



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

"Evaluación de las concentraciones séricas de sPlGF, sVEGF,
sVEGFR-1 a las 20 semanas y al término de la gestación
en mujeres con y sin preeclampsia."

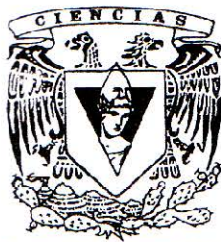
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G A

P R E S E N T A :

ANGÉLICA RUIZ RAMÍREZ



FACULTAD DE CIENCIAS
UNAM

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. MARÍA EUGENIA CHAVARRÍA OLARTE

- 2006 -



FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCOLAR



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.

ÍNDICE

Resumen.....	1
Introducción.....	2
Antecedentes históricos.....	5
Enfermedades hipertensivas en el embarazo.....	8
Definición y clasificación de la preeclampsia.....	9
Diagnóstico de la enfermedad.....	10
Factores de riesgo.....	11
Fisiopatología de la preeclampsia.....	12
Teorías sobre la etiología de la preeclampsia.....	13
Pruebas predictivas.....	15
Predicción de la preeclampsia.....	17
Marcadores bioquímicos.....	19
Desarrollo embrionario temprano.....	20
Implantación normal.....	21

Implantación anormal.....	23
Células endoteliales.....	25
Factores de crecimiento.....	26
Factor de crecimiento de endotelio vascular (VEGF).....	27
Factor de crecimiento placentario (PIGF).....	28
Receptor-1 del Factor de crecimiento de endotelio vascular (VEGFR-1).....	29
Objetivo general del estudio.....	31
Hipótesis.....	31
Metodología.....	32
Resultados.....	40
Discusión.....	44
Conclusiones.....	49
Tablas.....	50
Figuras.....	56
Bibliografía.....	64

RESUMEN

La preeclampsia es una enfermedad hipertensiva del embarazo que causa la mayor parte de las muertes materna y neonatal en todo el mundo. En el IMSS, ocupa el primer lugar como causa de muerte materna con el 37% de todos los casos. La muerte causada por esta enfermedad se da en sus casos más severos, por lo que se deben de realizar estudios más a fondo para poder predecir este padecimiento antes de que llegue a producir la muerte. El objetivo de este trabajo fue evaluar comparativamente las concentraciones de P/IGF, VEGF y VEGFR-1, en sus formas solubles, a las 20 semanas y al término de la gestación en mujeres con y sin preeclampsia. Se analizaron un total de 141 muestras de sangre de mujeres embarazadas, de las cuales se formaron 2 grupos, uno analizado a las 20 semanas y otro al final del embarazo. Las muestras se analizaron por medio de la técnica de ELISA para la detección de P/IGF, VEGF y VEGFR-1 en sus formas solubles. No fue posible analizar al VEGF debido a que sus concentraciones estuvieron por debajo del límite de detección del estuche utilizado. Para las demás moléculas los resultados muestran que a la semana 20 de gestación no existen diferencias significativas en las concentraciones de VEGFR-1 entre las mujeres con preeclampsia y con embarazo normal, mientras que al final del embarazo si las hay. Existe una pequeña diferencia en las concentraciones de P/IGF a las 20 semanas de gestación entre los casos y controles; esta diferencia aumenta al final del embarazo. Por lo que se concluye que la relación VEGFR-1/ P/IGF puede ser un buen marcador biológico para predecir la preeclampsia severa desde la semana 20 de gestación.

INTRODUCCIÓN

El síndrome de la preeclampsia–eclampsia continúa siendo la principal causa de muerte materna alrededor del mundo, sobre todo en países subdesarrollados. Esta enfermedad afecta entre el 6% y 10% de todas las embarazadas y causa 50,000 muertes anuales en todo el mundo. La preeclampsia severa complica del 3% al 5 % de todos los embarazos, además de aumentar las probabilidades de muerte materna y fetal (1). En México esta enfermedad es un problema de salud pública, ocupa el primer lugar como causa de muerte materna. Durante los años de 1989 a 1993 el Comité Nacional de Mortalidad Materna y Perinatal reportó que esta enfermedad representó el 25% de todos los fallecimientos maternos en las dependencias del Sistema Nacional de Salud. Para el período de 1987 a 1998, el IMSS reportó que de las 3,300 muertes maternas ocurridas para este período, la preeclampsia-eclampsia fue la responsable del 37.4% (1, 233 decesos) y tuvo una morbilidad hospitalaria cercana al 5% en relación con todos los partos atendidos, lo que se traduce en 30,000 casos al año (2). Se sabe que en el IMSS, la preeclampsia-eclampsia ocupa el primer lugar como causa de muerte materna y representa el 37% de los casos mientras que las hemorragias del embarazo, del parto y puerperio representan el 17% de las muertes; la sepsis puerperal contribuye con el 8% y las complicaciones del aborto con el 7.5%. Estos casos representan en total el 69.5% de los fallecimientos maternos registrados (3).

Para el caso de la eclampsia, en México se reportó una tasa de mortalidad del 14% en el período de 1963-1979 (4), mientras que entre los casos de muerte materna ocurridos en la región La Raza del IMSS (Delegación 1 Noroeste y 2

Noreste del D.F., Estado de México y Estado de Hidalgo) encontró que el 64.4% de los fallecimientos en mujeres preeclámpicas se debieron a eclampsia (3).

En los países industrializados el índice de mortalidad por preeclampsia es más bajo que en los países subdesarrollados. En Estados Unidos se estima que la preeclampsia afecta entre el 7% y 10% de todos los embarazos que ocurren en el país (5). El *National Hospital Discharge Survey*, conducido por el Centro Nacional de Estadística de la Salud en los Estados Unidos reportó que la incidencia promedio de preeclampsia-eclampsia es de 26 casos por 1000 partos. La tasa de preeclampsia severa es de 5.2 casos por cada 1000 y la eclampsia se presenta con una frecuencia anual de 0.56 casos por 100 partos sin importar la raza de las mujeres (6).

Los procedimientos para predecir que la enfermedad se va a presentar o detectarla en sus etapas tempranas son insuficientes y dependen de varios factores, por lo que las diversas y graves alteraciones fisiopatológicas que desencadena esta enfermedad sobre la mujer son causa directa de la muerte.

En la **tabla I**, se observa que las tres principales causas de muerte por preeclampsia-eclampsia ocurren en sus etapas más severas: hemorragia cerebral con casi el 50% de las muertes, Síndrome de HELLP y coagulación intravascular diseminada (2).

Tabla I. Causas Directas de Defunción por Preeclampsia-Eclampsia, 1987-1998.

Causa	Número	%
Hemorragia cerebral	575	46.2
Síndrome de HELLP	184	14.9
Coagulación intravascular diseminada	124	10.1
Choque hipovolémico	102	8.3
Falla orgánica múltiple	97	7.9
Insuficiencia cardíaca	92	7.5
Ruptura o hemorragia hepática	67	5.4
Encefalopatía anoxo-isquémica	57	4.6
Insuficiencia respiratoria aguda	54	4.4
Desprendimiento prematuro de placenta normoinserta	48	3.9

N= 1233 casos

Fuente: Comités Institucionales de Estudios en Mortalidad Materna, IMSS.

Velasco Murillo V, Navarrete Hernández E. 1997 **Rev Med IMSS** 35:451-456

ANTECEDENTES HISTÓRICOS (7)

En 1978 Leon Chesley en su obra *Hypertensive Disorders in Pregnancy* menciona que la hipertensión gestacional es una causa importante de morbilidad y mortalidad materna. Sin embargo, los antiguos egipcios ya hacían mención de la eclampsia, tal como lo reporta Bernhart (1939) en uno de sus trabajos en donde menciona al Kahun, un papiro egipcio fechado alrededor del año 2,200 AC como el escrito más antiguo que hace referencia a esta enfermedad. Posteriormente Hipócrates (siglo IV AC), Galeno (siglo II DC) y Celso (siglo I DC) refieren en sus escritos que las convulsiones durante el embarazo son causa de muerte.

En 1596, Gaebelkhouern determina cuatro tipos de epilepsia, una de ellas tenía que ver con el útero; menciona que éste debía estar “preñado” para producir convulsiones. Pero es hasta finales del siglo XVII que empiezan las primeras publicaciones serias acerca de la eclampsia en Francia, gracias a que los médicos tomaban por vez primera la práctica obstétrica.

En 1694 Mauriceau hace referencia a cuatro observaciones con respecto a la eclampsia: 1) el peligro para la madre y el feto es mayor cuando ella no recupera la conciencia entre convulsiones, 2) las primigestas tienen mucho más riesgo de convulsiones que las multíparas, 3) las convulsiones durante el embarazo son más peligrosas que las iniciadas después del parto y 4) las convulsiones son más peligrosas si el feto está muerto que estando vivo. Con estos postulados Mauriceau fue el primero en distinguir a la eclampsia de la epilepsia.

En 1957 en el *Stedman's Medical Dictionary* define el término eclampsia como “convulsiones de carácter epileptoide” y eclampsia puerperal como “convulsiones de origen urémico u otro, que ocurren en la parte final del embarazo o el trabajo de parto”. En la vigésima edición de este tratado en 1961 se descartan las demás definiciones y queda solamente la obstétrica, que es definida como “coma y convulsiones que pueden aparecer durante o inmediatamente después del embarazo relacionados con proteinuria, edema e hipertensión”. Hasta esta fecha solamente tomaban a la hipertensión como el signo grave de esta complicación durante el embarazo. Sin embargo la presencia de otros signos hizo que los investigadores se dieran cuenta que se trataba de una enfermedad multiorgánica.

Demanet (1797) fue el primero en relacionar las convulsiones con el edema. Rayer encontró proteína en la orina de tres embarazadas, de las cuales una probablemente si padecía preeclampsia. Sin embargo, a quien se le acredita este descubrimiento en la eclampsia es a Lever (1843), quién atribuyó este signo a una congestión renal producida por compresión de las venas renales por el útero voluminoso. En ese mismo año Simpson publica algo similar, “las pacientes con ataques de convulsiones puerperales invariablemente tenían albúmina en la orina”, por lo que tuvieron que compartir el crédito de dicho descubrimiento.

La hipertensión como signo de preeclampsia-eclampsia fue observada por varios autores entre ellos Mahomed (1874), quien postuló que las “convulsiones puerperales y la albúmina participaban en el trastorno predisponente de presión arterial alta durante el embarazo”. Ballantyne (1885) aportó datos de presión arterial alta para pacientes eclámpicas y preeclámpicas, Lebedeff y Porochjakow

(1884), con ayuda del esfigmomanómetro de Bash, encontraron presión alta durante el trabajo de parto. Con el modelo mejorado del esfigmomanómetro de Riva Rocci, Cook y Briggs en 1903 observaron un aumento en la presión arterial al final del parto cuando las contracciones uterinas aumentaban.

Spiegelberg en 1878 describe que “la eclampsia verdadera depende del envenenamiento úremico, resultante de una excreción renal deficiente”, de ahí que posteriormente se le denominara *toxemia*, término que fue utilizado por muchísimos años para nombrar a la preeclampsia-eclampsia.

Mediante los avances científicos y tecnológicos que se realizaron durante el final del siglo XX y comienzos de siglo XXI ha habido muchos avances acerca de la detección, tratamiento y patogénesis. Sin embargo, esta última aún está sin resolver y los avances no han sido suficientes para que esta enfermedad deje de ser la primera causa de muerte materna y neonatal en la mayor parte del mundo (7).

ENFERMEDADES HIPERTENSIVAS EN EL EMBARAZO

La muerte materna está asociada a múltiples causas, sin embargo las enfermedades hipertensivas y las complicaciones que éstas puedan ocasionar representan un alto porcentaje de los casos de morbilidad y mortalidad materna y neonatal en el mundo. En 1972 el Comité de Terminología del Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos definió en a la hipertensión en el embarazo como una presión arterial sistólica de 140 mm Hg y una presión arterial diastólica de 90 mm Hg, o bien un incremento de 30 y 15 mm Hg respectivamente en relación con las cifras basales. Además, estableció la terminología de los cuatro estados hipertensivos del embarazo: (6, 8, 9)

- 1. Hipertensión crónica:** Hipertensión existente antes del embarazo o diagnosticada por primera vez antes de la semana 20 de gestación.
- 2. Preeclampsia-eclampsia:** Hipertensión exclusiva del embarazo, diagnosticada después de la semana 20 de gestación y que está asociada con proteinuria emergente, puede evolucionar a eclampsia la cual se caracteriza por un cuadro de convulsiones que puede llegar al coma.
- 3. Preeclampsia sobreagregada a la hipertensión crónica:** Proteinuria emergente o incrementada si ya existía, aumento súbito de la presión sanguínea, trombocitopenia o aumento en las enzimas hepáticas después de la semana 20 de gestación en una mujer con hipertensión preexistente.
- 4. Hipertensión gestacional:** Hipertensión diagnosticada por primera vez después de la semana 20 de gestación que no va acompañada de proteinuria.

La prevalencia que muestran las enfermedades hipertensivas alrededor del mundo es muy variable y depende de muchísimos factores. Sin embargo, la enfermedad hipertensiva con mayor recurrencia es la preeclampsia-eclampsia de la cual se desconocen aún muchos puntos sobre su patogénesis.

DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN DE LA PREECLAMPSIA

La preeclampsia es un trastorno que puede presentarse desde la vigésima semana del embarazo en adelante, durante el parto y el puerperio, caracterizada por hipertensión arterial, proteinuria (300 mg en una muestra de 24 hrs) y/o edema y en los casos más graves convulsiones y/o coma. Denominándose eclampsia cuando se presentan estos últimos síntomas graves (9).

Con el propósito de facilitar la prevención, valoración y manejo clínico, así como su tratamiento, la preeclampsia ha sido dividida en diferentes categorías dependiendo de su gravedad (9,10):

- 1. Preeclampsia Leve:** Se diagnostica cuando existe hipertensión mayor a 140/90 mm Hg, pero menor a 160/110 mm Hg, y proteinuria menor a 5 g por día. Estos valores no deben ir acompañados de alguna disfunción orgánica.
- 2. Preeclampsia Severa:** Se considera así cuando existe una hipertensión mayor a 160/110 mm Hg acompañada de una proteinuria igual o mayor a 5 g por día. Puede presentarse también daño en algún órgano interno.

- 3. Síndrome de HELLP (*hemolysis, elevated liver enzymes, low platelet count*):** Además de uno o más síntomas de preeclampsia severa este síndrome se presenta acompañado de dolor epigástrico, hemólisis, enzimas hepáticas anormales: TGO (transaminasa glutámico – oxalacética) ≥ 70 U.I. /L.; TGP (transaminasa glutámico – piruvica) ≥ 50 U.I. /L; DHL (deshidrogenasa láctica) > 600 U.I. /L. y trombocitopenia (número de plaquetas $< 100 \times 10^3/\text{mm}^3$).

DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD

Para el diagnóstico de la preeclampsia existen datos clínicos que pueden ayudar a su identificación como son ganancia excesiva de peso, inicio de edema, hiperreflexia, tensión arterial media igual o mayor de 90 en el segundo trimestre y proteinuria mínima o elevación mínima del ácido úrico en sangre (9). El diagnóstico formal se realiza cuando la embarazada cumple con las cifras de hipertensión y proteinuria que caracterizan a esta enfermedad.

Los aumentos en la presión arterial se deben observar en por lo menos dos ocasiones consecutivas, con un intervalo de 4-6 hrs, para que se consideren válidos (9). Esta enfermedad puede ir acompañada de otras, como la presencia de alguna enfermedad vascular en la madre (diabetes) o la existencia de un exceso de células de trofoblasto (embarazo gemelar), que va a aumentar el riesgo para la madre y el feto.

FACTORES DE RIESGO

Se encuentran bien identificados los factores o características que incrementan significativamente el riesgo de desarrollar preeclampsia-eclampsia (9, 10).

- ◆ Primiparidad
- ◆ Embarazo múltiple
- ◆ Antecedentes de preeclampsia-eclampsia
- ◆ Hipertensión previa al embarazo
- ◆ Obesidad
- ◆ Resistencia a la insulina
- ◆ Diabetes
- ◆ Embarazo en edades reproductivas tempranas y tardías
- ◆ Alta concentración de testosterona circundante
- ◆ Enfermedades autoinmunes
- ◆ Enfermedad renal crónica
- ◆ Polihidramnios
- ◆ Enfermedad trofoblástica

FISIOPATOLOGÍA DE LA PREECLAMPSIA

La preeclampsia es un padecimiento que se inicia con el embarazo y termina solo cuando este último llega a su fin; su detección clínica se realiza después de la semana 20 de gestación. Se le ha llamado también “la enfermedad de las teorías”, ya que se han elaborado un sin fin de hipótesis para explicar su fisiopatología, que incluyen prácticamente a todos los órganos maternos y fetales en los que se ubica una alteración de su fisiología, a partir de la cual se genera una cascada de eventos que afectan al resto de aparatos y sistemas. Por ejemplo, la resistencia vascular aumenta, así como el gasto cardiaco, sensibilidad a la angiotensina y el volumen extravascular, mientras que disminuyen la síntesis de prostaciclina y el volumen plasmático (11).

La causa de esta enfermedad aún es poco clara, se sabe que obedece a mecanismos multifactoriales sin conocer el origen de éstos. Actualmente la teoría más aceptada por los diferentes grupos de investigadores es la que pone como punto de inicio un daño en el endotelio vascular placentario, debido a factores bioquímicos, inmunológicos y/o genéticos (12).

Se sabe que en la preeclampsia no existe una migración completa por parte de las células trofoblásticas hacia las paredes de las arteriolas uterinas como ocurre en el embarazo normal. Esta implantación deficiente no permite una perfusión sanguínea normal hacia la placenta, lo que induce una liberación de factores o moléculas a la circulación sistémica que modifican la estructura normal de las células endoteliales, desencadenando la activación de la cascada de coagulación y el aumento en la sensibilidad a los agentes vasopresores que en forma normal se encuentran en la

circulación, lo que a su vez se traduce en los signos clínicos de la preeclampsia que son hipertensión y proteinuria (10,12).

La disfunción del endotelio vascular placentario tiene un papel muy importante en la patogénesis de la preeclampsia y se ha establecido la presencia de cambios en los siguientes procesos fisiológicos: concentración aumentada del factor VIII, fibronectina y endotelina, alteraciones del equilibrio entre el activador e inhibidor del plasminógeno y entre la prostacilina ($\text{PgF1}\alpha$) y el tromboxano A2, entre otros (11).

Teorías Sobre la Etiología de la Preeclampsia

Dekker y Sibai (1998) han propuesto cuatro teorías para tratar de explicar la etiología de la preeclampsia (13).

- 1. Isquemia Placentaria.-** El aumento en la deportación de células trofoblásticas como consecuencia de la hipoxia causa daño en las células endoteliales. En mujeres con preeclampsia, la inadecuada invasión del trofoblasto a las arterias espirales evita un adecuado flujo de sangre materna al espacio intervelloso lo que provoca que el diámetro de los vasos sanguíneos no aumente, lo cual da como resultado la isquemia.
- 2. Toxicidad de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) versus la actividad preventiva de esta toxicidad presente en la albúmina.-** En compensación al incremento de la demanda energética durante el embarazo los ácidos grasos no esterificados son movilizados. En mujeres con bajas concentraciones de albúmina el transporte de ácidos grasos del tejido adiposo hacia el hígado puede reducir la actividad antitóxica de la albúmina.

- 3. Inadaptación inmunológica.-** La interacción entre los leucocitos deciduales y las células de citotrofoblasto invasor es esencial para una invasión y desarrollo del trofoblasto de manera adecuada. La inadaptación inmunológica puede causar una invasión superficial de las arterias espirales por el citotrofoblasto endovascular y por consiguiente un daño endotelial por incremento en la liberación de citocinas, enzimas proteolíticas y radicales libres.
- 4. Predisposición genética.-** El desarrollo de la preeclampsia puede estar ligado a un gen recesivo único o a un gen dominante con penetrancia incompleta. La penetrancia puede ser dependiente del fenotipo fetal.

PRUEBAS PREDICTIVAS

Las pruebas predictivas son aquellas que se aplican en pacientes asintomáticos para determinar quienes van a desarrollar posteriormente alguna enfermedad en particular. Con ellas se puede hacer la detección de enfermedades, confirmar o descartar un diagnóstico, o bien medir o determinar el efecto de un tratamiento (14).

Para que se pueda determinar que tan eficaz es una prueba diagnóstica en un determinado padecimiento, es indispensable establecer cuál es su sensibilidad, especificidad y valor predictivo en relación con la enfermedad estudiada (14, 15).

Al realizar una prueba diagnóstica se obtienen por lo menos dos resultados: positivo y negativo. El primero es cuando se considera que el individuo tiene la enfermedad y el segundo cuando se comprueba que no la presenta (**Tabla 2**) (14).

La sensibilidad de una prueba predictiva se refiere al porcentaje de individuos con la enfermedad de interés que presentan una prueba positiva. Estas pruebas se consideran adecuadas cuando son específicas. La especificidad se define como el porcentaje de individuos sin la enfermedad que presentan una prueba negativa (14). Cuanto mayor sea la sensibilidad de una prueba, más elevada la probabilidad de que la prueba detecte a personas con la enfermedad que interesa. Mientras mayor sea la especificidad, más elevada la probabilidad de que personas sin la enfermedad sean excluidas por la prueba (15).

Para determinar la sensibilidad y la especificidad de una prueba se tiene que comparar dos grupos de individuos con características similares: grupo control, aquel en donde los sujetos no presentan la enfermedad y otro grupo en donde la enfermedad está confirmada por medio de otra prueba con sensibilidad y especificidad cercana al 100%, que se considera como estándar de oro.

Tabla 2. Prueba Diagnóstica

	Enfermedad Presente	Enfermedad Ausente
Prueba Positiva	a Verdaderos positivos	b Falsos positivos
Prueba Negativa	c Falsos negativos	d Verdaderos negativos

Estos dos índices, el de sensibilidad y especificidad, se calculan por medio de un cuadro de contingencia (**Tabla 2**) y se obtienen con las siguientes formulas (14):

$$\text{Sensibilidad} = \frac{\text{Verdaderos positivos}}{\text{Total de casos con la enfermedad}} = \frac{\mathbf{a}}{\mathbf{(a + c)}}$$

$$\text{Especificidad} = \frac{\text{Verdaderos negativos}}{\text{Total de casos sin la enfermedad}} = \frac{\mathbf{d}}{\mathbf{(b + d)}}$$

Además se deben realizar cálculos para conocer la probabilidad de que el sujeto realmente tenga la enfermedad, esta probabilidad se llama valor de predicción de una prueba positiva (Vp+). Por el contrario, si la prueba es negativa en un paciente, a la probabilidad de que el individuo no sufra el padecimiento se le llama valor de predicción de una prueba negativa (Vp-) (14, 15).

Estos valores se calculan con las siguientes formulas:

$$\text{Valor predictivo positivo} = \frac{(\text{sensibilidad}) (\text{prevalencia de la enfermedad en la población})}{(\text{sensibilidad}) (\text{prevalencia}) + (1 - \text{especificidad}) (1 - \text{prevalencia})}$$

$$\text{Valor predictivo negativo} = \frac{(\text{especificidad}) (1 - \text{prevalencia de la enfermedad en la población})}{(\text{especificidad}) (1 - \text{prevalencia}) + (1 - \text{sensibilidad}) (\text{prevalencia})}$$

PREDICCIÓN DE LA PREECLAMPSIA

La preeclampsia es una de las enfermedades obstétricas que en teoría se puede prevenir, por una atención prenatal y asistencia obstétrica de buena calidad, ya que se conocen los factores de riesgo que aumenta la probabilidad de que se desarrolle. Sin embargo, continúa existiendo poca capacidad para la identificación y diagnóstico de las formas clínicas iniciales y leves, por lo que se necesita más que el diagnóstico de hipertensión y proteinuria durante el embarazo para prevenir y determinar esta patología.

La preeclampsia se diagnostica clínicamente después de la semana 20 de gestación, las pacientes que presentan preeclampsia antes de las semanas 32-34 de gestación presentan tasas más altas de morbilidad y mortalidad materno-fetal en contraste con aquellas pacientes que presentan tardíamente las manifestaciones de la enfermedad (2).

El único tratamiento actual contra la preeclampsia es la interrupción del embarazo, la predicción e identificación oportuna de la enfermedad permitirá el manejo apropiado de pacientes que podrían desarrollar cuadros severos de preeclampsia.

Los factores de riesgo son importantes para saber que mujeres podrían tener mayor probabilidad de desarrollar la enfermedad. Sin embargo, la especificidad de este procedimiento no es alta, por lo que se requiere de otro tipo de análisis o pruebas que puedan ayudar a identificar con más precisión a quienes podrían desarrollar preeclampsia o a quienes ya la desarrollaron, antes de presentar manifestaciones clínicas.

Se han propuesto varios tipos de pruebas para la identificación oportuna de la preeclampsia (16,17):

- ◆ **Bioquímicas.-** Cuantificación en sangre y/o orina de calcio, medición en plasma/suero de fibronectina, inhibina (a y b), moléculas de adhesión, conteo plaquetario, entre otras.
- ◆ **Pruebas clínicas.-** Medición de la presión arterial, medición de la sensibilidad a la angiotensina, prueba de volteo, entre otras.
- ◆ **Pruebas biofísicas.-** Examen de ultrasonido.

En esta patología, las alteraciones a nivel molecular se establecen con el embarazo y podrían ser detectables antes de la etapa clínica mediante la utilización de marcadores clínicos y bioquímicos relacionados con el funcionamiento de órganos y sistemas que participan en su fisiopatología. Por lo tanto, estos marcadores se pueden definir como medidores locales o modulares de mecanismos biológicos que se manifiestan tanto en condiciones fisiológicas como patológicas. En los últimos años se ha reportado que varias moléculas muestran cambios cuando se presenta la preeclampsia, por lo que estudios posteriores podrían corroborar si efectivamente son buenos marcadores bioquímicos para la detección temprana de la preeclampsia (16).

Marcadores Bioquímicos

Se ha observado que existen diferentes tipos de moléculas asociadas al daño endotelial, la coagulación, la placentación, el sistema renal y la perfusión

placentaria, cuyas concentraciones se ven alteradas cuando existe preeclampsia. Estas moléculas han sido evaluadas por varios grupos de investigadores como posibles marcadores bioquímicos de esta patología. Entre ellos están: calicreína-creatinina (función renal); volumen plaquetario, angiotensina II (coagulación, sistema fibrinolítico y activación plaquetaria); fibronectina, prostaciclina y tromboxano (función vascular); lípidos peroxidados, 8-isoprostanos, antioxidantes, anticuerpos, hemoglobina, hierro, transferrina, homocisteína, isoformas de albúmina (estrés oxidativo) (16).

A lo largo de los años, en el contexto internacional se ha propuesto que es poco probable que un solo marcador permita la identificación eficiente de la preeclampsia por lo que se requerirá de una batería de estudios que conjuguen la evaluación simultánea de varios marcadores.

DESARROLLO EMBRIONARIO TEMPRANO

El desarrollo embrionario del humano es el resultado de diferentes procesos que son iniciados con la fecundación y terminan con la formación de un organismo completo.

La fecundación es el proceso mediante el cual se fusionan los gametos femeninos (oocito) y masculinos (espermatozoide), formando un oocito maduro fertilizado

(**figura 1A**). Como consecuencia biológica se establece la diploidía, la determinación genética y la primera segmentación del huevo (18).

La segmentación tiene como finalidad transformar al óvulo fecundado unicelular, en un complejo pluricelular, al cual se le denomina blástula (**figura 1B**). Después de la fecundación las divisiones celulares continúan rápidamente y a los 3 a 4 días se forma una masa sólida de células llamada mórula (**figura 1C**) (19). Durante estas divisiones no existe un aumento en el tamaño de la mórula. Conforme continúa la segmentación, la mórula desciende por la trompa de Falopio para entrar a la cavidad uterina. Es en este momento cuando comienza a introducirse líquido a través de la zona pelúcida, el cual va a crear una cavidad central en la mórula llamada blastocelo, que además de agua y sales contiene proteína y glucógeno segregados por las células vecinas, proceso en donde la mórula se transforma en blastocisto (**figura 1D**). Las células periféricas del blastocisto se conocen como trofoblastos y las células atrapadas en el blastocisto se denominan embrioblastos (20). El trofoblasto es la primera estructura embrionaria que se diferencia del blastocisto y después de la pérdida de la zona pelúcida estas células empiezan a introducirse entre las células epiteliales de la mucosa uterina, aproximadamente en el sexto día posfecundación. El trofoblasto va a ser el encargado de proporcionar el aporte energético y nutritivo a las células que constituyen la parte del futuro embrión, además de originar las vellosidades coriónicas y estar encargadas de reemplazar el endotelio venoso, lo que va a constituir la unidad estructural y fundamental de la placenta. Mientras tanto, el embrioblasto va a estar encargado de la formación de la porción embrionaria. (18).

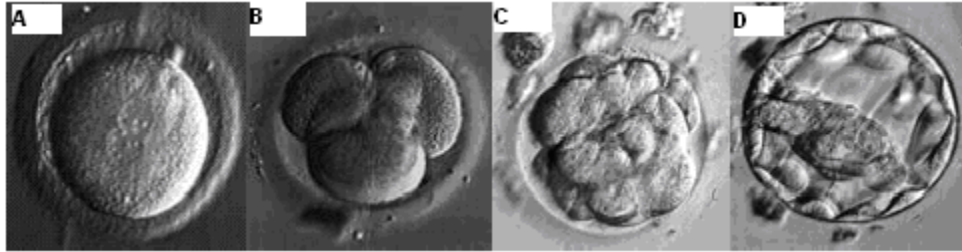


Figura 1. Etapas de la Segmentación. (A) Occito maduro fertilizado (B) Blástula (C) Mórula (D) Blastocisto. Imagen tomada de www.grupogestar.com.ar/esp/desarrollo.htm.

IMPLANTACIÓN NORMAL

La implantación es el proceso durante el cual el blastocisto se fija en el endometrio y subsecuentemente se incluye en esta membrana (**figura 2**) (20). Este proceso se inicia al término de la primera semana de gestación y culmina hacia el final de la segunda. Muchos de los procesos dinámicos de la implantación son guiados y ejecutados por las células trofoblásticas, que son abundantes en el lecho placentario en donde se adhiere la placenta. El blastocisto envía brotes de trofoblasto dentro de la decidua y el miometrio para adaptar la vasculatura materna, la cual va a suministrar alimento al feto durante el resto del período gestacional (21).

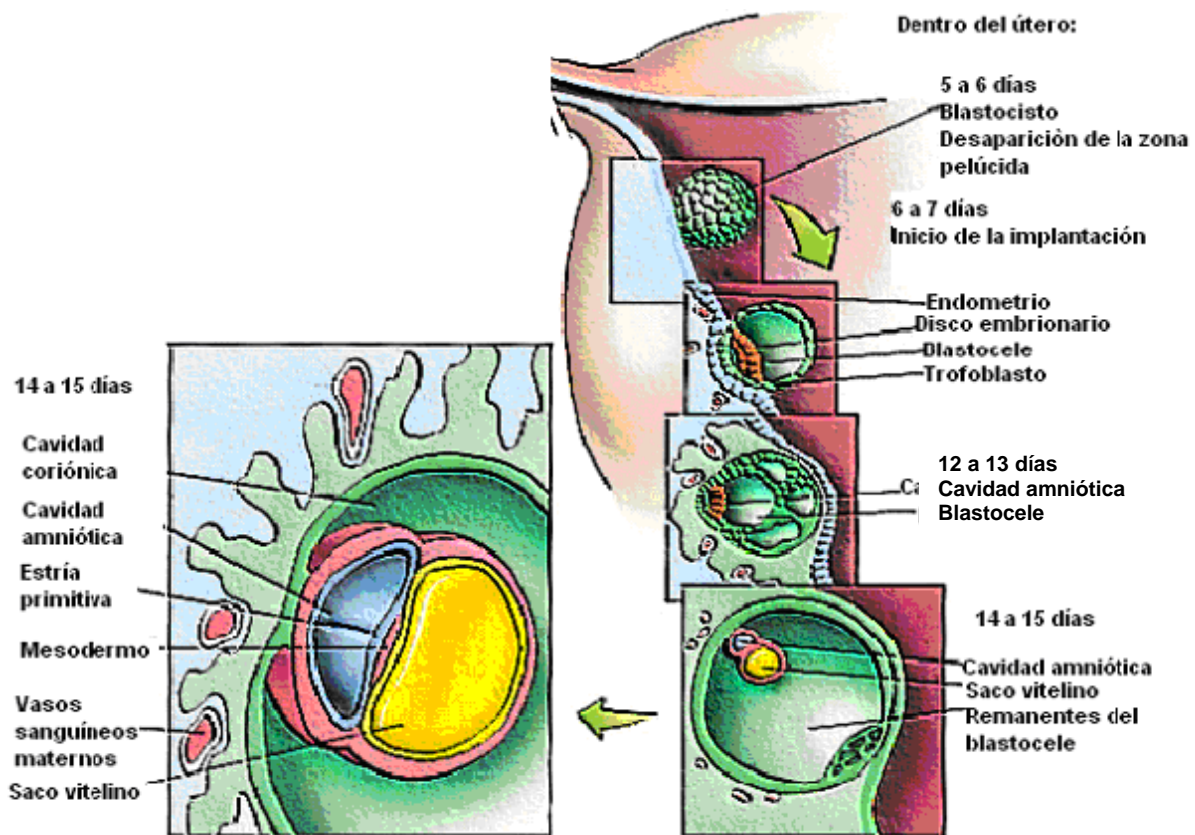


Figura 2. Proceso de Implantación del blastocisto. Imagen tomada de Gartner LP, Hiatt JL. *Texto Atlas de Histología*. Edit. McGraw-Hill Interamericana. México. 2002.

Durante la segunda semana posconcepción se desarrollan las vellosidades, punto en el cual el trofoblasto se diferencia en citotrofoblasto (células mononucleares que se activan de manera mitótica) y sincitiotrofoblasto (células multinucleadas). El citotrofoblasto se divide para formar sincitiotrofoblasto y un nuevo tipo de células, el trofoblasto extraveloso, el cual va a tener como una de sus funciones, unir la placenta a la decidua. Morfológicamente y antigénicamente las poblaciones de trofoblasto son diferentes (21).

Para la octava semana de gestación el trofoblasto extraveloso se ha extendido a través del endometrio para alcanzar el borde de la decidua y el miometrio. De la

semana doce hasta la semana veinte de gestación el trofoblasto ejecuta la primera función de adaptación de los vasos maternos; el trofoblasto extraveloso y las células columnares de las vellosidades de anclaje invaden profundamente el útero y las arteriolas maternas (22).

Las células trofoblásticas reemplazan el forro endotelial y muscular de las arteriolas uterinas, proceso que sirve para potencializar el flujo sanguíneo materno hacia el espacio intervelloso y alarga el diámetro de los vasos (5, 21,22).

IMPLANTACIÓN ANORMAL

Existen dos patologías que pueden dar como resultado una implantación placentaria incompleta y que por tanto van a disminuir la perfusión placentaria.

Estas alteraciones son:

- 1. Invasión trofoblástica incompleta:** Se debe a una falla de la invasión del trofoblasto a la porción intramiometrial de las arterias espirales. Las invasiones incompletas han sido reportadas en embarazos complicados, que dan como resultado una restricción en el crecimiento fetal con o sin hipertensión asociada. En embarazos con implantación anormal es posible encontrar un incremento en el número de trofoblastos inmaduros en las células columnares, una disminución en el número de trofoblastos invasivos

y falta de penetración del trofoblasto invasivo dentro de la porción miometrial de las arterias espirales (21).

2. **Aterosis:** Se trata de una acumulación de células lipídicas dentro de material rico en fibrina en la pared vascular. El material fibrinoide dentro de los vasos sanguíneos es el resultado de la filtración de proteína y fibrina. La aterosis vascular aguda fue descrita por primera vez en las arterias espirales uterinas y posteriormente se han descrito las características histológicas de éste padecimiento como son, la vacuolización de las células endoteliales, proliferación de la capa íntima de las arterias y la infiltración de las células vacuoladas a la túnica media. Se ha observado que en mujeres preeclámpticas no todas las arteriolas espirales uterinas están afectadas. Sin embargo, la extensión y severidad de las lesiones vasculares parecen corresponder con la severidad de las manifestaciones clínicas de esta enfermedad (21,22).

CÉLULAS ENDOTELIALES

Las células endoteliales se encuentran en la interfase de la musculatura lisa de los vasos sanguíneos, ocupando más de 1000 m² en el sistema cardiovascular (23). Su proliferación se lleva a cabo para cubrir superficies expuestas y reparar daño en los vasos sanguíneos. Entre las funciones más importantes se puede destacar la modulación del tono vascular, la coagulación, la permeabilidad y la interacción con células inmunológicas, así como su intervención en la formación y renovación de los vasos sanguíneos, proceso conocido como angiogénesis.

Las células endoteliales secretan a la circulación numerosos mensajeros moleculares, como factores relajantes (prostaciclina y óxido nítrico), factores de contracción (prostaglandinas y tromboxanos), factores de crecimiento (VEGF, PlGF) y otros como fibronectina, endotelina, sulfato de heparina, interleucina-1, factor activador del plasminógeno, factor activador plaquetario, etc. Las células endoteliales son a su vez blanco de moléculas como citocinas, lípidos peroxidados, lipoproteínas, prostaglandinas, plaquetas, leucocitos, anticuerpos, etc. (5, 23). La activación de estas células es resultado de eventos como cambios en el tono vascular, hipoxia, especies reactivas de oxígeno y sus metabolitos, entre otros.

La angiogénesis es un requerimiento fundamental para el desarrollo y diferenciación de los órganos durante la embriogénesis, así como para las funciones reproductivas del adulto. En el caso del embarazo, la angiogénesis es un paso importante para la formación del sistema vascular que ayudará al desarrollo normal del feto, situación que en la preeclampsia está alterada. El daño

endotelial es un evento que se presenta tempranamente en patologías como la preeclampsia (5,12, 23).

FACTORES DE CRECIMIENTO

Los factores de crecimiento son proteínas extracelulares que se unen a un receptor en la superficie celular para activar una vía de señalización intracelular, la cual induce la proliferación, la diferenciación u otro tipo de respuesta celular como el crecimiento, sobrevivencia y función celular (24). Estas moléculas también son potentes mitógenos, producen cambios en los fenotipos que influyen en la invasión celular o la apoptosis, regulan el crecimiento y la migración en células tumorales, algunos participan en la angiogénesis y disparan diferentes cascadas bioquímicas.

Existen numerosos factores de crecimiento. Algunos son específicos de algún tipo celular, como el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento y de transformación alfa y beta ($TGF-\alpha$, $TGF-\beta$) que se expresan en células transformadas, el factor de crecimiento de insulina-I (IGF-I) que se expresa primordialmente en el hígado y el factor de crecimiento placentario (PIGF), cuya expresión se restringe a la vena umbilical. Existen otros que se pueden expresar en diferentes tipos celulares, tales como el factor de crecimiento epidermal (EGF) que se expresa en la células submaxilares y en la glándula de Brunners, el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), expresado en un amplio rango de tipos celulares, el factor de crecimiento de insulina II (IGF-II) expresado en diferentes células y el factor de crecimiento de endotelio vascular (VEGF) expresado en arterias, venas y vasos linfáticos (24).

Los factores de crecimiento también son secretados por las células y pueden ser identificados en plasma o suero sanguíneo, así como en condiciones de cultivo celular. Muchos de estos factores que están anclados en la membrana plasmática de las células pueden tener variantes solubles, por lo que actúan de manera autocrina y paracrina.

Factor de Crecimiento de Endotelio Vascular (VEGF)

El VEGF es una glicoproteína homodímera glicosilada, producida por las arterias, venas y vasos linfáticos o por líneas celulares de neuroblastoma y la plétora. Es el principal promotor de la angiogénesis normal y patológica, además de ser potente mitógeno de las células endoteliales. Es conocido también como factor de permeabilidad vascular, regula el crecimiento de los vasos sanguíneos dependiendo de la necesidad del tejido, promueve la quimiotaxis en monocitos y aumenta la conductividad de microvasos aislados. Debido a sus propiedades *in vitro* e *in vivo*, se ha propuesto que el VEGF tiene una participación importante en la inflamación, la reparación del daño celular, el desarrollo embrionario, el crecimiento y metástasis de tumores (25, 26).

El VEGF ejerce su efecto sobre el endotelio vascular estimulando el transporte de hexosas. Esta acción es importante para cubrir las demandas en el incremento de energía durante la proliferación o inflamación de las células endoteliales (27).

Varias moléculas componen la familia de los Factores de Crecimiento Vascular: las isoformas VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D y VEGF-E y el factor de

crecimiento placentario P/IGF. El gen del VEGF-A humano está organizado por 8 exones y 7 intrones y la molécula tiene un peso molecular de 46-48 kDa. Cuenta con 7 isoformas: VEGF₁₂₁, VEGF₁₄₅, VEGF₁₆₂, VEGF₁₆₅, VEGF₁₈₃, VEGF₁₈₉ y VEGF₂₀₆ de las cuales la isoforma 165, cifra que corresponde al número de aminoácidos que lo conforman, es la más abundante (25, 26, 27, 28). VEGF₁₂₁ y VEGF₁₆₅ son proteínas con capacidad de difusión, que pueden ser secretadas por las células.

La regulación de la síntesis del VEGF está dada por hipoxia, citocinas y la diferenciación o transformación de algunos tipos celulares (25). Estudios recientes sugieren que puede ser un factor que induce fenestraciones en células endoteliales, como se ha demostrado en células derivadas de médula ósea (25).

Factor de Crecimiento Placentario (P/IGF)

Al igual que el VEGF, el P/IGF es miembro de la familia de los factores de crecimiento vascular y su expresión se restringe únicamente a la placenta, en la vena umbilical y específicamente en las células de trofoblasto, por lo que la reducción en las concentraciones de P/IGF durante el desarrollo de la unidad uteroplacentaria puede dar como resultado la disminución de la angiogénesis y la invasión trofoblástica dentro de las arterias espirales maternas. Cabe mencionar que el P/IGF fue el primer miembro de la familia de los VEGFs identificado. Y clonado a partir de una biblioteca de cDNA de placentas de término (29). Entre sus funciones más importantes destacan la vasculogénesis, la estabilización y

permeabilidad vascular, así como la maduración y proliferación del trofoblasto extraveloso durante el primer trimestre del embarazo (29).

Esta molécula es una glicoproteína dimérica compuesta por 7 exones y presenta cuatro diferentes isoformas: PIGF-1, PIGF-2, PIGF-3 y PIGF-4 (30,31). El PIGF comparte el 53% de identidad con el VEGF (30) y posee actividad mitogénica y angiogénica, capaz de inducir proliferación, migración y activación de células endoteliales (32). Al igual que el VEGF, el mRNA del gen del PIGF está condicionado por la tensión de oxígeno y por citocinas (29).

Receptor-1 del Factor de Crecimiento Vascular (VEGFR-1)

Los receptores de las moléculas que pertenecen a la familia de los Factores de Crecimiento Vascular son glicoproteínas de alta afinidad, ubicadas en la superficie celular. Existen tres receptores conocidos (VEGFR-1 = Flt-1, VEGFR-2 = Flk-1, VEGFR-3= Flt-4) y corresponden a receptores de tipo tirosina-cinasa (RTKs) (25, 26, 30). Su conformación está dada por siete repeticiones extracelulares parecidas a inmunoglobulina, dominio que es indispensable para el control de la angiogénesis, una región sencilla transmembranal y una secuencia consenso de tirosina-cinasa en el dominio intracelular (25).

El VEGFR-1 es una glicoproteína de aproximadamente 180 kDa y es específico para VEGF (VEGF-A), PIGF y VEGF-B (25,29). La región donde se une con VEGF y PIGF corresponde a la segunda inmunoglobulina del dominio extracelular (29). Este receptor se expresa en dos formas a través del *splicing* (procesamiento alternativo) en el pre-mRNA: a) receptor completo que se une a la membrana

celular y capaz de transducir señales y b) receptor truncado, soluble (sVEGFR-1), capaz de secuestrar ligandos o de dimerizarse con el receptor completo y prevenir la transducción de señales (26). El sVEGFR-1 está formado únicamente por las primeras 6 repeticiones extracelulares de inmunoglobulina. Se sabe que esta forma soluble del receptor actúa como inhibidor de la actividad de sus ligandos; inclusive se ha utilizado con éxito la administración de sVEGFR-1 para prevenir la neovascularización y el crecimiento de tumores (25).

El VEGFR-1 se expresa tanto en monocitos/macrófagos como en células endoteliales. Moléculas como VEGF y PECAM-1, el contacto célula-célula, la activación celular y la hipoxia aumentan la expresión de este receptor (25-27). El VEGFR-1 es necesario para el desarrollo normal de la vasculatura embrionaria; su función está determinada por el estado de desarrollo del animal o tipo de células. Algunos estudios indican que al menos durante el desarrollo temprano es un regulador negativo de la acción del VEGF (29).

Existe otro receptor, el VEGFR-2 que se une solamente al VEGF, lo que indica que existe una competencia del VEGF y el PlGF por unirse al VEGFR-1. Se ha propuesto que existen dos posibilidades cuando estos dos factores se expresan al mismo tiempo: a) el PlGF, se une al VEGFR-1 y no al VEGFR-2, lo cual puede provocar el desplazamiento del VEGF hacia el VEGFR-2, concepto conocido como "transferencia de ligando" y b) el PlGF puede jugar un papel de activación más directo dentro de la célula endotelial vía VEGFR-1. Ambas vías pueden ocurrir al mismo tiempo, complicando el proceso de análisis de las funciones de varios receptores (33).

OBJETIVO GENERAL

- Evaluar comparativamente las concentraciones de P/IGF, VEGF y VEGFR-1 (formas solubles) a las 20 semanas y al término de la gestación, en mujeres con embarazo normal y con preeclampsia.

OBJETIVO PARTICULAR

- Analizar el valor predictivo de P/IGF, VEGF y VEGFR-1 como posibles marcadores de la presencia de preeclampsia a las 20 semanas de gestación.

HIPÓTESIS

- Las concentraciones circulantes de sVEGF y sP/IGF se encuentran disminuidas, mientras que las concentraciones de sVEGFR-1 se encuentran aumentadas a partir de las 20 semanas de gestación en mujeres con preeclampsia, comparadas con mujeres que cursan un embarazo normal.

HIPÓTESIS NULA

- Durante la gestación no existe diferencia en las concentraciones de VEGF, P/IGF y VEGFR-1 (formas solubles), entre pacientes con preeclampsia y mujeres que cursan un embarazo normal.

METODOLOGÍA

DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

DISEÑO EXPERIMENTAL

Se llevaron a cabo 2 tipos de estudios comparativos, observacionales:

- 1.- De cohorte, prospectivo, con un estudio de casos y controles anidado.
- 2.- Casos y controles.

POBLACIÓN EN ESTUDIO.

GRUPO 1. Setecientas setenta mujeres embarazadas, nulíparas, sanas, con un máximo de 20 semanas de gestación, las cuales fueron reclutadas en las Unidades de Medicina Familiar No. 5, 13, 20 y 41 del IMSS en la Ciudad de México. Estas mujeres fueron invitadas a participar en un estudio prospectivo sobre preeclampsia y se obtuvo por escrito su consentimiento. Todas las participantes recibieron atención prenatal en su unidad de medicina familiar de adscripción.

De esta cohorte se excluyeron 102 pacientes por complicaciones en su embarazo diferentes a la preeclampsia, por ejemplo, abandono del estudio, pérdida de afiliación al IMSS, atención de su parto en forma particular. Por lo que al final quedaron un total de 668 participantes.

a) Casos: 50 pacientes de la cohorte reclutada (7.5%) desarrollaron preeclampsia, de las cuales 28 desarrollaron preeclampsia leve y 22 desarrollaron preeclampsia severa.

b) Controles: 65 mujeres de la misma cohorte que cursaron un embarazo normal.

Los criterios para seleccionar a los controles fueron los siguientes:

- El tiempo de la toma de la muestra de sangre fuera sincrónica.
- La edad de las pacientes fuera semejante.
- Las semanas de gestación en que se tomó la muestra de sangre fueran iguales.

GRUPO 2. Se incluyeron pacientes embarazadas que recibieron atención prenatal en el Hospital “Luis Castelazo Ayala” del IMSS.

a) Casos: 13 mujeres en el tercer trimestre de gestación con diagnóstico de preeclampsia severa.

b) Controles: 13 mujeres con embarazo normal de término.

A todas las participantes se les elaboró una historia clínica, para conocer su entorno médico–familiar y descartar posibles interacciones con patologías sobreagregadas que pudieran interferir con los resultados del estudio. La edad gestacional de las participantes, en el momento de su inclusión al estudio fue determinada por la fecha de su última menstruación y confirmada por ultrasonido

en algunos casos. El protocolo de investigación fue aprobado por el Comité de Investigación y Ética del Hospital de Ginecología y Obstetricia “Luis Castelazo Ayala” del IMSS.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

GRUPO 1.

- Pacientes nulíparas con una edad gestacional menor o igual a 20 semanas.
- Con tensión arterial (TA) <140/90 mm Hg.
- Sin proteinuria a las 20 semanas de gestación.
- Casos: pacientes que desarrollaron una TA (140/90 mm Hg, proteinuria de 300 mg/L o más ó su equivalente en tira reactiva.
- Controles: pacientes que cursaron un embarazo con TA < 140/90 mm Hg, sin proteinuria.

GRUPO 2.

- Casos: pacientes nulíparas, en el tercer trimestre de gestación, con TA (160/110 mm Hg, proteinuria > 2 g en orina de 24 horas, ó su equivalente en tira reactiva.
- Controles: pacientes nulíparas con embarazo de término (> 37 semanas de gestación), sin patología asociada, con TA < 140/90 mm Hg y sin proteinuria.

Es importante mencionar que el embarazo normal como la preeclampsia fueron definidas siguiendo la clasificación del Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos (10) y de la Norma Técnico Médica para la Prevención y Manejo de la Preeclampsia-Eclampsia del IMSS (9).

Embarazo normal: embarazo único en una mujer previamente normotensa, que permaneció con una TA <140/90 mm Hg, sin proteinuria o edema, y que dio a luz a un neonato sano con un peso adecuado para su edad gestacional, después de 37 semanas de gestación.

Preeclampsia leve: TA mayor a 140/90 mm Hg, pero menor a 160/110 mm Hg y proteinuria ((300 mg pero menos de 2 g en orina de 24 horas o más de 1+ en tira reactiva, pero menos de 3+).

Preeclampsia severa: TA de 160/110 mm Hg o más, con la paciente en reposo en cama, en dos ocasiones con un mínimo de diferencia de 6 horas entre uno y otro registro. Proteinuria de 2 g o más en orina de 24 horas, o 3+ a 4+ en tira reactiva en una muestra de orina tomada al azar.

OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS BIOLÓGICAS

Grupo 1: Las muestras se tomaron a las 20 semanas de gestación para los casos y los controles.

Grupo 2: Para los embarazos normales, las muestras se tomaron a las 37-39 semanas de gestación y para las preeclámpticas se tomaron en el momento del diagnóstico de preeclampsia.

Las muestras de sangre periférica se tomaron por la mañana, con ayuno mínimo de 8 horas, por punción en la vena cubital. Por cada paciente se recolectaron 10 ml de sangre en tubos de ensayo de 15 x 100 mm, las cuales se centrifugaron para obtener el suero. Las alícuotas obtenidas se almacenaron a -70°C hasta su análisis.

DETERMINACIÓN DE sVEGF, sPIGF Y sVEGFR-1

La determinación de las concentraciones de las moléculas P/IGF, VEGF y VEGFR-1 en sus formas solubles, se realizó mediante la técnica cuantitativa de ELISA utilizando estuches comerciales específicos para cada molécula (Quantikine®, R&D Systems Minneapolis, MN, EUA) (34, 35, 36). Cada uno de los estuches de ELISA contiene:

- Una microplaca con 96 pozos, cubierta con un anticuerpo monoclonal murino específico para VEGF, P/IGF o VEGFR-1 soluble.
- Anticuerpo conjugado. Anticuerpo policlonal versus sVEGF, sP/IGF o sVEGFR-1, conjugado con peroxidasa de rábano.
- Estándares de concentración conocida de sVEGF, sP/IGF o sVEGFR-1, para la realización de las curvas de calibración o curvas estándar.
- Diluyente del ensayo. Solución amortiguadora con proteína y conservador.
- Solución amortiguadora de lavado, concentrada 25x. Solución surfactante amortiguada, con un conservador.
- Reactivo para el color A. Solución de peróxido de hidrógeno.

- Reactivo para color B. Solución de cromógeno (tetrametilbencidina).
- Solución para detener la reacción. Solución concentrada de ácido sulfúrico.
- Tiras adhesivas para cubrir la microplaca.

La sensibilidad y los rangos de las curvas estándar de cada prueba se muestran en la **tabla II**. En las **figuras 3, 4 y 5** se presentan las curvas estándar correspondientes. Las alícuotas de suero se analizaron por duplicado.

PROCEDIMIENTO

1. Se prepararon los reactivos, estándares y muestras.
2. Se añadió 100 μ l del diluyente del ensayo a cada pozo de la microplaca: RD1W para sVEGF; RD1-22 para sPIGF y RD1-71 para sVEGFR-1.
3. Se añadió 100 μ l del estándar o muestra en los pozos correspondientes, con suficiente fuerza para asegurar el mezclado.
4. Se cubrió la placa con el adhesivo incluido en el estuche y se incubó a temperatura ambiente por 2 horas. En el caso de sVEGFR-1 se mantuvo en agitación horizontal (ajustado a \pm 500 rpm).
5. Se aspiró el contenido de cada pozo. se lavó cada pozo con 400 μ l de solución amortiguadora de lavado diluida 1:25 con agua destilada, se aspiró nuevamente el contenido de cada pozo y se repitió el proceso de lavado (2 veces más para sVEGF y sPIGF y 3 para sVEGFR-1).

6. Después del último lavado, se invirtió la placa sobre toallas de papel absorbente y se golpeó firmemente para eliminar el buffer remanente.
7. Se añadieron 200 μ l del anticuerpo policlonal conjugado para sVEGF, sPIGF ó sVEGFR-1 respectivamente.
8. Se cubrió la placa con un adhesivo nuevo y se incubó a temperatura ambiente durante 2 horas. En el caso de s VEGFR-1 se mantuvo en agitación horizontal ajustado a \pm 500 rpm.
9. Se repitió el proceso de lavado.
10. Se añadieron 200 μ l de la solución del sustrato (peróxido de hidrógeno estabilizado y cromógeno estabilizado) a cada pozo, el cual se tiene que preparar 15 minutos antes de usarlo.
11. Se incubó a temperatura ambiente protegido de la luz durante 25 minutos para sVEGF y sPIGF y 30 minutos para sVEGFR-1.
12. Se añadió 50 μ l de solución para detener la reacción (H_2SO_4 2 N) a cada pozo en el mismo orden en que se colocó el sustrato.
13. Se leyó la densidad óptica a 450 nm en los siguientes 30 minutos en un equipo lector de microplacas de Precision Molecular Devices.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para la realización del análisis estadístico se utilizó el programa SPSS para Windows 8.0 (Statistical Package for Social Sciences; SPPS Inc., Chicago IL, USA). Se aplicó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para evaluar la normalidad en la distribución de los datos. Para las variables continuas se calcularon promedios y desviaciones estándar o errores estándar. Estos datos fueron comprobados por medio de la prueba t de Student si la distribución fue normal o la prueba de U de Mann-Whitney si la distribución no fue normal. Las variables porcentuales se compararon a través de la prueba de χ^2 . Se utilizó análisis de varianza de una vía (ANOVA), conjuntamente con la prueba de Bonferroni, para comparar las concentraciones de los factores de crecimiento entre los diferentes grupos estudiados.

Para analizar las concentraciones de los factores de crecimiento a las 20 semanas de gestación como predictores de preeclampsia, se elaboraron curvas ROC (receiver-operating characteristic curves), graficando los valores de sensibilidad (verdaderos positivos) versus 1-especificidad (falsos positivos) de cada uno de los puntos de corte. Los valores que proporcionaron las curvas ROC con el área bajo la curva más grande se seleccionaron como puntos de corte para calcular los valores predictivos y para dicotomizar los datos como “bajos” o “altos” (por abajo o por arriba del punto de corte, respectivamente) (37, 38).

Para el cálculo de los valores predictivos se elaboraron tablas de 2x2. Para todas las pruebas estadísticas se consideró una $p < 0.05$ como significancia.

RESULTADOS

En la **tabla III** se presentan las características clínicas, maternas y neonatales de las participantes. No se observaron diferencias significativas en cuanto a la edad materna entre los grupos. Los pesos de los recién nacidos fueron significativamente diferentes entre las pacientes que desarrollaron preeclampsia y las que cursaron un embarazo normal. Este parámetro, la edad gestacional al momento del nacimiento y la edad gestacional al momento del diagnóstico de la preeclampsia fueron significativamente diferentes entre los casos de preeclampsia leve y severa. En la **tabla IV** se presentan por separado las características clínicas de las pacientes de la cohorte que desarrollaron preeclampsia leve y severa.

Debido a que las concentraciones de sVEGF estuvieron por debajo del límite de detección del estuche utilizado (**tabla II**), no fue posible detectarla consistentemente en ninguno de los grupos analizados. Para corroborar la existencia de este factor de crecimiento de manera indirecta se realizó la prueba para detectar a su receptor VEGFR-1 en su forma soluble.

A las 20 semanas de gestación no se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de sVEGFR-1 entre las mujeres con preeclampsia y con embarazo normal, mientras que al final del embarazo si se encontró diferencia significativa para esta molécula (**figura 6, tabla V**).

Cuando se comparan las concentraciones de sVEGFR-1 entre los grupos de mujeres con embarazo normal, se observa que existe un aumento significativo de la semana 20 de gestación al final del embarazo. Para el grupo de mujeres

preeclámpticas de la semana 20 de gestación al final del embarazo este aumento es significativamente mayor (**figura 6, tabla V**).

En el caso de sP/IGF, a las 20 semanas de gestación se observó una pequeña diferencia en su concentración entre los grupos de embarazo normal y preeclampsia. Esta diferencia fue significativamente mayor al final de la gestación (**figura 7, tabla V**). Las concentraciones de sP/IGF en mujeres con embarazo normal no presentaron diferencia significativa entre las 20 semanas y el final del embarazo, mientras que en el grupo de las mujeres con preeclampsia a las 20 semanas de gestación las concentraciones ya se encuentran disminuidas y para el final del embarazo es significativamente mayor la disminución (**figura 7, tabla V**).

No obstante que a la mitad del embarazo no hubo diferencias significativas en la concentración de sVEGFR-1 entre todo el grupo de pacientes con preeclampsia y los controles, y la diferencia en la concentración de sP/IGF fue discreta, la relación sVEGFR-1/sP/IGF fue significativamente mayor entre las preeclámpticas (**figura 8, tabla V**). En este grupo se encontró también que este índice presentó un aumento de más de 8 veces al final de la gestación, comparado con los valores obtenidos a las 20 semanas, lo que no sucedió entre las mujeres con embarazo normal (**figura 8, tabla V**).

En las **figuras 6 y 7** las diferencias a las 20 semanas de gestación entre las embarazadas normales y las embarazadas con preeclampsia fueron muy discretas, por lo que el grupo de mujeres con preeclampsia se dividió en preeclampsia leve y severa.

En la **figura 9** se muestra que las concentraciones de sVEGFR-1 en mujeres con preeclampsia leve son similares a las concentraciones encontradas en las mujeres con embarazo normal, mientras que en las mujeres que desarrollaron preeclampsia severa, la concentración de sVEGFR-1 está aumentada con respecto a los otros dos grupos. En la **figura 10** se observa que las concentraciones de sP/IGF de las mujeres con preeclampsia severa son las más bajas con respecto a los otros dos grupos estudiados. De acuerdo a los resultados anteriores, el cociente sVEGFR-1/sP/IGF también fue significativamente más alto en las pacientes con preeclampsia severa, con respecto a las pacientes que desarrollaron preeclampsia leve y los controles (**figura 11**).

Debido a que únicamente se encontraron diferencias significativas con el grupo de mujeres que presentó preeclampsia severa, se utilizaron los valores de este grupo para calcular los valores predictivos de cada una de las moléculas, tanto por separado como de la relación entre ellas. Para realizar estos cálculos con relación al diagnóstico de preeclampsia severa en primer lugar se elaboraron las curvas ROC correspondientes (**figura 12**). De acuerdo a las áreas bajo la curva de cada una de estas gráficas, se puede observar que el cociente sVEGFR-1/sP/IGF es el más útil para identificar a las pacientes con preeclampsia severa a las 20 semanas de gestación.

En la **tabla VI** se muestran los resultados del valor predictivo para la preeclampsia severa a las 20 semanas de gestación. Las concentraciones que se seleccionaron de acuerdo a las curvas ROC como puntos de corte para realizar estos cálculos fueron 140 pg/ ml para sP/IGF, 800 pg/ml para sVEGFR-1 y 6.3 para la relación

sVEGFR-1/sPIGF. Se puede observar que la sensibilidad de ambas moléculas por separado es de 63%, mientras que la especificidad es mayor para sPIGF con el 81.8%. Tanto la sensibilidad como la especificidad fueron mejores cuando estos valores se calcularon para el cociente sVEGFR-1/sPIGF. El valor de sensibilidad fue de 79%, mientras que la especificidad fue de 84.1% (**tabla VI**). El valor predictivo positivo también fue mejor para la relación sVEGFR-1/sPIGF, lo que indica que puede ser un buen predictor para la detección de preeclampsia severa a las 20 semanas de gestación.

DISCUSIÓN

La preeclampsia, así como otras enfermedades obstétricas, está asociada a un mal funcionamiento de las células trofoblásticas y del endotelio vascular.

Tomando en cuenta que moléculas como P/IGF, VEGF y VEGFR-1 están asociadas directamente con el funcionamiento adecuado, la regulación, el crecimiento, la maduración y el mantenimiento de las células vasculares y trofoblásticas durante el embarazo, en el presente trabajo se evaluaron las concentraciones de estas moléculas en embarazadas normales y con preeclampsia para comprobar su eficacia como posibles predictores de la preeclampsia.

El VEGF, el P/IGF y la forma soluble del receptor para estas moléculas son proteínas angiogénicas, se sabe que se expresan *in situ* en las células placentarias (29,30,39). Ambas proteínas se producen en las células de trofoblasto y endoteliales que pueden promover la angiogénesis uterina y la permeabilidad vascular en el lecho placentario. El P/IGF se expresa predominantemente en la placenta, lo cual sugiere que está directamente relacionado con el proceso de placentación (29).

En el presente trabajo se encontró que las mujeres con preeclampsia leve tienen baja concentración de sP/IGF mientras que las mujeres con preeclampsia severa tienen una disminución mayor de esta molécula desde la semana 20 de embarazo. Esto posiblemente se relaciona con el inicio de la preeclampsia ya que existe una isquemia placentaria por daño endotelial, la cual provoca que las funciones autocrina y paracrina no se lleven a cabo correctamente, esto a su vez, provoca

que la isquemia siga aumentando y por lo tanto la síntesis de P/IGF es cada vez menor (29).

Se ha reportado que mujeres con preeclampsia al final del embarazo presentan concentraciones bajas de P/IGF comparadas con mujeres normotensas (40,45). Sin embargo, la posibilidad de utilizar las concentraciones de P/IGF a la mitad del embarazo para predecir la presencia de preeclampsia ha sido controversial. Algunos estudios han reportado que las concentraciones bajas de P/IGF al principio del embarazo están asociadas con el desarrollo posterior de preeclampsia (40,43,44, 46), mientras que otros no han encontrado asociaciones significativas (32,47). En este estudio se encontraron concentraciones circulantes de sP/IGF significativamente más bajas en las pacientes que desarrollaron preeclampsia que en los controles. Como se mencionó antes, estas concentraciones fueron aún más bajas en las pacientes que desarrollaron preeclampsia severa, comparadas con las que presentaron preeclampsia leve. Esta diferencia puede explicar en parte las discrepancias observadas en los estudios que han sido publicados, ya que en la mayoría de ellos se han analizado juntas mujeres con preeclampsia leve y severa.

En el presente estudio no fue posible medir las concentraciones de sVEGF, ya que la sensibilidad del estuche utilizado fue insuficiente para detectar esta molécula en el suero analizado. Sin embargo, se comprobó su existencia de manera indirecta midiendo la concentración de su receptor soluble VEGFR-1, el cual también es receptor de P/IGF. Los resultados que arrojó el estudio indican que las mujeres con preeclampsia a las a las 20 semanas de gestación muestran un aumento en las

concentraciones de sVEGFR-1, pero el aumento es notable solo en aquellas mujeres con preeclampsia severa, lo que nos indica que la hipoxia local es la causante más directa de la síntesis de sVEGFR-1 y es probable que también de VEGF, esto puede ser debido a un mecanismo compensatorio para tratar de corregir la falta de flujo uteroplacentario que acompaña a esta patología.

El aumento de sVEGFR-1 también podría ser causado por ser el receptor de ambos factores de crecimiento. Sin embargo como ya se menciono existen 2 posibilidades cuando ocurre la síntesis de ambas moléculas una es que el P/IGF se una al VEGFR-1 y no al VEGFR-2, lo cual puede provocar el desplazamiento del VEGF hacia el VEGFR-2, concepto conocido como “transferencia de ligando” y la otra que el P/IGF pueda jugar un papel de activación más directo dentro de la célula endotelial vía VEGFR-1. Complicando así, el proceso de análisis de las funciones de varios receptores (33).

Los resultados de los valores predictivos encontrados en este estudio demostraron que la medición de sP/IGF o sVEGFR-1 en muestras de sangre obtenidas a las 20 semanas de gestación, no es útil para identificar claramente a las pacientes que van a desarrollar preeclampsia.

Estudios recientes han sugerido que el receptor soluble VEGFR-1 puede ser un mediador en la preeclampsia (45,46,48,49) y hay evidencias de que este y el P/IGF están íntimamente relacionados (45). Sin embargo, las concentraciones bajas de P/IGF y altas de la relación sVEGFR-1/sP/IGF están asociadas con un aumento significativo en el riesgo de desarrollar preeclampsia severa. En este estudio encontramos que la combinación de estos dos factores relacionados con la

angiogénesis, medidos a las 20 semanas de gestación como el cociente sVEGFR-1/sPIGF, aumenta de manera significativa el potencial individual de ambas moléculas para identificar a las mujeres que están en riesgo de desarrollar preeclampsia severa.

Se ha reportado que las pacientes a las que se les diagnostica la preeclampsia antes de las 34 semanas de gestación y aquellas que tienen preeclampsia asociada a una restricción en el crecimiento intrauterino del feto, presentan concentraciones bajas de P/IGF desde etapas muy tempranas del embarazo, parámetros que a menudo se presentan en la preeclampsia severa (43,44). En este estudio la mayoría de las pacientes con preeclampsia severa no fueron diagnosticadas antes de las 34 semanas de gestación, ni tuvieron bebés pequeños para su edad gestacional. Sin embargo, estas pacientes tuvieron concentraciones muy bajas de P/IGF. Estos datos sugieren que además del inicio temprano de la preeclampsia y los efectos severos sobre el crecimiento fetal, existen alteraciones angiogénicas de varios tipos en las mujeres que desarrollan preeclampsia severa, las cuales están presentes desde etapas iniciales del embarazo. Estos resultados obtenidos también reflejan el ambiente hipóxico que existe al nivel placentario en la preeclampsia severa, ya que como se mencionó antes, las concentraciones bajas de oxígeno disminuyen la expresión de P/IGF y promueven la producción de sVEGFR-1 (50).

Taylor y colaboradores en el 2003 hicieron una medición longitudinal de la concentración en suero de P/IGF en embarazos normales demostraron que existe un aumento progresivo en esta concentración desde el inicio del embarazo, la cual

tiene su máximo a las 27-30 semanas de gestación y después de la semana 35 los valores regresan al nivel que tenían a las 21-25 semanas (44). De acuerdo con estos datos, en nuestro estudio no encontramos diferencias en la concentración de P/IGF entre las 20 semanas de gestación y el final del embarazo en las mujeres con un embarazo normal. En las pacientes que presentaron preeclampsia, las concentraciones de P/IGF disminuyeron a la mitad en el momento del diagnóstico de la preeclampsia. Esta disminución en las concentraciones circulantes de P/IGF puede ser secundaria al aumento en la producción del receptor sVEGFR-1 y a la fijación al mismo, al aumento en la fijación a los receptores unidos a membrana y/o a la disminución en la producción placentaria de P/IGF. De hecho, se ha encontrado una sobreexpresión del mRNA de sVEGFR-1 en placentas provenientes de pacientes con preeclampsia (39). Sin embargo, se requieren más estudios para aclarar este mecanismo en la preeclampsia. Además de profundizar en el estudio para aclarar como es que estos factores angiogénicos están relacionados con otras características genéticas, metabólicas o inflamatorias presentes en la preeclampsia.

CONCLUSIONES

- El factor de crecimiento placentario y el receptor-1 del factor de crecimiento de endotelio vascular en sus formas solubles no son buenos marcadores biológicos para predecir la preeclampsia severa desde las 20 semanas de gestación.
- El cociente sVEGFR-1/sPIGF resultó ser un marcador más específico para detectar preeclampsia severa desde las 20 semanas de gestación.
- Las proteínas angiogénicas circulantes tienen una participación importante en el desarrollo de la preeclampsia, principalmente las formas severas de esta patología.
- La disminución en etapas iniciales del embarazo en la concentración de sPIGF, y probablemente de sVEGF, así como el aumento temprano en la concentración de su receptor, podrían tener una participación importante en las alteraciones en la invasión trofoblástica detectadas en la preeclampsia.
- Estas moléculas sean buenos predictores de la preeclampsia en diferentes etapas gestacionales puede ayudar a un mejor seguimiento y cuidado de mujeres que presenten esta patología.

TABLA II

SENSIBILIDAD DE LOS INMUNOENSAYOS UTILIZADOS

ENSAYO	RANGO DE LA CURVA ESTÁNDAR	CANTIDAD MÍNIMA DETECTABLE
sVEGF	31.2 – 2000 pg/ml	9.0 pg/mL
sVEGFR-1	31.2 – 2000 pg/mL	7 pg/mL
sPIGF	15.6 – 1000 pg/mL	5.01 pg/mL

TABLA III

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS MATERNAS Y NEONATALES

	Embarazo		Preeclampsia
	Normal	Grupo	Leve
Severa			

Completo

Edad Materna (años)	24.3±4.7	25.6±5.4	25.8±5.2	25.4±5.3
Índice de Masa Corporal	23.4±3.1		24.7±3.7	25.1±3.6
	24.5±3.7			
Edad Gestacional al Parto 35.9±3.8* • (Semanas)	39.6±1.2		37.2±2.9*	38.6±1.9
Edad Gestacional al Diagnóstico 32.9±4.1* de la Preeclampsia (Semanas)	-----		34.3±3.6	35.8±2.0
Nacimiento por Cesárea (%)	41	77*	68*	86* •
Peso del producto (g)	3245±414		2856±700*	3098±502
	2601±1098* •			
Presión Sanguínea Máxima • (Sistólica) (mmHg)	115±6	153±13*	147±6*	171±13*
Presión Sanguínea Máxima • (Diastólica) (mmHg)	74±6	102±8*	96±6*	111±11*
Presión Sanguínea Máxima 128.0±7.0* • (Media)	87.9±5.5		118±8.2*	113.1±5.0*

Los datos son la media ± DE y fueron analizados con χ^2 (porcentajes) o t de Student.

* $p < 0.05$ vs controles

• $p < 0.05$ vs preeclampsia leve

TABLA IV

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LAS PARTICIPANTES

	n	EDAD MATERNA (años)	EDAD GESTACIONAL AL TÉRMINO DEL EMBARAZO (semanas)	VÍA DE RESOLUCIÓN DEL EMBARAZO VAGINAL CESÁREA		PESO DEL RECIÉN NACIDO (gr)
				(%)	(%)	
Grupo 1:						
Controles	65	24.3±4.7	39.6±1.2	59	41**	3245±414
Problemas	50	25.6±5.4	37.2±2.9*	33	77**	2856±700*
Grupo 2:						
Embarazos normales	13	23.4±5.3	39.2±1.1	60	40**	3105±490
Preeclampsia	13	24.8±5.5	34.9±4.5*	0	100**	2080±477*

Los datos muestran la media ± desviación estándar y fueron analizados con la prueba de χ^2 o t de Student

*P < 0.05 Preeclampsia vs embarazo normal

** P < 0.05 Cesárea vs parto vaginal

TABLA V
CONCENTRACIONES EN SUERO DE LOS FACTORES DE CRECIMIENTO
(pg/ml)

	20 Semanas de embarazo		Término del embarazo	
	Embarazo normal	Preeclampsia	Embarazo normal	Preeclampsia
<i>sPIGF</i>	179.8 ± 11.4 ^a	133.4 ± 8.9 ^b	183.5 ± 13.7 ^a	60.0 ± 3.1 ^c
<i>sVEGFR-1</i>	681.3 ± 33.7 ^a	708.9 ± 30.3 ^a	1142 ± 64.8 ^b	3052 ± 246 ^c
<i>sVEGFR-1/</i> <i>sPIGF</i>	4.29 ± 0.32 ^a	7.02 ± 0.7 ^b	6.76 ± 0.64 ^b	58.6 ± 9.4 ^c

Los datos muestran la media ± E.E. Letras similares como superíndices en una línea indican ausencia de diferencias significativas en los valores (ANOVA una vía)

TABLA VI

VALORES PREDICTIVOS PARA LA PREECLAMPSIA SEVERA A LAS 20 SEMANAS DE GESTACIÓN

Molécula	Valor Umbral (pg/ml)	Area bajo la curva	IC 95%	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Valor predictivo	
						Positivo (%)	Negativo (%)
<i>sPIGF</i>	140	0.822	0.712-0.932	63	81.8	10.6	98.5
<i>sVEGFR-1</i>	800	0.712	0.588-0.836	63.2	70.5	6.8	98.2
<i>sVEGFR-1/sPIGF</i>	6.3	0.900	0.820-.979	79	84.1	14.5	99.2

Datos calculados mediante curvas ROC de los factores de crecimiento.

Los valores predictivos positivos y negativos fueron calculados incluyendo el valor de la prevalencia de la preeclampsia severa en la fórmula (3.3%).

IC^{95%} = Intervalo de confianza de 95%

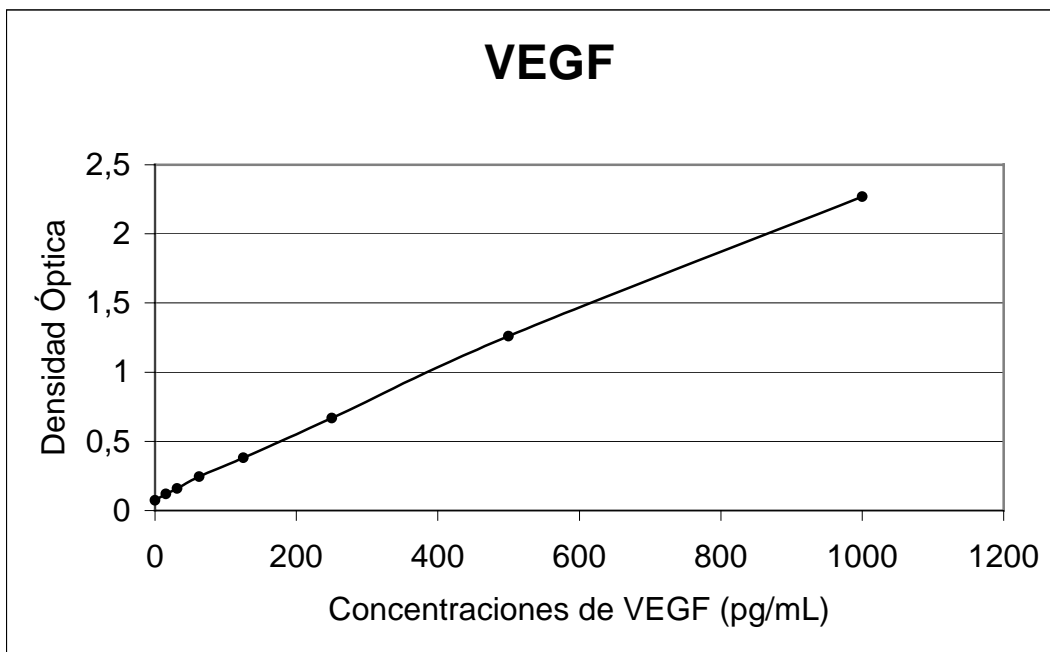


Figura 3. Curva estándar de VEGF.
(Quantikine®R&D Systems Minneapolis, MN, EUA)

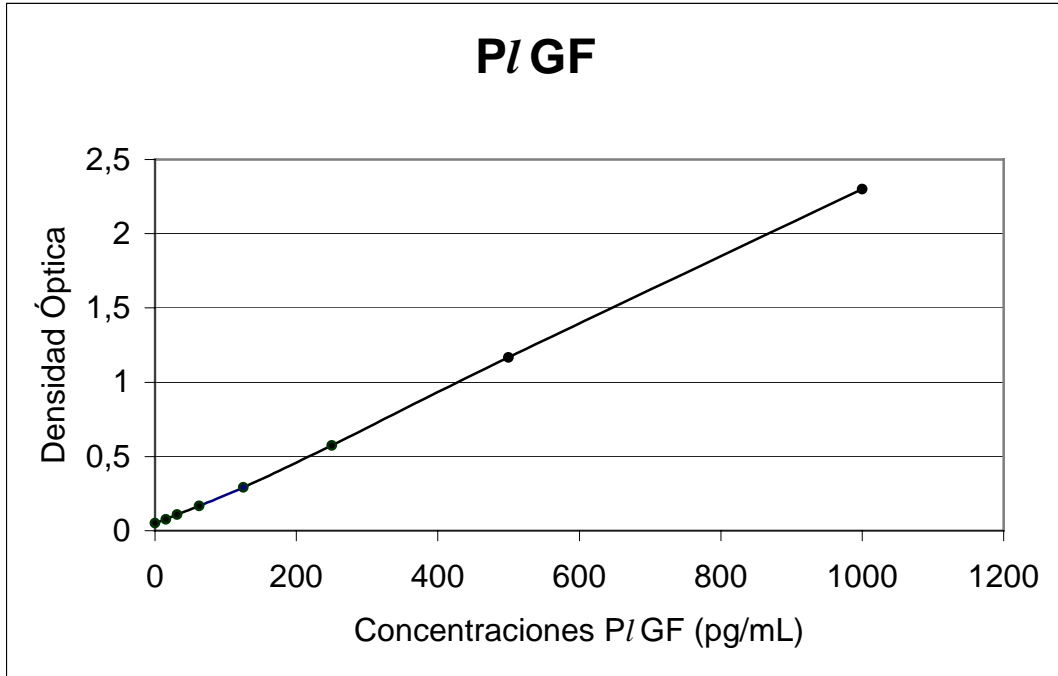


Figura 4. Curva estándar de PIGF.
(Quantikine®R&D Systems Minneapolis, MN, EUA)

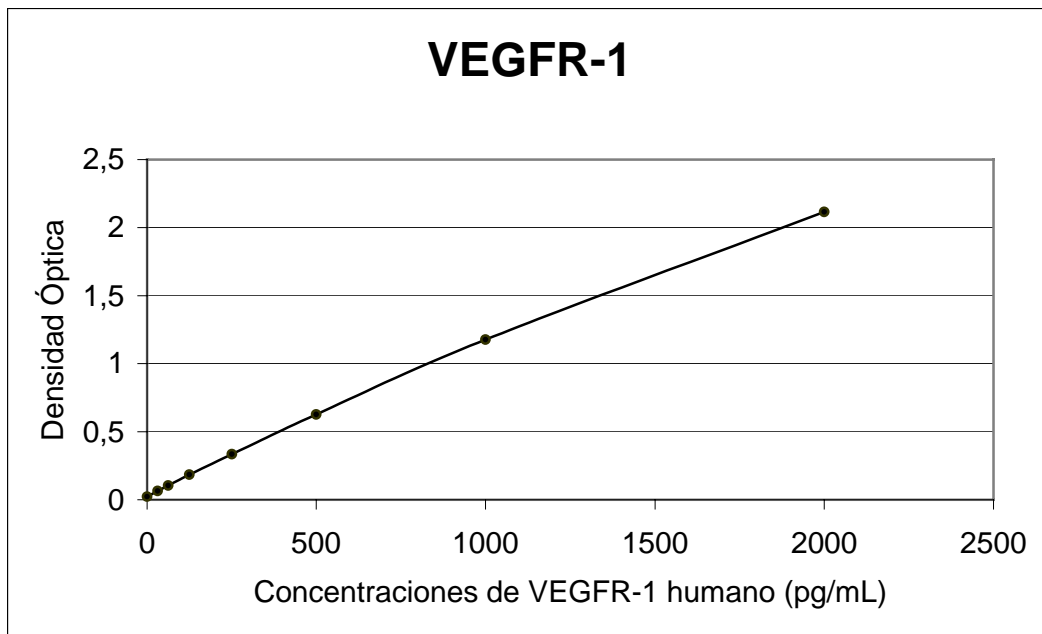


Figura 5. Curva estándar de VEGF -R1.
(Quantikine®R&D Systems Minneapolis, MN, EUA)

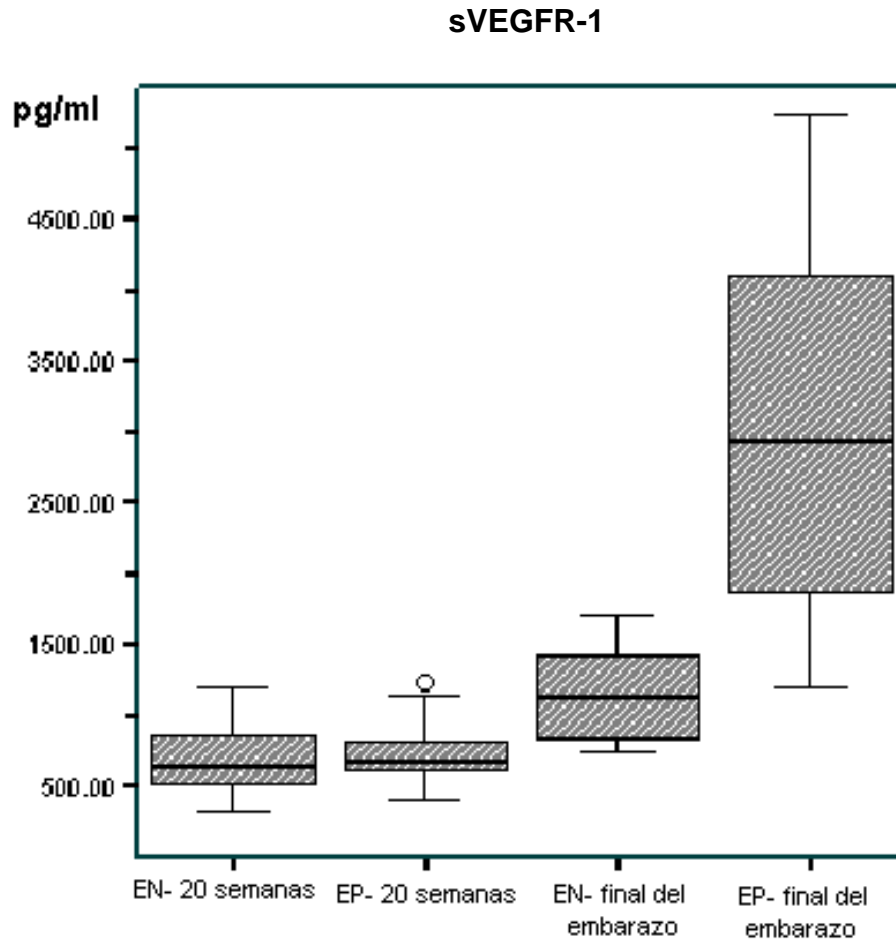


Figura 6. Concentraciones de sVEGFR-1 en mujeres con embarazo normal (EN) y con preeclampsia (EP) a las 20 semanas y al final del embarazo. La caja representa el rango intercuartil; las espigas representan las percentilas 5% y 95 %; la línea que divide la caja representa la mediana. El punto fuera de la gráfica representa valores extremos.

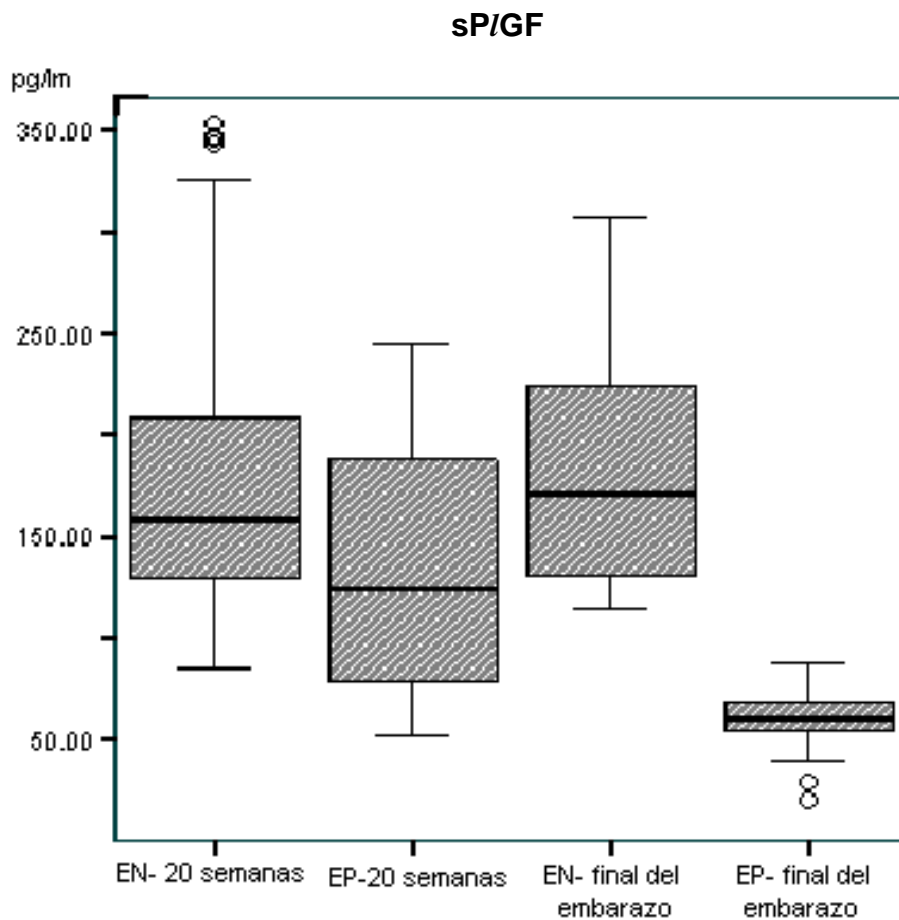


Figura 7. Concentraciones de sP/GF en mujeres con embarazo normal (EN) y con preeclampsia (EP) a las 20 semanas y al final del embarazo. La caja representa el rango intercuartil; las espigas representan las percentilas 5% y 95 %; la línea que divide la caja representa la mediana. Los puntos fuera de la gráfica representan valores extremos.

sVEGFR-1/sPI/GF

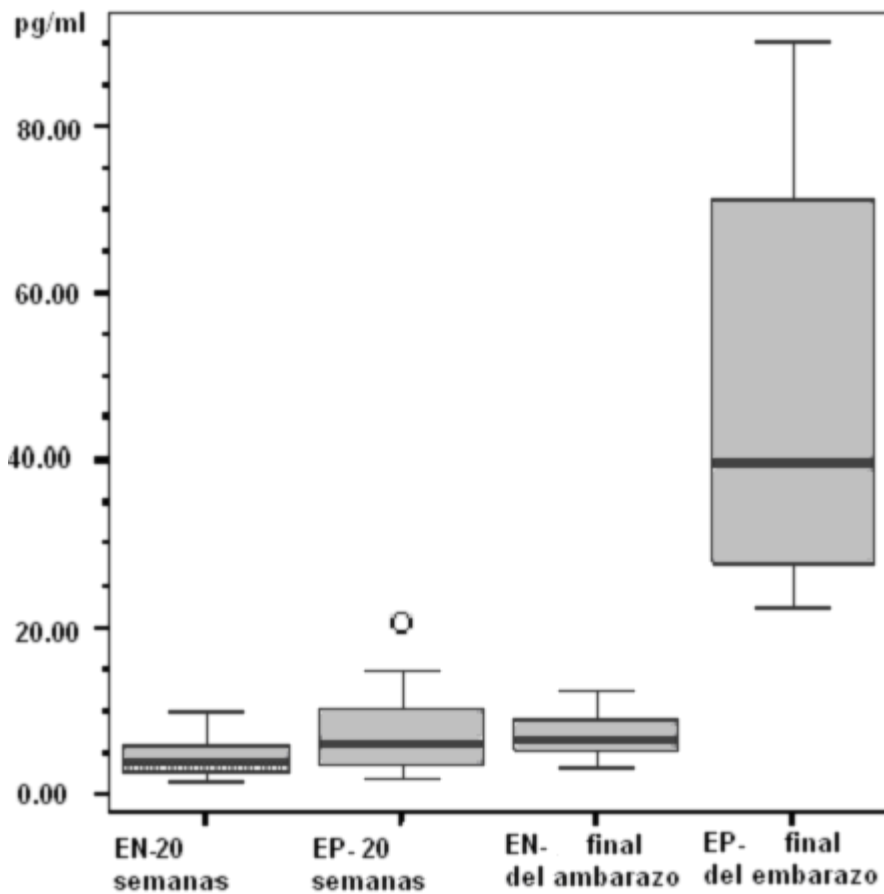


Figura 8. Concentraciones de SVEGFR-1/ SP/IGF en mujeres con embarazo normal (EN) y con preeclampsia (EP) a las 20 semanas y al final del embarazo. La caja representa el rango intercuartil; las espigas representan las percentilas 5% y 95 %; la línea que divide la caja representa la mediana. Los puntos fuera de la gráfica representan valores extremos.

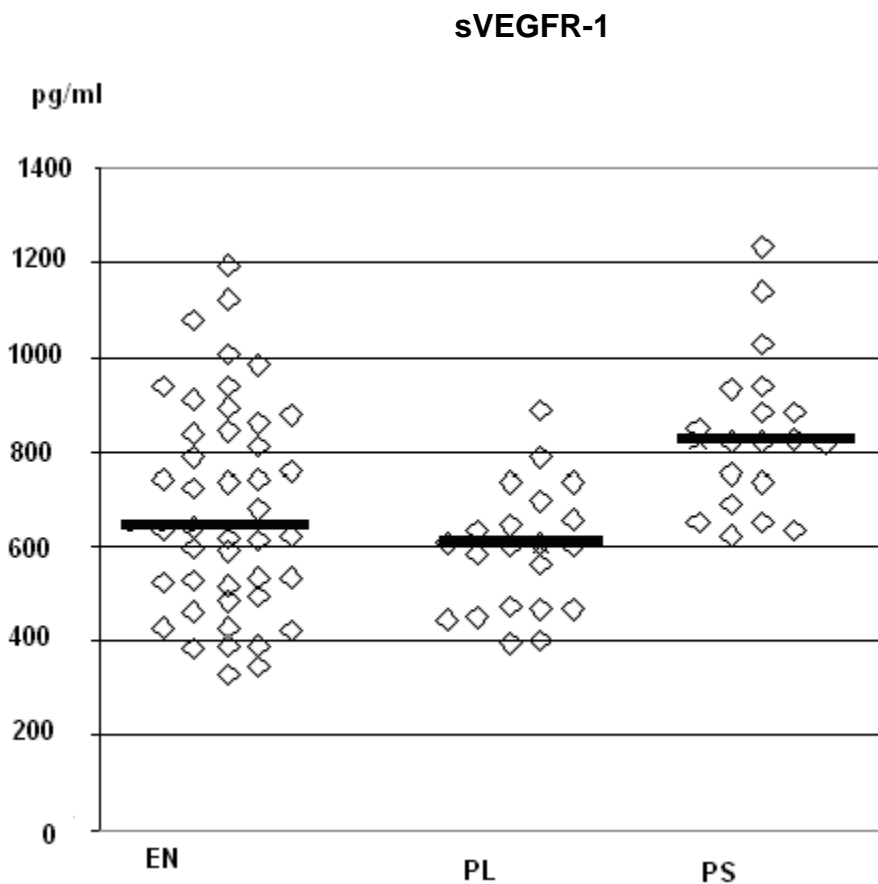


Figura 9. Concentraciones de sVEGFR-1 en mujeres con embarazo normal (EN), con preeclampsia leve (PL) y con preeclampsia severa (PS) a las 20 semanas de embarazo. La línea que divide a los puntos dispersos representa la mediana.

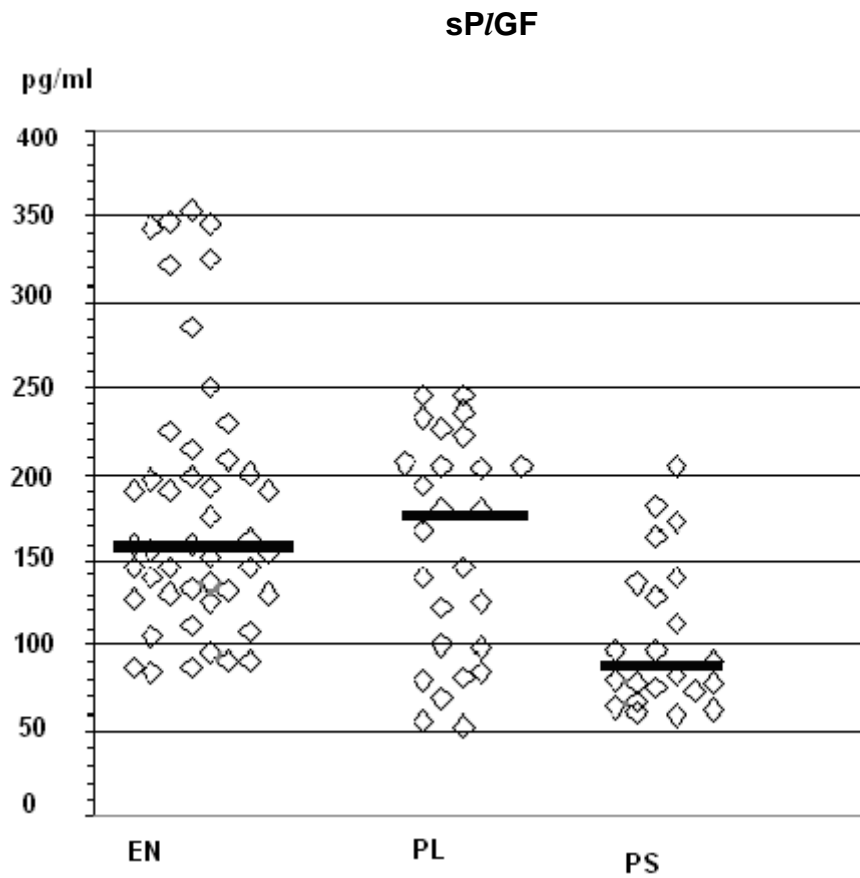


Figura 10. Concentraciones de sP/IGF en mujeres con embarazo normal (EN), con preeclampsia leve (PL) y con preeclampsia severa (PS) a las 20 semanas de embarazo. La línea que divide a los puntos dispersos representa la mediana.

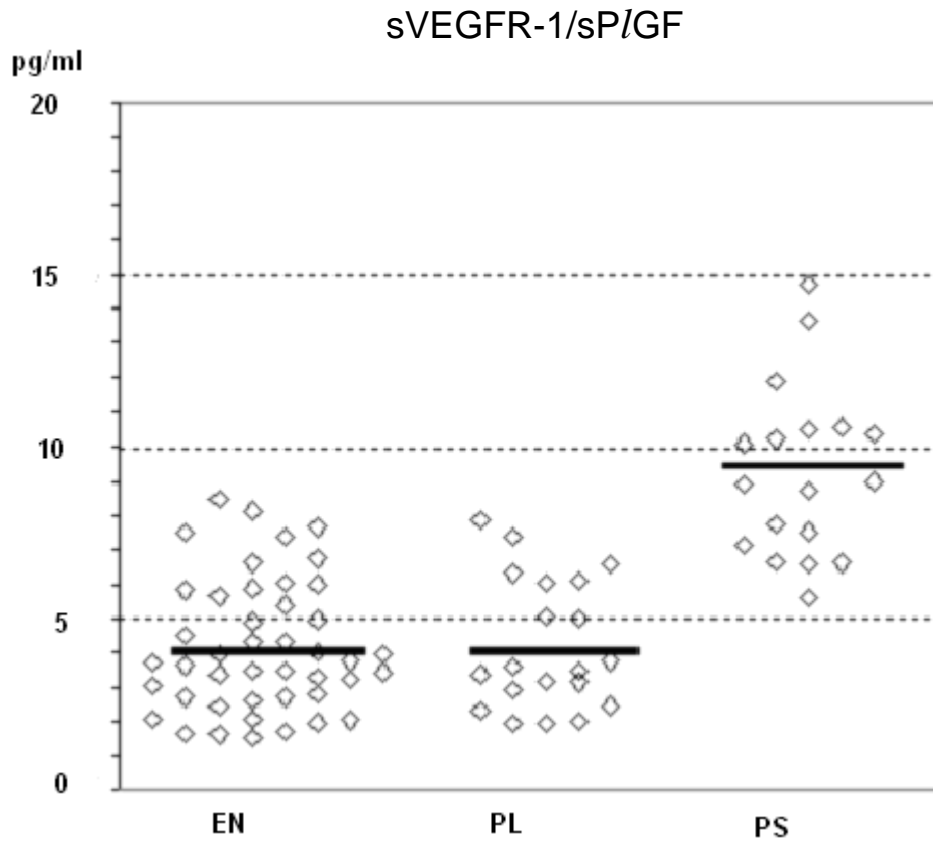


Figura 11. Concentraciones de sVEGFR-1/ sPIGF en mujeres con embarazo normal (EN), con preeclampsia leve (PL) y con preeclampsia severa (PS) a las 20 semanas de embarazo. La línea que divide a los puntos dispersos representa la mediana.

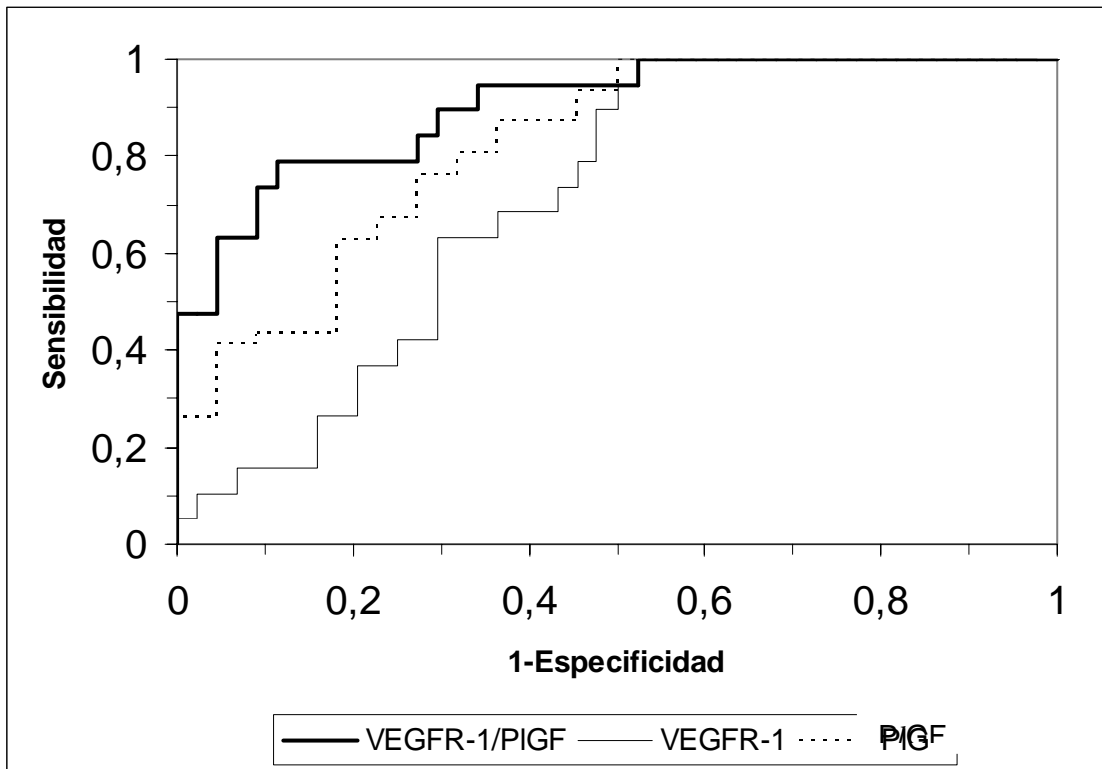


Figura 12. Curvas “ROC” para la representación de la preeclampsia severa.

BIBLIOGRAFÍA

1. Félix Báez CA. 2004. Análisis de la morbilidad y mortalidad materna y perinatal por preeclampsia recurrente. Tesis de Especialidad en Ginecología y Obstetricia. Facultad de Medicina, UNAM, México, Pp 7.
2. Velasco Murillo V, Navarrete Hernández E. 2002. Mortalidad materna por preeclampsia – eclampsia en el Instituto Mexicano del Seguro Social. En: Prioridades en Salud de la Mujer. Velasco Murillo V, Reyes Fuentes A (Eds). IMSS. Pp 67-74.
3. Velasco Murillo V, Navarrete Hernández E, Pozos Cavanzo JF. 2002. Características epidemiológicas de la preeclampsia – eclampsia en el Instituto Mexicano del Seguro Social. En: Prioridades en Salud de la Mujer. Velasco Murillo V, Reyes Fuentes A (Eds). IMSS. Pp 76-85.
4. López Llera M. 1982. Complicated eclampsia. Fifteen years experience in a referral medical center. **Am J Obstet Gynecol** 142:28-35.
5. Granger JP, Alexander BT, Llinas MT, Bennett WA, Khalil RA. 2001. Pathophysiology of hypertension during preeclampsia. Linking placental ischemia with endothelial dysfunction. **Hypertension** 38:718-722.
6. Saftlas AF, Olson DR. 1990. Epidemiology of preeclampsia and eclampsia in the United States, 1979-1986. **Am J Obstet Gynecol** 163:460-465.
7. Chesley LC. 1999. Hipertensión en el Embarazo. Ed McGraw-Hill Interamericana, México. Pp. 3-37.
8. Kuznicki DS, Villamil A, Rodríguez P. 1995. Hipertensión y embarazo. Diagnóstico, fisiopatología y tratamiento. **Rev Hipertensión Arterial** 1:1-23.

9. IMSS: Norma Técnico Médica para la Prevención y Manejo de la Preeclampsia-Eclampsia. Dirección de Prestaciones Médicas, Coordinación de Salud Reproductiva y Materno Infantil. 1995.
10. The American College of Obstetricians and Gynecologists. 2002. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. **Obstet Gynecol** 99:159-167.
11. Suárez Alemán ML. 2004. Vasodilatación mediada por flujo como predictor de preeclampsia. Tesis de especialidad en Ginecología y Obstetricia. Facultad de Medicina, UNAM. México Pp 1-21.
12. Walker James J. 2000. Preeclampsia. **Lancet** 356:1260-1265.
13. Dekker GA, Sibai BM. 1998. Etiology and pathogenesis of preeclampsia. Current concepts. **Am J Obstet Gynecol** 179: 1359-1375.
14. Moreno AL, Cano Valle F, García Romero H. 1994. Epidemiología Clínica. Ed. Interamericana. México Pp.143-68.
15. Greenberg Raymond S, Williams Eley J, Boring John R. 1995. Epidemiología Médica Edit. El Manual Moderno. México Pp. 83-85.
16. Farag K, Hassan I, Ledger WL. 2004. Prediction of preeclampsia: Can it be achieved?. **Obstet Gynecol** 59:464-482.
17. Myatt L, Menachen M. 1999. Prediction of preeclampsia. **Semin Perinatol** 23:45-57.
18. Ruiz Durá MF. 1988. Fundamentos de Embriología y Fisiología de la Reproducción. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias. UNAM. México. Pp. 109-114, 141-159.

19. Llewellyn-Jones D. 2000. Ginecología y Obstetricia. Edit. Harcourt. 7a Edición. Madrid, España. Pp.17-29.
20. Gartner LP, Hiatt JL. 2002. Texto Atlas de Histología. Edit. McGraw-Hill Interamericana. México. Pp. 455-458.
21. Rogers BB, Bloom SL, Leveno KJ. 1999. Atherosclerosis revisited: Current concepts on the pathophysiology of implantation site disorders. **Obstet Gynecol Surv** 54:189-195.
22. Kaufmann P, Black S, Huppertz B. 2003. Endovascular trophoblast invasion: Implications for the pathogenesis of intrauterine growth retardation and preeclampsia. **Biol Reprod** 69: 1-7.
23. Reyes Fuentes A, Chavarría Olarte ME. 2002. Aspectos moleculares de la etiología de la preeclampsia. En: Prioridades en Salud de la Mujer. Velasco Murillo V, Reyes Fuentes A (Eds). IMSS Pp. 129-152.
24. Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J. 2003. Biología Celular y Molecular. Edit. Panamericana. 4a Edición. México. Pp.1083.
25. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. 2003. The biology of VEGF and its receptors. **Nat Med** 9:669-676.
26. Claus M. 2003. Molecular biology of the VEGF and the VEGF receptor family. **Semin Thromb Hemost** 26:561-569.
27. Ferrara N, Davis-Smyth T. 1997. The biology of vascular endothelial growth factor. **Endocr Rev** 18:4-25.
28. Celec P, Yonemitsu Y. 2004. Vascular endothelial growth factor-basic science and its clinical implications. **Pathophysiology** 11; 69-75.

29. Torry D, Mukherjea D, Arroyo J, Torry RJ. 2003. Expression and function of placenta growth factor: Implications for abnormal placentation. **J Soc Gynecol Investig** 10:178-88.
30. Cho G, Roh G, Kim HJ, Choi YS, Paik Y, Kang SS, Choi S. 2003. Differential expression of growth factors and their receptors in the normal and pregnancy-induced hypertensive human placentas. **J Korean Med Sci** 18: 402-408.
31. Yancopoulos G.D. 2000. Vascular specific growth factors and blood vessel formation. **Nature** 407:242-248.
32. Livingston J, Haddad B, Gorski LA, Neblett P, Ahokas R, Ramsey R, Sibai BM. 2001. Placenta growth factor is not an early marker for the development of severe preeclampsia. **Am J Obstet Gynecol** 184:1218-1220.
33. Mac Gabhann F, Popel AS. 2004. Model of competitive binding of vascular endothelial growth factor and placental growth factor to VEGF receptors on endothelial cells. **Am J Physiol Heart Circ Physiol** 286:153-164.
34. R & D Systems Inc. Human VEGF Immunoassay. For the quantitative determination of human vascular endothelial growth factor (VEGF) concentrations in cell culture supernates, serum and plasma. Inserto del estuche con número de catálogo DVE00. www.rndsystems.com
35. R & D Systems Inc. Human P/IGF Immunoassay. For the quantitative determination of human placenta growth factor (P/IGF) concentrations in cell culture supernates, serum and plasma. Inserto del estuche con número de catálogo DPG00. www.rndsystems.com
36. R & D Systems Inc. Human sVEGF R1 Immunoassay. For the quantitative determination of human vascular endothelial growth factor receptor 1 (sVEGF

R1) concentrations in cell culture supernates, cell lysates, serum, plasma, saliva and follicular fluid. Inserto del estuche con número de catálogo DVR100.

www.rndsystems.com

37. Dawson B, Trapo R. 2002. Bioestadística Médica .Edit. Manual Moderno. 3ª Edición. México. Pp. 289-309.
38. López de Ullibarri I, Fernández P. 1998. Curvas ROC. **Cad Aten Primaria** 5:229-235.
39. Tsatsaris V, Goffin F, Munaut C, Brichant JF, Pignon MR, Noel A, y col. 2003. Overexpression of the soluble vascular endothelial growth factor receptor in preeclamptic patients: Pathophysiological consequences. **J Clin Endocrinol Metab** 88:5555-5563.
40. Tjoa ML, van Vugt JMG, Mulders MAM, Schutgens RBH, Oudejans CBM, van Wijk IJ. 2001. Plasma placenta growth factor level in midtrimester pregnancies. **Obstet Gynecol** 98:600-607.
41. Su YN, Lee CN, Cheng WF, Shau WY, Chow SN, Hsieh FJ. 2001. Decreased maternal serum placenta growth factor in early second trimester and preeclampsia. **Obstet Gynecol** 97:898-904.
42. Madazli R, Aydin S, Uludag S, Vildan O, Tolun N. 2003. Maternal plasma levels of cytokines in normal and preeclamptic pregnancies and their relationship with diastolic blood pressure and fibronectin levels. **Acta Obstet Gynecol Scand** 82:797-802.
43. Polliotti BM, Fry AG, Devereux NS Jr, Mooney RA, Cox C, Miller RK. 2003. Second-trimester maternal serum placental growth factor and vascular

endothelial growth factor for predicting severe, early-onset preeclampsia. **Obstet Gynecol** 101: 1266-1274.

44. Taylor RN, Grimwood J, Taylor RS, McMaster MT, Fisher SJ, North RA. 2003. Longitudinal serum concentrations of placental growth factor: Evidence for abnormal placental angiogenesis in pathologic pregnancies. **Am J Obstet Gynecol** 188; 177-82.
45. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF, y col. 2004. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. **N Engl J Med** 350:672-83.
46. Thadhani R, Mutter WP, Wolf M, Levine RJ, Taylor RN, Sukhatme VP, y col. 2004. First trimester placental growth factor and soluble Fms-like tyrosine kinase 1 and risk for preeclampsia. **J Clin Endocrinol Metab** 89:770-775.
47. Ong CYT, Liao AW, Cacho AM, Spencer K, Nicolaides KH. 2001. First-trimester maternal serum levels of placenta growth factor as predictor of preeclampsia and fetal growth restriction. **Obstet Gynecol** 98:608-611.
48. Chaiworapongsa T, Romero R, Espinoza J, Bujold E, Kim YM, Gonçalves LF, y col. 2004. Evidence supporting a role for blockade of the vascular endothelial growth factor system in the pathophysiology of preeclampsia. **Am J Obstet Gynecol** 190: 1541-1550.
49. McKeeman GC, Ardill JES, Caldwell CM, Hunter AJ, McClure N. 2004. Soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 (sFlt-1) is increased throughout gestation in patients who have preeclampsia develop. **Am J Obstet Gynecol** 191:1240-1246.

50. Ahmed A, Dunk C, Ahmad S, Khaliq A. 2000. Regulation of placental vascular endothelial growth factor (VEGF) and placenta growth factor (PlGF) and soluble Flt-1 by oxygen – a review. **Placenta** 21(suppl A): S16-S24.