y la inconciencia eran malos signos en la mujer embarazada.

En 1596, Gabelchoverus atribuyó la epilepsia a la asociación de algunos síntomas (cefalea, dolor en epigastrio) y el útero grávido.

En 1694, Mauriceau, adjudicó las convulsiones de la mujer embarazada asociado con la irritación del cuello uterino.

En 1739, De Sauvages, diferenció la epilepsia de las convulsiones por causas agudas, a las cuales denominó eclampsia, en 1759, definió diversos tipos de eclampsia, en relación con causas agudas como dolor en epigastrio, hemorragia severa.

El descubrimiento de Lever, en 1843, reconoció que la proteinuria ecláptica desaparecía rápidamente después del parto y que por ende la eclampsia era diferente de la nefritis crónica

Se pensaba que la preeclampsia era causada por una toxina, por lo que recibió el nombre de toxemia.

Alibutt en 1896, diferenciò la Hipertensió primaria ò esencial, de la Hipertensió renal denominándola "Plétora senil".³⁹

El concepto de que la Preeclampsia puede ser un trastorno inmunitario fue propuesto por primera vez en 1902, y desde entonces, muchos informes surgieron en relación a que es producida por una respuesta inmunitaria anormal al reto antigénico por el aloinjerto fetoplacentario.⁶

EPIDEMIOLOGIA

La Preeclampsia – Eclampsia, sigue constituyendo una de las principales causas de morbilidad y muerte materna en todo el mundo.

En México la situación, es igualmente problemática. En los últimos años, la Preeclampsia se ha instituido como la principal causa de muerte materna, responsable de más de la tercera parte de las defunciones de este tipo en el Sistema Nacional de Salud ⁷

La Preeclampsia ocurre entre el 6 y 10 % de todas las mujeres gestantes

En México durante 1995, las causas más frecuentes de egresos hospitalarios en la población de 15 a 44 años de edad, fueron las complicaciones del embarazo, el parto y el puerperio, en ese periodo se produjeron 1454 muertes maternas de las que el 87.1% se debieron a causas obstétricas, de las cuales 28% se debió a Preeclampsia y sus complicaciones ⁸

CLASIFICACION

La enfermedad hipertensiva durante el embarazo abarca un espectro clínico muy amplio, que va desde formas leves y asintomáticas hasta manifestaciones muy severas que pueden llevar con el tiempo el deceso del feto y de la madre. De acuerdo a la AMGO (Asociación Mexicana de Ginecología y Obstetricia). La enfermedad hipertensiva asociada al embarazo se clasifica en: Preeclampsia leve y Preeclampsia severa. Siendo los criterios para su estudio los siguientes: ⁹

Preeclampsia Leve: Se caracteriza cuando después de la semana 20 de gestación, aparecen dos ó más de los siguientes signos.

- Presión sistólica mayor ó igual a 140 mmHg ó elevación de 30 mmHg sobre la presión habitual.
- Presión diastólica mayor ó igual a 90 mmHg ó elevación de 15 mmHg sobre la presión habitual.
- Presión media mayor ó igual a 106 mmHg.
- Proteinuria menor de 3grs en orina de 24hrs.
- Edema persistente de extremidades ó cara.

Preeclampsia severa:

- Presión sistólica mayor ó igual a 160 mmHg.

- Presión diastólica mayor ó igual a 110 mmHg.
- Presión arterial media mayor a 126 mmHg.
- Proteinuria mayor a 3grs en orina de 24hrs.

O uno de los signos de Preeclampsia Leve asociados a Síndrome Vasculoespasmódico (alteraciones visuales, dolor epigástrico ó en hipocondrio derecho, cefalea, trastornos del estado de conciencia ó hiperreflexia generalizada).

Inminencia de Eclampsia:

- Presión sistólica mayor de 185 mmHg con presión diastólica mayor de 115 mmHg.
- Proteinuria mayor a 10grs en orina de 24hrs.
- Estupor.
- Pérdida total ó parcial de la visión.
- Dolor en barra epigástrico.
- Hiperreflexia generalizada.

Síndrome de HELLP.

Cuando una paciente tiene una enfermedad hipertensiva inducida por el embarazo se le agrega hemólisis, elevación de enzimas hepáticas y disminución de la cuenta plaquetaria

Eclampsia:

Se presentan convulsiones ó estado de coma acompañado de hipertensión arterial, edema ó proteinuria.¹⁰

La hipertensión, es el signo más importante de la preeclampsia, ya que refleja la gravedad de la enfermedad. La proteinuria, tiene un gran valor pronóstico en la preeclampsia, la monitorización frecuente de la cantidad de proteínas excretadas en la orina forma parte de la evaluación de éstas pacientes un aumento significativo de la proteinuria indica un empeoramiento de la enfermedad.

La presencia de vasoespasmio, se4 valora clínicamente mediante examen oftalmológico que forma parte de la evaluación inicial de toda paciente con preeclampsia. Los hallazgos más frecuentes con preeclampsia severa es el aumento en la relación vena / arteria (cuyo valor normal es de 4/3). Las pacientes con preeclampsia leve suelen tener un fondo de ojo normal.

Otros signos y síntomas de Preeclampsia son:

EDEMA: Actualmente ya no es un síntoma significativo, ya que algunas pacientes cursan con un edema fisiológico durante el embarazo.

CEFALEA: Suelen estar presentes en las formas severas puede estar localizada en región frontal u occipital, pulsátil ó continua, es intensa cuando precede a la aparición de convulsiones.

DOLOR EN EPIGASTRIO: en forma de barra (signo de Chaussier), es frecuente en la preeclampsia severa, la aparición de éste síntoma precede a convulsiones y se acompaña con frecuencia de alteraciones en los niveles de TGO (transaminasa oxalacética), TGP (transaminasa del glutamato-piruvato) y DHL (deshidrogenasa láctato).

VISION. El sintoma visual más frecuente son los escotomas, ó la percepción de manchas, fosfenos, éstos síntomas pueden progresar y desarrollarse a visión borrosa, ceguera total.

HIPERREFLEXIA OSTEOTENDINOSA: Se debe a la irritabilidad del Sistema Nervioso Central.

LABORATORIO: Las alteraciones del riñón, hígado, unidad fetoplacentaria, parámetros hematoplógicos.

Función renal alterada: aumento de los niveles de creatinina, nitrógeno ureico (BUN), ácido úrico y proteinuria.

Función hepática: aumento de TGO, TGP, DHL.

Función hematológica: aumento de Hemoglobina, hematocrito, debido a la disminución del volumen plasmático, trombocitopenia, TP alargado. Aumento de fibronectina.

Función fetoplacentaria: Es frecuente registrar dimensiones fetales correspondientes a una edad entre dos y cuatro semanas menor de la esperada que sugieren la presencia de un retardo en el crecimiento intrauterino.

La hemorragia intracraneal es la principal causa de muerte materna relacionada con la Preeclampsia ¹¹

Se ha concluido que hay una predisposición genética de la preeclampsia y se ha demostrado que la susceptibilidad hereditaria está asociada con el HLA-DR4. Esta susceptibilidad probablemente depende de una combinación entre los genotipos fetales y maternos y se ha demostrado que se desarrolla un único gen recesivo comprendido entre la madre y el feto. ¹²

También se ha encontrado la distribución del genotipo DRB1-04 con la posible existencia de un factor inmunogenético en común entre la preeclampsia, retardo del crecimiento intrauterino, aborto espontáneo, así mismo se ha visto dicho genotipo en pacientes con

preeclampsia con anticuerpos cardiolipina positivos.²⁵

La enfermedad es causada por una respuesta inmunológica inadecuada en el primer embarazo, posiblemente la inmunización antes del embarazo (tal vez con el antígeno paterno), puede tener un efecto protector de la patología²⁶

DEFINICION DE PREECLAMPSIA

La preeclampsia es un conjunto bien definido de signos clínicos, cuya etiología aún no se ha identificado con claridad.^{1,2} El principal signo de la enfermedad es la hipertensión, acompañado de proteinuria, edema ó ambos. Un diagnóstico de hipertensión requiere elevación de la presión arterial sistólica de 30mmHg o más, ó un aumento de la cifra diastólica de 15mmHg ó más con respecto a cifras previas antes de las 21 semanas de gestación.¹⁰

FISIOPATOLOGIA

Se acepta que la placenta juega un papel importante en la gènesis de la Preeclampsia. En un embarazo normal se produce entre la semana 10 y 16 una primera etapa de migraci3n trofoblàstica, con el objetivo de proveer al feto en lo sucesivo de una mayor irrigaci3n sanguinea.

Las paredes musculares y el endotelio de la pared decidual de las arterias espiraladas son reemplazados por eritroblasto.

Entre la semana 16 y 22, ocurre una segunda etapa de migraci3n, en la cual el trofoblasto invade la capa muscular de las arterias espiraladas.

En las mujeres con Preeclampsia, èsta segunda etapa de migraci3n trofoblàstica no se lleva a cabo, lo cual produce una anormal placentaci3n, lo que serìa el efecto inicial de la Preeclampsia.

Las arterias espiraladas, conservan su capa muscular con su inervaci3n adrenèrgica, llevando esto a una disminuci3n en la perfusi3n ùtero - placentaria , esta hipoperfusi3n llevarìa a causar daño endotelial, es por ello que cuando hay una disfunci3n endotelial hay sustancias que activan cèlulas de la respuesta inflamatoria, en el caso de la Preeclampsia, tanto granulocitos y monocitos son activados, tambièn hay incremento de citocinas, factor de necrosis tumoral alfa ($TNF \alpha$), interleucina 6 y fosfolipasa A2. Lo que provoca un

cambio en el microambiente endotelial basado en la presencia de moléculas proinflamatorias y la producción de radicales libres de oxígeno que llevan a un stress oxidativo tal, que ocasiona alteraciones en la permeabilidad vascular. ^{2,3,4}

Esta hipoperfusión causa un daño endotelial, produce una disminución en la producción por la placenta de prostaciclina, la cual es un potente vasodilatador e inhibidor de la agregación plaquetaria y de la contractilidad uterina. La prostaciclina incrementa sus niveles durante el embarazo normal.

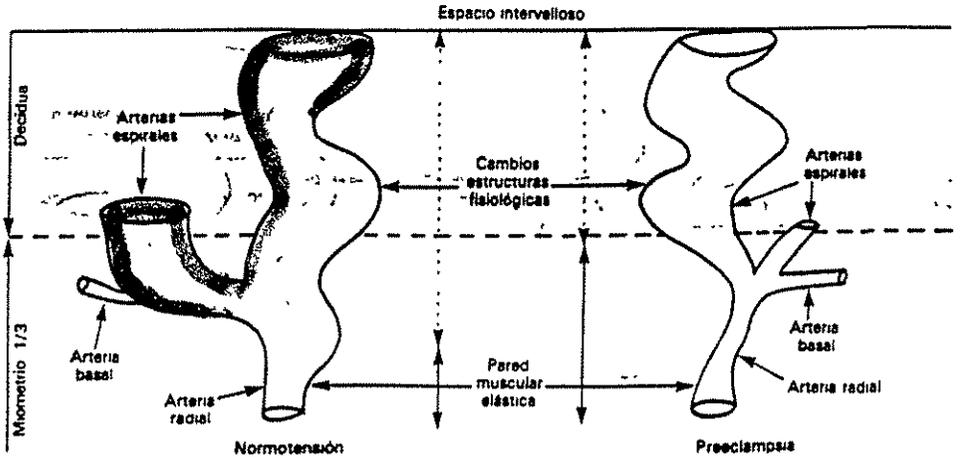


Figura 1, Arterias uteroplacentarias en pacientes normotensas y preeclámpticas (modificado de Brooens IA, Riesgo elevado obstétrico, Luis Cabero).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cuando el equilibrio entre prostaciclina y tromboxano (eucosanoides), se altera por disminución en la síntesis de prostaciclina con un aumento relativo en la producción de tromboxano. Se produce vasocostricción y aumento de la agregación plaquetaria, lo cual disminuye la perfusión uterina y aumenta la sensibilidad al efecto presor de la angiotensina II, ésta es la manifestación más temprana de la Preeclampsia aún semanas antes de que aparezca la sintomatología clínica.

El imbalance entre prostaciclina y troboxano lleva a un incremento en la coagulación intravascular diseminada (CID), y depósitos de fibrina. Esta situación produciría en la placenta trombos plaquetarios que serían los responsables del Retardo en el crecimiento intrauterino (RCIU), y del Desprendimiento prematuro de placenta normalmente insertada (DPPNI)

En nuestro organismo hay una gran variedad de sistemas antioxidativos para controlar, aunque no eliminar este proceso, entre los cuales están las enzimas superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa, así como otros sistemas no enzimáticos que incluyen a vitamina C, tocoferol y ceruloplasmina, entre otros .

Se produce un estrés oxidativo cuando la acción de los mecanismos antioxidantes es sobrepasada por el proceso de oxidación, siendo la peroxidación lipídica una importante manifestación del mismo. Aunque el estrés oxidativo afecta muchos componentes celulares, involucra principalmente a los ácidos grasos poliinsaturados y a los grupos tioles de las proteínas . Un proceso descontrolado de peroxidación lipídica es capaz de ocasionar

De las proteínas. Un proceso descontrolado de peroxidación lipídica es capaz de ocasionar cambios en la composición química y deterioro en la organización ultraestructural de las membranas celulares (ver Figura 2) , lo que se puede traducir en disminución de fluidez , cambios de permeabilidad e inactivación de receptores y enzimas unidas a las mismas . El estrés oxidativo también puede causar daños en la estructura de las enzimas, a través de la oxidación de grupos sulfidrilos (-SH) de los centros activos de las mismas, por modificación de la estructura de los aminoácidos o mediante la formación de bases de Schiff .

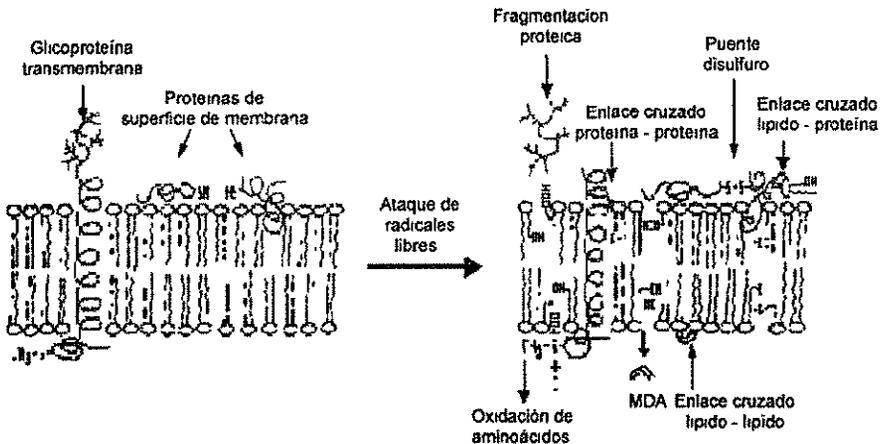


Figura 2
Representación esquemática de daños causados por radicales libres a diferentes estructuras de la membrana plasmática

En los embarazos normales se producen incrementos en el grado de peroxidación lipídica y en el total de lípidos circulantes en sangre, aunque también aumenta la actividad de los sistemas antioxidantes. Sin embargo, el proceso de isquemia placentaria que se produce en

encontrados en embarazos normales, haciendo insuficiente la acción de los mecanismos antioxidativos

Otro mecanismo que contribuye al incremento de la peroxidación lipídica, en la preeclampsia, es el de la activación de neutrófilos, con lo que se aumenta la secreción de sustancias como elastasas, proteasas y radicales libres, las cuales pueden causar daño tisular, al promover peroxidación lipídica, lisis de células endoteliales, disrupción del endotelio e incremento de la permeabilidad vascular .

En el sistema sanguíneo se presentara entonces una coagulación por consumo. En el Sistema Nervioso central (SNC), un vasoespasmo y trombos plaquetarios con microinfartos seran los responsables de las convulsiones. En el hígado se producirà necrosis responsable del incremento en las enzimas hepáticas. En los riñones se producira una endoteliosis glomerular, causante de la proteinuria y el edema que además puede llevar a una insuficiencia renal aguda.

La prostaciclina disminuye con incremento del tromboxano, provoca además vasoconstricción arterial y venosa produciendose Hipertensión arterial con disminución en la secreción de renina lo cual a su vez disminuye la producción de aldosterona. Esta junto con la vasoconstricción son los responsables de la hipovolemia. ¹³

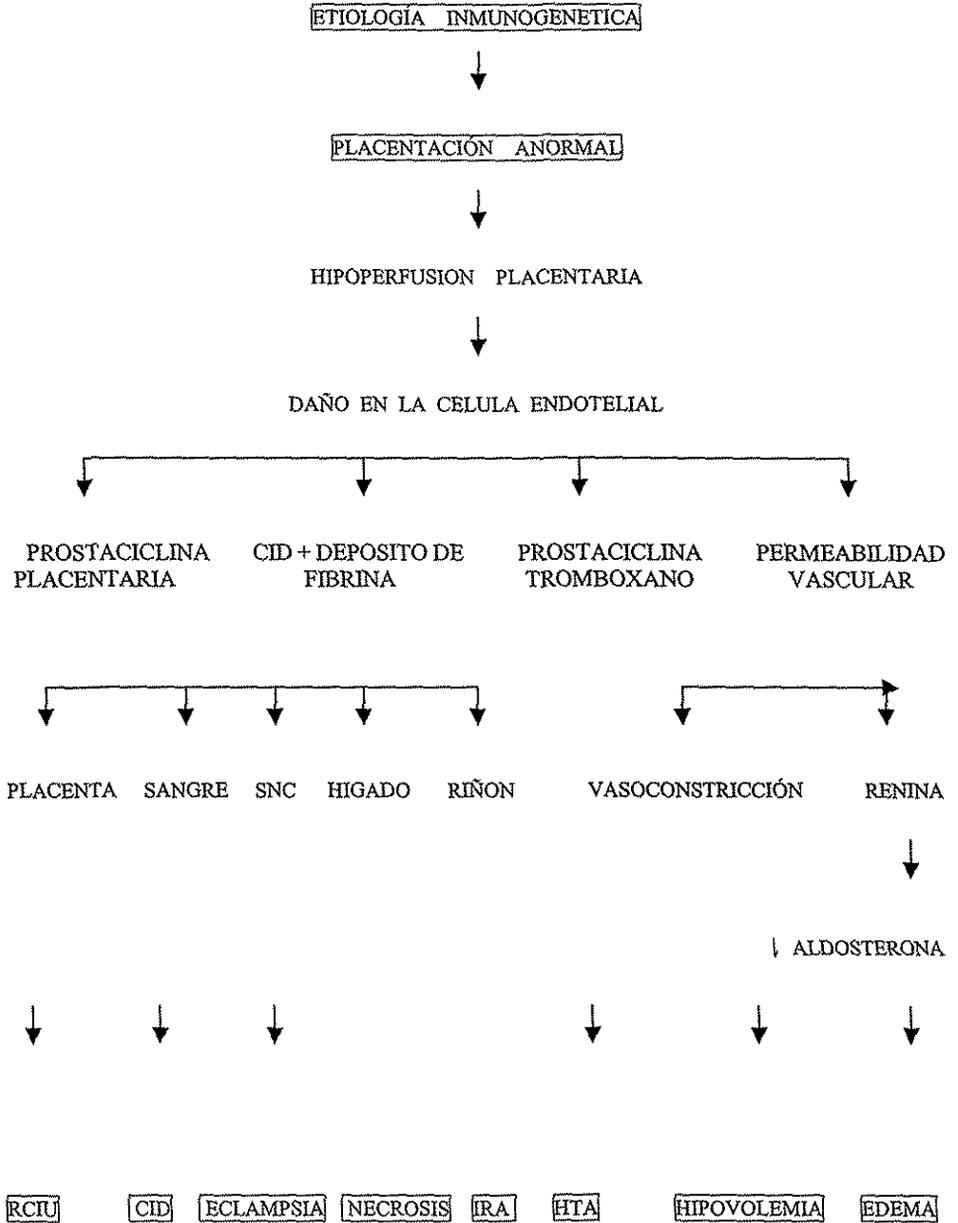


Figura . 3, Fisiopatología de la Preeclampsia, (Cifuentes)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ETIOLOGIA

Se trata de una enfermedad que se presenta únicamente en el ser humano, cuya etiología aún no ha sido dilucidada. Descrita clásicamente como la enfermedad de las teorías. La Enfermedad hipertensiva del embarazo es una forma reversible de hipertensión que complica entre 6 – 8 % de todos los embarazos mayores de 20 semanas.

Se han descrito las 10 siguientes etiologías:

- 1) Desequilibrio entre prostaciclina y tromboxano.
- 2) Suceptibilidad genética
- 3) Causas inmunológicas por producción insuficiente de anticuerpos bloqueadores.
- 4) Alteraciones en la reactividad vascular.
- 5) Alteraciones en el riego sanguíneo.
- 6) Disminución en el volumen intravascular.
- 7) Disminución en el filtrado glomerular con retención de sal y agua.
- 8) Aumento en la irritabilidad en el SNC.
- 9) CID.
- 10) Isquemia del músculo uterino.

Solo se mencionaran los tres primeros, porque son los que mejor se adaptan al conocimiento actual de la preeclampsia

1.- Desequilibrio entre prostaciclina y tromboxano.

Para que la segunda fase de migración trofoblástica se produzca es necesario que exista un balance entre prostaciclina y tromboxano, la prostaciclina es sintetizada por el endotelio vascular y la corteza renal, es un potente vasodilatador e inhibidor de la agregación plaquetaria. El tromboxano, es producido por las plaquetas y es un potente vasoconstrictor y agregados plaquetario.

Las células endoteliales se encuentran en íntima relación con la sangre, lo cual las expone a una elevada presión parcial de oxígeno, creándose así un ambiente muy vulnerable y susceptible para que se establezca un proceso de peroxidación lipídica . Elevados niveles de peroxidación lipídica conducirían a disfunción endotelial, por inducción de constricción del músculo liso vascular; incremento a las respuestas presoras de la angiotensina II y alteración en la actividad de enzimas responsables de importantes reacciones bioquímicas . Entre éstas últimas tenemos: la prostaglandina endoperoxido sintetasa, la cual cataliza la conversión del ácido araquidónico a prostaglandina H₂ (PGH₂); la prostaciclina sintetasa, que cataliza la conversión de PGH₂ a prostaciclina (PGI₂); y la TXA₂ sintetasa, que cataliza la conversión de PGH₂ a TXA₂ . Numerosos estudios, muestran que la ciclooxigenasa funciona adecuadamente a bajos niveles de peroxidación lipídica, siendo niveles elevados de peróxidos lipídicos inhibitorios para la enzima Por otro lado, altos niveles de peróxidos lipídicos no inhiben la actividad de la TXA₂ sintetasa . Estos hallazgos explican el desbalance de la relación PGI₂/ TXA₂ a favor de éste último que se produce durante la

preeclampsia, y explican los eventos de vasoconstricción general y aumento de la agregación plaquetaria característicos del síndrome.

2.- Susceptibilidad genética.

Chesley en 1986, mencionò un posible factor familiar a la etiología de la Preeclampsia.

La etiología genética de la enfermedad se ha ido reportando desde hace varios años. De estos estudios, la mayoría de los autores han establecido una herencia de tipo autosómica recesiva; no obstante, no han podido excluir la herencia dominante o multifactorial . En la práctica, algunos autores han encontrado que la incidencia de preeclampsia es de 37% en hermanas, 26% en hijas y, 16% en nietas; en contraste con un 6% en nueras . Por otra parte, como se comentó previamente, estudios de biología molecular muestran asociación entre genes del sistema del antígeno leucocitario humano y la preeclampsia.

Variantes moleculares del gen del angiotensinógeno han sido relacionados con la HTA esencial y, por consiguiente, se ha postulado una implicación parecida para las pacientes preeclámpticas. En este sentido, se ha certificado una asociación de la variedad M235T del gen angiotensinógeno y la preeclampsia .

Se ha reportado una correlación muy alta entre una historia previa de preeclampsia y la presencia de la mutación conocida como factor V de Leiden. Esta correlación es sumamente importante, ya que el factor V de Leiden está asociado con resistencia a la proteína C activada y, consecuentemente, con la aparición de trombosis venosas .

Sin embargo a pesar de los estudios realizados, evidenciando la posible etiología genética, la interacción entre genotipo fetal (la preeclampsia es frecuentes en los fetos masculinos), y el genotipo materno no explica claramente todas las manifestaciones de esta enfermedad.

3.-Causa inmunológica.

Diversos estudios han reportado que la preeclampsia aparece con más frecuencia durante el primer embarazo; es mayor su incidencia cuando ocurre cambio de paternidad y, disminuye su incidencia mientras mayor sea la actividad sexual que antecede a la concepción . Estos hechos se compaginan con la idea de la existencia de mecanismos inmunes involucrados en el proceso, por lo que algunos investigadores han propuesto que el reconocimiento inmunológico en el embarazo es esencial para el éxito del mismo, pues además de permitir *prevenir el rechazo del hemialoinjerto (la mitad de la carga genética es paterna)*, *faculta el estímulo para la descarga de citoquinas y factores de crecimiento, los cuales promueven la progresión y desarrollo del producto de la concepción .*

En la preeclampsia se han encontrado diferentes alteraciones inmunológicas. Con relación al compromiso de la inmunidad humoral, se ha reportado disminución en los niveles circulantes de inmunoglobulinas (IgG e IgM), de anticuerpos bloqueadores y de las fracciones del complemento C3 y C4 . En la preeclampsia existe, en contraste con embarazos normales, una respuesta inadecuada de anticuerpos maternos, donde el sistema retículo endotelial no elimina los antígenos fetales que pasan a su circulación, con lo que se forman complejos inmunes, que causan daño vascular y activación del sistema de la

coagulación. En referencia a la inmunidad celular, se sabe que los antígenos fetales inducen reacciones de inmunidad mediada por células. Por otra parte, se sabe que la decidua media el reconocimiento inmunológico del trofoblasto. Además, se ha identificado un antígeno del sistema mayor de histocompatibilidad con escasa heterogeneidad (pocos epítopes) conocido como HLA-G, que se encuentra expresado casi exclusivamente a nivel del citotrofoblasto, y que se piensa está en relación con el reconocimiento y mantenimiento del embarazo . También, se ha hallado en la preeclampsia una mayor actividad de neutrófilos, lo que contribuye a la lesión vascular por liberación diferentes agentes .

La falla en la segunda etapa de migración del trofoblasto, es posible que sea causado porque la media posee el antígeno HLA-DR, el cual ha sido asociado con la génesis de la preeclampsia. Igualmente se reporta como en esta patología los niveles de inmunoglobulina G son bajos y existen complejos inmunes, así como depósitos de inmunoglobulina y componentes del complejo en su circulación, sin embargo estos cambios han sido descritos también en pacientes embarazadas normales.

EL COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD (MHC) Y LAS MOLÉCULAS HLA

Los seres humanos son heterogéneos con respecto a la susceptibilidad a la enfermedad, lo cual puede tener sustento genético. Dicha susceptibilidad genética está influenciada por las moléculas HLA que unen péptidos e interactúan con el receptor de los linfocitos T (1987). Este descubrimiento se considera fundamental en la inmunología. ^{25,27}

Las moléculas HLA se codifican en el cromosoma 6 y son parte del complejo principal de histocompatibilidad (MHC). Y es considerado la región más polimórfica del genoma humano, lo que ha conducido a un detallado mapeo molecular de esta región y se han identificado hasta el año 2000 más de 300 genes, cada uno con una gran cantidad de alelos.

El complejo principal de histocompatibilidad, está constituido por 4 millones de pares de bases (Mb), de DNA y corresponde al 0.1% del genoma. Se ubica dentro del brazo corto del cromosoma 6 en la región 6p 21, 3, aproximadamente el 10% de éstos tienen funciones relacionadas con el sistema inmune clásicamente el MHC se divide en clase I, II, III, según el producto de los genes.

Los de clase I (HLA A, B y C), codifican una cadena de 44 kilodaltons, los de clase II (HLA-DR, DP y DQ), un dímero alfa de 32kd y beta de 88 kd. Los de la región clase III contiene un grupo heterogéneo de al menos 56 genes. Estos genes codifican para una variedad de proteínas importantes en la inmunidad como son los componentes del

complemento (C2, C4A, C4B, y Bf), los factores de necrosis tumoral (TNF α y TNF β), las proteínas de choque térmico (HSP-70 y GP), la enzima 21-hidroxilasa, transcritos, asociados a HLA-B y NOTCH ^{18, 19,20,21}

Dentro del cromosoma se ubican cerca del centrómero los de clase II y III y del telómero los de clase I.

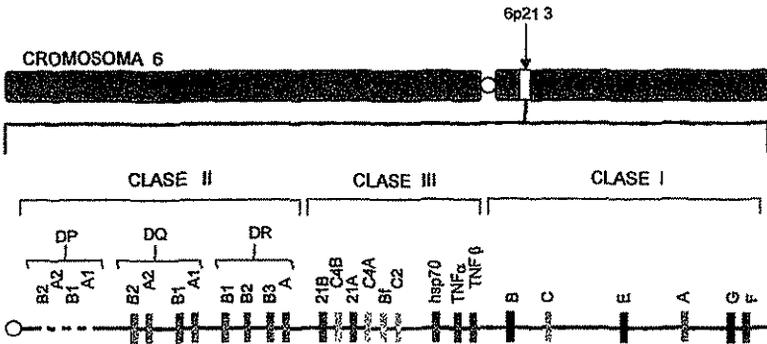


Figura 4, Organización de genes del MHC

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

GENES HLA CLASE I.

Se localizan en un segmento de 2000 Kb. de DNA en el extremo telomérico del MHC humano, los cuales incluyen a HLA-A, B;C;E,F;G;H.

Los antígenos HLA-A, B, C son glucoproteínas de membrana que se expresan sobre todas las células nucleares del organismo y además codifican para los principales antígenos de diferenciación muy importantes en el desarrollo y la maduración fetales.

Estas moléculas clase I, funcionan como elementos de restricción, esenciales para el reconocimiento de los antígenos intracelulares (péptidos, derivados principalmente de proteínas intracelulares de virus o neoplasias), por los linfocitos T citotóxicos que expresan el marcador CD8+. Las moléculas de clase I forman heterodímeros con la beta 2 microglobulina que está codificada en el cromosoma 15.

GENES HLA CLASE II.

Se localizan en el extremo centromérico del brazo corto del cromosoma 6, esta región incluye a los loci HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP, y cada uno de estos genes contiene A y B que codifican para una cadena alfa de 33Kd y otra beta de 28Kd, que dan lugar a la expresión de una glucoproteína dimérica llamada antígeno clase II. Estos antígenos se expresan solo en macrófagos, linfocitos T activados pero no en los que están en reposo, T cooperadores, linfocitos B y células dendríticas, epiteliales y endoteliales.

Cada una de las moléculas clase II, presentan cadenas alfa 1 y alfa 2, beta 1 y beta 2. La cadena beta es la más polimorfa. Ambas cadenas se hallan insertadas en la membrana celular mediante un dominio transmembranal y tiene también una región intracitoplasmática.

Los loci HLA-DRA1, y HLA-DRB1, codifican para los polipéptidos alfa y beta respectivamente, los cuales forman una molécula madura de HLA-DR clase II. De manera similar los productos de los loci DQA1 y DQB1 forman la molécula DQ y los loci DPA1 y DPB1, codifican para la molécula DP. Una segunda molécula expresada de DR se codifica en la mayoría de los haplotipos mediante los loci DRA y DRB3 o los asociados con DRB4 o DRB5.

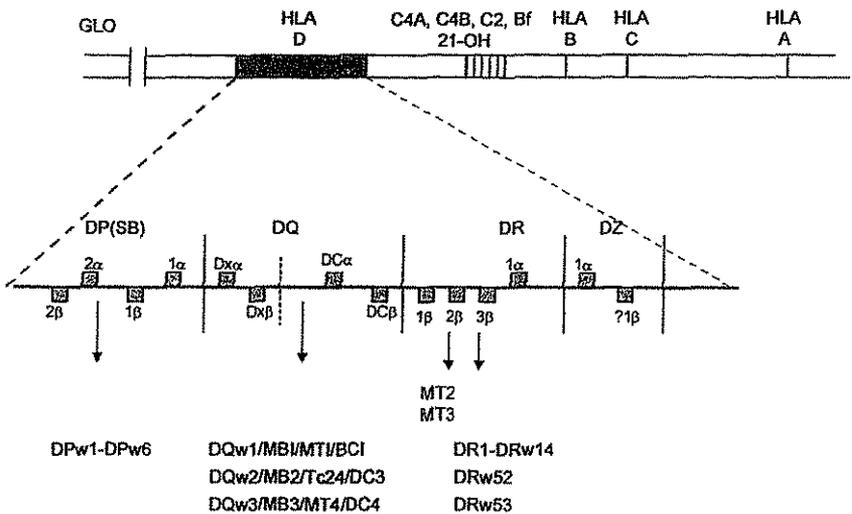


Figura 5, Representación esquemática del MHC humano (HLA) con la región HLA-DR expandida

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

GENES HLA CLASE III.

Estos se encuentran ubicados en una porción del 120 Kb entre los genes clase I y clase II, dentro del MHC, que se hereda como una unidad genética a la que se le conoce como complotipo (por haplotipo del complemento). Cada complotipo codifica la síntesis de los factores del complemento C2, C4A, C4B de la vía clásica y el factor B de la vía alterna, intercalados entre los genes C4A y C4B se localizan dos genes que codifican para la expresión de la enzima 21 hidroxilasa (21 -OH), la cual hidroxila al carbono 21 en la biosíntesis del cortisol.

En esta región clase III, existen otros genes con funciones inmunológicas que al parecer participan en algunos pasos de la fisiopatogenia de las enfermedades autoinmunes. Hacia el centrómero junto a la región clase II, se encuentran los genes TAP 1 y TAP 2 así como el gen de la colágena, mientras que los HSP 70, el del Factor de Necrosis Tumoral alfa y beta se encuentran cerca de los de clase I. ²⁶

ASOCIACIÓN DE LOS GENES HLA CON ENFERMEDAD

Varios estudios genéticos demuestran o indican que los genes dentro del MHC contribuyen a un gran número de trastornos inmunes, relacionados por ejemplo: Diabetes Mellitus Insulinodependiente (DMID), Artritis reumatoide (AR) espondilitis anquilosante (EA). Hay asociaciones entre varias enfermedades y los alelos de los genes de la región clase II

GENES HLA CLASE III.

Estos se encuentran ubicados en una porción del 120 Kb entre los genes clase I y clase II, dentro del MHC, que se hereda como una unidad genética a la que se le conoce como complotipo (por haplotipo del complemento). Cada complotipo codifica la síntesis de los factores del complemento C2, C4A, C4B de la vía clásica y el factor B de la vía alterna, intercalados entre los genes C4A y C4B se localizan dos genes que codifican para la expresión de la enzima 21 hidroxilasa (21 -OH), la cual hidroxila al carbono 21 en la biosíntesis del cortisol.

En esta región clase III, existen otros genes con funciones inmunológicas que al parecer participan en algunos pasos de la fisiopatogenia de las enfermedades autoinmunes. Hacia el centrómero junto a la región clase II, se encuentran los genes TAP 1 y TAP 2 así como el gen de la colágena, mientras que los HSP 70, el del Factor de Necrosis Tumoral alfa y beta se encuentran cerca de los de clase I. ²⁶

ASOCIACIÓN DE LOS GENES HLA CON ENFERMEDAD

Varios estudios genéticos demuestran o indican que los genes dentro del MHC contribuyen a un gran número de trastornos inmunes, relacionados por ejemplo: Diabetes Mellitus Insulinodependiente (DMID), Artritis reumatoide (AR) espondilitis anquilosante (EA). Hay asociaciones entre varias enfermedades y los alelos de los genes de la región clase II

del MHC. Otros genes susceptibles de enfermedad residen dentro de las regiones clase I y III.²⁵

Genes dentro o cerca del MHC también se han involucrado en algunas enfermedades no relacionadas inmunológicamente, tales como la hemocromatosis y la hiperplasia suprarrenal congénita.

Dada su intervención en la respuesta inmunitaria, muchos antígenos HLA se han relacionado con predisposición a determinadas enfermedades; entre estos antígenos predominan los de clase II. La magnitud de esta relación se cuantifica por el riesgo relativo. Aunque se conoce muy poco acerca de la etiología o la patogenia de las enfermedades asociadas con HLA, se han propuesto varios modelos para explicar los mecanismos causales. Estudios recientes indican que cambios en un solo aminoácido en regiones críticas de una molécula de HLA, pueden alterar la predisposición a una enfermedad y se ha encontrado también que regiones idénticas en su secuencia de aminoácidos (epitopos) en moléculas distintas HLA pueden causarla.

Las enfermedades relacionadas con los antígenos HLA tienen características comunes en general:

No tienen causa conocida y no se han descifrado sus mecanismos fisiopatológicos.

Muestran un patrón hereditario autosómico recesivo, de penetración débil y por lo tanto, no hay una relación absoluta con un antígeno HLA específico.

Se relacionan con anomalías inmunitarias.

No tienen efecto sobre la reproducción o éste es mínimo.

Los avances en el campo de la genética y la biología molecular de los genes clase I y clase II, han generado un desarrollo notable en el área de la asociación de enfermedades autoinmunes y genes HLA, primordialmente por el papel que desempeñan en la regulación de la respuesta inmune.

La asociación de los genes del MHC con una enfermedad, se demostró primero en ratones en el año 1964; en aquella ocasión un tipo de leucemia inducida por virus resultó estar asociada con el genotipo H2 (equivalente murino del MHC), de una capa especial de ratones. Esta asociación de un marcador genético con una enfermedad llevó entonces a buscar asociaciones entre los fenotipos HLA y las enfermedades en seres humanos.

En 1973, se informó la asociación entre la espondilitis anquilosante y el antígeno HLA-B27, desde entonces numerosas enfermedades se han relacionado con los genes del MHC.

Antes de 1980, la mayoría de los estudios de asociaciones de HLA y enfermedades se correlacionaban con la presencia de especificidades serológicas asociadas a polimorfismos de los antígenos HLA y son más frecuentes en pacientes que en controles. Estudios recientes han utilizado técnicas moleculares a nivel del DNA para la identificación de haplotipos o genes específicos probables responsables de las enfermedades autoinmunes.

28,29,30

Los antígenos del sistema HLA varían de una población a otra, por ejemplo el antígeno HLA-A30 predomina en la raza negra 28%, en la blanca en 5% y está ausente en orientales. La frecuencia de los haplotipos también varía de una población a otra. En los individuos de raza blanca son frecuentes los haplotipos HLA-A1, B8, DR3, DW4. Hay ocasiones en que los alelos de dos o más loci aparecen juntos en el mismo haplotipo con una frecuencia mayor a lo que se esperaría si se combinara al azar, este fenómeno se conoce como "desequilibrio genético", en mexicanos se caracteriza por los haplotipos HLA-A2, B35, DR4 y A9 B39-DR4, A28, B40 DR8.

Los genes HLA se heredan siguiendo la primera ley de Mendel, en forma codominante de modo que en cada haplotipo (mitad de la información genética que se porta en cada cromosoma) se manifiesta un antígeno de cada locus y en cada individuo se expresan los dos haplotipos. Así el genotipo está constituido por dos genes de cada locus y cada individuo es portador de un haplotipo materno y otro paterno.

El Desequilibrio genético, es una característica particular del MHC y consiste en la combinación preferencial de antígenos de los diferentes loci en un mismo individuo, en proporción mayor a lo esperado al azar, por lo que son marcadores distintivos de las poblaciones humanas. Es muy probable que los haplotipos que aparecen en el desequilibrio confieran ventajas selectivas, debido a que fueron seleccionados a través de la evolución, al enfrentarse a los agentes infecciosos, algunos de éstos en apariencia inducen una respuesta humoral eficaz, contra patógenos extracelulares y a la vez son marcadores de susceptibilidad en las enfermedades autoinmunes.

La principal característica de los genes HLA asociados con enfermedad, es el polimorfismo estructural que identifica al alelo asociado con dicha enfermedad.

Cuando se consideran mecanismos asociados entre el HLA y las enfermedades debemos recordar que los ajustes genéticos del HLA son complejos y pueden ser heterogeneos.

Finalmente debe hacerse énfasis en que las contribuciones genéticas en la predisposición a enfermedades autoinmunes, no son suficientes por si mismas para la expresión del padecimiento ya que existen factores como el ambiental e infeccioso que intervienen en el desarrollo de alguna de ellas.

Si individuos con diferentes antígenos HLA tienen riesgos variables de enfermedad, entonces esa diferencia debe ser tomada en cuenta en la distribución de fenotipos de HLA entre pacientes y controles sanos. El objetivo de los estudios de asociación es comparar la frecuencia de antígenos específicos HLA en un grupo de pacientes con la que se presenta en un grupo control. Se considera que lo más importante es seleccionar cuidadosamente a éste último, conviene recordar que la presencia de una asociación estadísticamente significativa puede tener varias interpretaciones biológicas.

La relación de una enfermedad determinada con un antígeno HLA particular se cuantifica mediante el cálculo del "Riesgo Relativo" (RR), éste puede definirse como la probabilidad que tiene un sujeto con un antígeno HLA en particular, de desarrollar alguna enfermedad, comparada con la de un individuo que carece de dicho antígeno

Esto se calcula usando la siguiente fórmula.

$$RR = \frac{p+ \times c-}{p- \times c+}$$

Donde: P + = número de enfermos que poseen el antígeno HLA particular

C - = Número de controles de carecer de antígeno HLA particular.

P - = Número de enfermos que carecen de antígeno HLA particular.

C + = Número de controles que poseen el antígeno HLA particular.

Mientras más elevado (mayor de 1), el riesgo relativo, mayor es la frecuencia de que el antígeno este dentro de la población de enfermos.

Muchos padecimientos se han relacionado con antígenos clase II, y esta asociación refleja la función de dichas moléculas en la presentación antigénica a linfocitos T CD4 y a los macrófagos.

Es interesante observar que varias enfermedades de origen autoinmune muestran asociación con el antígeno HLA-DR3. Se han anunciado varias hipótesis para explicar esta relación. Cuatro de estas se aplican por igual a antígenos HLA clase I y clase II y una aplicable solo a moléculas clase II.

Las cuatro primeras hipótesis se ilustran con el ejemplo de espondilitis anquilosante y el HLA-B27. Desde luego se subraya que éstos ejemplos son especulativos y que excepto donde se indique, no hay pruebas que respalden tal especulación. ³⁰

A.- Las moléculas de HLA son receptores de agentes etiológicos.

Moléculas HLA específicas pueden actuar como receptores para agentes etiológicos como virus, toxinas u otras sustancias extrañas. El respaldo para esta teoría proviene de la observación de que otras moléculas de la superficie celular actúan como receptores para virus; por ejemplo CD4 sirve como receptor para el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV). Si por ejemplo, el HLA-B27 es receptor para un virus que causa espondilitis anquilosante, los individuos B27 positivos tendrán un riesgo mayor de adquirir el trastorno, pero solo desarrollaran la enfermedad si se exponen al virus.

B.- HLA es selectivo para antígenos peptídicos.

La hendidura de fijación de antígeno de moléculas HLA particulares puede aceptar únicamente el fragmento peptídico antigénico procesado, que en última instancia causa enfermedad. Si el HLA-B27 es la única molécula clase I que puede aceptar un péptido etiológico particular para presentarlo a linfocitos T CD8, solo individuos que poseen B-27 estarán predispuestos a la enfermedad

El receptor de la célula T es de hecho, responsable de la predisposición al padecimiento, pero debido a que el reconocimiento de la célula T está restringido por una molécula HLA, se observa una relación aparente entre la espondilitis anquilosante y HLA-B27.

C.- Los agentes causales semejan a las moléculas HLA.

El antígeno HLA relacionado con enfermedad se comporta inmunitariamente igual al agente causal de la enfermedad. Esta hipótesis de semejanza molecular tiene dos alternativas, la primera sostiene que debido a la semejanza del agente causal y el antígeno HLA, el primero se considera como propio, no se genera una respuesta inmunitaria y la enfermedad se desarrolla sin interferencia del sistema inmunitario del huésped; la segunda alternativa sugiere que el agente causal es extraño, y por lo tanto se desarrolla una respuesta vigorosa contra él. Debido a la semejanza entre el agente causal y el HLA, la respuesta inmunitaria se vuelve contra el antígeno HLA y este proceso "autoinmunitario" causa el trastorno. Esta teoría ha logrado aceptación por las observaciones siguientes; HLA-B27 se relaciona con la enfermedad de Reiter además con la espondilitis anquilosante. En individuos B-27 positivos, la enfermedad de Reiter se presenta después de brotes de disenteria causados por ciertas cepas de *Shigella flexneri*, estas cepas contienen un plásmido que codifica a una proteína con un segmento de cinco aminoácidos. Idéntico a otro también de 5 aminoácidos en el HLA-B27 debido a que solo personas positivas B-27 comparten esta semejanza estructural e inmunitaria con el microorganismo etiológico, en consecuencia son los únicos predispuestos a la enfermedad.

D.- La expresión de moléculas MHC clase II es aberrante.

Esta hipótesis relaciona solo enfermedades asociadas con las moléculas HLA clase II, postula que la inducción de moléculas clase II, que normalmente no se expresan en la superficie celular, causa la enfermedad. Las moléculas específicas de tejidos de la superficie celular están en recambio y degradación constante. Si las células no expresan moléculas clase II, la degradación de antígenos a péptidos adecuados no tiene consecuencias. Sin embargo si las células blanco son inducidas a expresar moléculas clase II, la degradación de estas sustancias específicas de tejido “conduciría a procesamiento” del antígeno. Un fragmento peptídico de la molécula específica de tejido, se uniría al sitio fijador del antígeno en el receptor clase II, formando así un complejo inmunogénico que iniciaría una respuesta del huésped contra la molécula específica de tejido.

Si solo ciertas moléculas clase II (por ejemplo HLA-DR3) pueden retener estos fragmentos moleculares específicos de tejido, entonces podrán observarse asociaciones entre HLA y enfermedad. Este escenario se ha montado para la forma de hipertiroidismo conocida como enfermedad de Graves, donde existen anticuerpos dirigidos contra el receptor para la hormona estimulante de tiroides, definiendo por lo tanto una relación con el HLA-DR3.

El HLA-DR4 está en desequilibrio de enlace con el alelo DQB1*0302 y HLA-DR3 lo está con el DQB1*0201, DE esta manera gran parte de los heterocigotos HLA-DR3/DR4 serán también heterocigotos para HLA DQB1*0302 / DQB1*0201, debido a que las dos cadenas DQ alfa y beta son polimorfas, los heterocigotos DQB1*0302 / DQB1*0201 poseerán dos

molèculas híbridas (DQB*201 α DQB1*0201 β / DQB1*0302 α / DQB1*0201 β), no detectables en otros sujetos, Es posible que la predisposiciòn a la enfermedad se deba a una de èstas molèculas híbridas.

Otros datos muestran que cadenas DQ beta encontradas en otros haplotipos con relaciòn positiva a ese tipo de diabetes, carecen de àcido aspàrtico en posiciòn 57, en tanto que cadenas DQ beta en haplotipos no relacionados con la enfermedad contienen ese àcido aspàrtico, Por lo tanto al parecer un solo aminoàcido es crítico en la predisposiciòn a ese tipo de diabetes. Datos semejantes pueden anticiparse respecto a otras enfermedades, aunque pueden diferir de un grupo ètnico a otro.

Sin embargo debe enfatizarse que las enfermedades relacionadas con el HLA son heterogèneas y que en trastornos distintos con esta asociaciòn pueden operar mecanismos diferentes y tambièn en un mismo padecimiento operen màs de un mecanismo en forma simultànea.^{30,31}

PREECLAMPSIA Y SU RELACION CON EL HLA

Un aspecto interesante en la Preeclampsia es la descripciòn de los posibles factores etiològicos, Se cree que la apariciòn de una tolerancia inmunològica mutua ocurre en el primer trimestre y es causa de importantes cambios morfològicos y bioquímicos en la circulaciòn sistémica y uteroplacentaria materna.²

molèculas híbridas (DQB*201 α DQB1*0201 β / DQB1*0302 α / DQB1*0201 β), no detectables en otros sujetos, Es posible que la predisposiciòn a la enfermedad se deba a una de èstas molèculas híbridas.

Otros datos muestran que cadenas DQ beta encontradas en otros haplotipos con relaciòn positiva a ese tipo de diabetes, carecen de àcido aspàrtico en posiciòn 57, en tanto que cadenas DQ beta en haplotipos no relacionados con la enfermedad contienen ese àcido aspàrtico, Por lo tanto al parecer un solo aminoàcido es crítico en la predisposiciòn a ese tipo de diabetes. Datos semejantes pueden anticiparse respecto a otras enfermedades, aunque pueden diferir de un grupo ètnico a otro.

Sin embargo debe enfatizarse que las enfermedades relacionadas con el HLA son heterogèneas y que en trastornos distintos con esta asociaciòn pueden operar mecanismos diferentes y tambièn en un mismo padecimiento operen màs de un mecanismo en forma simultànea.^{30,31}

PREECLAMPSIA Y SU RELACION CON EL HLA

Un aspecto interesante en la Preeclampsia es la descripciòn de los posibles factores etiològicos, Se cree que la apariciòn de una tolerancia inmunològica mutua ocurre en el primer trimestre y es causa de importantes cambios morfològicos y bioquímicos en la circulaciòn sistémica y uteroplacentaria materna.²

El sitio esencial en la fisiopatología de la Preeclampsia es el endotelio, éste se encarga de regular múltiples funciones para asegurar un estado metabólico aerobio en las mejores condiciones es por ello que cuando hay una disfunción endotelial hay sustancias que activan células de la respuesta inflamatoria, en el caso de la preeclampsia, tanto granulocitos y monocitos son activados, también hay incremento de citocinas, factor de necrosis tumoral (TNF α), interleucina 6 y fosfolipasa A2. Lo que provoca un cambio en el microambiente endotelial basado en la presencia de moléculas proinflamatorias y la producción de radicales libres de oxígeno que llevan a un stress oxidativo, tal que ocasiona alteraciones en la permeabilidad vascular. ^{2,3,4}

Los factores inmunitarios pueden tener participación importante en la aparición de la preeclampsia y son fenómenos que incluyen ausencia de anticuerpos bloqueadores, disminución de la reacción inmunitaria mediada por células, activación de neutrófilos y participación de citocinas. ²³ Se inicia una reacción inmunitaria aberrante en la primera exposición a los antígenos paternos y fetales extraños de la placenta. La incidencia de la preeclampsia aumenta al cambiar de compañero sexual. ²⁴

Se encontró vínculo entre marcadores genéticos para el estado de la HLA y la preeclampsia. ¹⁷ La decidua es el tejido donde con toda seguridad se hace el reconocimiento del trofoblasto inmunitario, se identificó un antígeno de histocompatibilidad clase I, polimórfico, HLA-G, que se expresa en el citotrofoblasto, y protege la placenta del rechazo. ^{18,19,20,21}

La región clase III contiene un grupo heterogéneo de al menos 56 genes. Estos genes codifican para una variedad de proteínas importantes en la inmunidad como son los componentes del complemento (C2, C4A, C4B, y Bf), los factores de necrosis tumoral (TNF α y TNF β), las proteínas de choque térmico (HSP-70 y GP), la enzima 21-hidroxilasa, transcritos, asociados a HLA-B y NOTCH. ^{20,21}.

Los locus de TNF se localiza en 7kb, ³². En una región intermedia entre el MHC clase I (HLA B) y II (HLA DR), el locus del TNF produce dos citocinas pleiotropicas el TNF α y el TNF β . Algunos estudios reportan que han encontrado un aumento en los niveles de TNF alfa en la preeclampsia. Hay dos receptores específicos TNF α de 75 y 55 peso molecular. ^{21,22,23}

El generado por los genes de TNF es un potente inmunorregulador y un mediador esencial en la respuesta inflamatoria. La vida media del TNF α es de pocos minutos y no está constantemente en la circulación. El locus de TNF se encuentra en desequilibrio genéticos con el HLA, por lo que se asocia a diferentes haplotipos. ³³

El TNF α aumenta la relación de sustancias vasoactivas como la endotelina y el factor de crecimiento plaquetario, ambos se incrementan en pacientes con preeclampsia. El TNF α juega un papel importante en la medición de la disfunción endotelial en preeclampsia. El resultado indica que la elevación del RNAm del TNF α puede estar asociado con polimorfismo genético sugiriendo que el desorden de TNF α puede contribuir en la

patogenesis de la preeclampsia ^{34,35,36}

Varios estudios han implicado al complejo principal de histocompatibilidad en la génesis de la hipertensión inducida por el embarazo, encontrando una alta frecuencia de HLA-DR4 en pacientes con preeclampsia. ³⁷

Las mujeres con preeclampsia, tienen cambios inmunológicos y vasculares que pueden resultar de una disfunción de la respuesta inmune materna, fetal o factor trofoblástico, Bajos niveles de anticuerpos paternos han sido encontrados en pacientes preeclámpticas comparado con mujeres normotensas.

Las pacientes preeclámpticas tienen una disminución de la actividad linfocitaria in vitro, bajos niveles de linfocitos T en plasma y elevación de complejos inmunes e inmunoglobulinas en el glomerulo y vasos placentarios. Incrementos de HLA paterno, y materno-fetal has sido asociados con prevalencia elevada de Preeclampsia. ³⁸

PROTOCOLO DE ESTUDIO

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN.

La Preeclampsia se asocia con alelos clase II del Complejo principal de histocompatibilidad (HLA-DR), en pacientes mestizos mexicanos.

HIPÓTESIS

En pacientes con preeclampsia leve y severa se encuentra una frecuencia elevada de los alelos del Complejo Principal de Histocompatibilidad (MHC), clase II; del subtipo DRB 1, asociados con la hiperproducción del Factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), así como la frecuencia elevada del polimorfismo de la región promotora del TNF α , asociado a la hiperproducción.

PROTOCOLO DE ESTUDIO

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN.

La Preeclampsia se asocia con alelos clase II del Complejo principal de histocompatibilidad (HLA-DR), en pacientes mestizos mexicanos.

HIPÓTESIS

En pacientes con preeclampsia leve y severa se encuentra una frecuencia elevada de los alelos del Complejo Principal de Histocompatibilidad (MHC), clase II; del subtipo DRB 1, asociados con la hiperproducción del Factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), así como la frecuencia elevada del polimorfismo de la región promotora del TNF α , asociado a la hiperproducción.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL.

Descripción de la presencia o ausencia de asociación de los polimorfismos del TNF α y los haplotipos del MHC clase II en las pacientes con preeclampsia leve y severa en comparación con el grupo control de mujeres embarazadas sin preeclampsia.

OBJETIVOS ESPECIFICOS.

1. Descripción clínica de la preeclampsia leve y severa en las pacientes que acudan al servicio de Ginecología y Obstetricia en el periodo propuesto.
- 2.-Tipificación del MHC clase II subtipo DRB 1, de las pacientes con diagnóstico de preeclampsia y en las pacientes sanas del grupo control.
3. Identificación de los polimorfismos de la región promotora del TNF α en las pacientes con diagnóstico de preeclampsia y en las pacientes sanas del grupo control.

DISEÑO Y DURACIÓN

Se utilizará un estudio de casos y controles, con una duración de 4 meses, que comprenden del mes de Agosto al mes de Noviembre del 2001.

1. Aprobación del protocolo de investigación.
2. Diagnóstico clínico de preeclampsia, en las pacientes que acuden al servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital General de México.
3. Realizar el diagnóstico clínico diferencial entre preeclampsia leve y severa.
4. Identificación del grupo control
5. Aplicación del cuestionario para obtener información sobre sintomatología, edad gestacional, antecedentes de importancia y consentimiento de la paciente.
6. Obtención de muestra de sangre periférica de las pacientes con preeclampsia leve y severa, así como del grupo control.
7. Extracción del DNA y tipificación del MHC clase II, así como la identificación de los polimorfismos del $TNF \alpha$.
8. Análisis estadístico de los datos obtenidos y comparación del grupo control con los de preeclampsia leve y severa.
- 9 Conclusión del estudio.

METODOLOGIA

DISEÑO DEL ESTUDIO

Se realizó un estudio de casos y controles

POBLACION EN ESTUDIO

Se incluyeron a pacientes mexicanas que acudieron de Agosto a Noviembre del 2001, al servicio de Ginecología y Obstetricia en el Hospital General de México con embarazo normoevolutivo, y, pacientes con diagnóstico de Preeclampsia (44) que cumplieron con los criterios siguientes:

CRITERIOS DE INCLUSION

- Mujeres que acuden al Hospital General de México que cursan con embarazo de 32 ó más semanas de gestación. (SDG).
- Pacientes de cualquier edad, que aceptaron participar en el estudio previa autorización firmada por ellas mismas.
- Diagnóstico de preeclampsia leve ò severa.

CRITERIOS DE EXCLUSION.

- Mujeres embarazadas que cursan con menos de 32 SDG.
- Mujeres que presenten alguna enfermedad crónica subyacente ó alguna otra patología, (*Diabetes Mellitus, Hipertensión crónica, enfermedad autoinmune etc.*).
- Pacientes con tratamiento antihipertensivo previo a su ingreso, que modifique la evolución de la preeclampsia.

CRITERIOS DE ELIMINACION.

- Pacientes que presente alguna alteración metabólica durante su estancia en el Hospital.
- Pacientes que una vez diagnosticadas, presenten hipertensión transitoria.

DEFINICION DE VARIABLES.

VARIABLE INDEPENDIENTE

Alelos del MHC clase II.

Alelos de los genes del HLA-DR.

Resultado de la tipificación del polimorfismo de la región promotora del TNF α .

VARIABLE DEPENDIENTE Preeclampsia leve, severa paciente sano.

Preeclampsia leve.	TAS : $> \delta = 140\text{mmHg}$. TAD: $> \delta = 90\text{mmHg}$.
Preeclampsia severa.	TAS: $> \delta = 160\text{mmHg}$. TAD: $> \delta = 110\text{mmHg}$. proteinuria $>3\text{gr}$ en orina de 24hrs. Edema , sintomatologia vasoespasmòdica (cefalea, fosfenos, acùfenos),
Paciente sano.	Mujeres que acuden al Hospital General de México que cursan con embarazo de 32 ó más semanas de gestación. (SDG), que no cumplan con el diagnòstico de Preeclampsia leve ò severa, y que no cumplan con ningùn criterio de exclusiòn ò eliminaciòn.

MATERIAL Y METODOS

ACTIVIDADES Y PROCEDIMIENTOS

Durante el periodo comprendido de Agosto a Noviembre del 2001, se reclutaron de acuerdo a los criterios de inclusiòn a 44 paciente con diagnòstico de preeclampsia, que ingresaron al servicio de Ginecologia y Obstetricia, obteniendose de ellas aspectos clinicos-epidemiològicos y una muestra de sangre que se colocò en tubos de ensaye con etilendiaminotetroacètico (EDTA) al 2% para la determinaciòn de los alelos clase II

VARIABLE DEPENDIENTE Preeclampsia leve, severa paciente sano.

Preeclampsia leve.	TAS : $> \delta = 140\text{mmHg}$. TAD: $> \delta = 90\text{mmHg}$.
Preeclampsia severa.	TAS: $> \delta = 160\text{mmHg}$. TAD: $> \delta = 110\text{mmHg}$. proteinuria $>3\text{gr}$ en orina de 24hrs. Edema , sintomatologia vasoespasmòdica (cefalea, fosfenos, acùfenos),
Paciente sano.	Mujeres que acuden al Hospital General de México que cursan con embarazo de 32 ó más semanas de gestación. (SDG), que no cumplan con el diagnòstico de Preeclampsia leve ò severa, y que no cumplan con ningùn criterio de exclusiòn ò eliminaciòn.

MATERIAL Y METODOS

ACTIVIDADES Y PROCEDIMIENTOS

Durante el periodo comprendido de Agosto a Noviembre del 2001, se reclutaron de acuerdo a los criterios de inclusiòn a 44 paciente con diagnòstico de preeclampsia, que ingresaron al servicio de Ginecologia y Obstetricia, obteniendose de ellas aspectos clinicos-epidemiològicos y una muestra de sangre que se colocò en tubos de ensaye con etilendiaminotetroacètico (EDTA) al 2% para la determinaciòn de los alelos clase II

(HLA-DR).

GRUPO DE CONTROLES SANOS

Integrado por 22 pacientes, a quienes se les extrajeron 5ml de sangre total colocados en tubo de ensaye con EDTA al 2%

Una vez que se tuvieron todas las muestras se procesaron y tipificaron de acuerdo a las siguientes técnicas: .

OBTENCION DE DNA.

Por la técnica de expulsión salina (Salting Out), se hizo la extracción de DNA, siguiendo los pasos que a continuación: se enumeran.

Agregar 40ml de buffer de lisis a 5ml de sangre con EDTA en un tubo de 50ml. Mezclar gentilmente durante un minuto. Centrifugar a 2300 RPM durante 10 minutos a temperatura ambiente.

Decantar el sobrenadante; resuspender el botón con una pipeta Pasteur en 20ml. De buffer de lisis, mezclar gentil

Decantar el sobrenadante, colocar los tubos boca arriba durante un minuto para quitar el exceso de líquido. Resuspender el botón con una pipeta Pasteur en 160ml de buffer de proteinasa K 5x, 40ml de proteinasa K 40 ml de SDS y 300 ml de H₂O transferir a un tubo de 1.5ml

Incubar a rotación lenta a 37° durante toda la noche o a 55° durante dos horas. En este último caso agregar 20ml de proteinasa K después de una hora de incubación.

Agregar 240ml de NaCl 6M, agitar vigorosamente durante 15 a 30 segundos, centrifugar para que precipiten las proteínas a 13 000 RPM durante 10 minutos, decantar o aspirar el sobrenadante con pipeta y transferirlo a un tubo de 1.5ml y centrifugar a 13 000 RPM durante 10 minutos, transferir el sobrenadante a un tubo de 1.5ml y centrifugar a 13 000 RPM durante 5 minutos.

Dividir el sobrenadante en dos tubos de 1.5ml (aproximadamente 450ml en cada tubo) Agregar 900ml de etanol al 99.5% dejar que el DNA precipite. Transferir los dos DNA precipitados en un tubo de 1.5ml con etanol al 70% helado, centrifugar para precipitar el DNA a 13 000 RPM durante 5 minutos. Decantar o pipetear el sobrenadante y dejar que el DNA se seque con el aire (colocado boca arriba sobre un papel). Disolver el DNA en 1000ml de solución de rehidratación

TIPIFICACION DE GENES CLASE II DEL MHC POR PCR-SSOP (79)

Determinacion genètica de alelos HLA-DR.. Se determinaron utilizando la tècnica de “do blot” reverso, cada DNA se amplificò por PCR con iniciadores genèricos para la regiòn HLA-DR previamente marcados con biotina. La reacciòn de PCR se realizò preparando una mezcla de 1 microgramo de DNA, 1pmol.microlitros de cada iniciador, 20mM de cada deoxidonucleòtido trifosfato (dNTP), 2mM de cloruro de magnesio, 1x de amortiguador de reacciòn y una unidad de la enzima Taq polimerasa en un volumen total de 50 microlitros. La mezcla anterior se sometió a 35 ciclos de amplificado y cada ciclo consta de tres temperaturas que son:

La inicial de desnaturalizaciòn a 95°C durante un minuto, la segunda de alineamiento de 80°C durante un minuto y la tercera de extensiòn a 72°C durante dos minutos. Despues de la amplificaciòn , cada muestra serà corrida en un gel de agarosa al 2%, con el fin de corroborar dicha amplificaciòn; los amplificados se desnaturalizaron con una soluciòn de hidròxido de sodio y se hibridan con sondas específicas de alelo ancladas a membranas de nylon. El proceso de revelado incluyó un conjugado de estreptavidina-peroxidasa asi como el sustrato colorido correspondiente.

ANALISIS DE DATOS.

En las variables clinico-epidemiológicas se determino promedios distribución de frecuencias simples y valores mínimos y máximos para determinar la asociación entre Preeclampsia y HLA-DR, se calculo la frecuencia génica, el riesgo relativo y las pruebas no paramétricas en particular las de Chi cuadrada y exacta de Fischer, a partir de tablas de contingencia de 2x2 con un intervalo de confianza de 95% y un nivel de significancia igual o menor a 0.05 de probabilidad.

ASPECTOS ETICOS Y DE BIOSEGURIDAD.

Las pacientes serán informadas de la molestia derivada de la punción venosa en el brazo como único inconveniente. Y como aceptación de dicho procedimiento habrá una carta de consentimiento informado.

RELEVANCIA Y EXPECTATIVAS.

Se establecerá el papel de los genes del MHC, en la susceptibilidad genética al desarrollo de preeclampsia y con ello entender mejor la fisiopatogenia y en consecuencia sugerir nuevos métodos terapéuticos.

RECURSOS DISPONIBLES.

El costo fue compartido entre el Hospital General de México, el Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez y el Instituto Nacional de Ciencias Médicas Nutrición Salvador Zubirán. con recursos propios de cada institución.

El estudio se realizó en el HGM bajo la asesoría del Dr. Arturo Ortiz, y en coordinación con el Dr. Julio Granados integrante del laboratorio de Inmunología del INNSZ.

MATERIAL UTILIZADO

Tubo de ensayo tipo vacutainer, con EDTA al 2%

Reactivos para determinación de HLA.

1. HLA-DRB typing KIT MCA DYNAL RELI SSO.

Includes: HLA-DRB master mix. Control DNA

HLA-DRB typing STRIPS, MgCl solution, HLA-DRB

Overlay, HLA-DRB scoresheet.

RESULTADOS

Para conocer la asociación de Preeclampsia en las moléculas del MHC clase II, (HLA-DR), estudiamos durante el periodo comprendido de agosto a noviembre del 2001 a 44 pacientes con diagnóstico de Preeclampsia, el cual se confirmó por clínica y laboratorio cuyas características se listan a continuación.

TABLA I. Características clínicas del grupo en estudio.

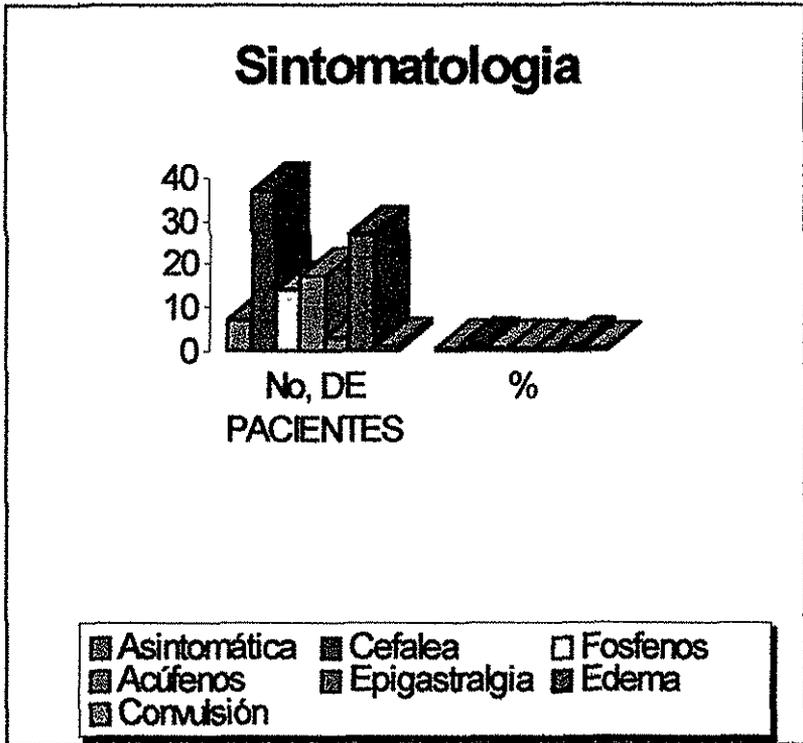
SINTOMATOLOGÍA	NO. DE PACIENTES	%
Asintomática	7	15.9%
Cefalea	37	84%
Fosfenos	14	31.8%
Acúfenos	17	38.6%
Epigastralgia	3	6.8%
Edema	27	61.3%
Convulsión	1	2.2%

Fuente. Servicio de Ginecología y Obstetricia del HGM

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Encontrando el mayor porcentaje de 84% al síntoma de cefalea.

GRAFICA 1. Características clínicas



Fuente. Servicio de Ginecología y Obstetricia del HGM.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

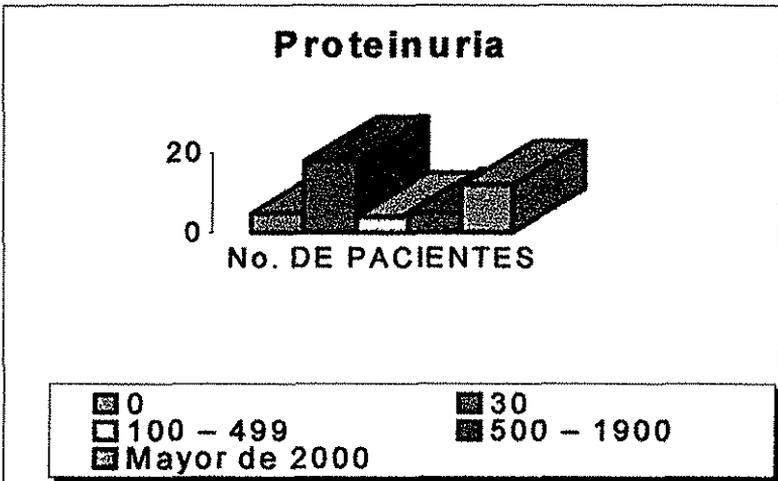
PROTEINURIA

TABLA 2 Por laboratorio la cantidad de proteínas registrada.

PROTEINAS	NO. DE PACIENTES
0	5
30	18
100 – 499	4
500 – 1900	5
Mayor de 2000	12

Fuente. Servicio de Ginecología y Obstetricia del HGM

GRAFICA 2



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TENSION ARTERIAL.

El promedio de cifras tensionales se encontró con un 38.6% a la cifra de 130/90 en segundo lugar 140/100 con con 20.4%, y en menor porcentaje la cifra de 150/110 con un 2%.

TABLA 3

TA	Nº DE CASOS	%
130/90	17	38.6%
140/90	4	9.09%
130/100	2	4.5%
140/100	9	20.4%
150/100	7	15.9%
150/110	1	2.2%
160/110	2	4.5%
170/110	2	4.5%

Fuente. Servicio de Ginecología y Obstetricia del HGM.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

EDAD

Con respecto a la edad, el 47.7% de las pacientes se encuentran entre los 20-24 años de edad, el 25% corresponde a pacientes entre 15-19%. El menor porcentaje correspondió a la cuarta década de la vida.

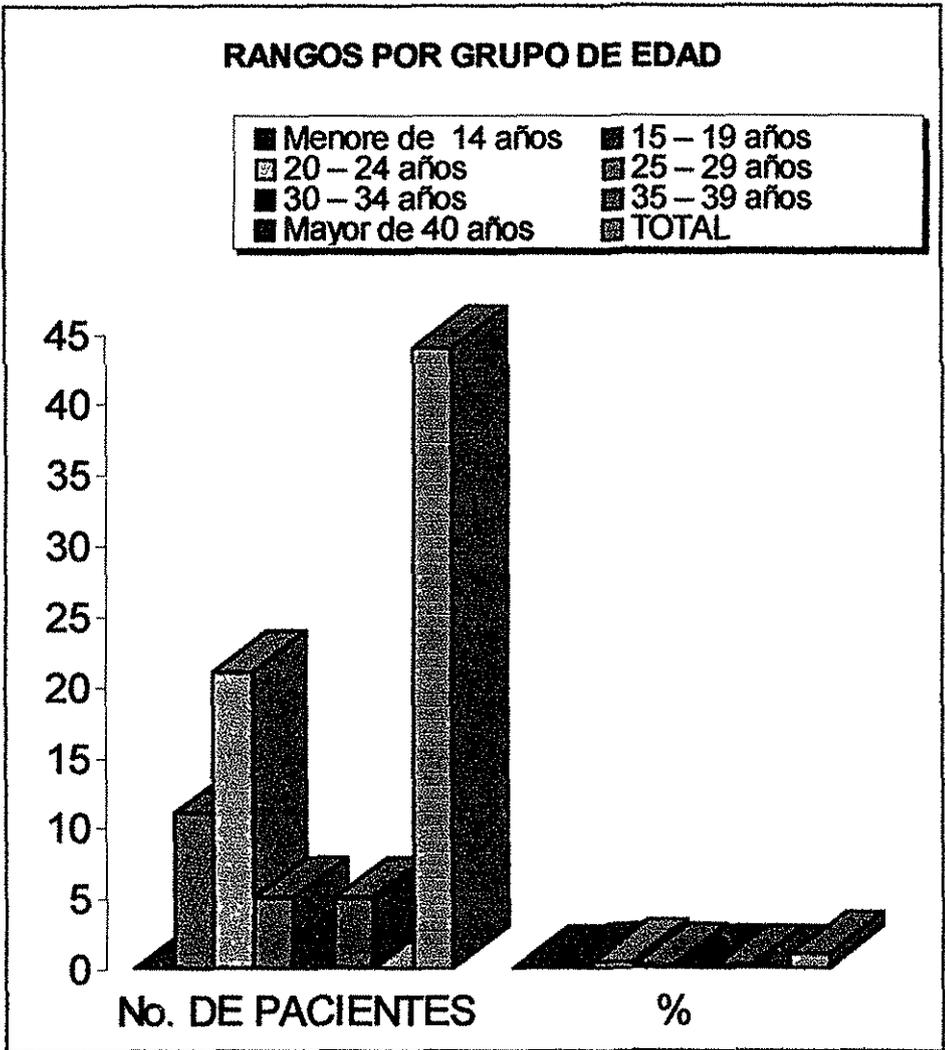
TABLA 4. Frecuencia por grupos de edad.

RANGOS DE EDAD	Nº DE PACIENTES	%
Menore de 14 años	0	0%
15 – 19 años	11	25%
20 – 24 años	21	47.7%
25 – 29 años	5	16.3%
30 – 34 años	2	4.5%
35 – 39 años	5	11.3%
Mayor de 40 años	0	0%
TOTAL	44	100%

Fuente. Servicio de Ginecología y Obstetricia del HGM

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

GRAFICA 3 EDAD.



EDAD GESTACIONAL

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

EDAD GESTACIONAL

En relación a la edad gestacional se encontró una edad promedio de 38 semanas, la edad gestacional mínima encontrada es de 31 y una máxima de 41 semanas.

TABLA 5.

EDAD GESTACIONAL	Nº DE CASOS	%
31	1	2.2%
32	3	6.8%
33	2	4.5%
34	0	0%
35	4	9.09%
36	5	11.3%
37	7	15.9%
38	8	18.1%
39	4	9.09%
40	7	15.9%
41	3	6.8%

Fuente. Servicio de Ginecología y Obstetricia del HGM.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

NUMERO DE EMBARAZOS

En relación al número de embarazos se encontraron los siguientes datos.

TABLA 6.

Nº DE EMBARAZO	Nº DE PACIENTES	%
Primer embarazo	28	63.6%
Segundo embarazo	8	18.1%
Tercer embarazo	5	11.3%
Mayor de cuatro embarazos	3	6.8%

Fuente, Servicio de Ginecología y Obstetricia del HGM

GRAFICA 4

Nº. DE EMBARAZO



- Primer embarazo
- Segundo embarazo
- Tercer embarazo
- Mayor de cuatro embarazos

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

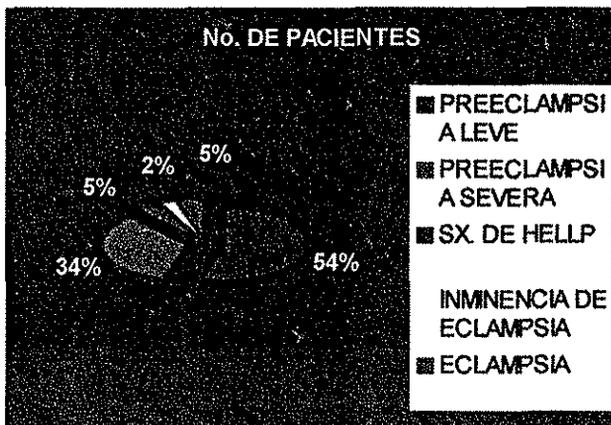
La entidad Clínica más frecuentemente encontrada fue la Preeclampsia Leve con un 54.5%, teniendo la Preeclampsia severa un porcentaje de 34% como segundo lugar, y en menor porcentaje fue la Eclampsia con 2.2%

TABLA 7. Entidad clínica

ENTIDAD CLÍNICA	Nº DE PACIENTES	%
PREECLAMPSIA LEVE	24	54.5%
PREECLAMPSIA SEVERA	15	34%
SX. DE HELLP	2	4.5%
INMINENCIA DE ECLAMPSIA	1	2.2%
ECLAMPSIA	2	4.5%
TOTAL	44	100%

Fuente. Servicio de Ginecología y Obstetricia del HGM.

GRAFICA 5



TESIS CON FALLA DE ORIGEN

VIA DE RESOLUCION

En lo referente a la vía de resolución del embarazo en las pacientes con preeclampsia, se encontraron los siguientes datos.

TABLA 8.

VIA DE RESOLUCION	No. DE CASOS	%
PARTO	15	34.0%
CESAREA	29	65.9%

Fuente. Servicio de Ginecología y Obstetricia del HGM.

GRAFICA 6



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

SEXO.

De los productos obtenidos 24 fueron del sexo masculino y 20 del sexo femenino

TABLA 9. Sexo del producto

SEXO	TOTAL	%
FEMENINO	20	45.4%
MASCULINO	24	54.5%

Fuente. Servicio de Ginecología y Obstetricia del HGM.

GRAFICA 7



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CAPURRO

De acuerdo al capurro otorgado a los productos, se tienen los siguientes datos.

TABLA 10.

SDG POR CAPURRO	Nº DE RECIEN NACIDOS	%
27 - 30	2	4.5%
30.1 - 32.6	2	4.5%
33 - 35.6	4	9%
36 - 37.6	8	18.1%
38 - 40.0	17	38.6%
40.1 - 42	11	25%

Funete. Servicio de Ginecología y Obstetricia del HGM.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

PESO.

El peso promedio de los recién nacidos fue de 2700gramos, considerando el rango de peso tenemos la siguiente tabla.

TABLA 11.

RANGOS DE PESO (g)	NO. DE RECIEN NACIDOS	%
Menos DE 1000	2	4.5%
1000 – 1499	3	6.8%
1500 – 1999	3	6.8%
2000 – 2499	6	13.6%
2500 – 2999	9	20.4%
3000 – 3999	19	43.1%
Mayor DE 4000	2	4.5%

Fuente. Servicio de Ginecología y Obstetricia del HGM.

El APGAR promedio fue de 8/9, en primer lugar en 21 casos, quedando en segundo lugar con 12 casos de 9/9

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TABLA 13. DRBI EN PACIENTES CON PREECLAMPSIA

REGISTRO	EDAD	DX.	DRBI
53222	19	PS	1130&1327
753026	19	Hellp	1604 & 08xx
722703	16	PS	1621 & 14xx
723975	31	PS	04xx
766696	22	Hellp	13xx
728092	18	PL	16xx & 14xx
747167	38	EC	4xx & 11xx
728105	20	PL	4xx & 11xx
723492	24	PS	13xx & 14xx
751843	17	PS	14xx & 7xx
728123	23	PS	16xx & 13xx
728150	18	PL	4xx
711786	22	PL	4xx
747857	18	PL	1xx & 4xx
728140	27	PL	11xx & 14xx
728998	23	PL	04xx & 13xx
728134	39	PL	04xx & 8xx
728147	23	PL	04xx 13xx
749923	23	PS	4xx & 8xx
738597	21	PL	11xx
730499	37	PL	16xx & 0813
729847	26	IE	04xx
697370	27	PS	04xx & 14xx
730482	21	PL	4xx
722750	19	PS	4xx & 14xx
730484	22	PL	3xx & 13xx
730534	23	PL	4xx & 14xx
729836	35	PL	1xx & 13xx
588697	37	PS	11xx
S/N	19	PL	16xx & 4xx
731415	23	PS	4xx
731416	20	PL	4xx
S/N	19	PL	4xx & 11xx
731409	28	PS	14xx & 7xx
731093	22	PL	11xx & 8xx
731440	18	PS	8xx
731429	22	PL	4xx
732117	24	PS	4xx & 8xx
740022	23	PL	8xx
731745	24	IE	8xx
732107	23	PL	4xx
751895	20	PL	4xx & 8xx
731778	29	PL	4xx
731461	31	PL	4xx

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DETERMINACION DEL HLA-DR EN EL GRUPO EN ESTUDIO.

Los resultados del HLA_DR obtenidos en cada paciente se listan en la siguiente tabla.

TABLA 13.

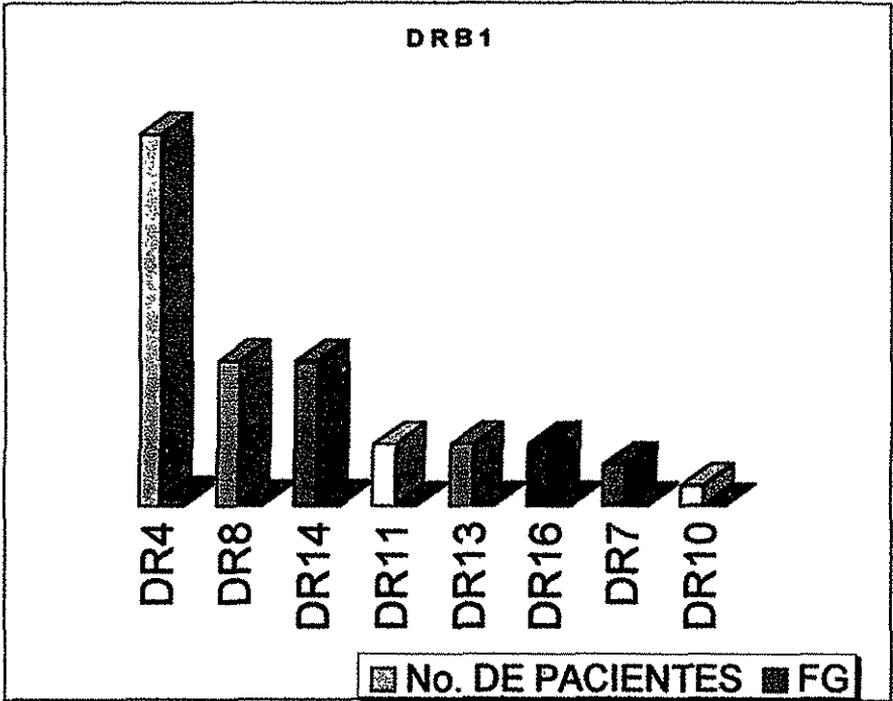
DRD	NO. DE PACIENTES	FC
DR4	18	0.40909
DR8	7	0.15909
DR14	7	0.15909
DR11	3	0.06818
DR13	3	0.06818
DR16	3	0.06818
DR7	2	0.04545
DR10	1	0.02273

Fuente. Departamento de Inmunogenética del INCMNSZ.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

GRAFICA 8

DETERMINACION DEL HLA- DRB1



Fuente. Departamento de Inmunogenética del INCMSZ

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ASOCIACION ENTRE PREECLAMPSIA Y HLA -DR

Para determinar la asociación entre Preeclampsia y las moléculas clase II del MHC (HLA-DR), se realizaron los siguientes cálculos

- 1.- Se determinó la frecuencia génica en el grupo en estudio.
- 2.- Se determinó el riesgo relativo a partir de las frecuencias observadas.
- 3.- Se determinaron los índices de probabilidad para cada uno de los alelos de los genes HLA-DR encontrados en el grupo en estudio.

La frecuencia génica se determinó a partir de los alelos que presentaron los pacientes del grupo control en estudio entre el total de genes.

El Riesgo Relativo, (RR), se determinó como razón de momios, utilizando la siguientes fórmula

$$RR = \frac{p+ \times c-}{p- \times c+}$$

Donde: **P +** = número de enfermos que poseen el antígeno HLA particular.

C - = Número de controles de carecer de antígeno HLA particular.

P - = Número de enfermos que carecen de antígeno HLA particular.

C + = Número de controles que poseen el antígeno HLA particular.

Las pruebas más adecuadas para contrastar las hipótesis establecidas son del tipo no paramétricas, la Chi cuadrada y exacta de Fischer. Las cuales determinan un índice a partir de la tabla de contingencia descrita anteriormente con un intervalo de confianza de 95% , y con un nivel de significancia igual o menor a 0.05 de probabilidad.

La población calculada se determino mediante la fórmula exacta de Fischer.

$$\chi = \frac{(a+b)(c+d)(a+c)(b+d)}{a b c d h}$$

y mediante la Chi cuadrada.

$$X^2 = \frac{[(ad) - (bc) 0.5 N]^2 N}{(a+b)(c+d)(a+c)(b+d)}$$

el valor obtenido para el DR4 fue de 2.2 con un intervalo de confianza del 95% y un nivel de significancia menor de 0.05. Los mismos cálculos se determinaron para cada uno de los genes clase II HLA – DR cuyos resultados se listan en la tabla siguiente.

FRECUENCIA GENICA DEL HLA-DRB1

TABLA 15.

DRB1	CASOS N=30			CONTROLAS N=193		
	N	p	IC	N	p	OR (IC)
DR™	26	0.409	47	0.237	NS	2.2(1.2-3.9)
DR8	13	0.147	33	0.165	NS	
DR13	10	0.113	10	0.050	NS	
DR11	9	0.102	20	0.100	NS	
DR14	9	0.102	21	0.105	NS	
DR16	6	0.068	5	0.025	NS	
DR7	2	0.022	22	0.111	0.034	5.3 (1.1-33)
DR1	2	0.022	10	0.050	NS	
DR3	1	0.011	11	0.055	NS	

Fuente, Departamento de Investigación del INCMNSZ.

Fg. Frecuencia génica.

p. Probabilidad calculada.

IC. Intervalo de confianza.

OR. Razón de monios.

NS. Nunguna significancia estadística .

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

El polimorfismo -308 de la región promotora del TNF α se detectó por PCR – ARMS (sistema de amplificación refractario a la mutación, los productos de la PCR se analizaron por electroforesis en un gel de agarosa al 2%).

La distribución del polimorfismo de la región promotora del TNF α tanto como el genotipo como la frecuencia génica en pacientes mestizos mexicanos con Preeclampsia y del grupo control se observan en las tablas (16 y 17).

TABLA 16. GENOTIPO

GENOTIPO	PREECLAMPSIA (N=16/32)		GRUPO CONTROL (N=55/110)		
	N	%	N	%	P
TNF α					
TNF 1 / 1	13	79.4%	52	94.5%	NS
TNF 1 / 2	2	12.5%	3	5.4%	NS
TNF 2 / 2	1	6.2%	0	0%	NS

Fuente. Departamento de Investigación del INCMSZ

No se encontró significancia estadística.

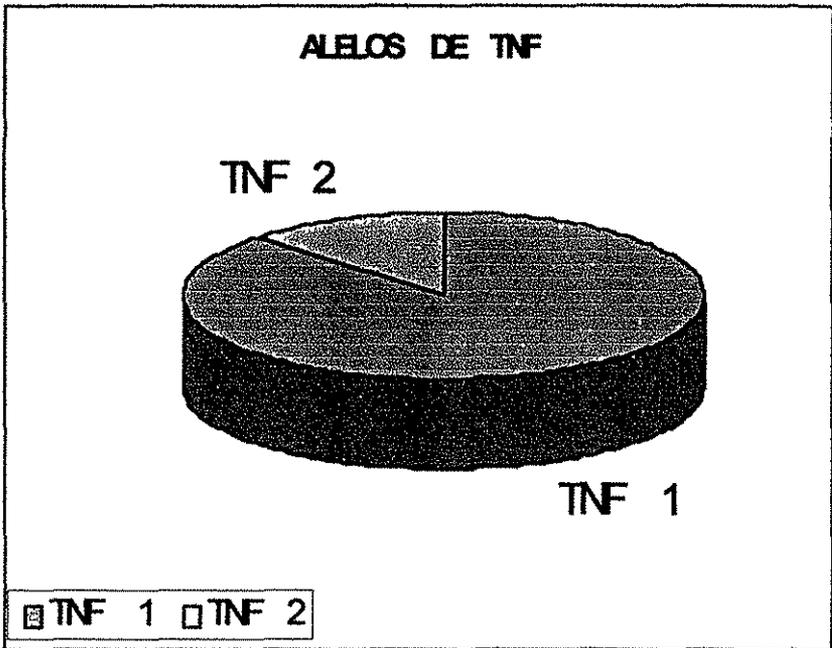
TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

TABLA 17. ALELO

ALELO	PREECLAMPSIA		GRUPO CONTROL				
	N	fg	N	fg	P	OR	IC
TNF 1	28	0.875	107	0.972			
TNF 2	4	0.125	3	0.027	0.04	5.10	0.89-30.88

Fuente. Departamento de Investigación del INCMSZ

Se encontró como factor de riesgo pacientes que tienen el alelo TNF 2, con una $p= 0.04$, con un intervalo de confianza de 0.89 – 30.88



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CONCLUSIONES.

Es la primera vez que se realiza un estudio de ésta índole en pacientes mestizas mexicanos con diagnóstico de Preeclampsia buscando una asociación con los alelos clase II del MHC (HLA-DR).

La asociación entre la preeclampsia y los alelos clase II del MHC, (HLA-DR), sustenta la idea de que en la patogénesis de la Preeclampsia opera un mecanismo inmunogenético.

Se estudiaron 88 pacientes con preeclampsia mestizos mexicanos, donde se encontró que el alelo más frecuente fue el HLA-DR4 ($f_g=0.409$), que al compararse con los controles sanos del mismo grupo étnico se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.004$, $RR=2.2$, $IC95\%=1.2 - 3.9$).

De la misma manera, se observó disminución estadísticamente significativa del HLA-DR7 ($p=0.034$, $OR=5.3$, $IC95\%=1.1 - 33$). El resto de los alelos, se distribuyeron de manera similar en los casos y controles.

DISCUSION.

Hasta la fecha no se tiene conocimiento de que se haya realizado algún estudio similar en pacientes con Preeclampsia en la población mexicana, por éste motivo consideramos que éste trabajo constituye prácticamente el primero en su tipo.

En el desarrollo fisiológico del embarazo las síntesis y niveles de citocinas aumenta de manera progresiva en las capas fetales placentarias y maternas (uterinas), en especial los niveles de TNF α en las pacientes con preeclampsia ^{4,14,20,21}

Se encuentran elevados los niveles de TNF α con relación a las pacientes con embarazo normal, lo que sugiere su importante participación en la etiología de la enfermedad

En estudios previos se ha descrito la asociación entre haplotipos, (HLA DR4) y polimorfismos de la región promotora del TNF (TNF 1 y TNF 2), con la hiperproducción o la hipoproducción de TNF α lo que sugiere una asociación entre estos polimorfismos y la presentación de la enfermedad. ^{2,4,14,18}

La población mestiza mexicana tiene haplotipos propios y característicos que participan de manera importante en la regulación de la respuesta inflamatoria. En México la frecuencia de la enfermedad es del 10% , por lo que se plantea la necesidad de investigar los factores

etiológicos de la enfermedad en especial describir los haplotipos y polimorfismos del TNF α en pacientes mexicanas.

Este trabajo muestra que en mujeres mestizas mexicanas el HLA-DR4 parece ser un factor de riesgo al desarrollo de preeclampsia y también el HLA-DR7 parece ser un factor protector al desarrollo de preeclampsia en el mismo grupo étnico.

Este protocolo muestra por primera vez un factor de riesgo al desarrollo de preeclampsia ubicado en el locus HLA-DRB1, dentro del complejo principal de histocompatibilidad.

Estos datos sugieren la existencia de un locus vecino al HLA-DRB1 que pudiera ser el directamente involucrado en el desarrollo de preeclampsia, por lo que sería importante estudiar genes localizados hacia el centrómero de ese locus y otro más hacia el telómero. Candidatos a ellos son el locus del Factor de Necrosis Tumoral (TNF) y el HLA-B.

Además de lo anterior, el mismo locus HLA-DRB1 pudiera estar directamente involucrado, sin embargo para precisarlo, es necesario realizar subtipos moleculares del HLA-DR, ya que es conocido que este alelo (DR4) es el más común en la población normal mexicana (mestiza e indígena).

El tener el haplotipo HLA-B-DR-TNF, permitiría en consecuencia detectar el verdadero gen de susceptibilidad al desarrollo de preeclampsia. Con respecto al papel protector del DR7, seguramente estará mediado por el desequilibrio genético con alelos correspondientes del TNF α o del HLA-B.

En conclusión, este trabajo muestra que en la población mestiza mexicana los alelos de DRB1 serán útiles en la detección de factores de riesgo en la susceptibilidad a esta enfermedad tan prevalente en mexicanos.

ANEXO. 1

CUESTIONARIO PARA RECOLECCION DE DATOS CLINICOS

FECHA No. Muestra

NOMBRE

EDAD. L. Origen:

EXPEDIENTE

AHF.

APP

AGO. Menarca IVSA. Parejas sexuales.

G. P. A C.

Embarazos anteriores con pre-eclampsia.

Cuadro clinico

DIAGNOSTICO

TA. Labstix

Vía de Interrupción del Embarazo.

Datos del producto Sexo.

Apgar

Peso

Capurro

ANEXO 2

DESCRIPCION CLINICA E IDENTIFICACION DEL POLIMORFISMO DE LOS GENES DEL COMPLEJO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDAD CLASE II Y TNF α EN PACIENTES MEXICANAS CON PREECLAMPSIA LEVE Y SEVERA

FORMA DE CONSENTIMIENTO.

Se me explicó que este estudio es de investigación en relación a la enfermedad que estoy presentando en mi embarazo Preeclampsia,

También se me informó que la muestra de sangre será utilizada para extraer el DNA y que este solo será empleado para fines de este protocolo de investigación y que mi participación consistirá en lo siguiente:

Será necesario que me tomen una muestra de sangre del brazo exclusivamente.

Mi historia clínica y la información que se obtenga de este estudio son confidenciales

No se presentará algún daño físico por la toma de la muestra.

Estoy consiente que al tomar parte en este estudio es totalmente voluntario.

Todos los demás estudios realizados durante mi estancia en el servicio, no formaran parte de la investigación.

Todo lo anteriormente expuesto me lo explicaron cuidadosamente y me dieron tiempo para formular preguntas recibiendo respuesta a todas.

FECHA:

FIRMA DE PACIENTE.

FIRMA DEL INVESTIGADOR.

FIRMA DE TESTIGO 1

FIRMA DE TESTIGO 2.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

GLOSARIO

CID	Coagulación intravascular diseminada.
DPPNI	Desprendimiento prematuro de placenta normalmente insertada.
DHL	Deshidrogenasa láctato.
EDTA	Etilendiaminotetraacético.
HLA	Histocompatibility leucocyte antigen, por sus siglas en inglés Moléculas que se expresan en la superficie de las células y que tienen que ver con el autoreconocimiento y rechazo de trasplantes.
HLA-DR	Moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad que se encuentran en la región DR o también llamada clase II que incluye además a los HLA-DP y DQ.
HSP	Proteínas de shock térmico.
HTA	Hipertensión arterial.
IRA	Insuficiencia renal aguda.
MHC	Complejo mayor de histocompatibilidad.
OR	Razón de momios
PCR	Reacción de cadena de polimerasa.
RCIU	Retardo de crecimiento intrauterino.
PGI2	Prostaciclina.
RR	Riesgo relativo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

-SH	Grupos sulfidrilos.
TGO	Transaminasa glutámico oxalacético.
TGP	Transaminasa glutámico del piruvato.
TNF	Factor de necrosis tumoral α y β sustancia con propiedad inmunológica que contribuye en la respuesta inmune del ser humano.
TXA2	Tromboxano.
SNC	Sistema nervioso central.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

BIBLIOGRAFIA.

- 1.-Gustaaf A. Dekker MD: Etiology and pathogenesis of preeclampsia: Current concepts. Am. J. Obstet. Gynecol. 1998, 179: 1359-75.
- 2.-Christopher W:G: Redman M:D. Preeclampsia an excessive maternal inflammatory response to pregnancy. Am. J. Obstet Gynecol 1999, 180: 499-506
- 3.-Redman`C.W.G, Sargent I.L. Placental debris, oxidative stress and preeclampsia. Placenta 2000; 21: 597-602.
- 4.-Gustaff A; Dekker Risk factors for Preeclampsia. Clinical Obstetric and Gynecology. 1999; 42 (3): 422-435.
- 5.- G. Chen, R, Wilson Tumor necrosis factor-alpha (TNF α) gene polymorphism and expression in preeclampsia. Blackwell Science Lid. Clinical and Experimental Immunology 1996, 104: 154-159.
- 6.-Clinicas obstétricas y ginecológicas 1/1991, Interamericana McGraw-Hill. P 27 –33
- 7.-Vitelo Velasco M. Prevención y tratamiento de Preeclampsia-Eclampsia. Rev. Med. IMSS 2000 38(2): 139 –147.

- 18.-Johnston N Moodley J Genetic susceptibility to eclampsia and miscarriage Br J Obstet Gynaecol 1989; 96:369.
- 19 -Bouteiller P. Sargent L. HLA class I molecules in the placenta: Which ones, Where and What for? . Placenta 2000; 21 (supplement A 14); S 93 - S 96.
- 20.-Rukavina D. Vince G. Roles of cytokines and Immune cells at the interface. Placenta 2000; 21 (supplement A 14); S 97 - S 99.
- 21.-King A. Hiby S.E. Gardner L. Joseph S. Bowen J.M. Verma S. Burrows T.D. et al. Recognition of trophoblast HLA class I molecules by decidual NK cells receptors. Placenta 2000 21 (supplement A 14); S-81- S-85.
- 22 -Kovatz S main EK. Librach C Stubblebine M. Fisher SJ. DeMars R.A.class I antigen, HLA-G expressed in human trophoblast. Science.1990:248.220.
- 23 -Campbell R D. Trowsdale J. Map of the human NHC Immunol Today. 1993.14:349
- 24.-Chen Y. Devis M:M: How alpha and beta, T-cell receptors "see" peptide/MHC Complexes. Immunol. Today (1993), 14; 597 - 602.
- 25 -Vyse J T: Morley B:J: The analysis of genetic suceptibility in HLA in healt and disease 2nd and edited by R. Lechler and A Warrens London UK. Academic press 2000 107 –129

26.-Warrans AN: Lechler RI: *Mechanisms of HLA and disease* 2nd and edited by R. Lechler and A Warrens London UK Academic press 2000 129 – 135

27.-Yammamoto Furosho JK Granados J. *El complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) y las enfermedades autoinmunes*, Revista colombiana de reumatología 1997: 4 (1); 19–25.

28.-Erlich HA. *Polymerase Chain reaction-based methods of HLA typing HLA in health and disease* 2th edited by Lechler and A Warrens London UK Academic press 451-462

29 -Stites DP Terr AL. *Inmunología humana y básica* 7ª edición. México Manual moderno 1994, 65 –88.

30.-Abbas AK. Lichman AH Pober JS. *Inmunología celular y molecular* 5a ed. Madrid España, McGraw-Hill, 1999; 105 – 122.

31 -Cooke A *Regulation of the immune response in; immunology by roitt* I. Brostoff J. male D. 5th ed; London UK Mosby: 1996; 171 – 78.

32 -Deer A.S. Fuggle S.U. Fabre J.W. *The detailed distribution of MHC class II antigens in normal human organs*. *Transplantation* 1984. 38; 293 - 298

33.-Wilson A.G. Vries MN, Pociot F. Giovine F S. Van der Putte L.B.A. Duff G.W. An



allelic polymorphism within the human tumor necrosis factor alpha promoter region is strongly associated with HLA A1, B8, and DR3 alleles. *J. Exp Med* 1993; 177: 557-560

34.-Marzi M; Vigano A; Trabattoni D; Villa M L; Salvaaggio A; Clerici E; et al ;
Characterization of type I and type 2 cytokine production profile in physiologic and pathologic human pregnancy. Clin Exp Immunol 1996; 106: 127 -133.

35.-Hernández C:G; Tenorio-Ramos J. Vadillo-Ortega F Arechavaleta F:V. Jimenez-Zamudio L. Ahued-Ahued J:R. Et al Factor de necrosis tumoral alfa e interleucina I beta en los compartimentos intravascular materno, fetal y retroplacentario en parto a término y pretérmino. *Ginec Obst. Mex* 2000; 68: 105-112.

36.-Villanueva E.L.A , Alanis L. Factores pronósticos asociados a la progresión de preeclampsia a eclampsia. *Ginec Obst Mex* 2000; 68 : 312-316.

37.-David C Kilpatrick, William A Association between susceptibility to pre-eclampsia within families and HLA-DR4 *The Lancet*, november 4, 1989 1063 – 1064.

38.-Charles Hoff Keith Peevy Maternal fetal HLA-DR4 relationships and pregnancy – induced hipertension, *Obstetric and Gynecol* Vol 80; No 6 december 1992

39 - Leslie Iffy, *Obstetricia y Perinatología*. Tomo II, editorial panamericana. P.1276-80

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN