

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de Medicina

División de Estudios de Posgrado e Investigación

UMAE Hospital de Gineco-Obstetricia “Luis Castelazo Ayala”

Instituto Mexicano del Seguro Social

“EVALUACIÓN DE LA ASOCIACIÓN ENTRE LA CONCENTRACIÓN
CIRCULANTE DE MOLÉCULAS DE ADHESIÓN Y LA SEVERIDAD DE LA
PREECLAMPSIA”

Tesis para obtener el grado de especialista en :
GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

Trabajo de investigación que presenta:

DULCE MARGARITA ARROYO SAUCEDO

Asesor de Tesis

Dra. María Eugenia Chavarría Olarte.

Unidad de Investigación Médica en Medicina Reproductiva . UMAE Hospital de
Gineco-Obstetricia “Luis Castelazo Ayala” del IMSS

México, D.F. julio 2007



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.

“EVALUACIÓN DE LA ASOCIACIÓN ENTRE LA CONCENTRACIÓN CIRCULANTE DE
MOLÉCULAS DE ADHESIÓN Y LA SEVERIDAD DE LA PREECLAMPSIA”

Dr. Juan Carlos Izquierdo Puente
Director General
UMAE Hospital de Gineco-Obstetricia “Luis Castelazo Ayala”

Dr. Sebastián Carranza Lira
Director de Educación e Investigación en Salud
UMAE Hospital de Gineco-Obstetricia “Luis Castelazo Ayala”

Dra. María Eugenia Chavarría Olarte
Unidad de Investigación Médica en Medicina Reproductiva
UMAE Hospital de Gineco-Obstetricia “Luis Castelazo Ayala”

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme la vida, por brindarme sabiduría, fuerza, capacidad para transformar el dolor, el sacrificio en triunfos y sueños realizados.

A mis Padres, que con su amor, apoyo, confianza, ejemplo, paciencia han guiado mi camino, han sembrado la semilla del triunfo, del éxito, de la honestidad, pero sobre todo por que me impulsaron, me ayudaron a convertir mis sueños en metas; mis logros en éxitos; mis esperanzas en triunfos.

A mis Hermanas, que han sido mis angeles, que han caminado siempre conmigo a mi lado, que han tenido palabras de aliento para continuar siempre de pie y adelante.

A mis Sobrinos, que con sus sonrisas alimentan mi alma y la fortalecen para continuar el arduo camino, vencer obstáculos y llegar a la cima.

A ti, mi Príncipe, que durante años has sido el pilar de mi vida, la brújula de mi camino, la madurez de mis pensamientos, la sensatez de mis actos; a tí que me enseñaste a luchar sin doblegarme, a levantarme de los tropiezos, a salir victoriosa y ponerle a todo lo que haga Alma y Corazón . Gracias al Amor que me profesas me he construido temple de hielo y acero, sin quebrantarme y siempre juntos una victoria más hemos cosechado.

A todos mis maestros, compañeros y amigos que fueron parte de mi formación y formaron parte de éste proyecto.

DEDICATORIA

A ti, que eres mi mayor bendición, el tesoro y regalo máspreciado que Dios me ha dado.

A ti, que eres la luz, que alumbra mi vida; que eres el brillo de mis ojos; que eres el motor de mi alma.

A ti, que eres mi más grande satisfacción y orgullo.

A ti, que con tu sacrificio, ternura, alegría, cariño, amor y confianza le has dado a mi cuerpo, mente y alma todo lo necesario para vencer adversidades y culminar con éxito nuestros triunfos.

A ti, que eres mi inspiración de todo lo que soy, y todo lo que soy lo soy por ti.

A ti Hijo mío, te dedico mis triunfos, mis logros y mi vida entera.

*TE AMO
JONATHAN*

INDICE

Resumen.....	1
Introducción.....	2
Planteamiento del problema	8
Justificación	9
Objetivos	10
Hipótesis	11
Metodología	12
Resultados	17
Discusión	18
Conclusiones	20
Anexo	21
Tablas.....	23
Gráficas	24
Bibliografía	26

RESUMEN

ANTECEDENTES. Las complicaciones clínicas de la preeclampsia severa constituyen el riesgo principal de muerte materna, por lo que su detección oportuna es esencial. Estudios recientes sugieren la participación de procesos inflamatorios en la etiología de la preeclampsia. En estos procesos existe un incremento en la interacción entre leucocitos, plaquetas y células endoteliales, en la cual participan moléculas de adhesión como selectinas (E, P, L) la molécula de adhesión de células vasculares (VCAM-1) y la molécula de adhesión intercelular (ICAM-1). Para diseñar procedimientos que inhiban o detengan la progresión de la preeclampsia hacia estadios de severidad es indispensable conocer mejor la participación de los procesos inflamatorios en esta patología.

OBJETIVOS. Determinar diferencias en las concentraciones circulantes de E-, P- y L-selectinas, así como de VCAM-1 entre embarazadas normotensas y con preeclampsia. Determinar la relación entre las concentraciones circulantes de las moléculas de adhesión y la severidad de la preeclampsia.

MATERIAL Y MÉTODOS. Previo consentimiento, se incluyeron pacientes con diagnóstico de preeclampsia leve, preeclampsia severa, así como embarazadas normotensas (27 de cada grupo). Se obtuvo sangre periférica (10ml) al ingreso de la paciente al servicio correspondiente y los sueros/plasmas se congelaron a -70°C hasta su análisis. Las concentraciones de E-, P- y L- selectinas, así como de VCAM-1 se determinaron mediante estuches de análisis inmunoenzimático (ELISA, R&D systems, Minnessota,E.U.A.). Para el análisis estadístico se utilizó estadística descriptiva, análisis exploratorio y estadística inferencial.

RESULTADOS.

Se incluyeron 81 pacientes. En el grupo1 se incluyeron 27 pacientes con embarazos normales, en el grupo 2 se incluyeron 27 pacientes con preeclampsia leve y en el grupo 3 se incluyeron 27 pacientes con preeclampsia severa.

Los resultados de la tensión arterial fueron estadísticamente significativos al comparar los grupos 1 vs 2, 1 vs 3, 2 vs 3 no fueron estadísticamente significativos; 119 ± 8 vs 141 ± 9 ; 119 ± 8 vs 157 ± 14 respectivamente. La edad gestacional al momento del nacimiento fue menor con significancia estadística al comparar los grupos 1 vs 3; 39 ± 1 vs 36 ± 4 . El peso de los fetos al nacimiento también con significancia estadística al comparar los grupos 1 vs 3 y 2 vs 3 fueron 3153 ± 375 vs 2476 ± 616 y 2827 ± 293 vs 2476 ± 616 . De las moléculas de adhesión celular la VCAM-1 los niveles fueron estadísticamente significativos al comparar los grupos 1 vs 3 y 2 vs 3; 622 ± 104 vs 806 ± 178 ; 630 ± 160 vs 806 ± 178 . Los niveles de L-selectina con significancia estadística al comparar los grupos 1 vs 3; 358 ± 51 vs 302 ± 76 . Los niveles de E-selectina y P-selectina no presentaron significancia estadística.

CONCLUSIONES.

Si hay asociación de los niveles de las moléculas de adhesión celular y la severidad de la preeclampsia con significancia estadística para VCAM-1, E-selectina.

PALABRAS CLAVE.

Preeclampsia leve, Preeclampsia severa, Moléculas de adhesión, VCAM-1, Selectinas.

INTRODUCCIÓN

La hipertensión en el embarazo constituye el mayor riesgo de mortalidad y morbilidad materna en el mundo. Estudios recientes indican que esta patología afecta aproximadamente entre el 3 y 10% de los embarazos a nivel mundial (1). Actualmente los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos (NIH) han establecido la siguiente clasificación para las enfermedades hipertensivas del embarazo:

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

La preeclampsia-eclampsia es un síndrome que se ha estudiado desde los tiempos de Hipócrates y actualmente se postula que es una patología multifactorial y multisistémica. Existen evidencias que señalan que la preeclampsia-eclampsia es el resultado de una implantación deficiente del trofoblasto, asociada a mecanismos inmunogenéticos. Esta implantación deficiente se traduce en una perfusión restringida del tejido placentario, lo cual induce la liberación de varios factores a la circulación sistémica que modifican la estructura y la función de las células endoteliales, activan la cascada de la coagulación y aumentan la sensibilidad a los agentes vasopresores circulantes (2,3). Estos agentes inducen una vasoconstricción generalizada y un aumento en la resistencia vascular sistémica, con perfusión restringida a los órganos maternos (principalmente riñón, hígado y cerebro) así como una distribución anormal de los líquidos en el espacio extravascular. Estos cambios patológicos generalmente anteceden al incremento observado en la presión sanguínea.

De acuerdo al Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos, los factores de riesgo principales para la presentación de este síndrome son (1,4):

- a. Primiparidad
- b. Embarazo múltiple
- c. Antecedentes preeclampsia-eclampsia
- d. Hipertensión previa al embarazo
- e. Obesidad
- f. Resistencia a la insulina
- g. Diabetes
- h. Embarazo en edades reproductoras tempranas y tardías
- i. Alta concentración de testosterona circulante
- j. Raza negra

Con el propósito de facilitar el manejo clínico de la preeclampsia, ésta sea clasificada en leve y severa (5).

Preeclampsia leve. De acuerdo a la Norma Técnico Médica para la Prevención y Manejo de la Preeclampsia-Eclampsia del IMSS, se diagnostica preeclampsia leve cuando existe hipertensión mayor 130/90 mmHg, pero menor a 160/110 mmHg, y proteinuria de 300 mg/Lt o más, pero menor de 2 gr/Lt, o su equivalente en una tira reactiva. Estos valores no deben ir acompañados de alguna disfunción orgánica.

Preeclampsia severa. La preeclampsia se considera severa cuando existe una hipertensión mayor a 160/110 mmHg en dos ocasiones con un mínimo de diferencia de 6 horas entre uno y otro registro, acompañada de una proteinuria mayor de 2 gramos en orina de 24 horas, o bien 3+ a 4+ en examen de tira reactiva en una muestra de orina tomada al azar. Puede también presentarse daño en algún órgano blanco interno.

Por otra parte, como se mencionó anteriormente, la preeclampsia es la causa principal de mortalidad y morbilidad materna en el mundo. Nuestro conocimiento de esta patología del embarazo ha evolucionado recientemente de la identificación epidemiológica de los factores de riesgo al incremento en el conocimiento tanto de sus bases moleculares, como de la participación de la biología y la patología vascular.

En los últimos años se ha acumulado evidencia de la participación de los procesos inflamatorios en la preeclampsia y ésta sugiere que una respuesta inflamatoria generalizada, tanto celular como humoral forma parte de los mecanismos que provocan el daño endotelial, característico de esta patología y de los procesos inflamatorios en los vasos sanguíneos (6-8).

Tanto la localización de la respuesta inflamatoria celular, como la regulación de la respuesta inflamatoria humoral están mediadas a través de las interacciones de moléculas especializadas, denominadas “moléculas de adhesión”, las cuales además de participar en estos procesos, intervienen de manera importante en otros eventos celulares tanto fisiológicos como patológicos; por ejemplo: crecimiento tisular, diferenciación, embriogénesis, aterogénesis y metástasis de tumores (9-10). La expresión en la superficie celular de estas moléculas en respuesta a estímulos fisiopatológicos media la interacción entre el endotelio o la matriz extracelular y las células sanguíneas (leucocitos y plaquetas), evento crucial para el desarrollo, entre otros aspectos, de procesos de tipo aterogénico, los cuales están presentes en la preeclampsia (11).

Las moléculas de adhesión funcionan como mediadoras de las interacciones célula-célula y célula-matriz extracelular y recientemente se ha demostrado que estas moléculas participan también en la emigración celular, en funciones de señalización y en otras respuestas vasculares fisiológicas, siendo la migración transendotelial de los leucocitos uno de los ejemplos más estudiados (9-10).

Hasta hoy se han identificado cuatro familias principales de moléculas de adhesión: las pertenecientes a la superfamilia de la inmunoglobulina (Ig), las selectinas, las integrinas y las cadherinas.

MÓLECULAS DE ADHESIÓN DE LA SUPERFAMILIA Ig.

La superfamilia del gen de la inmunoglobulina se caracteriza por la presencia de una serie de dominios parecidos a la inmunoglobulina de 90 a 100 aminoácidos, que funcionan como ligandos endoteliales para las integrinas expresadas en leucocitos y plaquetas, pudiendo mediar también asociaciones homotípicas célula-célula. Estas moléculas participan también en la transducción de señales y en la emigración celular del compartimento intravascular (12). Los miembros característicos de esta familia, la molécula de adhesión de células vasculares-1 (VCAM-1), así como las moléculas de adhesión intercelular 1-2 (ICAM-1 e ICAM-2) y la molécula de adhesión de plaquetas y células endoteliales (PECAM), han sido implicados en la preeclampsia (13-27). Las subfamilias VCAM e ICAM funcionan como ligandos para las integrinas, mientras que PECAM funciona como su propio ligando (una asociación homotípica) para facilitar la adhesión de células mononucleares a las células endoteliales (9,12). La expresión de ICAM es inducida por citocinas como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), interferon gama y la interleucina -1B (IL-1), o por la adherencia a la matriz extracelular (10). VCAM-1 también es regulada a la alta por IL-1 y TNF- α (10). PECAM se expresa de forma constitutiva en la superficie de plaquetas, monocitos, neutrófilos y subgrupos seleccionados de células T. PECAM se encuentra también en las uniones intercelulares y participa en la trans migración de los leucocitos adheridos hacia el espacio subendotelial (12).

VCAM-1

Es una glicoproteína transmembranal tipo-1 con 715 aminoácidos (aa) y 100-110 kDa, caracterizada en forma típica por la presencia de siete dominios Ig tipo C2 (10). Su región extracelular tiene 674 aa de largo, seguida por un segmento transmembranal de 22 aa y una cola citoplasmática de 19 aa. En la región extracelular hay varios sitios de glicosilación unidos a N y cada dominio C2 está cerrado por un puente disulfuro. Hay una homología inter-especies considerable en esta molécula. VCAM-1 se une a las integrinas α 4B1 (VLA-4) y α 4B7 (LPAM-1) (10), que se expresan en varias células; VLA-4, por ejemplo se encuentra en todos los leucocitos con excepción de los neutrófilos (28). Otros papeles propuestos para VCAM-1 incluyen la regulación de la osteoclastogénesis a través de un mecanismo de contacto célula-célula y la inducción de adherencia de células hoz a las células del endotelio vascular durante la hipoxemia. Los tipos celulares que se sabe se expresan VCAM-1 incluyen neuronas, células endoteliales, células de músculo liso, fibroblastos y macrófagos (10,29,30).

Se ha identificado VCAM-1 soluble (sVCAM-1) en sobrenadantes de cultivo, sangre y líquido cefalorraquídeo (30,31). Se desconoce el mecanismo exacto por el que se genera sVCAM-1; sin embargo, puede involucrar tanto procesamiento proteolítico como empalme alternativo (32).

SELECTINAS

Las selectinas son moléculas con un dominio amino-terminal parecido a lectina, que une calcio, el cual es seguido por un dominio parecido al factor de crecimiento epidermal (EGF-like), una serie corta de repeticiones, un dominio transmembranal y una cola citoplasmática corta que interacciona con grupos de carbohidratos presentes en ligandos proteicos altamente glicosilados. Son glicoproteínas que unen carbohidratos fucosilados, sialilados de Lewis y mucinas (33).

Las selectinas median el paso inicial en la adhesión de leucocitos a los sitios de inflamación o daño, caracterizado por el reclutamiento y rodamiento de leucocitos sobre la superficie endotelial, sobre plaquetas o sobre otros leucocitos (10,33). Las características de las interacciones selectina-ligando indican una asociación rápida para promover la adherencia, una disociación rápida para facilitar el rodamiento y una energía libre de asociación adecuada para resistir las fuerzas de fricción en la vasculatura. Se han identificado tres tipos de selectinas.

E-SELECTINA

La E-selectina es sintetizada por las células endoteliales en respuesta a IL-1 y TNF- α (33,34). Su expresión en la superficie celular requiere de síntesis de novo y su expresión máxima ocurre aproximadamente 4 horas después de la estimulación, para apoyar la adhesión de leucocitos (neutrófilos, monocitos, eosinófilos y linfocitos-T) al endotelio. La parte extracelular de la E-selectina incluye un dominio lectina tipo C2 dependiente de calcio, un dominio de factor de crecimiento epidermal (EGF) y seis repeticiones de una secuencia parecida a la proteína reguladora del complemento (35). La E-selectina se une a la molécula de Lewis X sialilada (sLE), un tetrasacárido de ácido siálico-galactosa-N-acetilglucosamina-fructosa (33).

La E-selectina soluble (sE-selectina) se encuentra en sangre de individuos sanos, originándose probablemente de la ruptura proteolítica de la molécula expresada en la superficie (35,36). Se han reportado concentraciones elevadas de sE-selectina en el suero en varias condiciones patológicas, actuando inclusive como un agente proinflamatorio (37,38).

P-SELECTINA

La P-selectina es sintetizada por megacariocitos y por células endoteliales y es almacenada en los gránulos alfa de las plaquetas y en los cuerpos de Weibel-Palade de las células endoteliales (33-39). La P-selectina se expresa rápidamente (aproximadamente en 10 minutos) sobre la superficie de estas células después de su exposición a agonistas, como trombina o histamina. La P-selectina movilizada aparentemente está presente en la superficie celular sólo unos pocos minutos, después de los cuales es reciclada hacia compartimentos intracelulares (40). La P-selectina consiste en un dominio C tipo lectina NH₂-terminal, un dominio parecido a EGF, nueve dominios de control de complemento, un dominio transmembranal y un dominio corto citoplasmático. El peso molecular predicho a partir de cDNA para P-selectina es de aproximadamente 86kDa (39). El peso molecular observado en SDS-PAGE, sin embargo, es aproximadamente 140kDa (39). Varias evidencias indican que la P-selectina está involucrada también en adhesión de plaquetas a monocitos y neutrófilos, participando de manera central en la acumulación de neutrófilos en los trombos (33-36).

La P-selectina, actuando en cooperación con la L-selectina se ha denominado “ligando-1 glicoproteico de P-selectina” (PSGL-1) (9).

La P-selectina circulante parece ser ligeramente más pequeña que la P-selectina nativa. Se ha reportado la presencia tanto en megacariocitos como en células endoteliales, de un mRNA cortado alternativamente que codifica para una forma de la P-selectina humana que carece de dominio de anclaje transmembranal y evidencia reciente sugiere que la mayoría de la P-selectina soluble circulante se origina de esta manera (10). Varios estudios han reportado que las concentraciones de P-selectina soluble (sP-selectina) en los líquidos biológicos puede estar elevada en individuos con varias condiciones patológicas (39,40).

L-SELECTINA

La L-selectina se expresa constitutivamente en la superficie de los leucocitos. La expresión de contraligandos de L-selectina, inducida por citocinas, en la superficie de las células endoteliales media la fijación inicial de los leucocitos al endotelio (33). La L-selectina consiste en un dominio C tipo lectina NH₂-terminal, un dominio parecido a EGF, dos dominios de control de complemento, un espaciador de 15 residuos de aminoácidos, una secuencia transmembranal y un dominio citoplasmático corto (41,42). Se han reportado dos formas de L-selectina que se originan aparentemente como resultado de modificaciones post-traduccionales. La forma en linfocitos tiene un peso molecular aparente de 74 kDa mientras que la forma en neutrófilos tiene un peso molecular de 95-100 kDa (41). La L-selectina participa en la migración de los linfocitos hacia los nódulos linfáticos periféricos y lugares de inflamación crónica, así como de neutrófilos hacia los sitios de inflamación aguda. Actuando en cooperación con la P-selectina, la L-selectina media la interacción inicial de los leucocitos circulantes con las células endoteliales, lo que produce el rodamiento o “rolling” característico de los leucocitos en el endotelio (9).

Se han identificado tres ligandos para la L-selectina en células endoteliales, todos tienen dominios de mucina O-glicosilados o son parecidos a mucina (33,43). El primer ligando Glycam-1, se expresa casi exclusivamente en vénulas de endotelio alto de nódulo linfático periférico y mesentérico. El segundo ligando de L-selectina denominado originalmente sgp90, actualmente se ha demostrado que es CD34 (42). Esta glicoproteína parecida a sialomucina, usada a menudo como marcador superficial para la purificación de células madre pluripotenciales, presenta expresión vascular en gran variedad de tejidos no linfoides, así como en los capilares de nódulos linfáticos periféricos (9,42). El tercer ligando para la L-selectina es MadCAM-1, una glicoproteína parecida a mucina que se encuentra en las vénulas de endotelio alto del nódulo linfático mucosal (10,33,43).

In vitro la L-selectina se desprende de la superficie de linfocitos y neutrófilos por ruptura proteolítica después de la activación por gran variedad de agentes (ésteres de forbol, LPS, F-met-leu-phe, etc.), in vivo se desprende de neutrófilos durante la inflamación (42). La L-selectina soluble (sL-selectina) originada de los linfocitos tiene un tamaño aproximado de 62 kDa, mientras que el fragmento que se obtiene de los neutrófilos tiene un tamaño 75-100 kDa (41). La sL-selectina mantiene su bioactividad y a concentraciones altas puede inhibir la fijación de linfocitos al endotelio (41).

MOLÉCULAS DE ADHESIÓN SOLUBLES.

El desprendimiento de las moléculas de adhesión de la superficie del endotelio activado, así como de los leucocitos y las plaquetas activadas, da como resultado cantidades medibles en plasma/suero de moléculas de adhesión solubles. Se ha demostrado que las concentraciones de estas formas solubles de las moléculas de adhesión están incrementadas, en general, en numerosos procesos inflamatorios, incluyendo el daño por isquemia-reperfusión, traumatismo severo, sepsis, artritis reumatoide, rechazo de implantes (28,30,35,39,41). En la preeclampsia se ha reportado algo semejante (13-27).

Las concentraciones plasmáticas de moléculas de adhesión solubles también están elevadas en pacientes con aterosclerosis y con hiperlipidemia (9). Por ejemplo, en un estudio de casos y controles se encontró que pacientes con enfermedad vascular periférica y con enfermedad coronaria tenían concentraciones más altas de ICAM-1 soluble, comparados con controles normales (44).

En pacientes con hipertrigliceridemia se encontraron concentraciones elevadas de sICAM-1 y de sVCAM-1 y aquellos que tuvieron concentraciones elevadas de LDL, tenían también concentraciones circulantes elevadas de ICAM-1 y de E-selectina, comparados con grupos control (44). En otro estudio, en el que se recolectaron muestras de sangre en forma prospectiva, la concentración basal de sICAM-1 predijo el riesgo de un futuro infarto al miocardio, independientemente del efecto del tabaquismo (45).

La inducción de moléculas de adhesión celular como VCAM-1 y las selectinas en la superficie endotelial parece ser un evento temprano en la activación endotelial que acompaña a la preeclampsia (18,25,46). Estas moléculas no se expresan de forma constitutiva en la superficie del endotelio normal y su expresión parece ser regulada, al menos en parte, por factores de riesgo para el daño endotelial, como por ejemplo la hiperhomocistinemia, los productos de glicosilación secundarios a la diabetes, fuerzas biomecánicas alteradas, la hipertensión e infecciones con virus o bacterias. Todos estos agentes son factores comprobados de riesgo para la preeclampsia (2,4,6,11).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se ha propuesto que la preeclampsia puede considerarse como consecuencia de una respuesta inflamatoria exagerada de la madre al embarazo y que la disfunción endotelial característica forma parte de una reacción inflamatoria intravascular generalizada, en la que participan tanto los leucocitos como los sistemas de coagulación y de complemento (7,8).

En este proceso inflamatorio tienen una participación importante las moléculas de adhesión. En las formas graves de la preeclampsia no se ha evaluado comparativamente las concentraciones sanguíneas de moléculas de adhesión y por tanto no se ha analizado su asociación con la gravedad de la preeclampsia.

En este proyecto de investigación se propone analizar cual es el grado de asociación entre las concentraciones circulantes de diferentes moléculas de adhesión (sVCAM-1, sL-selectina, sP-selectina, sE-selectina) y la gravedad de la preeclampsia.

JUSTIFICACIÓN

La salud materna en México tiene repercusiones sociales y económicas importantes debido, entre otros factores, al tamaño de la población femenina en edad reproductiva. Este tema ha recibido mucha atención durante la última década, pero la agenda no puede considerarse cumplida. Las tasas elevadas de mortalidad materna que persisten en muchas regiones de nuestro país, junto con el hecho de que se sabe que muchas de las causas de esta mortalidad pueden prevenirse, han enfatizado la necesidad de contar con programas de mejora en la salud materna y de reducción de la mortalidad asociada al embarazo, parto y puerperio. Estos programas deben mejorar la accesibilidad y calidad de los servicios médicos prenatales, así como los procedimientos de diagnóstico oportuno de probables complicaciones que tengan consecuencias mortales para la madre, el producto o ambos.

La preeclampsia severa y sus complicaciones, así como la eclampsia se encuentran entre las dos principales causas de morbilidad y mortalidad materna en todo el mundo y por lo tanto constituyen un problema serio de salud reproductiva (47,48), ya que además no se cuenta con algún procedimiento que permita identificar con suficiente sensibilidad y especificidad tanto aquellas embarazadas que van a desarrollar preeclampsia-eclampsia, como aquellas pacientes con preeclampsia que están en riesgo de presentar cuadros graves y/o complicaciones que potencialmente pueden causar la muerte.

En el IMSS, de acuerdo a las estadísticas institucionales, la mortalidad materna no ha experimentado modificaciones significativas en los últimos quince años, manteniéndose en un promedio nacional de 36 por 100 mil nacidos vivos (48). De estas mujeres, aproximadamente el 40% fallece por complicaciones de la preeclampsia-eclampsia (49). Estos datos enfatizan la importancia del diagnóstico temprano y oportuno de esta patología y de sus posibles complicaciones, con la finalidad de que pueda ofrecerse a las pacientes tratamiento médico dirigido a tratar de evitar que la preeclampsia progrese hacia estadios de severidad que pueden ser fatales. Sin embargo, para que este objetivo pueda cumplirse se requiere mejorar el conocimiento molecular de la etiología de esta patología del embarazo, como por ejemplo la participación de los procesos inflamatorios y las moléculas que los regulan.

OBJETIVOS

GENERALES

1. Determinar si existe diferencia entre las concentraciones de las moléculas de adhesión entre mujeres embarazadas normotensas y aquellas diagnosticadas con algún grado de preeclampsia.
2. Determinar el grado de asociación entre las concentraciones circulantes de las moléculas de adhesión y la severidad de la preeclampsia.
3. Analizar el valor diagnóstico de éstas moléculas para identificar la preeclampsia severa.

ESPECÍFICOS

1. Determinar el grado de asociación entre la concentración circulante de VCAM-1 y la gravedad de la preeclampsia.
2. Determinar el grado de asociación entre la concentración circulante de L-selectina y la gravedad de la preeclampsia.
3. Determinar el grado de asociación entre la concentración circulante de P-selectina y la gravedad de la preeclampsia.
4. Determinar el grado de asociación entre la concentración circulante de E-selectina y la gravedad de la preeclampsia.
5. Analizar el valor diagnóstico de sVCAM-1, sL-selectina, sP-selectina, sE-selectina para identificar la preeclampsia severa.

HIPÓTESIS

Las pacientes con preeclampsia presentan concentraciones disminuidas de sL-selectina y concentraciones aumentadas de sVCAM-1, sP-selectina y sE-selectina, comparativamente con las embarazadas normotensas.

Las concentraciones circulantes de VCAM-1, P-selectina, L-selectina, E-selectina están asociadas a la gravedad de la preeclampsia.

Las concentraciones circulantes de VCAM-1, P-selectina, L-selectina, E-selectina permiten discriminar a las pacientes con preeclampsia leve y /o severa.

HIPÓTESIS NULA

No hay diferencias en las concentraciones circulantes de VCAM-1, P-selectina, L-selectina, E-selectina entre las pacientes con preeclampsia y las embarazadas normotensas.

No hay asociación entre las concentraciones circulantes de VCAM-1, P-selectina, L-selectina, E-selectina y la gravedad de la preeclampsia.

Las concentraciones circulantes de VCAM-1, P-selectina, L-selectina, E-selectina no permiten discriminar a las pacientes con preeclampsia leve y severa.

METODOLOGÍA

TIPO DE ESTUDIO

Diseño: observacional, prospectivo, transversal, comparativo.

GRUPOS

1. Pacientes con diagnóstico de preeclampsia leve
2. Pacientes con diagnóstico de preeclampsia severa
3. Pacientes embarazadas normotensas

UNIVERSO DE ESTUDIO

Grupo 1: Pacientes embarazadas que ingresen con diagnóstico de preeclampsia leve al Servicio de Complicaciones Hipertensivas del Embarazo de la UMAE Hospital de Gineco-Obstetricia “Luis Castelazo Ayala” del IMSS.

Grupo 2: Pacientes embarazadas que ingresen con diagnóstico de preeclampsia severa al Servicio de Complicaciones Hipertensivas del Embarazo o a la Unidad de Cuidados Intensivos de Adultos (UCIA) de la UMAE Hospital de Gineco-Obstetricia “Luis Castelazo Ayala” del IMSS.

Grupo 3: Pacientes embarazadas normotensas que ingresen al término de su embarazo a la UMAE Hospital de Gineco-Obstetricia “Luis Castelazo Ayala” del IMSS.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Están basados en los lineamientos señalados en la Norma Técnico Médica para la Prevención y Manejo de la Preeclampsia-Eclampsia del IMSS (5). Para la inclusión en cualquiera de los grupos se solicitará la firma de la carta de consentimiento informado para participar en este estudio.

Grupo 1: Pacientes primigestas/nulíparas con tensión arterial (TA) de 140/90 mmHg o más pero menor de 160/110 mmHg , proteinuria entre 300mg y 2 gr / Lt o su equivalente en tira reactiva.

Grupo 2: Pacientes primigestas/nulíparas con TA 160/110 mmHg o más, con la paciente en reposo o en cama, en dos ocasiones con un mínimo de diferencia de seis horas entre uno y otro registro; proteinuria de 2gr o más en orina de 24 horas, o bien 3+ a 4+ en examen con tira reactiva en una muestra de orina tomada al azar, en dos ocasiones; oliguria (diuresis de 24 horas menor a 400 ml) y/o trastornos cerebrales o visuales (como alteraciones de la conciencia, visión borrosa) y/o edema pulmonar.

Grupo 3: Pacientes embarazadas sanas, con cifras normales de tensión arterial y sin proteinuria.

CRITERIOS DE NO INCLUSIÓN

Para todos los grupos, que la paciente no acepte participar.

Grupos 1,2 y 3: Pacientes con patología subyacente como diabetes, hipertensión crónica o nefropatía o algún proceso infeccioso.

Pacientes en las que se presenten convulsiones y/o coma.

Pacientes puérperas.

Pacientes con embarazo previo > 20 semanas de gestación.

Pacientes que presenten amenaza de parto pretérmino.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

En todos los grupos: Cuando no se disponga de la información apropiada y completa sobre el resultado final de la gestación.

Que la paciente convulsione o se agrave posteriormente a la toma de la muestra de sangre.

TAMAÑO DE LA MUESTRA

Los cálculos se realizaron en base a estudios previos realizados en preeclampsia leve y severa. El cálculo del tamaño de la muestra se realizó mediante la fórmula:

$$n = \frac{S_2}{C_2 X_2} \quad \text{donde:}$$

n = tamaño de la muestra

C₂ = coeficiente de variación deseado

S₂ = varianza de la muestra piloto

X₂ = media de la muestra piloto

Se obtuvo una n = 26 como el tamaño de la muestra mayor, el cual es para la L-selectina. Por convenio el tamaño de la muestra a utilizar para las 4 moléculas de adhesión a analizar fué de 27 pacientes por grupo.

ESPECIFICACIÓN DE LAS VARIABLES

1. Presencia de preeclampsia leve
2. Presencia de preeclampsia severa
3. Presencia de embarazo normoevolutivo
4. Concentración circulante de VCAM-1, expresada en unidades correspondientes
5. Concentración circulante de L-selectina, expresada en unidades correspondientes
6. Concentración circulante de P-selectina, expresada en unidades correspondientes
7. Concentración circulante de E-selectina, expresada en unidades correspondientes
8. Edad materna, expresada en años
9. Edad gestacional, expresada en semanas de gestación (SDG)

ESPECIFICACIÓN OPERACIONAL DE LAS VARIABLES

Preeclampsia leve: Paciente embarazada con TA 140/90 mmHg o más, pero menos de 160/110 mmHg, proteinuria de 300 mg por litro o más, pero menos de 2 gr en orina de 24 horas o su equivalente en tira reactiva (4,5).

Preeclampsia severa: Paciente embarazada con TA de 160/110 mmHg o más con la paciente en reposo o en cama, en dos ocasiones como mínimo de diferencia de seis horas entre uno y otro registro; proteinuria de 2 gr o más en orina de 24 horas, o bien 3+ o 4+ en examen de tira reactiva en dos ocasiones en muestras de orina tomadas al azar; oliguria (diuresis de 24 horas menor a 400 ml), dolor epigástrico o en el cuadrante superior derecho del abdomen (dolor en barra) y/o cianosis, edema pulmonar (4,5).

VCAM-1: Molécula de adhesión de células vasculares-1. Glicoproteína transmembranal, expresada en las unidades correspondientes (30).

P-selectina: Glicoproteína transmembranal presente en células endoteliales y plaquetas, expresadas en las unidades correspondientes (39).

L-selectina: Glicoproteína transmembranal presente en prácticamente todos los tipos de leucocitos, expresadas en las unidades correspondientes (41).

E-selectina: Glicoproteína transmembranal presente únicamente en células endoteliales expresada en las unidades correspondientes (35).

Edad materna: Edad de la paciente gestante, expresada en años.

Edad gestacional: Tiempo de gestación, expresado en semanas, en el momento en que se obtuvo la muestra de sangre periférica.

ESCALA DE MEDICIÓN DE LAS VARIABLES

1. Preeclampsia leve: diagnóstico clínico
2. Preeclampsia severa: diagnóstico clínico
3. Embarazo normal: diagnóstico clínico
4. Tensión arterial : mm Hg
5. Proteinuria: gr/Lt
6. VCAM-1 : ng/ml
7. P-selectina: ng/ml
8. L-selectina: ng/ml
9. E-selectina: ng/ml
10. Edad materna: años
11. Edad gestacional: semanas

MATERIAL Y MÉTODOS

Las pacientes en el estudio fueron las pacientes embarazadas con preeclampsia leve, severa y normotensas que ingresaron a la UMAE Hospital de Gineco-Obstetricia “Luis Castelazo Ayala”, que llenaron los criterios de inclusión y que firmaron la carta de consentimiento informado.

Se invitó a las pacientes a participar, previa información de los objetivos y procedimientos del estudio y se solicitó el consentimiento por escrito de la paciente o familiar.

La muestra de sangre para la evaluación de las moléculas de adhesión (10ml) se obtuvo por venopunción antecubital al ingreso de la paciente al servicio correspondiente, si éste fué en la tarde (después de las 16:00hr) o en la noche, la muestra se guardó a 4°C, no más de 18 horas antes de su centrifugación. La sangre se dividió en 2 alícuotas (con y sin anticoagulante, utilizando EDTA 0.5 M como anticoagulante). Las muestras de sangre se centrifugaron durante 15 minutos a 3500 rpm a 4°C; una vez separados el suero y el plasma se hicieron alícuotas de 1ml y se congelaron a -70°C hasta el momento de realizar los análisis. Las concentraciones de las moléculas de adhesión se determinaron utilizando análisis inmunoenzimático (ELISA, R & D Systems, Minesota, E.U.A), siguiendo las instrucciones del fabricante para cada una de las diferentes moléculas de adhesión:

sP-selectina

1. Preparar reactivos, estándares, muestras y control.
2. Añadir 100 ul de estándar de sP-selectina en cada pozo o 100ml de plasma/suero de los pacientes.
3. Añadir 100 ul de conjugado de sP-selectina a cada pozo.
4. Cubrir la placa con el adhesivo e incubar a temperatura ambiente por 1 hora.
5. Aspirar el contenido de cada pozo.
6. Lavar con 300 ul de buffer hasta hacer un total de 3 lavados.
7. Añadir 100 ul de substrato a cada pozo.
8. Cubrir la placa con el adhesivo e incubar a temperatura ambiente por 15 minutos.
9. Añadir 100 ul de solución para detener la reacción a cada pozo.
10. Leer la densidad óptica en los siguientes 30 minutos en un lector de microplacas a 450nm con corrección de longitud de onda a 630nm.

sL-selectina

1. Preparar reactivos, estándares, muestras y control.
2. Añadir 100 ul de estándar de sL-selectina en cada pozo o 100ml de plasma/suero de las pacientes.
3. Cubrir la placa con el adhesivo e incubar a temperatura ambiente por 1 hora.
4. Añadir 100 ul de conjugado de sL-selectina a cada pozo.
5. Cubrir la placa con el adhesivo e incubar a temperatura ambiente por 30 minutos.
6. Aspirar el contenido de cada pozo.
7. Lavar con 300 ul de buffer hasta hacer un total de 6 lavados.
8. Añadir 100 ul de substrato a cada pozo.
9. Cubrir la placa con el adhesivo e incubar a temperatura ambiente por 30 minutos.
10. Añadir 100 ul de solución para detener la reacción a cada pozo.
10. Leer la densidad óptica en los siguientes 30 minutos en un lector de microplacas a 450nm con corrección de longitud de onda a 630nm.

sE-selectina

1. Preparar reactivos, estándares, muestras y control.
2. Añadir 100 ul de conjugado de sE-selectina a cada pozo o 100ml de plasma/suero de las pacientes.
3. Añadir 100 ul de estándar de sE-selectina en cada pozo.
4. Cubrir la placa con el adhesivo e incubar a temperatura ambiente por 1.5 horas.
5. Aspirar el contenido de cada pozo.
6. Lavar con 300 ul de buffer hasta hacer un total de 6 lavados.
7. Añadir 100 ul de substrato a cada pozo.
8. Cubrir la placa con el adhesivo e incubar a temperatura ambiente por 30 minutos.
9. Añadir 100 ul de solución para detener la reacción a cada pozo.
10. Leer la densidad óptica en los siguientes 30 minutos en un lector de microplacas a 450nm con corrección de longitud de onda a 630nm.

VCAM-1

1. Preparar reactivos, estándares, muestras y control.
2. Añadir 100 ul de conjugado de sVCAM-1 diluido a cada pozo o con 100ml de plasma/suero de las pacientes.
3. Añadir 100 ul de estándar de sVCAM-1 en cada pozo.
4. Cubrir la placa con el adhesivo e incubar a temperatura ambiente por 1.5 horas.
5. Aspirar el contenido de cada pozo.
6. Lavar con 300 ul de buffer hasta hacer un total de 4 lavados, protegiendo de la luz.
7. Añadir 100 ul de substrato a cada pozo.
8. Cubrir la placa con el adhesivo e incubar a temperatura ambiente por 20 minutos.
9. Añadir 50 ul de solución para detener la reacción a cada pozo.
10. Leer la densidad óptica en los siguientes 30 minutos en un lector de microplacas a 450nm con corrección de longitud de onda a 540nm.

Las características clínicas de los diferentes grupos y las concentraciones de las moléculas de adhesión celular y vascular se analizaron mediante análisis de varianza múltiple y de asociación comparativa, descriptivo.

RESULTADOS

En este estudio se incluyeron 81 pacientes embarazadas, en el grupo 1, fueron 27 pacientes con embarazos normales; en el grupo 2, fueron 27 pacientes embarazadas con preeclampsia leve y en el grupo 3, fueron 27 pacientes embarazadas con preeclampsia severa.

La tabla 1 describe las características clínicas, la media, desviación estándar y significancia estadística.

La media de la edad materna en el grupo 1 fue 22 ± 5 ; en el grupo 2 fue 25 ± 6 ; en el grupo 3 fue 26 ± 5 sin diferencia estadísticamente significativa.

La paridad materna en el grupo 1 fueron primigestas 100%; en el grupo 2 fueron primigestas 92.5% y secundigestas 7.5%; en el grupo 3 fueron primigestas 89% y 11% secundigestas sin diferencia estadísticamente significativa.

No hubo diferencia estadísticamente significativa en el IMC entre los grupos 1, 2 y 3 respectivamente 24 ± 4 vs 26 ± 7 vs 29 ± 7 .

La media de la TAS en el grupo 1 fue 119 ± 8 ; en el grupo 2 fue 141 ± 9 ; en el grupo 3 fue 157 ± 14 , al comparar los grupos 1 vs 2, 1 vs 3 y 2 vs 3, todos presentaron diferencia estadísticamente significativa.

La media de la TAD en el grupo 1 fue 78 ± 4 ; en el grupo 2 fue 93 ± 6 ; en el grupo 3 fue 104 ± 9 , al comparar los grupos 1 vs 2, 1 vs 3 y 2 vs 3 tuvieron diferencia estadísticamente significativa.

La media de la edad gestacional al momento del nacimiento en el grupo 1 fue 39 ± 1 ; en el grupo 2 fue 38 ± 1 ; en el grupo 3 fue 36 ± 4 con diferencia estadísticamente significativa al comparar los grupos 1 vs 3 y 2 vs 3.

El peso de los fetos al nacimiento en el grupo 1 fue 3153 ± 375 ; en el grupo 2 fue 2827 ± 393 ; en el grupo 3 fue 2476 ± 616 con diferencia estadísticamente significativa al comparar los grupos 1 vs 3 y 2 vs 3.

La tabla 2 muestra las concentraciones de las moléculas de adhesión celular, la media, la desviación estándar y la significancia estadística.

La media de la concentración de la E-selectina en el grupo 1 fue 26 ± 9 ; en el grupo 2 fue 28 ± 8 ; en el grupo 3 fue 31 ± 10 no hubo diferencia estadísticamente significativa entre los grupos.

La media de la concentración de la P-selectina en el grupo 1 fue 105 ± 23 ; en el grupo 2 fue 100 ± 24 ; en el grupo 3 fue 115 ± 31 sin diferencia estadísticamente significativa.

La media de la concentración de la L-selectina en el grupo 1 fue 358 ± 51 ; en el grupo 2 fue 314 ± 62 ; en el grupo 3 fue 302 ± 76 con diferencia estadísticamente significativa al comparar los grupos 1 vs 3.

La media de la concentración de VCAM-1 en el grupo 1 fue 622 ± 104 ; en el grupo 2 fue 630 ± 160 ; en el grupo 3 fue 806 ± 178 con diferencia estadísticamente significativa al comparar los grupos 1 vs 3 y 2 vs 3.

La gráfica 1 muestra la dispersión y la media de la E-selectina en los diferentes grupos.

La gráfica 2 muestra la dispersión y la media de la P-selectina en los diferentes grupos.

La gráfica 3 muestra la dispersión y la media de la L-selectina en los diferentes grupos.

La gráfica 4 muestra la dispersión y la media de la VCAM-1 en los diferentes grupos.

DISCUSIÓN

La preeclampsia es una complicación del embarazo que puede tener repercusiones serias para la madre y el feto (50, 52). Afecta aproximadamente a 5% de las mujeres embarazadas y es la causa más común de muerte materna; en nuestro país representa entre 36 y 48 %.

La causa precisa de la preeclampsia aún se desconoce, pero cada vez existen mayores evidencias de que las plaquetas desempeñan un papel preponderante en la patogénesis de esta enfermedad (51,52).

Las características histológicas del lecho placentario en aquellas pacientes con preeclampsia muestran invasión del trofoblasto, con aterosclerosis aguda de las arterias espirales. Las plaquetas pueden ser activadas por daño del endotelio, en la circulación sistémica o placentaria.

Algunos investigadores consideran al embarazo un estado compensado de consumo plaquetario elevado; en la preeclampsia este estado queda descompensado y el mayor consumo plaquetario llega a los extremos, tal como ocurre en el síndrome de HELLP.

Las selectinas E, S, L pertenecen a la familia de las moléculas de adhesión (53), encontrándose la E-selectina expresada en las células endoteliales activadas (54). La P-selectina está constitutivamente sintetizada y almacenada dentro de los gránulos alfa de las plaquetas y en los cuerpos de Weibel-Plade de las células endoteliales, y es redistribuida en las membranas plasmáticas bajo estimulación celular (55), mientras que la L-selectina se expresa en la superficie de muchos leucocitos (56). El motivo por el cual las selectinas sólo se expresan en células activadas se debe a que formas solubles de estas proteínas pueden ser usadas como marcadores de actividad endotelial, en especial la P-selectina (57).

El principal papel de las selectinas está fuertemente relacionado con la respuesta inmunológica en donde la regulación del tránsito y la migración de los leucocitos (58), en particular la P-selectina tiene funciones específicas en la inflamación y hemostasis de las plaquetas. La lesión endotelial es común en todas las características patológicas de la preeclampsia.

La activación de los neutrófilos se asocia también a la patofisiología de la preeclampsia, y migrar a través del endotelio (59). Esta vía ocurre por la interacción de las moléculas de adhesión del endotelio y receptores de superficie de los neutrófilos son liberados y así son capaces de producir daño vascular. La función de las selectinas parece estar controlada en gran parte por su presencia o ausencia de las superficies celulares y éstas pudieran estar involucradas en la respuesta inflamatoria, ya que se ha podido demostrar niveles altos de P, E, L-selectinas y VCAM-1 en enfermedad coronaria, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, enfermedad de Behcet (58,59).

En nuestro estudio encontramos que los niveles de la P-selectina fueron más altos en el grupo de preeclampsia severa no hubo diferencia estadísticamente significativa al compararse los 3 grupos. Konijnenber y colaboradores (60); Halim y colaboradores (61) y Salazar y colaboradores (62) han demostrado niveles altos de P-selectina en preeclampsia comparados con embarazos normales con diferencia estadísticamente significativa.

En nuestro estudio identificamos que los niveles de E-selectina fueron más altos en el grupo con preeclampsia severa comparados con embarazos normales, no hubo diferencia estadísticamente significativa al compararse los 3 grupos. Pacheco y colaboradores (63) demostraron niveles más altos en la preeclampsia comparados con embarazos normales.

En nuestro estudio los niveles de VCAM-1 fueron más altos en el grupo con preeclampsia severa con diferencia estadísticamente significativa al compararse con preeclampsia leve y embarazos normales. Por su parte, Krauss y colaboradores (64) y Anim-Nyame y colaboradores (65), identificaron niveles plasmáticos de moléculas de adhesión intercelular-1 y moléculas de adhesión vascular-1 (VCAM-1), con E-selectina significativamente más altas en mujeres con preeclampsia, comparadas con embarazos normales.

En nuestro estudio los niveles de L-selectina fueron menores en el grupo con preeclampsia severa comparadas con preeclampsia leve y embarazos normales con diferencia estadísticamente significativa. Daniel y colaboradores (66) y Pacheco y colaboradores (63) demostraron disminución en la L-selectina en pacientes con preeclampsia comparadas con embarazos normales.

Buda y colaboradores (67) y Kim y colaboradores (68) asociaron los niveles de VCAM-1 con la severidad de la preeclampsia, fueron significativamente más altos en la preeclampsia severa comparados con preeclampsia leve y embarazos normales; en nuestro estudio de igual manera hubo asociación de los niveles de VCAM-1 con la severidad de la preeclampsia al encontrarse más altos en la preeclampsia severa con diferencia estadísticamente significativa.

Kim y colaboradores (68) mostraron niveles más altos de E-selectina en pacientes con preeclampsia severa comparados con preeclampsia leve y embarazos normales, no hubo diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de preeclampsia leve y severa; en nuestro estudio se obtuvieron resultados similares ya que los niveles fueron más altos en el grupo de preeclampsia severa, pero al ser comparados con preeclampsia leve y embarazos normales no hubo diferencia estadísticamente significativa. Los resultados sugieren que las moléculas de adhesión se incrementan en la preeclampsia y se asocian con la severidad de la misma.

CONCLUSIONES

En la preeclampsia se encuentra un fenómeno de reactividad endotelial del embarazo, probablemente secundario a una respuesta inflamatoria primaria. Al parecer en la preeclampsia los niveles de P-selectina, E-selectina y VCAM-1 tienen un potencial significado como marcador de reactividad endotelial.

Encontramos que las concentraciones de VCAM-1 fueron elevadas y están relacionadas con la severidad de la preeclampsia, ya que los niveles fueron mayores al compararse los grupos de pacientes con embarazos normales vs preeclampsia severa y los grupos de pacientes con preeclampsia leve vs preeclampsia severa hubo diferencia estadísticamente significativa en ambos, lo que nos lleva a pensar que existe una asociación de la concentración elevada de VCAM-1 y la severidad de la preeclampsia.

Las concentraciones de E-, P-selectinas no presentaron diferencia estadísticamente significativa, pero los niveles fueron mayores en los grupos de las pacientes con preeclampsia leve y severa comparadas con embarazos normales hubo asociación de los niveles elevados de las E-, P-selectinas y la severidad de la preeclampsia aunque sin significancia estadística.

Las concentraciones de L-selectina también presentaron diferencia estadísticamente significativa, al ser comparados los grupos de pacientes con embarazos normales vs con preeclampsia severa y leve, encontrándose asociación con la severidad de la preeclampsia.

ANEXO

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN MEDICINA REPRODUCTIVA

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EL PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

Lugar y fecha: México D.F. _____ de _____ de 2007.

Por medio de la presente acepto participar en el proyecto de investigación titulado **“EVALUACIÓN DE LA ASOCIACIÓN ENTRE LA CONCENTRACIÓN CIRCULANTE DE MOLÉCULAS DE ADHESIÓN Y LA SEVERIDAD DE LA PREECLAMPSIA”**, registrado ante el Comité Local de Investigación de la UMAE Hospital de Gineco-Obstetricia “Luis Castelazo Ayala” con el número 710-2004-25.

El objetivo de este estudio es DETERMINAR EL GRADO DE ASOCIACIÓN QUE EXISTE ENTRE LA CONCENTRACIÓN EN SUERO DE MOLÉCULAS DE ADHESIÓN Y SEVERIDAD DE LA PREECLAMPSIA.

Se me ha explicado que mi participación consistirá en:

1. Participaré en este estudio desde el momento en que acepte ser incluida y hasta el nacimiento de mi bebé.
2. Después de mi ingreso a la UMAE Hospital de Gineco-Obstetricia “Luis Castelazo Ayala” y antes de que nazca mi bebé se me tomará una muestra de sangre se medirán las concentraciones de los compuestos que se están analizando en este estudio.
3. Después del nacimiento se copiarán de la historia clínica del Hospital los datos del nacimiento de mi bebé (sexo, peso, talla, apgar, semanas de gestación), así como los datos relacionados con la evolución del embarazo y mi atención médica en el hospital. Cuando esté en condiciones de responder, se me harán algunas preguntas para completar mi historia clínica.

Declaro que se me ha informado ampliamente sobre los posibles riesgos, inconvenientes, molestias y beneficios derivados de mi participación en el estudio, que son los siguientes: La participación en este estudio no implica ningún riesgo conocido ni para mí, ni para mi bebé. Las molestias que podrían presentarse serían únicamente las relacionadas con la toma de la muestra de sangre. Se me informó también que aunque los resultados de los estudios realizados en mi persona no van a beneficiarme directamente, mi participación en este estudio va a ayudar a mejorar la atención a las mujeres embarazadas que estén en riesgo de desarrollar preeclampsia severa.

Las personas que realizan este estudio (investigadores y médicos) se comprometen a darme información oportuna sobre cualquier procedimiento alternativo adecuado que pudiera ser ventajoso para mi tratamiento, así como a responder cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que le plantee acerca de los procedimientos que se llevan a cabo, los riesgos, los beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación o mi tratamiento.

Entiendo que mi participación es voluntaria y conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente sin que ello afecte la atención médica que recibo en el Instituto Mexicano del Seguro Social.

Se me ha asegurado también que no se me identificará en las presentaciones a publicaciones que deriven de este estudio y que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial. También se han comprometido a proporcionarme, si lo solicito, la información que se obtenga durante el estudio.

Nombre y firma de la paciente

Nombre, firma, matrícula del investigador

Testigo

Testigo

*Añadir nombre, firma del padre, madre o tutor si la paciente es menor de edad.

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LOS GRUPOS DE PACIENTES

Embarazadas	Edad (años)	Gestas (No. pacientes)	IMC	TA sistólica (mmHg)	TA diastólica (mmHg)	SDG	Peso RN (gramos)
Normales	22 +/- 4.9	1 (27)	24 +/- 4.2	* / ** 120 +/- 8	* / ** 77 +/- 4	** 39 +/- 1	3153 +/- 375 **
Preeclampsia leve	25 +/- 5.8	1 (25) 2 (2)	26 +/- 7	* / *** 141 +/- 9	* / *** 92 +/- 6	*** 37 +/- 1	2827 +/- 393 ***
Preeclampsia severa	26 +/- 4.5	1 (24) 2 (3)	29 +/- 7	** / *** 157 +/- 14	** / *** 104 +/- 9	** / *** 35 +/- 4	** / *** 2476 +/- 616

Tabla 1. Media, desviación estándar y significancia estadística.

IMC= Índice de Masa Corporal. TA= Tensión Arterial. SDG= Semanas de Gestación. RN= Recién Nacido.

* Valores con significancia estadística (P < 0.05) grupos comparados 1 vs 2

** Valores con significancia estadística (P < 0.05) grupos comparados 1 vs 3

*** Valores con significancia estadística (P < 0.05) grupos comparados 2 vs 3

CONCENTRACIONES DE LAS MOLECULAS DE ADHESIÓN CELULAR

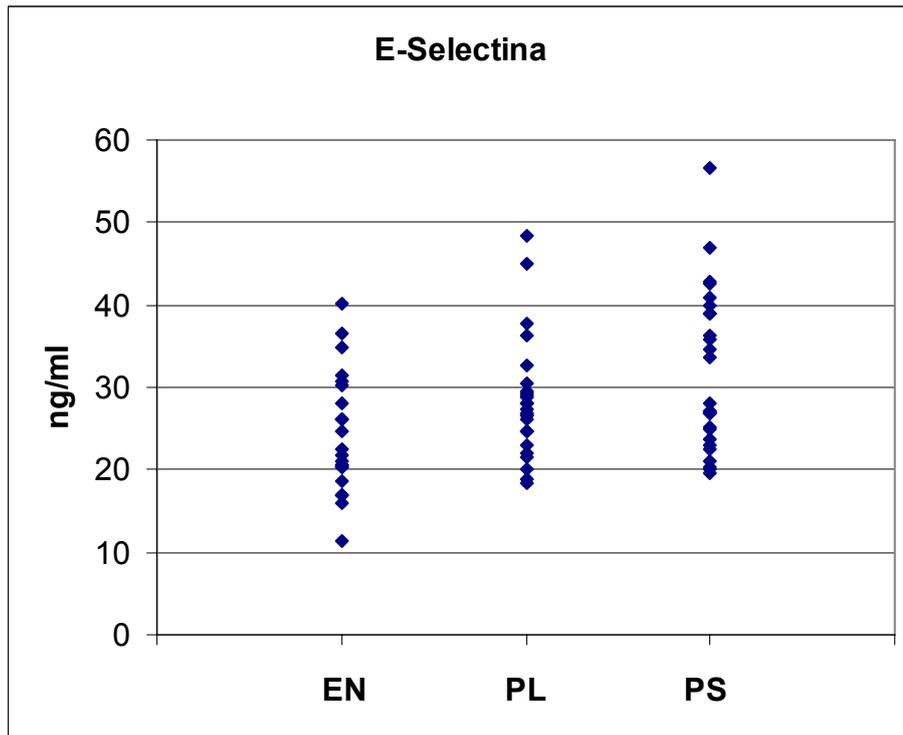
Embarazadas	E-selectina (ng/ml)	P-selectina (ng/ml)	L-selectina (ng/ml)	VCAM-1 (ng/ml)
Normales	26 +/- 9	105 +/- 23	358 +/- 51 **	622 +/- 104 **
Preeclampsia leve	28 +/- 8	100 +/- 24	313 +/- 62	630 +/- 160 ***
Preeclampsia severa	31 +/- 10	115 +/- 31	302 +/- 76 **	806 +/- 178 ** / ***

Tabla 2. Media, desviación estándar y significancia estadística.

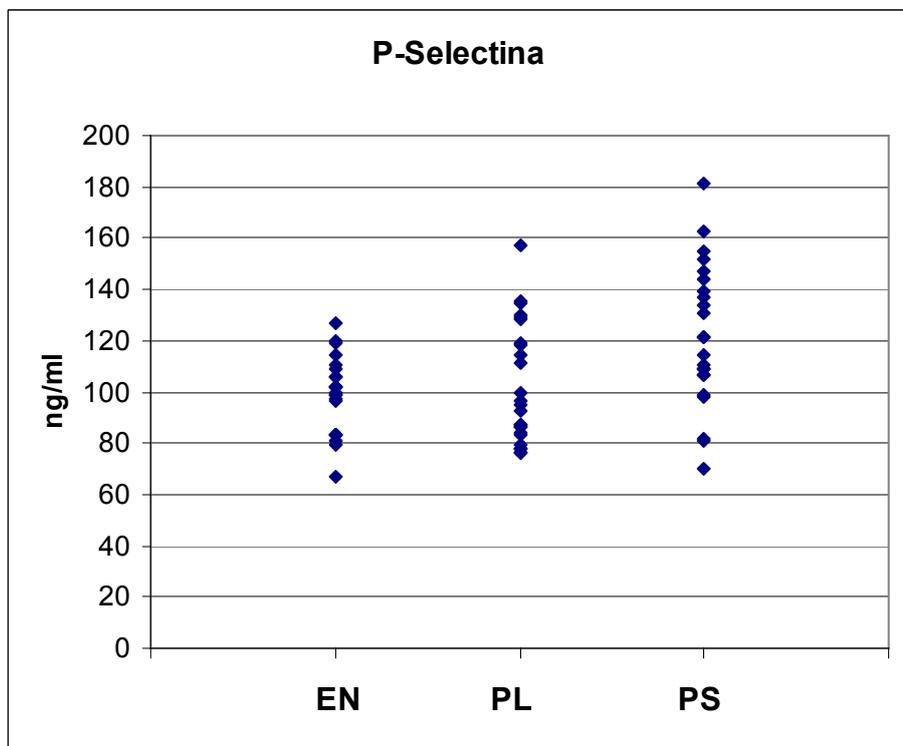
* Valores con significancia estadística (P < 0.05) grupos comparados 1 vs 2

** Valores con significancia estadística (P < 0.05) grupos comparados 1 vs 3

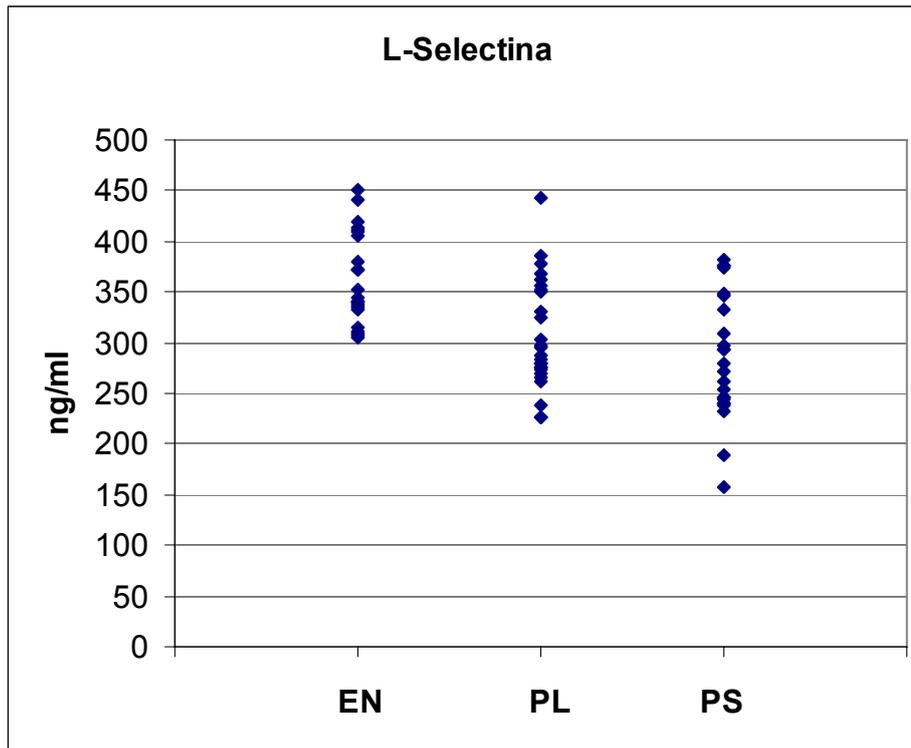
*** Valores con significancia estadística (P < 0.05) grupos comparados 2 vs 3



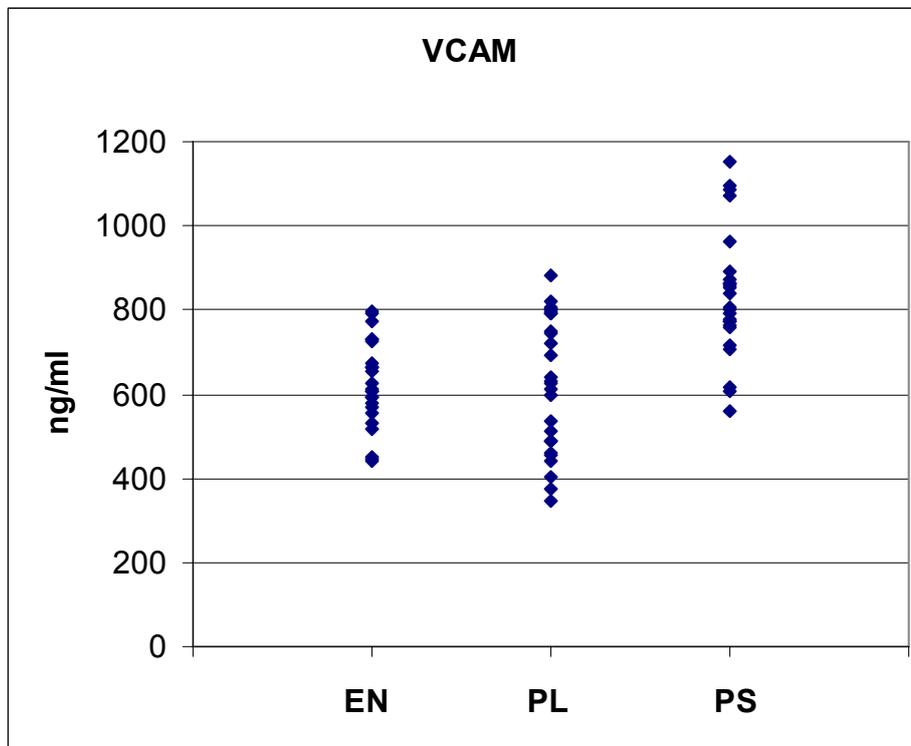
Distribución de los valores de E-selectina en las pacientes.
 EN (embarazos normales) PL (preeclampsia leve) PS (preeclampsia severa)



Distribución de los valores de P-selectina en las pacientes.
 EN (embarazos normales) PL (preeclampsia leve) PS (preeclampsia severa)



Distribución de los valores de L-selectina en las pacientes.
 EN (embarazos normales) PL (preeclampsia leve) PS (preeclampsia severa)



Distribución de los valores de VCAM en las pacientes.
 EN (embarazos normales) PL (preeclampsia leve) PS (preeclampsia severa)

BIBLIOGRAFIA

1. Roberts J, Pearson G, Cutler J, Lindheimer M. Summary of the NHLBI working group on research on hypertension during pregnancy. *Hypertension* 2003;41:437-445.
2. Pridjian G, Puschett J. Preeclampsia part 1: Clinical and pathologic considerations. *Obstet Gynecol Surv* 2002;57:577-618.
3. Rogers B, Bloom S, Leveno K. Atherosclerosis revisited: Current concepts on the pathophysiology of implantation site disorders. *Obstet Gynecol Surv* 1999;54:189-195.
4. The American College Obstetrician and Gynecologists. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. *Obstet Gynecol* 2002;99:159-167.
5. 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.
6. Caritis S, Sibai B, Aut J, and the National Institute of Child Health and Human Development Network of Maternal-Fetal Medicine Units. Predictors of Preeclampsia in women at high risk. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:946-951.
7. Redman CWG, Sacks G, Sargent I. Preeclampsia: An excessive maternal inflammatory response to pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180:499-506.
8. Wolf M, Kettyle E, Sandler L, Ecker J, Roberts J, Thadhani R. Obesity and preeclampsia: The potential role inflammation. *Obstet Gynecol* 2001;98:757-76.
9. Hou Y, Ley K. Adhesion molecules and atherogenesis. *Acta Physiol Scand* 2001;1173:35-43.
10. Price D, Loscalzo J. Cellular adhesion molecules and atherogenesis. *Am J Med* 1999;107:85-97.
11. Roberts J. Preeclampsia: What we know and what we do not know. *Semin Perinatol* 2000;24:24-28.
12. Muller W, Weigl S, Deng X, Phillips D. PECAM-1 is required for transendothelial migration of leukocytes. *J Exp Med* 1993;178:449-460.
13. Abe E, Mastubara K, Ochi H, Ito M, Oka K, Kameda K. Elevated levels of adhesion molecules derived from leukocytes and endothelial cells in patients with pregnancy induced hypertension. *Hypertens Pregnancy* 2003;22:31-43.
14. Coata G, Pennanchi L, Bini V, Liotta I, Di Renzo G. Soluble adhesion molecules marker of preeclampsia and intrauterine growth restriction. *J Matern Fetal Neonat Med* 2002;12:28-34.
15. Chaiworapongsa T, Romero R, Yoshimatsu J, Espinoza J, Kim Y, Park K, Kalache K, Edwin S, Bujold E, Gomez R. Soluble adhesion molecule profile in normal pregnancy and preeclampsia. *J Matern Fetal Neonat Med* 2002; 12:19-27.
16. Bretelle F, Sabatier F, Blann A, D'Ercole C, Boutière B, Mutin M, Boubli L, Sampol J, Dgnat-George F. Maternal endothelial soluble cell adhesion molecules with isolated small for gestational age fetuses: comparison with preclampsia. *Br J Obstet Gynecol* 2001;108:1277-1282.
17. Lain K, Caritis S. Elevated cellular adhesion molecule concentrations in mid pregnancy may predict recurrent preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2001;184:571.
18. Clausen T, Djurovic S, Brosstad F, Berg K, Henriksen T. Altered circulating levels of adhesion molecules at 18 weeks gestation among women with eventual preeclampsia: indicators of disturbed placentation in absence of endothelial dysfunction? *Am J Obstet Gynecol* 2000;182:321-325.

19. Phocas I, Rizos D, Papoulias J, Xyni K, Sarandakou A, Salamalekis E. A comparative study of serum soluble vascular cell adhesion molecule-1 and soluble intercellular adhesion molecule-1 in preeclampsia. *J Perinatol* 2000;2:114-119.
20. Zeisler H, Livingston J, Schatten C, Tempfe C, Knöfler M, Sibai B, Husslein P. Serum levels of adhesion molecules in women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2000;182:591.
21. Heyl W, Handt S, Reister F, Gehlen J, Mittermayer C, Rath W. The role of soluble adhesion molecules in evaluating endothelial cell activation in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180:68-72.
22. Heyl W, Handt S, Reister F, Gehlen J, Schröder W, Mittermayer C, Rath W. Elevated soluble adhesion molecules in women with preeclampsia. Do cytokines like tumor necrosis factor- α and interleukin-1 β cause endothelial activation? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1999;86:35-41.
23. Krauss T, Azab H, Dietrich M, Augustin HG. Fetal plasma levels of circulating endothelial cell adhesion molecules in normal and preeclamptic pregnancies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1998;78:41-45.
24. Higgins J, Papayianni A, Brady H, Darling M, Walshe J. Circulating vascular cell adhesion molecule-1 in preeclampsia, gestational hypertension, and normal pregnancy: evidence of selective dysregulation of vascular cell adhesion molecule-1 homeostasis in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:464-469.
25. Krauss T, Kuhn W, Lakoma C, Augustin HG. Circulating endothelial cell adhesion molecules as diagnostic markers for the early identification of pregnant women at risk for development of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1997;177:443-449.
26. Austgulen R, Lien E, Vince G, Redman C. Increased maternal plasma levels of soluble adhesion molecules (ICAM-1, VCAM-1, E-selectin) in preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1997;71:53-58.
27. Djurovic S, Schjetlein R, Wisloff F, Haugen G, Berg K. Increased levels of intercellular adhesion molecules and vascular cell adhesion molecules in preeclampsia. *Br J Obstet Gynecol* 1997;104:466-470.
28. Hemler M. VLA proteins in the integrin family: structures, functions, and their role on leukocytes. *Annu Rev Immunol* 1990;8:365-400.
29. Birdsall H, Lane C, Ramser M, Anderson D. Induction of VCAM-1 and ICAM-1 on human neural cells and mechanisms of mononuclear leukocyte adherence. *J Immunol* 1992;148:2717-2723.
30. R & D Systems Inc. Human soluble VCAM-1 immunoassay. For the quantitative determination of human soluble Vascular Cell Adhesion intercellular adhesion molecule-1 (sVCAM-1) in cell culture supernate, serum and plasma. Inserto del estuche con número de catálogo BBE3. www.rndsystems.com
31. Droogan A, McMillan S, Douglas J, Hawkins S. Serum and cerebrospinal fluid levels of soluble adhesion molecules in multiple sclerosis: predominant intrathecal release of vascular cell adhesion molecule-1. *J Neurol Immunol* 1996;64:185-191.
32. Pigott R, Dillon L, Hemingway I, Gearing A. Soluble forms of E-selectin, ICAM-1 and VCAM-1 are present in the supernatants of cytokine activated cultured endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1992;187:584-589.
33. Vestweber D, Blanks J. Mechanisms that regulate the function of the selectins and their ligands. *Physiol Rev* 1999;79:181-213.
34. Kennedy M, Kazuhiro K, Takanori K, Daisuke Y, Bae D, Haruki S, Masayuki S. Hepatocyte growth factor/scatter factor suppresses TNF- α -induced E-selectin expression in human umbilical vein endothelial cells. *Biochim Biophys Acta (BBA) Mol Cell Res* 2004;1644:9-15.

35. R & D Systems Inc. Human soluble E-selectin immunoassay. For the quantitative determination of human soluble E-selectin (sE-selectin) in cell culture supernate, serum and plasma. Inserto del estuche con número de catálogo BBE2. www.rndsystems.com
36. Ponthieux A, Hernerth B, Drosch S, Haddy N, Lambert D, Visvikis S. Biological determinants of serum ICAM-1, E-selectin, P-selectin and L-selectin levels in healthy subjects: the Stanislas study. *Atherosclerosis* 2004;172:229-308.
37. Zeisig R, Stahn R, Wenzel K, Beherens D, Fitchner I. Effect of sialyl Lewis X-glycoliposomes on the inhibition of E-selectin-mediated tumour cell adhesion in vitro. *Biochim Biophys acta (BBA) Biomembranes* 2004;1660:31-40.
38. Ruchaid-Sparagano M, Drost E, Donnelly S, Bird M, Haslet C, Dransfield I. Potential proinflammatory effects of soluble E-selectin upon neutrophil function. *Eur J Immunol* 1998;28:80-89.
39. R & D Systems Inc. Human soluble P-selectin immunoassay. For the quantitative determination of human soluble P-selectin (sP-selectin) in cell culture supernate, serum and plasma. Inserto del estuche con número de catálogo BBE6. www.rndsystems.com
40. Blann A, Sunil K, Lip G. The adhesion molecule P-selectin and cardiovascular disease. *Eur Hearth J* 2003;24:2166-2179.
41. R & D Systems Inc. Human soluble L-selectin immunoassay. For the quantitative determination of human soluble L-selectin (sL-selectin) in cell culture supernate, serum and plasma. Inserto del estuche con número de catálogo BBE4B. www.rndsystems.com
42. Rainer T. L-selectin in health and disease. *Resuscitation* 2002;52:117-141.
43. Masanori Y, Hideharu I, Akiko K, Reiji K, Makoto K. Studies on the endogenous L-selectin ligands: systematic and highly efficient total synthetic routes to lactamized-sialyl 6-0-sulfo Lewis X and other novel gangliosides containing lactamized neuraminic acid. *Carbohydrates Res* 2003;338:2793-2812.
44. Blann AD, McCollum CN. Circulating endothelial cell/leucocyte adhesion molecules in atherosclerosis. *Thromb Haemost.* 1994;72:151-154.
45. Ridker PM, Hennekens CN, Roitman-Johnson B, Stampfer MJ, Allen J. Plasma concentration of soluble intercellular adhesion molecule-1 and risk of future myocardial infarction in apparently healthy men. *Lancet* 1998;351:88-92.
46. Chavarría ME, Lara-González L, García-Paleta Y, Vital-Reyes VS, Reyes A. Adhesion molecules changes al 20 gestation weeks in pregnancies complicated by preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2007, artículo aceptado para publicación *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*.
47. Lara-González L, García Alonso A, Macías Gallardo E, Alpuche G. Mortalidad materna por eclampsia. Cinco años de revisión. *Ginec Obstet Mex* 1999;67:253-257.
48. Velasco Murillo V, Navarrete Hernández E, Hernández Alemán F, Anaya Coeto S, Pozos Cavanzo JL, Chavarría Olarte ME. Mortalidad materna en el IMSS. Resultados iniciales de una intervención para su reducci6. *Cir Ciruj* 2004;293-300
49. Velasco Murillo V, Navarrete Hernández E. La mortalidad materna en el Instituto Mexicano del Seguro Social en :Prioridades en Salud de la Mujer. Velasco Murillo V, Reyes Fuentes A. (Editores) México D:F:, IMSS 2002:57-66.
50. Roberts JM, Redman CW. Preeclampsia: more than pregnancy-induced hypertension. *Lanceet* 1993;341:1447-1451.
51. Greer IA, Dawes J, Johnson TA. Neutrophil activation is confined to the maternal circulation in pregnancy-induced by hypertension. *Obstet Gynaecol* 1991;73:28-32.

52. Briones GSJ, Díaz de León PM, Gómez-bravo TE, Avila EF. Protocolo de manejo en la preeclampsia-eclampsia. Estudio comparativo. *Cir Ciruj* 1999;67:4-10.
53. Higgins JR, Papayiann A, Brady HR. Circulating vascular cell adhesion molecule-1 in pre-eclampsia gestational hypertension and normal pregnancy: evidence selective dysregulation of vascular cell adhesion molecule-1 homeostasis in pre-eclampsia. *J Obstet Gynecol* 1998;179:464-469.
54. Newman W, Beall LD, Cargan CW. Soluble E-selectin is found in supernatants of activated endothelial cells and is elevated in the serum of patients with septic shock. *J Immunol* 1993;150:644-654.
55. Blann AD, Lip GHY. Hypothesis: is soluble P-selectin a new marker of platelet activation? *Atherosclerosis* 1997;128:135-138.
56. Scyerffenbaum B, Spertee O, Teodder TF. Soluble L-selectin is present in human plasma at high levels and retains functional activity. *J Cell Biol* 1992;141:229-238.
57. Karnada H, Morita I, Handa M. Re-expression of functional P-selectin molecules on the endothelial cell surface by repeated stimulation with thrombin. *Br J Haematol* 1997;97:348-355.
58. Ginsberg MH, González FD. Regulation of cell adhesion events through adhesion receptors. In: Koopman WJ, editor. *Arthritis and allied conditions*. 13 th ed. USA: Williams and Wilkins; 1997:479-490.
59. Price DT, Loscalzo J. Cellular adhesion molecules and atherogenesis. *Am J Med* 1999;107:85-97.
60. Konijnbergen A, Stokkers EW, van del Post JA, Sturk A. Extensive platelet activation in preeclampsia compared with normal pregnancy: enhanced expression of cell adhesion molecules. *Am J Obstet Gynecol* 1997;176:461-469.
61. Halim A, Kanayama N, Maradny E. Plasma P-selectin and glycofascin are elevated in pre-eclampsia and eclampsia: their significances. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174:2272-277.
62. Salazar-Exaire JD, Reyes-Martínez RJ, González-Alvarez R, Briones-Garduño JC. P-selectina como marcador de reactividad andotelial en pacientes con preeclampsia. *Cir Ciruj* 2004;72:121-124.
63. Pacheco J. Preeclampsia-eclampsia: challenge for Obstetrician-Gynecologist. *Acta Med Per* 2006;23:100-111.
64. Krauss T, Kuhn W, Lakorna C. Circulating endothelial cell adhesion molecules as diagnostic markers for the early identification of pregnant woman at risk for development of preeclampsia. *Am j Obstet Gynecol* 1997;177:443-449.
65. Anim-Nyame A, Sooranna SR, Jhonson MR, Sullivan MH, Gamble J. Impaired retrograde transmission of vasodilatory signals via the endothelium in preeclampsia; a cause of reduced tissue blood flow. *Clinical Science* 2004;106:19-25.
66. Daniel Y, Kupfermine MJ, Boram A, Jaffa AJ, Wolman I, Shehav M, Lessing JB. Plasma soluble endothelial selectin is elevated in woman with pre-eclampsia. *Human Reproduction* 1998;13:3537-3541.
67. Buda KE, Madazli R, Aksu MF, Benian A, Gezer A, Palit N. Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) and leukocyte activation in preeclampsia and eclampsia. *Int J Gynaecol Obstet* 1998;63:115-121.
68. Kim SY, Ryu HM, Yang JH, Kim MY, Ahn HK, Lim HJ. Maternal serum levels of VCAM-1, ICAM-1 and E-selectin in preeclampsia. *J Korean Med Set* 2004;19:688-692.