



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL.

UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD

HOSPITAL DE GINECO OBSTETRICIA NO. 4

“LUIS CASTELAZO AYALA”

**GLUCÓGENO FOSFORILASA ISOENZIMA BB COMO BIOMARCADOR
DEL DIAGNÓSTICO DE PREECLAMPSIA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN
MEDICINA MATERNO FETAL

P R E S E N T A:

DRA. MARILYN SERRANO RODRÍGUEZ



DIRECTOR DE TESIS:

DR. EN CIENCIAS MEDICAS ALFREDO LEAÑOS MIRANDA

CIUDAD DE MÉXICO

Noviembre 2017.



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.

CARTA DE ACEPTACIÓN DEL TRABAJO DE TESIS

Por medio de la presente informamos que la C. Marilyn Serrano Rodríguez residente de la especialidad de Medicina Materno Fetal ha concluido la escritura de su tesis “GLUCÓGENO FOSFORILASA ISOENZIMA BB COMO BIOMARCADOR DEL DIAGNÓSTICO DE PREECLAMPSIA” con número de registro del proyecto R-2016-3606-25 por lo que otorgamos la autorización para la presentación y defensa de la misma.

Dr. Oscar Moreno Álvarez
Director General
Unidad Médica de Alta Especialidad
Hospital de Gineco Obstetricia No. 4, “Luis Castelazo Ayala”
Instituto Mexicano del Seguro Social

Dr. Juan Carlos Martínez Chéquer
Director de Educación e Investigación en Salud
Unidad Médica de Alta Especialidad
Hospital de Gineco Obstetricia No. 4, “Luis Castelazo Ayala”
Instituto Mexicano del Seguro Social

Dr. Sebastián Carranza Lira
Jefe de la División de Investigación en Salud
Unidad Médica de Alta Especialidad
Hospital de Gineco Obstetricia No. 4, “Luis Castelazo Ayala”
Instituto Mexicano del Seguro Social

Dr. Alfredo Leños Miranda
Investigador Titular B. Doctor en Ciencias Médicas. Unidad de Investigación Médica en Medicina
Reproductiva
Unidad Médica de Alta Especialidad
Hospital de Gineco Obstetricia No. 4, “Luis Castelazo Ayala”
Instituto Mexicano del Seguro Social

DEDICATORIA:

...“Toda la Escritura es inspirada por Dios y útil para enseñar, para reprender, para corregir y para instruir en la justicia,¹⁷ a fin de que el siervo de Dios esté enteramente capacitado para toda buena obra.”

TIMOTEO 3:16, 17

A DIOS:

Porque un objetivo más se ha cumplido.

A MI MADRE:

Tu forma de ser fue mi ideal, tu sacrificio mi aliento y tu esfuerzo constante la fuerza de mi voluntad, jamás encontraré la forma de agradecer tu amor y apoyo constante, recuerda que mis sueños y logros han sido tuyos también e inspirados en ti.

AGRADECIMIENTOS:

Dr. Alfredo Leños: no hay palabras para expresar mi respeto y admiración por el mejor médico que he conocido, un hombre ejemplar y un excelente ser humano. Mi agradecimiento infinito por la incomparable oportunidad de aprender a su lado y de permitirme ser parte de este proyecto.

Dra. Inova Campos: además de ser excelente médico es la mejor amiga que siempre quise tener, gracias a sus enseñanzas, consejos y palabras de aliento que me han inspirado a ser mejor cada día.

INDICE	Página
Abreviaturas	6
Resumen	8
Antecedentes	10
Justificación	20
Planteamiento del Problema	21
Objetivos	22
Hipótesis	22
Pacientes, material y métodos	23
Lugar del estudio	23
Diseño de Investigación	23
Diseño de la muestra	23
Definición de variables	25
Análisis estadístico	30
Resultados	31
Discusión	40
Conclusión	42
Referencias bibliográficas	43
Anexos	52

ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
SDG	Semanas de gestación
IMC	Índice de masa corporal.
PE	Preeclampsia
HELLP	Hemolytic anemia, Elevated Liver enzyme, Low Platelet count, (Hemólisis, elevación de enzimas hepáticas y plaquetas bajas)
TAS	Tensión arterial sistólica
TAD	Tensión arterial diastólica
GPBB	Enzima Glucógeno fosforilasa isoenzima BB
sFlt-1	Factor anti-angiogénico soluble fms-like tirosina cinasa-1
PIGF	Factor de crecimiento placentario
VEGF	Factor de crecimiento vascular endotelial
VEGF-1	Receptor de factor de crecimiento vascular endotelial tipo 1
VEGF-2	Receptor de factor de crecimiento vascular endotelial tipo 2
sEng	Endoglina soluble
TGF	Factor de crecimiento transformante
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas)
RCIU	Restricción del crecimiento intrauterino

TGO	Transaminasa glutámico oxalacética
TGP	Transaminasa glutámico pirúvica
DHL	Deshidrogenasa láctica
U/L	Unidades/ litro
dL	Decilitros
ng	Nanogramos
mL	Mililitros
VPP	Valor Predictivo Positivo
VPN	Valor Predictivo Negativo
COR	Curvas Características Operantes del Receptor
IC	Intervalo de confianza
RIC	Rango intercuartílico
DE	Desviación estándar
ABC	Área bajo la curva

RESUMEN ESTRUCTURADO

Antecedentes: En la preeclampsia (PE) se altera el metabolismo del glucógeno placentario ocasionando el escape de la enzima glucógeno fosforilasa isoenzima BB (GPBB) al torrente circulatorio.

Objetivo: Evaluar la utilidad de la concentración plasmática de la GPBB en el diagnóstico de PE.

Pacientes y métodos: Mediante un estudio transversal para evaluar una prueba diagnóstica se estudiaron a 444 mujeres con un embarazo \geq 20 semanas de gestación (181 mujeres sanas y 263 con PE [29 sin y 234 con datos de severidad]). Las concentraciones de GPBB se determinaron por un ensayo inmunoenzimático.

Resultados: Las concentraciones séricas de la GPBB fueron más elevadas en las pacientes con PE con datos de severidad que en las pacientes sanas o con PE sin datos de severidad ($p < 0.001$), pero semejantes entre los dos últimos grupos ($p = 0.29$). El mejor punto de corte para el diagnóstico de PE fue de 3.7 ng/ml, la sensibilidad y especificidad fueron de 51.3% y 96.1%, respectivamente, y los valores predictivos positivo y negativo de 95.1% y 57.6%, respectivamente. Las concentraciones de la GPBB se relacionaron a la trombocitopenia y/o transaminasemia.

Conclusiones: La GPBB presenta una modesta utilidad diagnóstica en la PE, sin embargo su alto valor predictivo positivo, puede confirmar la presencia de PE en el 95% de los casos. La GPBB se asocia a la intensidad de la trombocitopenia y a la presencia de transaminasemia, indicando que puede ser un biomarcador útil en la ocurrencia o predicción de eventos adversos relacionados a la PE.

Palabras clave: Desordenes hipertensivos del embarazo, Preeclampsia, Glucógeno fosforilasa isoenzima BB, Prueba diagnóstica.

SUMMARY

Background: In preeclampsia (PE), the metabolism of placental glycogen is disturbed, causing the release of the enzyme glycogen phosphorylase isoenzyme BB (GPBB) into the bloodstream.

Objective: To assess the utility of the plasma GPBB levels for the diagnosis of PE.

Patients and methods: Using a cross-sectional study to evaluate a diagnostic test, 444 pregnant women with ≥ 20 weeks of gestational age (181 healthy women and 263 with PE [29 without and 234 with severe features]) were studied. The concentrations of GPBB were determined by an immunoenzymatic assay.

Results: Plasma GPBB levels were higher in patients with PE with severe features than in healthy women or patients with PE without severe features ($p < 0.001$), but similar between the latter two groups ($p = 0.29$). The best cut-off point for the diagnosis of PE was 3.7 ng/ml, which yielded a sensitivity of 51.3% and a specificity of 96.1%, and the positive and negative predictive values were 95.1% and 57.6%, respectively. Plasma GPBB levels were associated to thrombocytopenia and/or transaminasemia.

Conclusions: GPBB shows a moderate diagnostic performance in PE, however, because of its high positive predictive value, it might confirm the presence of PE in 95% of cases. GPBB is associated with the intensity of thrombocytopenia and the presence of transaminasemia, suggesting that GPBB may be a useful biomarker for the occurrence or prediction of adverse outcomes related to PE.

Keywords: Hypertensive disorders of pregnancy, Preeclampsia, Glycogen phosphorylase isoenzyme BB, Diagnostic test.

ANTECEDENTES

Los desórdenes hipertensivos son la complicación médica más frecuente del embarazo y constituyen una causa importante de morbi-mortalidad materna y perinatal en todo el mundo. Los desórdenes hipertensivos del embarazo son usualmente clasificados en aquellos con hipertensión preexistente al embarazo y los que se presentan por primera vez después de la semana 20 de la gestación (hipertensión gestacional o preeclampsia) (1). La preeclampsia puede sobregregarse a la hipertensión preexistente o puede desarrollarse en mujeres con un diagnóstico inicial de hipertensión gestacional (2). Además, tanto la hipertensión gestacional como la preeclampsia son clasificadas en leve (sin datos de severidad) o severa (con datos de severidad) en base a ciertas cifras de la presión arterial o a la presencia de ciertas cantidades de proteinuria o por la presencia de disfunción multisistémica (1, 3).

La preeclampsia complica entre el 6% al 8% de todos los embarazos y es responsable de aproximadamente 200,000 muertes maternas a nivel mundial, la OMS ha informado que muere una mujer por esta causa cada 7 minutos (4). En México, ocasiona el 25 % de las muertes maternas (5). En Estados Unidos de Norteamérica, la preeclampsia ocasiona el 15% de las muertes maternas, siendo la segunda causa después de las enfermedades tromboembolicas (1, 6). En el Instituto Mexicano del Seguro Social, ocurrieron 1,033 muertes maternas por preeclampsia-eclampsia de acuerdo a los Comités de Estudios de Mortalidad Materna durante el periodo de 1987-1996. Las tres principales causas clínicas directas de las defunciones fueron hemorragia cerebral (46.2%), síndrome de HELLP (12.7%) y coagulación intravascular diseminada (10.7%) (5) y desde el punto de vista perinatal, la preeclampsia es responsable del 20-25% de todas las muertes con una tasa de mortalidad perinatal calculada de 134 x 1,000.

La preeclampsia es un síndrome específico del embarazo que se caracteriza por la heterogeneidad de los hallazgos clínicos, por lo que la patogénesis puede diferir en mujeres con varios factores de riesgo preexistentes. Es decir, la patogénesis de la preeclampsia puede ser diferente en aquellas mujeres con enfermedad vascular o renal preexistente, o enfermedades autoinmunes (tales como la hipertensión arterial crónica, diabetes mellitus pregestacional, glomerulonefritis, enfermedades del tejido conectivo, o trombofilias) (7).

En adición, los hallazgos clínicos de la preeclampsia también pueden manifestarse como un síndrome materno solo, un síndrome fetal (restricción del crecimiento intrauterino y/u oligohidramnios), o ambos; y estas manifestaciones pueden desarrollarse antes de un embarazo a término (20 a < 37 semanas de gestación), al término del embarazo o en el periodo post-parto (3).

Por consiguiente, el resultado materno y perinatal en estos desordenes hipertensivos del embarazo dependerá de la edad gestacional al inicio de la enfermedad, la severidad de la enfermedad, y la ausencia o presencia de condiciones médicas preexistentes.

En mujeres embarazadas previamente sanas, la preeclampsia usualmente se diagnóstica en la presencia de hipertensión de reciente inicio más proteinuria significativa (≥ 300 mg de proteínas en 24 hrs.) después de la semana 20 de gestación (1). Aunque se ha reportado que tanto la hipertensión y la proteinuria pueden estar ausentes hasta en el 10 al 15% de la embarazadas con síndrome de HELLP (hemólisis, elevación de enzimas hepáticas y plaquetas bajas) y entre el 20 al 25% de mujeres con eclampsia (8, 9).

Por otra parte, los criterios diagnósticos para preeclampsia y sus subtipos (leve, severa y sobreagregada) no han sido consistentes entre los trabajos publicados. Esto fue resaltado en una cohorte de 1,000 pacientes con desordenes hipertensivos del embarazo (10), de acuerdo a este estudio el 77% de las mujeres fueron diagnosticadas con preeclampsia de acuerdo al Australasian Society for the Study of Hypertension of Pregnancy 1993 Classification System (11), pero sólo el 16% de ellas tenían preeclampsia de acuerdo a los USA National High Blood Pressure Education Program Working Group and International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy Systems (12, 14). Estas mismas inconsistencias en los criterios diagnósticos de preeclampsia, así como de la definición de proteinuria significativa fue notada en dos estudios previos que analizaron más de 200 artículos que involucraban a mujeres con desordenes hipertensivos del embarazo (14, 15). Por último, los criterios diagnósticos para preeclampsia en mujeres sin enfermedad preexistente, no son del todo útiles en mujeres con hipertensión preexistente o proteinuria o ambas. En estas mujeres, usualmente el diagnóstico de preeclampsia sobreagregada es definido por inicio reciente de proteinuria o elevación de la concentración sérica de ácido úrico en mujeres con hipertensión aislada preexistente, o inicio reciente de hipertensión en mujeres con proteinuria aislada preexistente, o una elevación súbita de la presión arterial o un súbito incremento en la cantidad de proteinuria con o sin síntomas o alteraciones en las pruebas de laboratorio (1, 16).

Por todo lo antes mencionado, la investigación en este campo no ha dado resultados concluyentes en los métodos de predicción, marcadores diagnósticos, prevención o manejo de estos desordenes. Por lo que existe una urgente necesidad de marcadores bioquímicos o biofísicos para identificar a las mujeres que están en riesgo, confirmar el diagnóstico o el desarrollo de preeclampsia (especialmente en casos sospechosos), e identificar a las mujeres que tienen un alto riesgo de presentar complicaciones o cursos adversos del embarazo.

A pesar de una extensa investigación en la patogénesis de la preeclampsia, su etiología permanece desconocida. Durante la última década, numerosas anomalías fisiopatológicas han sido sugeridas para explicar el mecanismo que lleva al desarrollo de preeclampsia, incluyendo alteraciones en la diferenciación e invasión del trofoblasto, disfunción placentaria y endotelial, mala-adaptación inmunológica a los antígenos paternos, mala-adaptación cardiovascular, anomalías genéticas, exagerada respuesta inflamatoria sistémica o posibles deficiencias dietéticas (3).

La preeclampsia se considera una enfermedad de dos etapas, la primera involucra una placentación anormal debida a una baja invasión del citotrofoblasto a las arteriolas espirales maternas que provocan isquemia o insuficiencia placentaria, pero sin síntomas maternos. En la segunda etapa, las células trofoblásticas isquémicas sintetizan y secretan factores circulantes anti-angiogénicos que inducen la disfunción endotelial sistémica y el síndrome materno clásico de preeclampsia caracterizado por hipertensión y proteinuria (17). Es ampliamente aceptado que la placenta juega un papel central en la patogénesis de la preeclampsia, dado que esta sólo ocurre en su presencia y los síntomas clínicos remiten dramáticamente después de que la placenta es removida. La preeclampsia severa está asociada a alteraciones patológicas de hipoperfusión o isquemia placentaria conocidas como aterosclerosis aguda (obstrucción vascular difusa que incluye engrosamiento de la íntima, necrosis fibrinoide, trombosis e infartos placentarios).

Aunque estos cambios placentarios correlacionan con la severidad de la preeclampsia, hasta en un tercio de las pacientes, especialmente en aquellas con preeclampsia después de las 37 semanas de gestación, estas alteraciones placentarias pueden no estar presentes (18). Durante el desarrollo placentario normal, el citotrofoblasto invade las arterias espirales uterinas de la decidua y miometrio y completamente las remodela en vasos de gran capacitancia con baja resistencia; esta transformación vascular permite el incremento del flujo sanguíneo uterino para mantener al feto durante el embarazo. En la preeclampsia, el remodelamiento vascular es incompleto con una baja invasión del citotrofoblasto a las arterias espirales limitado a la decidua superficial ocasionando reducción de la perfusión placentaria y consecuentemente insuficiencia placentaria (19, 20). El remodelamiento de las arterias espirales uterinas se piensa que inicia al final del primer trimestre y se completa entre las 18-20 semanas, aunque el tiempo en que continúa la invasión del trofoblasto a las arterias es incierto. Durante el desarrollo placentario normal, el citotrofoblasto invasivo sub-regula la expresión de sus moléculas de adhesión características de su origen epitelial celular hacia un fenotipo de células endoteliales, a este proceso se le conoce como pseudovasculogénesis (21).

En la preeclampsia, el citotrofoblasto no cambia la expresión de sus moléculas de adhesión y fracasa en invadir adecuadamente las arterias espirales del miometrio (22). Los factores que regulan el proceso de pseudovasculogénesis pueden involucran muchos factores de crecimiento y citocinas; sin embargo varios estudios han mostrado que varias proteínas relacionadas con la angiogénesis son esenciales para el desarrollo normal de la placenta (regulación de la pseudovasculogénesis e invasividad del citotrofoblasto), tales como el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) y la angiopoyetina/tie. El citotrofoblasto invasivo expresa varios factores angiogénicos que incluyen el VEGF, el factor de crecimiento placentario (PlGF), y el receptor de VEGF tipo 1 (VEGFR-1, también conocido como receptor fms-like tirosina cinasa-1 [Flt-1]) los cuales son regulados por el factor inducible por hipoxia (HIF). En las placentas de mujeres con preeclampsia se ha encontrado que la expresión de estos factores angiogénicos se encuentra incrementada (23). Aunque los mecanismos patogénicos de este síndrome aún no son bien entendidos, se cree que la preeclampsia es el resultado de la isquemia útero-placentaria y de la disfunción de células endoteliales maternas (21-25).

Es bien reconocido, que todos los signos y síntomas de la preeclampsia se resuelven rápidamente después de la remoción de la placenta, por lo que recientes estudios se han enfocado a este órgano como la fuente de la enfermedad. A este respecto, varios estudios han sugerido que hay un imbalance de factores angiogénicos circulantes antes y después del inicio de la preeclampsia y que el origen para este imbalance de factores angiogénicos es la placenta. Varios estudios han mostrado que principalmente dos proteínas anti-angiogénicas que son secretadas por la placenta dentro de la circulación materna son las moléculas candidatas responsables para la hipertensión y la disfunción endotelial sistémica. Uno de ellos es la forma soluble del receptor fms-like tirosina cinasa-1 (sFlt-1), un inhibidor endógeno del VEGF y del PlGF que regulan la angiogénesis placentaria; y el otro es la endoglina soluble, un correceptor circulante que puede inhibir el señalamiento del factor de crecimiento transformante β -1 en la vasculatura.

Factores circulantes angiogénicos y preeclampsia.

El VEGF es un potente factor angiogénico y mitogénico para las células endoteliales. Su efecto se ejerce principalmente por vía de dos receptores, VEGFR-1 y VEGFR-2, también conocidos como fms-like tirosin cinasa-1 (Flt-1) y el dominio de la región cinasa (Flk/KDR), respectivamente (26). Una forma soluble y endogenamente secretada de Flt-1 (sFlt-1) es producida por splicing alternativo y contiene el dominio de unión extracelular pero no la porción transmembranal y citoplasmática (26, 27).

sFlt-1 es capaz de bloquear los efectos de VEGF por inhibir su interacción con su receptor a nivel de la membrana celular. De forma similar, el sFlt-1 también inhibe el PlGF, un miembro de la familia del VEGF y de los factores de crecimiento (28), el cual es producido principalmente por la placenta. El incremento de sFlt-1 durante la preeclampsia está asociado con la disminución en sangre de VEGF libre y PlGF libre. Estudios *in vitro* han indicado que el estado antiangiogénico de la preeclampsia inducido por el exceso de la producción placentaria de sFlt-1 puede ser rescatado dando VEGF y PlGF (29). La transferencia exógena del gen de sFlt-1 en ratas embarazadas por medio de un vector adenoviral provoca hipertensión, proteinuria y endoteliosis glomerular (la lesión renal clásica patológica de la preeclampsia) (29).

Estos hallazgos también han sido vistos en animales no preñados, sugiriendo que los efectos de sFlt-1 sobre la vasculatura materna fueron directos y no dependientes de la presencia de la placenta. En cambio, cuando las ratas embarazadas fueron tratadas con una forma soluble del receptor 2 de VEGF (sFlk-1), el cual no antagoniza al PlGF, no desarrollaron manifestaciones de preeclampsia, indicando que el antagonismo tanto de VEGF y PlGF fue necesario para desarrollar preeclampsia (29).

Estos estudios llevan a concluir que el exceso de sFlt-1 producido por placentas de mujeres con preeclampsia provoca una disminución de VEGF y PlGF, creando un estado antiangiogénico y el fenotipo de la preeclampsia (hipertensión y proteinuria presentes en el síndrome materno de preeclampsia).

El VEGF es bien conocido por sus propiedades proangiogénicas y vasodilatadoras, esta última ocurre por el incremento de la producción de óxido nítrico y prostaciclina, las cuales son moléculas de señalamiento disminuidas en la preeclampsia (30). En ratones transgénicos, incluso reducciones del 50% en la producción de VEGF provoca endoteliosis glomerular y proteinuria (31). Aún más, un gran porcentaje de pacientes que reciben anticuerpos anti-VEGF para el tratamiento de cáncer desarrollan hipertensión y proteinuria (32, 33). Por consiguiente, al neutralizar el VEGF y PlGF por un exceso de sFlt-1 puede tener un papel aditivo en la patogénesis de la preeclampsia.

Los resultados de varios estudios concuerdan en que la expresión placentaria y las concentraciones séricas de sFlt-1 están aumentadas en mujeres con preeclampsia activa en comparación a las mujeres con embarazo normal (29, 34-41).

El PlGF es un miembro principal de la familia del VEGF, es el ligando para el VEGFR-1 e incrementa la respuesta angiogénica de VEGF (46). En varios estudios el PlGF se ha encontrado disminuido en el suero de mujeres con preeclampsia (29, 34, 37, 39, 47-53), esto puede ser explicado por su unión a las elevadas concentraciones de sFlt-1, sin embargo, no se puede descartar que exista una producción disminuida por la placenta de mujeres con preeclampsia.

En relación a esto último, se ha mostrado en estudios *in vitro* que la hipoxia regula la expresión de PGF en el tejido placentario. El cultivo aislado de sinciotrofoblasto humano de término bajo condiciones de hipoxia reduce tanto la expresión de ARNm de P/GF un 75% (54) como su concentración en los sobrenadantes (55), por lo que este mecanismo también puede explicar las concentraciones séricas bajas de PIGF en mujeres con preeclampsia o restricción del crecimiento intrauterino (RCIU).

El comportamiento en las concentraciones séricas del P/GF durante el embarazo es de una elevación paulatina durante los primeros dos trimestres, con un pico máximo entre las 29-32 semanas, y seguido de un descenso (37, 49); se piensa que esta disminución se debe al incremento en las concentraciones de sFlt-1 entre las 33-36 SDG.

Varios estudios han documentado que entre las 10-11 SDG, las concentraciones del PIGF son menores en las mujeres que posteriormente desarrollan preeclampsia que en las mujeres que permanecen normotensas al final del embarazo (37, 42, 47, 49, 56-62).

Recientemente, el PIGF urinario ha sido explorado como otra posible prueba de escrutinio para el diagnóstico de preeclampsia. Se ha reportado que las concentraciones del PIGF urinario son menores en las mujeres con preeclampsia que en las mujeres con un embarazo normal (62, 63). En un estudio transversal, se encontró que las concentraciones del PIGF urinario siguen un comportamiento paralelo al reportado previamente para el PIGF sérico (62). Cuando el PIGF urinario se combina con la relación sérica de sFlt-1/PIGF, un relación > 10 es indicativo de desarrollo de preeclampsia dentro de las siguientes 5 semanas (62), estos datos sugieren que un abordaje inicial para el escrutinio de preeclampsia costo-efectivo pudiera ser la determinación de PIGF urinario, seguido de la relación sérica sFlt-1/ PIGF en mujeres con PIGF urinario bajo. Dos estudios encontraron que en mujeres con preeclampsia clínica la relación urinaria sFlt-1/ PIGF tuvo una sensibilidad de 88.2% y una especificidad de 100% (63, 64, 65).

Aunque el VEGF juega un papel muy importante en la angiogénesis y probablemente en la preeclampsia, los estudios actuales usando al VEGF como marcador de preeclampsia han mostrado poca utilidad debido a los niveles circulantes de VEGF libre extremadamente bajos en el embarazo (< 30 pg/ml) (42, 49, 60).

La endoglina (Eng, CD105) es una glicoproteína homodimérica transmembranal, considerado como el correceptor funcional para el factor de crecimiento transformante (TGF)- β 1 y TGF- β 3 (66). El TGF- β induce la migración y proliferación de células endoteliales a través de la vía ALK1, pero también puede tener un efecto biológico opuesto si la vía activada es ALK5 (67) por lo que la Eng ha sido propuesta como el regulador de estas dos vías opuestas (67).

La Eng es principalmente expresada en células endoteliales (68), pero también es producida por macrófagos y monocitos activados (69, 70), precursores eritroides (71), y por el sinsiciotrofoblasto (72). El mecanismo por el cual la forma soluble de la endoglina (sEng) se genera no es claro, sin embargo el fenómeno de “shedding” o de separación puede explicar su presencia en la circulación tanto en sujetos normales como en aquellos con condiciones patológicas asociadas con una angiogénesis anormal (73).

Se ha propuesto que la forma soluble de la endoglina reduce la biodisponibilidad de TGF- β 1, y en consecuencia inhibe su vía de señalamiento (74).

La s-Eng es un factor anti-angiogénico que ha sido implicado en la fisiopatología de la preeclampsia por las siguientes observaciones: 1) La s-Eng inhibe la función endotelial *in vitro*, 2) la administración de endoglina induce hipertensión *in vivo*, 3) La expresión adenoviral combinada con los genes s-Eng y sFlt-1 en ratas preñadas induce hipertensión, proteinuria y restricción del crecimiento fetal, 4) el ARNm de endoglina esta sobrerregulado entre 3 a 5 veces en las placentas de mujeres con preeclampsia que de las mujeres sin preeclampsia (75).

En dos estudios que evaluaron las concentraciones séricas de factores anti- y angiogénicos a diferentes edades gestacionales antes del inicio de la preeclampsia reportaron que las concentraciones séricas de sEng se incrementan significativamente entre 2 a 3 meses previos del inicio de la preeclampsia, que su incremento es más marcado en aquellas mujeres que desarrollan preeclampsia antes de las 37 semanas de gestación y que el incremento de las concentraciones de sEng usualmente se acompaña de un aumento en la relación sFlt-1/PIGF o de las concentraciones de sFlt-1. En adición, en uno de estos estudios también fue notado que las concentraciones de sEng fueron más elevadas a través del embarazo en aquellas mujeres con RCIU de sus infantes, comparada a las mujeres con un embarazo normal (76-80).

Glucógeno fosforilasa isoenzima BB y preeclampsia.

La glucógeno fosforilasa (EC 2.4.1.1) (GP) es una enzima esencial involucrada en el metabolismo del glucógeno que cataliza la reacción inicial de la degradación del glucógeno convirtiéndolo a glucosa-1-fosfato, utilizando fosfato inorgánico (81). El rol fisiológico de la GP es proveer el combustible (glucosa) para el abastecimiento de energía requerido en el funcionamiento celular. La GP está presente en los diferentes tejidos humanos en tres diferentes isoformas o isoenzimas nombradas de acuerdo a los sitios de mayor expresión: GPLL (presente en el hígado), GPMM (en el músculo esquelético), y GPBB (cerebral).

La isoforma cerebral (GPBB) es también una forma dominante de la enzima en el cardiomiocito (82) y más recientemente ha sido demostrada su expresión y abundancia en la placenta (83). Las isoenzimas de la GP están codificadas en diferentes genes y difieren en su estructura lo cual refleja un metabolismo diferente en estos tejidos. La comparación de las diferentes isoformas de la GP humana se muestra en el cuadro 1 (84).

Cuadro 1. Características bioquímicas y fisiológicas de las isoformas humanas de la glucógeno fosforilasa (EC=2.4.1.1)^a.

	GPBB	GPLL	GPMM
Nombre del gen	PYGB	PYGL	PYGM
Localización cromosómica	20p11.2	14q11.2-q24.3	11q12-q13.2
Número de aminoácidos en el monómero ^b	843	847	842
Masa molecular del monómero (Da)	96.696	97.149	97.092
Estructura de la subunidad	Homodímero. Dímeros asociados dentro de un tetrámero	Homodímero. Dímeros asociados dentro de un tetrámero	Homodímero. Dímeros asociados dentro de un tetrámero
Sitios involucrados en la asociación de las subunidades	109,143	109,143	109,143
Cofactor	Fosfato de piridoxal	Fosfato de piridoxal	Fosfato de piridoxal
Regulación enzimática	-Alostérica (AMP alostericamente activado, en donde ATP, ADP, y glucosa-6-fosfato alostericamente inhibe la enzima) -Modificación covalente (fosforilación)	-Alostérica (AMP alostericamente activado, en donde ATP, ADP, y glucosa-6-fosfato alostericamente inhibe la enzima) -Modificación covalente (fosforilación)	-Alostérica (AMP alostericamente activado, en donde ATP, ADP, y glucosa-6-fosfato alostericamente inhibe la enzima) -Modificación covalente (fosforilación)
Sitios de unión al AMP	76	76	76
Sitios involucrados en el control alostérico	156	156	156
Sitio de fosforilación	Ser-15	Ser-15	Ser-15
Sitios humanos en donde la isoenzima es expresada [7]	Isoenzima predominante en el cerebro humano y miocardio (concentraciones mucho menores son encontrados en los leucocitos, bazo, riñones, vejiga, testículos, tracto digestivo y aorta, pero en estos tejidos GPLL es por mucho la forma predominante)	Isoenzima predominante en el hígado y todos los otros tejidos humanos, excepto en el corazón, músculo esquelético y cerebro	Músculos esqueléticos (contienen solamente GPMM), miocardio

AMP, ADP, ATP – adenosina monofosfato, - difosfato, -trifosfato, respectivamente.

^a Datos disponibles en la base de datos en línea: HUGO Comité para la Nomenclatura de Genes del Instituto de Bioinformática Europea (www.genenames.org) y del Consorcio UniProt (www.uniprot.org).

^b Antes de remover la metionina inicial.

Durante el embarazo, la hipoxia juega un papel crucial en el desarrollo placentario y embrionario normal durante el primer trimestre (88, 89), pero fundamentalmente la hipoxia debida a la insuficiencia placentaria se asocia al desarrollo de eventos adversos del embarazo, incluyendo preeclampsia y retardo del crecimiento intrauterino (90, 91). La hipoxia y la isquemia uteroplacentaria es un evento clave para la ocurrencia de la preeclampsia, la preeclampsia es considerada un desorden de dos etapas, en la etapa 1 (preeclampsia placentaria), incluye la placentación anormal resultando en hipoxia placentaria, y la etapa 2 (preeclampsia materna o clínica), incluye los signos y síntomas maternos originados por la disfunción endotelial sistémica debido a la liberación placentaria a la circulación materna de factores anti-angiogénicos, tales como el sFlt-1 y sEng (34-39).

Por otra parte, similar a las alteraciones del metabolismo del glucógeno durante la isquemia miocárdica, el metabolismo placentario del glucógeno en la preeclampsia se encuentra alterado, el contenido de glucógeno se encuentra incrementado en el sinciotrofoblasto, el cual es acompañado por un incremento de 16 veces de la sintasa de glucógeno y de 3 veces de la actividad de GP, es decir, de su forma soluble y consecuentemente un eflujo de la GPBB placentaria a la circulación materna y por consiguiente al incremento de las concentraciones séricas de la GPBB (83), por lo que recientemente esta enzima también se ha propuesto como candidato a biomarcador en la preeclampsia. A este respecto, solo existen dos estudios publicados que han evaluado el papel de la GPBB como biomarcador en la preeclampsia.

Lee J y cols. (83), reportaron los siguientes hallazgos: 1) existe un incremento fisiológico de las concentraciones circulantes durante el embarazo normal de la GPBB y que no sufre cambios significativos durante el primer, segundo y tercer trimestre del embarazo, así como tampoco son diferentes sus concentraciones entre mujeres sanas con o sin trabajo de parto fase activa (situación que puede inducir hipoxia placentaria); 2) las concentraciones plasmáticas de GPBB son significativamente mayores ($p < 0.001$) en las mujeres con preeclampsia pretérmino (media 72.6 ng/ml, RIQ 25-118 ng/ml) en comparación a las mujeres con embarazo normal (media 26.0 ng/ml, RIQ 12-50 ng/ml) o que en mujeres con un feto pequeño para la edad gestacional (media 15.9 ng/ml, RIQ 6-60 ng/ml); 3) Las concentraciones plasmáticas de GPBB no mostraron diferencias entre las mujeres con preeclampsia a término en comparación a las mujeres controles o con embarazo a término y con un feto pequeño para la edad gestacional. Cabe hacer mención que este estudio se realizó en una población de EUA que incluyó a más del 80% de mujeres de raza negra y que en su análisis no fue incluida la sensibilidad ni especificidad de la GPBB para el diagnóstico de preeclampsia. Recientemente, McCarthy FP y cols. (92), estudiando a una cohorte de mujeres

nulíparas y con embarazo único (población europea, 100% caucásicas) reportaron que las concentraciones plasmáticas de GPBB fueron significativamente mayores en las pacientes con preeclampsia que en las mujeres embarazadas sanas (controles), independientemente de si esta se presentaba a pretérmino (media 23.1 ng/ml, RIQ 11.2-30.9 ng/ml vs. 17.2 ng/ml, RIQ 9.8-19.1 ng/ml [$p= 0.04$]) ó a término (media 22.2 ng/ml, RIQ 15.1-39.8 ng/ml vs. 16.9 ng/ml RIQ 10.4-19.1 ng/ml [$p\leq 0.04$]). Empleando un punto de corte arbitrario de 20 ng/ml de GPBB (derivado de la media en mujeres sanas durante el primer trimestre del embarazo) reportaron una sensibilidad y especificidad de 91% (IC 95% 59-100%) y 64% (IC 95% 31-89%), respectivamente para preeclampsia pretérmino y de 92% (IC 95% 64-100%) y 55% (IC 95% 23-83%), respectivamente para preeclampsia a término. De igual forma, encontraron que las mujeres con un feto pequeño para la edad gestacional tenían concentraciones plasmáticas de GPBB significativamente mayores que las mujeres embarazadas sanas (media 22.7 ng/ml, RIQ 12.6-25.5 ng/ml vs. 17.0 ng/ml, RIQ 9.8-18.0 ng/ml, $p= 0.03$). Además, encontraron que las concentraciones plasmáticas de GPBB a las 20 SDG en mujeres que eventualmente desarrollaron preeclampsia fueron significativamente mayores que en las mujeres que no desarrollaron preeclampsia (media 23.0 ng/ml, RIQ 15.6-31.4 ng/ml vs. 17.0 ng/ml, RIQ 13.4-23.6 ng/ml, $p= 0.04$), pero a las 15 SDG no hubo diferencias.

De los dos estudios previos, se resalta que las concentraciones plasmáticas de GPBB entre raza negra y blanca difieren importantemente (siendo mayores en población de raza negra), que las concentraciones de GPBB son significativamente más elevadas en las pacientes al diagnóstico de preeclampsia en comparación a las mujeres sanas (pareadas por edad materna, IMC y SDG) y menos clara la asociación en el caso de mujeres con fetos pequeños para la edad gestacional. A pesar de que en el segundo estudio se hizo un intento de análisis de sensibilidad, no fue el punto de corte más adecuado para estimar su utilidad diagnóstica. Finalmente, los resultados del segundo estudio indican que la GPBB también podría ser un biomarcador útil para la predicción del riesgo de preeclampsia, sin embargo, las limitaciones del estudio fueron que sólo estudiaron dos ventanas gestacionales (15 y 20 SDG), además que desafortunadamente los autores no hicieron y tampoco contemplaron un análisis más racional y adecuado para la estimación del riesgo de preeclampsia a pesar de haber contado con el diseño apropiado.

Aunque aún escasa la información sobre la GPBB en preeclampsia, la GPBB parece ser un biomarcador prometedor por lo que aún se requieren de más estudios para establecer claramente la utilidad clínica de la GPBB en preeclampsia.

JUSTIFICACIÓN

La preeclampsia complica entre el 6% al 8% de todos los embarazos y es responsable de aproximadamente 200,000 muertes maternas a nivel mundial. En México, ocasiona el 25 % de las muertes maternas y desde el punto de vista perinatal, la preeclampsia es responsable del 20-25% de todas las muertes con una tasa de mortalidad perinatal calculada de 134 x 1,000.

Uno de los principales objetivos de la atención prenatal es disminuir la morbi-mortalidad materna y mejorar el resultado perinatal mediante la identificación temprana de las mujeres con riesgo de desarrollar preeclampsia y/o RCIU.

Desde el punto de vista clínico, el uso de los biomarcadores ya sean solos o en su combinación pueden ser relevantes en la preeclampsia, ya sea para confirmar el diagnóstico, determinar su severidad, así como para la predicción de cursos maternos adversos o el eventual desarrollo de preeclampsia. Aunque ya existen evidencias que soportan la utilidad de algunos factores pro y anti-angiogénicos principalmente para el diagnóstico o la predicción de la preeclampsia, el conocimiento de la fisiopatología de la preeclampsia abre ventanas de oportunidades para explorar nuevos biomarcador que pueden ser de mayor utilidad clínica en la preeclampsia. Además, la mayoría de las pruebas actualmente disponibles para fines de diagnóstico o predicción de desarrollo de preeclampsia son muy costosas, laboriosas, requieren de equipo sofisticado para su determinación y consumen mucho tiempo.

Por lo anterior, nuestro interés se enfocó en determinar si la aplicación de nuevas herramientas diagnósticas para la detección de la GPBB en sangre, pueden ser de utilidad en el diagnóstico de la preeclampsia.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

No existen al momento actual pruebas disponibles que sean baratas, fáciles de realizar y que se pueda contar con resultados inmediatos (a la cabecera de los pacientes) o en forma mediata para el diagnóstico o predicción de eventos maternos adversos, con el fin de ayudar al clínico en la toma de decisiones con la finalidad de disminuir la morbi-mortalidad materna y fetal.

Dos estudios previos han mostrado el potencial de la GPBB como biomarcador en la preeclampsia pero con limitaciones debido a tamaño de muestra, población estudiada y análisis estadísticos inadecuados o incompletos, entre otros.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN:

¿Cuál es el rendimiento diagnóstico de la inmunocromatografía lateral cualitativa y de una cuantitativa (ELISA) para la detección de GPBB en sangre en mujeres con preeclampsia?

OBJETIVOS

General

Evaluar la utilidad de la concentración de GPBB en sangre por inmunocromatografía lateral cualitativa y cuantitativa por ELISA en el diagnóstico de preeclampsia.

Específicos

1. Determinar la sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivo y negativo de la inmunocromatografía lateral cualitativa para la detección de GPBB en plasma en el diagnóstico de preeclampsia.
2. Determinar la sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivo y negativo por ELISA para la cuantificación de GPBB en plasma en el diagnóstico de preeclampsia.

HIPÓTESIS

1. El rendimiento diagnóstico de la inmunocromatografía lateral cualitativa para la detección de GPBB en plasma en el diagnóstico de preeclampsia tiene una sensibilidad y especificidad mayor o igual al 90%.
2. El rendimiento diagnóstico de la cuantificación de GPBB en plasma por ELISA en el diagnóstico de preeclampsia tiene una sensibilidad y especificidad mayor o igual al 90%.

PACIENTES MATERIAL Y MÉTODOS:

1. Lugar donde se realizó el estudio.

El estudio se llevó a cabo en el Servicio de Complicaciones Hipertensivas del Embarazo y en la Unidad de Investigación Médica en Medicina Reproductiva del Hospital de Gineco Obstetricia No. 4 "Luis Castelazo Ayala", Instituto Mexicano del Seguro Social.

2. Diseño de la Investigación.

Tipo de Estudio.

- a) Por el control de la maniobra experimental por el investigador: Observacional.
- b) Por la captación de la información: Prolectivo.
- c) Por la medición del fenómeno en el tiempo: Transversal.
- d) Por la presencia de un grupo control: Comparativo.
- e) Por la dirección del análisis: Sin dirección (Causa-Efecto).
- f) Por la ceguedad en la aplicación y evaluación de las maniobras: Ciego.

Diseño:

Estudio de transversal comparativo para evaluar una prueba diagnóstica.

3. Diseño de la Muestra.

3.1 Población de estudio: Mujeres embarazadas con ≥ 20 SDG y sin límite superior en la edad gestacional, como tampoco alguna o algunos intervalos específicos en las semanas de gestación con y sin el diagnóstico de enfermedad hipertensiva del embarazo.

3.2 Muestra: Mujeres consecutivas de embarazadas con y sin el diagnóstico de enfermedad hipertensiva del embarazo (muestreo no aleatorio), esto es, se tomó a todas las gestantes consecutivas de la población de estudio, en el periodo comprendido 1 ° junio de 2016 al 30 de junio de 2017.

3.3 Grupo de estudio: A partir de la muestra y a su seguimiento se identificaron a dos grupos, uno con diagnóstico de preeclampsia (subdivididos en base a la severidad de la enfermedad) y otro sin el diagnóstico de preeclampsia. Posteriormente se categorizaron en 4 grupos de acuerdo al recuento plaquetario/ μl ($\geq 150,000$, $100,000$ a $< 150,000$, $50,000$ a $< 100,000$ y $< 50,000$) o en dos grupos de acuerdo o no a la presencia de trombocitopenia ($< 100,000$ plaquetas/ μl) y/o transaminasemia y se relacionaron con la concentración de GPBB.

3.4 Criterios de selección:

a) Criterios de inclusión para la muestra.

1. Mujeres embarazadas con ≥ 20 SDG con y sin el diagnóstico de enfermedad hipertensiva del embarazo.
2. Con o sin la presencia de factores de riesgo para preeclampsia (tales como: antecedente de preeclampsia en embarazo anterior, historia familiar de preeclampsia o nuliparidad).
2. Aceptar colaborar en el estudio.

b) Criterios de eliminación.

1. No haberse obtenido en forma completa la información clínica y los resultados de las pruebas de laboratorio.
2. La ocurrencia de síndromes coronarios agudos y/o eventos vascular cerebral trombótico.
3. Insuficiencia arterial a cualquier nivel.

Tamaño de la Muestra

En la unidad de estudio se atienden a un gran número de pacientes con preeclampsia. El cálculo del tamaño de muestra para lograr los objetivos fue como sigue: En un estudio previo, la sensibilidad y la especificidad de la determinación de GPBB en plasma por ELISA a un punto de corte arbitrario de 20 ng/ml tuvo una sensibilidad de 92% y una especificidad de máxima de 89% para identificar a las mujeres con preeclampsia (92), sin embargo la mediana en las pacientes con preeclampsia en otro estudio fue de 72.6 ng/ml (83), se usó el paquete computacional Epi-Info versión 6 para un estudio de encuesta, considerando una población potencial de 200 mujeres, un valor de sensibilidad o especificidad peor aceptable de 80% y con un nivel de confianza de 99% o valor alfa de 0.01, asumimos que se requieren de 66 pacientes con preeclampsia leve, 66 con preeclampsia severa y 66 mujeres sin el diagnóstico de enfermedad hipertensiva del embarazo. Nuestra población de estudio fue mayor a la calculada en cada uno de los grupos.

DEFINICION DE LAS VARIABLES

1. Pacientes con preeclampsia y severidad de la preeclampsia (ESTANDAR DE ORO).

- Definición operativa: El diagnóstico de preeclampsia se basará en los criterios del American College of Obstetricians and Gynecologist (ACOG) (1, 3, 93). Se considerará que una paciente tiene **preeclampsia leve** (sin criterios de severidad) cuando sin el antecedente de hipertensión arterial sistémica desarrolle hipertensión arterial y proteinuria significativa después de la semana 20 de gestación. La hipertensión arterial se define como una presión arterial $\geq 140/90$ mmHg en dos ocasiones con 4 horas de diferencia y la proteinuria por una relación proteína: creatinina ≥ 0.3 (94) o ≥ 300 mg en la recolección de orina de 24 horas.

La **preeclampsia severa** (con criterios de severidad) se define como una TA sistólica ≥ 160 mmHg y/o una TA diastólica de ≥ 110 mmHg, con proteinuria significativa, sin historia de hipertensión arterial, nefropatía diabética, u otra enfermedad renal.

Otros criterios aunados a lo anterior incluso en ausencia de proteinuria significativa es la presencia de cefalea persistente, síntomas visuales, dolor epigástrico, oliguria, edema agudo de pulmón, elevación de enzimas hepáticas dos veces el valor normal de referencia o trombocitopenia $< 100,000 \mu\text{l}$, ó la presencia del síndrome de HELLP (Hemólisis, elevación de enzimas hepáticas y trombocitopenia) o crisis convulsivas no atribuibles a otras entidades (eclampsia). Tanto la hipertensión arterial y la proteinuria deben de resolverse posterior al parto (< 12 semanas).

La hipertensión crónica con **preeclampsia sobreagregada** se define como la presencia de hipertensión antes de la semana 20 de embarazo y que posteriormente desarrolla los criterios de preeclampsia antes señalado.

La hipertensión gestacional o inducida por el embarazo se define como la presencia de hipertensión arterial $\geq 140/90$ mmHg, pero sin proteinuria ni otros criterios antes mencionados de preeclampsia, para fines del objetivo este último grupo de pacientes se incluirá como sin preeclampsia y no serán analizados en esta propuesta.

PRUEBAS DIAGNÓSTICAS

1. GPBB plasmática por ELISA.

- Definición operativa. Se midió la GPBB plasmática por duplicado usando un estuche comercial de ELISA (Dianeonatal®, Diagenics). El límite de sensibilidad de la prueba es de 1.4 ng/ml y el rango de detección hasta de 160 ng/ml. Por medio de curvas características operantes del receptor (ROC) se determinó el mejor punto de corte para esta prueba.
- Escala de medición: Continua.
- Categoría de las variables: ng/ml.

2. GPBB plasmática por inmunocromatografía lateral cualitativa.

- Definición operativa: La medición de GPBB plasmática se realiza usando una tira de inmunocromatografía lateral comercial (PreDiagnost Ginecología®) siguiendo las instrucciones de los proveedores mostrando un resultado en 15 minutos. El resultado se expresa como positivo o negativo. El límite de sensibilidad de la prueba es de 25 ng/ml, por lo cual no fue posible aplicarla dado que los resultados encontrados en la prueba por ELISA son mucho menores y entonces se esperaría que los resultados reportados fueran negativos en todos los casos.
- Escala de medición: Nominal.
- Categoría de las variables: Dicotómica: Positiva
Negativa

DESCRIPCIÓN Y CONSIDERACIONES GENERALES DEL ESTUDIO

Una vez que la paciente aceptó participar en el estudio se obtuvo la información clínica de las variables a estudiar y en forma conjunta toma de muestra de orina y sangre por punción venosa periférica (aproximadamente 10 ml) para realizar las determinaciones de la GPBB y de la relación proteína/creatinina urinaria para detectar la presencia de proteinuria significativa. Una vez obtenida la información clínica y resultado de la prueba diagnóstica, se procedió a la etapa de análisis.

El análisis de los datos consistió de las siguientes etapas:

1. Análisis inicial. Se procedió a analizar la distribución de las frecuencias de las diferentes variables consideradas en el estudio, utilizando para ello las medidas de resumen apropiadas a cada

variable de acuerdo al nivel de medición y tipo de distribución. La consistencia en la medición de los ensayos se realizó mediante el coeficiente de variación.

2. Análisis final. Una vez determinados los parámetros a estudiar se construyeron curvas características operantes del receptor para la prueba cuantitativa (ELISA), con ella se determinó mejor punto de corte y el área bajo la curva será calculada usando el método de Hanley McNeil. Con base al mejor punto de corte se determinó su sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo, exactitud y tasas de probabilidad, así como también los IC 95% de cada valor.

No fue posible determinar la utilidad diagnóstica de la prueba cualitativa por inmunocromatografía debido a que el dispositivo de tira de inmunocromatografía lateral comercial (PreDiagnost Ginecología ®) cuenta con un límite de sensibilidad de 25 ng/ml y dado que los resultados encontrados en la prueba por ELISA son mucho menores se esperaba que los resultados reportados fueran negativos en todos los casos.

El nivel de significancia estadística en todos los casos será una $p < 0.05$ bimarginal para una hipótesis nula.

HIPÓTESIS NULA:

La inmunocromatografía lateral y el ensayo de ELISA para la determinación de GPBB tienen una sensibilidad y especificidad menor al 50% para el diagnóstico de preeclampsia.

ASPECTOS ÉTICOS

El presente estudio pretendió la utilización de muestras biológicas (orina y sangre) provenientes de mujeres embarazadas sanas y con el diagnóstico de Enfermedad Hipertensiva del Embarazo. Tanto las muestras de mujeres embarazadas sanas como de las mujeres con Enfermedad Hipertensiva del Embarazo provendrán del Servicio de Enfermedades Hipertensivas de la UMAE Hospital de Gineco Obstetricia No. 4 “Luis Castelazo Ayala” del IMSS.

Riesgo del estudio. De acuerdo al artículo 17 del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación, el riesgo de este proyecto fue mínimo. Se trata de un estudio que emplea procedimientos comunes en exámenes de diagnóstico rutinarios que en este caso particular son la toma de muestra de sangre y orina como métodos para el diagnóstico en mujeres con Enfermedad Hipertensiva del Embarazo. Así mismo, aunque esta investigación se realizó en mujeres embarazadas no existe riesgo de vulnerar a este tipo de población particular.

Apego a las normas éticas. En todos los casos las muestras fueron colectadas de acuerdo con los lineamientos Institucionales del Hospital y en estricto apego a la declaración de Helsinki de 1975 y al reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación vigentes.

Consentimiento informado. Todas las mujeres embarazadas incluidas en el estudio firmaron una carta de consentimiento informado (ANEXO 1), el cual representa el documento que se entregó a cada una de las participantes. En dicha carta, se empleó un lenguaje sencillo y accesible para las participantes, poniendo de manifiesto su libre decisión de participar o permanecer en el estudio sin que esto afectara o demeritara la atención que recibieron en el Instituto.

Contribuciones y beneficio a los participantes. La participación de las mujeres embarazadas en este estudio, NO generó ningún beneficio económico para los participantes y como la intención del estudio fue saber si las pruebas diagnósticas eran útiles en la Enfermedad Hipertensiva del Embarazo es probable que NO tengan una utilidad inmediata para el diagnóstico o manejo médico de la paciente. Sin embargo, se manifestó que la participación en el estudio será de gran utilidad en el avance del conocimiento científico y contribuir de esta manera a que a corto o mediano plazo se puedan utilizar como métodos de diagnóstico rápidos para establecer mejores planes en el manejo médico en las pacientes.

Balance riesgo/beneficio. Es importante señalar que la obtención de las muestras para este estudio NO representó riesgo alguno a su salud, ya que las tomas de muestra de sangre y orina son procedimientos que se hacen rutinariamente para apoyar el diagnóstico o la toma de decisiones en el manejo de las mujeres con Enfermedad Hipertensiva del Embarazo. El beneficio de participar en este estudio fue importante ya que podrá contribuir en el diagnóstico rápido para evaluar la severidad de la enfermedad y la posibilidad de predecir complicaciones en el embarazo que pueden poner en riesgo la vida de las mujeres con enfermedad hipertensiva del embarazo.

Confidencialidad. Los datos de las mujeres embarazadas que aceptaron participar en el estudio son mantenidos en total confidencialidad. A cada participante se le asignó un código único y específico con el cual se identificó cada muestra. Los datos completos sólo fueron accesibles al investigador responsable del protocolo, quien tuvo la obligación de no revelar la identidad de los participantes.

Obtención del consentimiento informado. La carta de consentimiento informado tanto de las mujeres con embarazo normal como de las mujeres con enfermedad hipertensiva del embarazo fueron obtenidos por cualquiera de los médicos participantes en el protocolo. El documento se obtuvo antes de la toma de muestra de sangre y orina en la que los médicos explicaron los objetivos del protocolo a cada uno de los posibles participantes.

Todos los médicos involucrados en el protocolo se comprometieron con la realización del mismo y cabe señalar que tienen una amplia experiencia en sus áreas de especialidad.

Selección de participantes. Las participantes al estudio fueron identificadas por los médicos tratantes y reclutadas por los médicos participantes en el estudio. Las participantes sanas fueron identificadas de la consulta externa del Hospital. En todos los casos la selección de las mujeres embarazadas fue imparcial, sin sesgo social, racial, sexual y cultural, respetando en cada momento la libertad y confidencialidad de los participantes.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico fue realizado con el programa estadístico SPSS v11 y MedCalc v. 11.5.1.0. La comparación de las variables continuas fue realizada con la prueba de *t Student* para muestras independientes. Cuando las variables no mostraron una distribución normal se empleó la prueba no paramétrica de U de Mann-Whitney. La comparación de las variables categóricas se hizo con prueba de χ^2 o la prueba exacta de Fisher para muestras pequeñas.

Las curvas características operantes del receptor (ROC) para la concentración sérica de GPBB se usaron para determinar el mejor punto de corte y el área bajo la curva, la cual se calculó usando el método de Hanley McNeil. Con base al mejor punto de corte se determinó su sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo, exactitud de la prueba, tasas de probabilidad, así como también los IC al 95% de cada valor para el diagnóstico de Preeclampsia.

Un valor de $p < 0.05$ bimarginal fue considerado estadísticamente significativo.

RESULTADOS

Descripción general de la población de estudio

Se estudiaron a un total de 444 pacientes embarazadas, las cuales fueron agrupadas de acuerdo a la presencia de preeclampsia (181 con un embarazo normoevolutivo [sin preeclampsia] y 263 mujeres con preeclampsia [29 sin datos de severidad y 234 con datos de severidad]). En la Tabla 1, se muestran las comparaciones de las variables clínicas y demográficas entre las pacientes embarazadas sanas y aquellas con preeclampsia independientemente de su severidad. No hubo diferencias significativas en la edad materna, número de embarazos previos, primiparidad, abortos, antecedente previo de preeclampsia, índice de masa corporal o en la edad gestacional al reclutamiento entre las mujeres sin y con preeclampsia. En contraste, las pacientes con preeclampsia tuvieron significativamente una edad gestacional menor a la interrupción del embarazo y el peso de sus infantes al nacer fue menor en comparación a las mujeres sin preeclampsia.

Tabla 1. Características clínicas y demográficas de las mujeres embarazadas sin y con preeclampsia.

	Sin Preeclampsia (n= 181)	Con Preeclampsia (n= 263)	Valor de P
Edad materna, años, media ± DE	29.2 ± 6.0	28.8 ± 6.0	0.52
Gesta, mediana (RIC)	2 (1-3)	2 (1-3)	0.95
Primigestas, n (%)	82 (45.3)	117 (44.5)	0.94
Abortos, mediana (RIC)	0 (0-1)	0 (0-1)	0.85
Antecedente de PE, n (%)	67 (37.0)	101 (38.4)	0.84
Índice de Masa Corporal, media ± DE	27.0 ± 5.5	26.9 ± 5.6	0.88
Edad gestacional al reclutamiento, semanas, media ± DE	32.3 ± 3.7	33.1 ± 4.4	0.12
Edad gestacional a la interrupción del embarazo, semanas, media ± DE	38.4 ± 1.1	33.3 ± 4.3	<0.001
Peso al nacer del infante, g, media ± DE	3,012 ± 282	1,781 ± 790	<0.001
Infante pequeño para la edad gestacional, n (%)	0 (0)	154 (58.6)	<0.001
RCIU, (%)	0 (0)	99 (37.6)	<0.001
Presión arterial sistólica, mm Hg, media ± DE	108 ± 10	161 ± 23	<0.001
Presión arterial diastólica, mm Hg, media ± DE	69 ± 7	105 ± 13	<0.001
Relación proteína/creatinina urinaria, (mg/dL)/(mg/dL), mediana (RIC)	0.17 (0.08 – 0.22)	1.23 (0.44 – 4.00)	<0.001
GPBB, ng/ml, mediana (RIC)	1.76 (0.75 – 2.44)	3.73 (0.96 – 16.10)	<0.001

DE = desviación estándar, RIC = rango intercuartílico, RCIU = restricción del crecimiento intrauterino

La frecuencia de un infante pequeño para la edad gestacional y de RCIU fue virtualmente ausente en las mujeres sin preeclampsia, mientras que en las pacientes con preeclampsia fue del 58.6% y 37.6%, respectivamente ($p < 0.001$). Finalmente, como era de esperarse, la presión arterial sistólica y diastólica fueron significativamente mayores en las pacientes con preeclampsia que en las mujeres sin preeclampsia, y la proteinuria significativa evaluada por la relación proteína/creatinina urinaria estuvo presente en todas las pacientes con preeclampsia y ausente en las mujeres sin preeclampsia.

Concentración plasmática de la GPBB

La Tabla 1 y 2 muestran las concentraciones plasmáticas de la GPBB en las pacientes estudiadas. Las concentraciones plasmáticas de la GPBB fueron significativamente mayores en las pacientes con preeclampsia independientemente de su severidad que en las mujeres sin preeclampsia ($p < 0.001$) (Tabla 1), sin embargo al comparar las concentraciones plasmáticas de la GPBB de acuerdo a la severidad de la preeclampsia, sólo fue significativamente mayor en las pacientes con preeclampsia con datos de severidad que en las mujeres sin preeclampsia o con preeclampsia sin datos de severidad ($p < 0.001$), pero similares entre las mujeres sin preeclampsia y aquellas con preeclampsia sin datos de severidad ($p = 0.29$) (Tabla 2 y Figura 1).

Tabla 2. Concentración plasmática de la GPBB en mujeres sin preeclampsia y con preeclampsia de acuerdo a la presencia o ausencia de datos de severidad.

	Sin Preeclampsia (n= 181)	Preeclampsia sin datos de severidad (n= 29)	Preeclampsia con datos de severidad (n= 234)	Valor de P
GPBB, ng/ml, mediana (RIC)	1.76 (0.75 – 2.44)	1.24 (0.08 – 2.69) ^a	4.29 (1.20 – 20.40) ^b	< 0.001

RIC = rango intercuartílico. ^a $p = 0.29$ vs. mujeres sin preeclampsia, ^b $p < 0.001$ vs. mujeres sin preeclampsia y pacientes con preeclampsia sin datos de severidad.

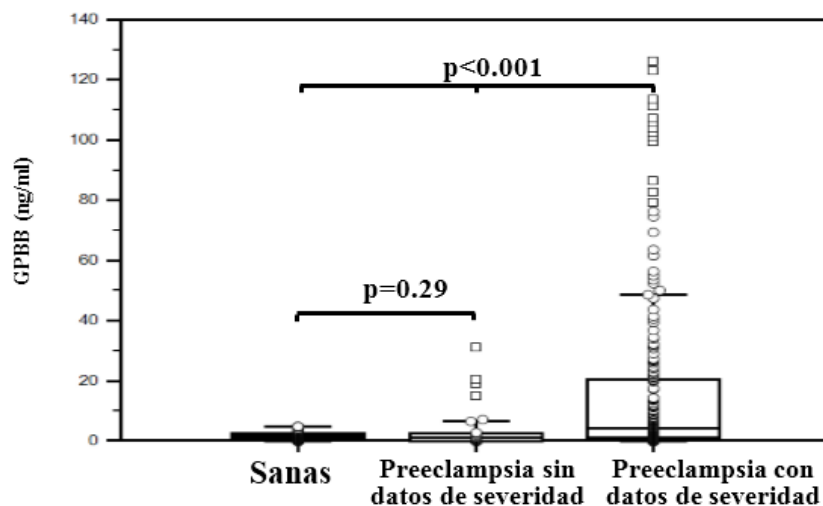


Figura 1. Gráfica de caja y bigotes comparando las concentraciones plasmáticas de la GPBB en mujeres embarazadas sanas y pacientes con preeclampsia sin y con datos de severidad. Las cajas representan los rangos intercuartílicos en donde la línea horizontal dentro de la caja representa la mediana; las líneas horizontales superiores e inferiores de la caja son las percentilas 75 y 25 de los datos de cada grupo y el bigote superior e inferior son las percentilas 90 y 10. Los cuadros o círculos abiertos representan valores extremos.

Para determinar la relación entre las concentraciones plasmáticas de la GPBB con las variables clínicas y de laboratorio entre las en las 444 pacientes estudiadas se hizo un análisis de correlación (Tabla 3). No hubo correlación entre las concentraciones plasmáticas de la GPBB con la edad materna, el índice de masa corporal o las concentraciones séricas de ácido úrico, mientras que hubo una significativa correlación positiva baja con las semanas de gestación, y la presión arterial sistólica y diastólica y una correlación negativa con el peso del recién nacido. La GPBB tuvo una significativa correlación regular y negativa con el número de plaquetas y una correlación buena y positiva con la TGO, TGP y DHL.

Tabla 3. Correlación entre la concentración plasmática de la GPBB y las variables clínicas y de laboratorio en las 444 mujeres embarazadas estudiadas.

	Coefficiente*	Valor de P
Edad materna	0.007	0.88
Índice de masa corporal	-0.016	0.73
Semanas de gestación	0.247	<0.001
Peso del recién nacido	-0.212	<0.001
Presión arterial sistólica	0.256	<0.001
Presión arterial diastólica	0.229	<0.001
Ácido úrico	-0.043	0.48
Plaquetas	-0.432	<0.001
Aspartato aminotransferasa	0.664	<0.001
Alanino aminotransferasa	0.647	<0.001
Deshidrogenasa láctica	0.517	<0.001
Rho de Spearman		

En adición, se realizó un subanálisis para determinar las concentraciones plasmáticas de la GPBB en las pacientes con preeclampsia agrupadas de acuerdo al tiempo de la presentación de la preeclampsia o la presencia de un infante pequeño para la edad gestacional, RCIU, trombocitopenia o transaminasemia (Tabla 4).

Tabla 4. Concentración plasmática de la GPBB (ng/ml) en mujeres con preeclampsia (n= 263) de acuerdo a la edad gestacional de la presentación de la preeclampsia, de un infante pequeño para la edad gestacional o RCIU y anormalidades en parámetros de laboratorio.

	Evento o condición		Valor de <i>P</i>
	Si	No	
< 34 semanas de gestación	3.59 (0.90 – 9.91) N=122	3.94 (1.10 – 19.80) N=141	0.31
Infante pequeño para la edad gestacional	3.31 (0.90 – 14.38) N=154	4.40 (1.20 – 17.20) N=109	0.35
Restricción del crecimiento intrauterino	3.12 (0.85 – 15.76) N=99	4.29 (1.06 – 16.10) N=164	0.42
Trombocitopenia (< 100,000/ μ l)	10.30 (3.14 – 42.65) N=99	2.45 (0.57 – 6.96) N=164	< 0.001
Transaminasemia	11.10 (4.25 – 33.10) N=131	1.51 (0.27 – 3.53) N=132	< 0.001
Trombocitopenia + transaminasemia	13.99 (4.30 – 48.60) N=86	2.38 (0.58 – 6.90) N=177	< 0.001

Los datos son expresados en medianas (rango intercuartílico).

Las concentraciones plasmáticas de la GPBB no fueron diferentes entre las pacientes con preeclampsia que presentaron la enfermedad antes o después de las 34 SDG, con o sin un feto pequeño para la edad gestacional o RCIU ($p \geq 0.031$), en cambio, las pacientes que desarrollaron trombocitopenia y/o transaminasemia tuvieron significativamente mayores concentraciones plasmáticas de GPBB ($p < 0.001$). En base a los resultados anteriores, se procedió a realizar dos nuevos análisis, para este fin, las pacientes con preeclampsia se categorizaron en cuatro grupos de acuerdo al recuento plaquetario/ μ l ($\geq 150,000$, $100,000$ a $< 150,000$, $50,000$ a $< 100,000$ y $< 50,000$) o en dos grupos de acuerdo o no a la presencia de trombocitopenia ($< 100,000$ plaquetas/ μ l) y/o transaminasemia. La Tabla 5 y Figura 2 muestran las comparaciones de las concentraciones plasmáticas de la GPBB y el recuento plaquetario. Las concentraciones de GPBB difirieron significativamente entre los grupos ($p < 0.001$), las muestras del grupo con $>150,000$ plaquetas/ μ l tuvieron las concentraciones más bajas de GPBB, mientras que el grupo con el conteo plaquetario más bajo ($< 50,000/\mu$ l) las más altas concentraciones de GPBB y los grupos $100,000$ a $150,000$ y $50,000$ a $< 100,000$ fueron intermedias entre sus grupos inferiores o mayores inmediatos, pero significativamente diferente, mostrando claramente un efecto dependiente, entre más severa la trombocitopenia, mayor concentración plasmática de la GPB.

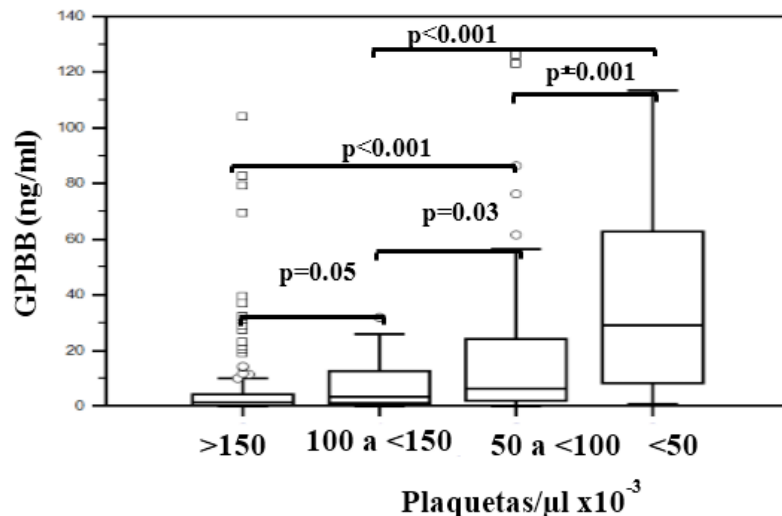


Figura 2. Gráfica de caja y bigotes comparando las concentraciones plasmáticas de la GPBB en pacientes con preeclampsia de acuerdo al recuento de plaquetas. Las cajas representan los rangos intercuartílicos en donde la línea horizontal dentro de la caja representa la mediana; las líneas horizontales superiores e inferiores de la caja son las percentilas 75 y 25 de los datos de cada grupo y el bigote superior e inferior son las percentilas 90 y 10. Los cuadros o círculos abiertos representan valores extremos.

Tabla 5. Relación entre la concentración plasmática de la GPBB (ng/ml) en mujeres con preeclampsia (n= 263) de acuerdo al recuento plaquetario.

Plaquetas/ $\mu\text{l} \times 10^{-3}$				Valor de P
> 150	100 a < 150	50 a < 100	< 50	
1.84 (0.36 – 4.90)	3.40 (1.15 – 11.58) ^a	6.46 (2.10 – 24.22) ^{b,c}	29.10 (8.35 – 62.75) ^d	< 0.001
n=117	n=47	n=63	n=36	

Los datos son expresados en medianas (rango intercuartílico). ^a p= 0.05 vs. > 150, ^b p< 0.001 vs. > 150, ^c p= 0.03 vs. 100 a < 150, ^d p< 0.001 vs. > 150, 100 a < 150 y 50 a < 100.

En cuanto a la relación de la GPBB de acuerdo a la presencia de trombocitopenia y/o transaminasemia, se encontró que las pacientes con cualquiera de estas dos condiciones o ambas, las concentraciones son significativamente mayores que en las pacientes con preeclampsia sin ninguna de estas dos condiciones o que en las mujeres embarazadas sanas (Tabla 6 y Figura 3).

Tabla 6. Concentración plasmática de la GPBB en mujeres sanas y con preeclampsia de acuerdo a la presencia o no de trombocitopenia y/o transaminasemia.

	Sanas (n=181)	PE sin trombocitopenia y/o transaminasemia (n=129)	PE con trombocitopenia y/o transaminasemia (n=134)	Valor de P
GPBB, ng/ml, mediana (RIC)	1.76 (0.75 – 2.44)	1.60 (0.35 – 3.87) ^a	9.96 (3.50 – 32.30) ^b	<0.001

RIC = rango intercuartílico. ^a p= 0.76 vs. mujeres embarazadas sanas, ^b p< 0.001 vs. mujeres embarazadas sanas y pacientes con preeclampsia sin trombocitopenia y/o transaminasemia.

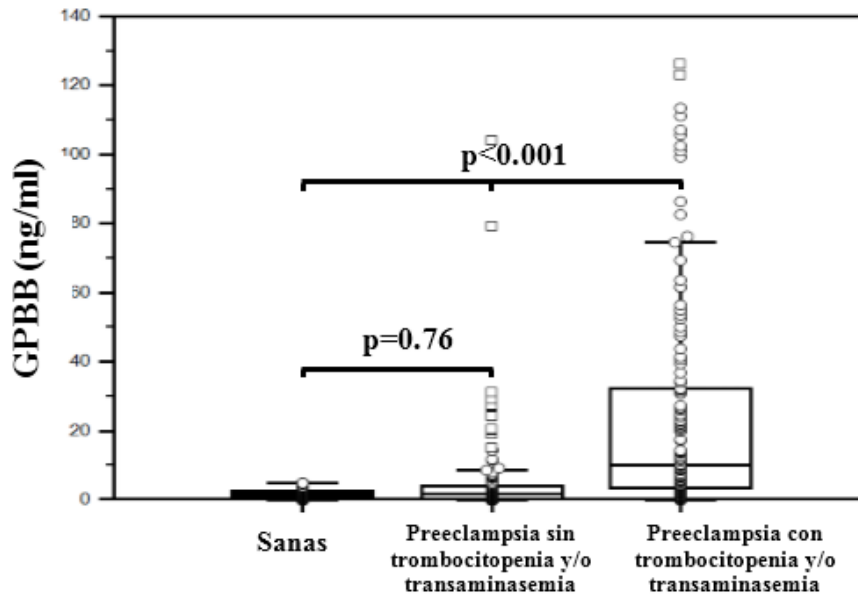


Figura 3. Gráfica de caja y bigotes comparando las concentraciones plasmáticas de la GPBB en mujeres embarazadas sanas y pacientes con preeclampsia de acuerdo a la presencia o no de trombocitopenia y/o transaminasemia. Las cajas representan los rangos intercuartílicos en donde la línea horizontal dentro de la caja representa la mediana; las líneas horizontales superiores e inferiores de la caja son las percentilas 75 y 25 de los datos de cada grupo y el bigote superior e inferior son las percentilas 90 y 10. Los cuadros o círculos abiertos representan valores extremos.

Finalmente, dado que hubo una correlación positiva entre las concentraciones plasmáticas de la GPBB con la edad gestacional en el grupo total de pacientes (Tabla 3) y aunque no se encontraron diferencias en la concentración de la GPBB al tiempo del inicio de la preeclampsia (Tabla 4), se decidió hacer un análisis entre las concentraciones plasmáticas de la GPBB entre las mujeres sanas y con preeclampsia de acuerdo a la edad gestacional mayor o menor de 34 SDG. En la Tabla 7 se muestran estas comparaciones.

Las concentraciones plasmáticas de GPBB fueron significativamente mayores en las mujeres sin preeclampsia reclutadas a una edad gestacional \geq 34 semanas que en las mujeres sin preeclampsia y reclutadas antes de las 34 SDG ($p < 0.001$), las pacientes con preeclampsia antes o después de las 34 SDG tuvieron concentraciones plasmáticas de la GPBB significativamente que las mujeres sin preeclampsia reclutadas antes o después de las 34 SDG, en cambio, se corroboró que las concentraciones de la GPBB fueron similares en las pacientes con preeclampsia a la presentación de la enfermedad (antes o después de las 34 SDG) ($p = 0.31$), estos datos indican que las mujeres embarazadas sanas las concentraciones plasmáticas de la GPBB antes de las 34 SDG son menores que en las mujeres embarazadas sanas después de las 34 SDG.

Tabla 7. Concentración plasmática de la GPBB (ng/ml) en mujeres sanas y con preeclampsia de acuerdo a las semanas de gestación al reclutamiento y toma de la muestra de sangre.

Sin Preeclampsia		Con Preeclampsia		Valor de P
< 34 SDG (n= 100)	≥ 34 SDG (n= 81)	< 34 SDG (n= 122)	≥ 34 SDG (n= 141)	
1.06 (0.66 – 2.02) ^a	2.25 (1.72 – 2.90) ^b	3.59 (0.90 – 9.91) ^c	3.94 (1.10 – 19.80) ^c	< 0.001

Los datos son expresados en medianas (rango intercuartílico). p≤ 0.001 b vs .a; c vs. a y b.

Rendimiento diagnóstico de la GPBB en la preeclampsia

Para determinar el rendimiento diagnóstico de la GPBB, se construyeron curvas COR. Tomando en consideración a toda la población estudiada el área bajo la curva COR fue de 0.69 (IC 95% 0.64-0.73, p< 0.001). El punto de corte óptimo fue de 3.7 ng/ml; a este punto de corte se tuvo una sensibilidad de 51.3% (IC 95% 45.1- 57.6), especificidad de 96.1% (IC 95% 92.2- 98.4), y valores predictivos positivos y negativos de 95.1% (IC 95% 90.1- 98.0) y 57.6% (IC 95% 51.8 - 63.3), respectivamente (Tabla 8). Al subdividir a las pacientes de acuerdo al tiempo en que ocurrió la preeclampsia, en el subgrupo en la que ocurrió de forma temprana (< 34 SDG) se obtuvo la mejor área bajo la curva. Un área bajo la curva menor se encontró en el subgrupo en que la preeclampsia ocurrió tardíamente (≥ 34 SDG). La Figura 4 muestra las curvas COR para todo el grupo de pacientes, así como para los subgrupos de preeclampsia de inicio temprano y tardío.

El punto de corte ideal para los subgrupos de preeclampsia de inicio temprano y tardío fueron de 2.8 ng/ml y 5.0 ng/ml, respectivamente; a estos puntos de corte se obtuvieron una sensibilidad de 58.2% y 46.8% respectivamente, especificidad de 93.0% y 100%, respectivamente (Tabla 8).

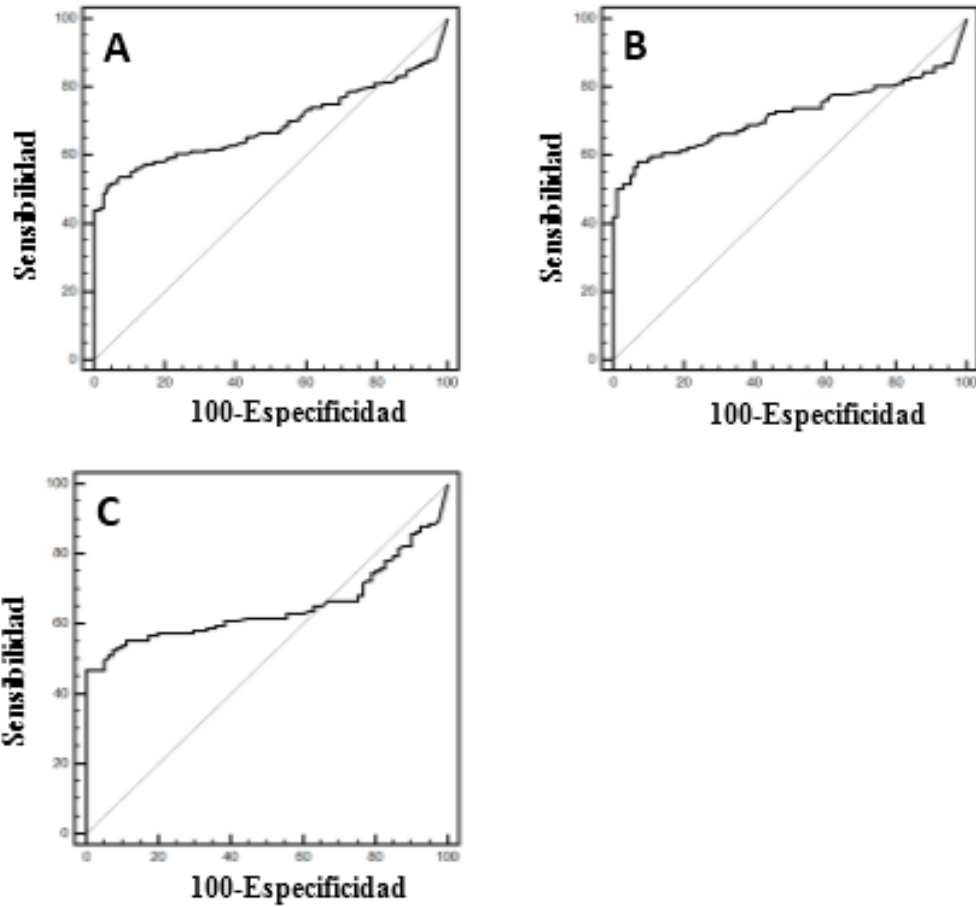


Figura 4. Curvas características operantes del receptor (COR) para la discriminación de mujeres embarazadas sanas y pacientes con preeclampsia mediante la determinación de la glucógeno fosforilasa isoenzima BB en: **A.** Todas las pacientes; **B.** Subgrupo de pacientes con preeclampsia de inicio temprano (<34 semanas de gestación); y **C.** Subgrupo de pacientes con preeclampsia de inicio tardío (≥ 34 semanas de gestación). ABC = área bajo la curva.

Tabla 8. Rendimiento diagnóstico de la GPBB plasmática en la preeclampsia.

Grupo	Punto de corte	ABC (IC 95%)	Sensibilidad (IC 95%)	Especificidad (IC 95%)	VPP (IC 95%)	VPN (IC 95%)	TVP (IC 95%)	TVN (IC 95%)
Todas	> 3.7	0.69 (0.64 – 0.73)	51.3 (45.1 – 57.6)	96.1 (92.2 – 98.4)	95.1 (90.1 – 98.0)	57.6 (51.8 – 63.3)	13.3 (11.8 15.0)	0.5 (0.2 – 1.1)
		p<0.001						
< 34 SDG	> 2.8	0.72 (0.65 – 0.79)	58.2 (48.9 – 67.1)	93.0 (86.1 – 97.1)	91.0 (82.3 – 96.3)	64.6 (56.2 – 72.4)	8.3 (7.1 – 9.8)	0.5 (0.2 – 0.9)
		p<0.001						
≥ 34 SDG	> 5.0	0.65 (0.56 – 0.72)	46.8 (38.4 – 55.4)	100 (95.5 – 100)	100 (94.5 – 100)	51.9 (43.8 – 60.0)	37.9 (31.7 – 45.3)	0.5 (0.1- 3.8)
		p<0.001						

ABC = Área bajo la curva; IC = intervalos de confianza; VPP = Valor predictivo positivo; VPN = Valor predictivo negativo; TVP = Tasa de verosimilitud positiva;

TVN = Tasa de verosimilitud negativa; SDG.

< 34 SDG (Con preeclampsia n= 122, sin preeclampsia n= 100).

≥ 34 SDG (Con preeclampsia n= 141, sin preeclampsia n= 81).

DISCUSIÓN

En el presente estudio, involucrando a un gran número de mujeres con un embarazo normoevolutivo y pacientes con preeclampsia, encontramos que las concentraciones plasmáticas de la GPBB fueron significativamente más elevadas en las mujeres con preeclampsia independientemente de su severidad, sin embargo las concentraciones de la GPBB no difirieron entre las mujeres embarazadas sanas y las pacientes con preeclampsia sin datos de severidad, en contraste las concentraciones de la GPBB fueron significativamente más elevadas en las pacientes con preeclampsia con datos de severidad que en las mujeres sanas o con preeclampsia sin datos de severidad. En adición, las concentraciones más elevadas de la GPBB se asociaron a la intensidad de la trombocitopenia y a la presencia de transaminasemia. Aunque nuestros resultados son acordes a dos estudios previos en donde reportaron que las concentraciones de la GPBB fueron más elevadas en las pacientes con preeclampsia que en las mujeres sanas (83, 92), las concentraciones de la GPBB difirieron marcadamente a las reportadas en este estudio. Lee J y cols. (83) encontraron concentraciones en mujeres embarazadas sanas 22 veces mayores y en las pacientes con preeclampsia concentraciones de 10 a 18 veces mayores a las reportadas en este estudio, mientras que McCarthy FP y cols. (92) incrementos intermedios a los nuestros, de 9 y 6 veces, respectivamente. Estas discrepancias tan marcadas en las concentraciones plasmáticas de la GPBB sólo pueden ser explicadas por diferencias raciales, ya que para Lee J y cols. la población de estudio fue mayoritariamente de raza negra (más del 82.4%), mientras que la población de McCarthy FP y cols. fue Caucásica-Europea en el 95%, que contrasta importantemente con nuestra población de estudio Mestizo-Mexicana en el 100%. Otros factores que expliquen las variaciones en las concentraciones plasmáticas de la GPBB parecen improbables dado que los estudios previos fueron pareados por edad materna, paridad, nuliparidad, semanas de gestación e índice de masa corporal, así como la técnica para la cuantificación de la GPBB, ya que esos estudios incluyendo el nuestro se realizó con el mismo estuche comercial de ELISA (Diagenics, Germany). Nuestro estudio no encontró relación entre las concentraciones de la GPBB con la edad materna, paridad, ni con el índice de masa corporal, por lo que la raza es la única explicación probable para las diferencias de la GPBB entre estos estudios y el nuestro, sin embargo en estudios posteriores esto debe ser demostrado. Interesantemente, en el estudio de Lee J y cols. (83) estudiaron a 33 mujeres sanas no embarazadas y encontraron que la mediana de la concentración de la GPBB fue de 9.2 ng/ml (RIQ 1.5-61.8 ng/ml), lo que significa que aproximadamente el 50% de estas mujeres no embarazadas tenían una concentración por arriba de 10 ng/ml, el cual es el punto de corte usado comúnmente para el diagnóstico de síndromes coronarios agudos, principalmente infarto agudo al miocardio en

sujetos sin embarazo (84-87), por lo que los datos de ese estudio deben ser interpretados cautelosamente.

Por otra parte, encontramos que las concentraciones de la GPBB correlacionaron positivamente con la edad gestacional, en un análisis posterior demostramos que en las mujeres embarazadas sanas las concentraciones de la GPBB fueron significativamente mayores en aquellas con una edad gestacional ≥ 34 semanas que en aquellas con < 34 semanas de gestación, en contraste, este mismo análisis mostró que en las pacientes con PE no hubo diferencia en las concentraciones de la GPBB entre aquellas con ≥ 34 SDG en comparación a aquellas con < 34 SDG. Además, en las pacientes con preeclampsia independientemente de la edad de gestación, las concentraciones de la GPBB fueron significativamente mayores que en las mujeres embarazadas sanas independientemente de la edad gestacional. Estos datos son consistentes con los reportados por MaCarthy FP, y cols. (92) encontrando que tanto las pacientes con preeclampsia de inicio temprano (< 34 SDG), como las de inicio tardío (≥ 34 SDG) las concentraciones de la GPBB fueron significativamente mayores que en las mujeres embarazadas sanas. Finalmente, encontramos que las concentraciones de la GPBB no se asocian a la preeclampsia complicada con un infante pequeño para la edad gestacional o con RCIU, datos que están acorde a los reportados previamente (83).

En general el rendimiento diagnóstico de la concentración plasmática de la GPBB fue pobre para el total de las pacientes estudiadas como por subgrupos de acuerdo a la edad gestacional de inicio de la preeclampsia en comparación a otras pruebas como los factores angiogénicos (37, 78, 80). Un estudio previo (92), tomando un punto de corte arbitrario de 20 ng/ml, los valores de sensibilidad y especificidad fueron semejantes a los nuestros si tomamos en consideración los IC 95% tan amplios debido al reducido número de sujetos en su estudio. En este estudio, aunque a los puntos de corte ideales de la concentración plasmática de la GPBB en el total de pacientes, así como en los subgrupos de estudio de acuerdo a la presentación de la preeclampsia tuvieron bajas sensibilidades, tuvieron una alta especificidad que va del 93% al 100% y sus respectivos valores predictivos positivos fueron muy altos, indicando que independientemente de la edad gestacional de la presentación de la preeclampsia a un punto de corte > 3.7 ng/ml de la GPBB se tiene un valor predictivo positivo de 95.1% (IC 95% 90.1-98.0) de confirmar la presencia de preeclampsia, mientras que para la preeclampsia temprana (< 34 SDG) con un punto de corte de > 2.8 ng/ml de la GPBB y para la preeclampsia tardía (≥ 34 SDG) de > 5.0 ng/ml de la GPBB se confirma la preeclampsia en el 91.0% (IC 95% 82.3-96.3) y 100% (IC 95% 95.5-100), respectivamente, en contraste, la capacidad de la prueba para descartar la presencia de la enfermedad es pobre a esos puntos de corte, oscilando del 51.9% al 64.6%. Dado que la mayor población de estudio fueron pacientes con preeclampsia con datos de severidad (89.0%) y considerando que este tipo de

pacientes son los que presentan mayor riesgo de presentar un curso materno adverso y/o perinatal, esto hace a la prueba deseable como un potencial biomarcador en la toma de decisiones con el fin de disminuir la morbi-mortalidad materna y perinatal y consecuentemente costes de la atención médica, sin embargo, estos datos deben ser claramente demostrados en estudios prospectivos y deseablemente en ensayos clínicos aleatorizados para últimamente definir la utilidad de la GPBB como un biomarcador en la preeclampsia.

Las limitaciones del estudio incluyen a un número reducido de pacientes con preeclampsia sin datos de severidad y la no inclusión de pacientes con otras condiciones obstétricas que comparten similitudes con la preeclampsia, como la hipertensión gestacional o embarazos complicados con infantes pequeños para la edad gestacional o RCIU sin preeclampsia. Estos datos, tampoco pueden ser generalizados a mujeres embarazadas con alto riesgo de desarrollar preeclampsia, tales como hipertensión arterial crónica, diabetes pre- o gestacional, desordenes autoinmunes u otras condiciones de salud.

Finalmente, debido a que la intención de este estudio era utilizar una prueba rápida para la detección de la GPBB, esta parte del estudio no se pudo desarrollar dado que el punto de corte de la inmunocromatografía lateral disponible comercialmente es de 25 ng/ml, muy superior a los puntos de corte de la GPBB establecidos por la técnica de ELISA y de los valores encontrados en nuestra población de estudio.

CONCLUSIONES

En conclusión, las concentraciones plasmáticas de la GPBB difieren con la edad gestacional en mujeres embarazadas sanas. Las concentraciones de la GPBB son significativamente mayores en las pacientes con preeclampsia con datos de severidad en comparación a las mujeres con preeclampsia sin datos de severidad o en embarazadas sanas, pero las concentraciones de la GPBB entre mujeres sanas y con preeclampsia sin datos de severidad son semejantes. Las concentraciones de la GPBB se asocian a la severidad de la trombocitopenia, así como a la presencia de transaminasemia. Si bien el rendimiento diagnóstico de la GPBB es pobre, encontramos que sus valores predictivos positivos a los puntos de corte establecidos son clínicamente útiles para confirmar la presencia de preeclampsia.

REFERENCIAS

1. Report of the National High Blood Pressure Education Program. Working group on high blood pressure in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2000;188:S1-S22.
2. Barton JR, O'Brian JM, Bergaver NK, et al. Mild gestational hypertension remote from term: prognosis and outcome. *Am J Obstet Gynecol* 2001;184:979-983.
3. Sibai BM. Diagnosis and management of gestational hypertension and preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2003;102:181-192.
4. Myers JE, Baker PN. Hypertensive diseases and eclampsia. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2002;14:119-25.
5. Velasco V. Mortalidad materna por preeclampsia-eclampsia en el Instituto Mexicano del Seguro Social 1987-1996. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 1997;35:451-56.
6. Sibai BM, Caritis S, Hauth J. What we have learned about preeclampsia. *Semin Perinatol* 2003;27:239-245.
7. Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Pre-eclampsia. *Lancet* 2005;365:785-799.
8. Sibai BM. Diagnosis, controversies, and management of HELLP syndrome. *Obstet Gynecol* 2004;103:981-984.
9. Sibai BM. Diagnosis, prevention and management of eclampsia. *Obstet Gynecol* 2005;105:402-410.
10. Brown MA, Buddle ML. What's in a Name? Problems with the Classification of Hypertension in Pregnancy. *J. Hypertens* 1997;15:1049-1054.
11. Australasian Society for the Study of Hypertension in Pregnancy. Consensus Statement—Management of Hypertension in Pregnancy: Executive Summary. *Med J Aust* 1993;158:700-702.
12. National High Blood Pressure Education Program Working Group Report on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1990;163:1691-1712.
13. Davey DA, MacGillivray I. The classification and definition of the hypertensive disorders of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1988;158:892-898.

14. Chappell L, Poulton L, Halligan A, et al. Lack of consistency in research papers over the definition of pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 1999;106:983-985.
15. Harlow FH, Brown MA. The diversity of diagnoses of preeclampsia. *Hypertens Pregnancy* 2001;20:57-67.
16. Brown MA, Hague WM, Higgins J, et al. The detection, investigation and management of hypertension in pregnancy: executive summary. *Aust NZJ Obstet Gynaecol* 2000;40:133-138.
17. Roberts JM. Preeclampsia: What we know and what we do not know. *Semin Perinatol* 2000;24:24-28.
18. Salafia CM, Pezzullo JC, Ghidini A, et al. Clinical correlations of patterns of placental pathology in preterm pre-eclampsia. *Placenta* 1988;19:67-72.
19. Meekins JW, Pijnenborg R, Hanssens M, et al. A study of placental bed spiral arteries and trophoblast invasion in normal and severe pre-eclamptic pregnancies. *Br. J Obstet. Gynaecol* 1994; 101:669-674.
20. Red-Horse K, Zhou Y, Genbacev O, et al. Trophoblast differentiation during embryo implantation and formation of the maternal-fetal interface. *J Clin Invest* 2004;114:744-754.
21. Zhou Y, Fisher SJ, Janatpour M, et al. Human cytotrophoblasts adopt a vascular phenotype as they differentiate. A strategy for successful endovascular invasion? *J Clin Invest* 1997; 99:2139-2151.
22. Zhou Y, Damsky CH, Fisher SJ. Preeclampsia is associated with failure of human cytotrophoblasts to mimic a vascular adhesion phenotype. One cause of defective endovascular invasion in this syndrome? *J Clin Invest* 1997;99:2152-2164.
23. Brosens JJ, Pijnenborg R, Brosens IA. The myometrial junctional zone spiral arteries in normal and abnormal pregnancies: a review of the literature. *Am J Obstet Gynecol.* 2002;187:1416 -1423.
24. Roberts JM. Endothelial dysfunction in preeclampsia. *Semin Reprod Endocrinol.* 1998;16:5-15.
25. Ferrara N. Role of vascular endothelial growth factor in regulation of physiological angiogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001;280:C1358-C1366.

26. Kendall RL, Thomas KA. Inhibition of vascular endothelial cell growth factor activity by an endogenously encoded soluble receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:10705-10709.
27. He Y, Smith SK, Day KA, et al. Alternative splicing of vascular endothelial growth factor (VEGF)-R1 (FLT-1) pre-mRNA is important for the regulation of VEGF activity. *Mol Endocrinol* 1999;13:537-545.
28. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003;9:669-676.
29. Maynard SE, Min JY, Merchan J, et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest* 2003;111:649-658.
30. He H, Venema VJ, Gu X, et al. Vascular endothelial growth factor signals endothelial cell production of nitric oxide and prostacyclin through Flk-1/KDR activation of c-Src. *J Biol Chem* 1999;274:25130-25135.
31. Eremina V, Sood M, Haigh J, et al. SE. Glomerular-specific alterations of VEGF-A expression lead to distinct congenital and acquired renal diseases. *J Clin Invest* 2003;111:707-716.
32. Kabbinavar F, Hurwitz HI, Fehrenbacher L, et al. Phase II, randomized trial comparing bevacizumab plus fluorouracil (FU)/leucovorin (LV) with FU/LV alone in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2003;21:60-65.
33. Yang JC, Haworth L, Sherry RM, et al. A randomized trial of bevacizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antibody, for metastatic renal cancer. *N Engl J Med* 2003;349:427-434.
34. Zhou Y, McMaster MT, Woo K, et al. Vascular endothelial growth factor ligands and receptors that regulate human cytotrophoblast survival are dysregulated in severe preeclampsia and hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets syndrome. *Am J Pathol* 2002;160:1405-1423.
35. Tsatsaris V, Goffin F, Munaut C, et al. Overexpression of the soluble vascular endothelial growth factor receptor in preeclamptic patients: pathophysiological consequences. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:5555-5563.

36. Koga K, Osuga Y, Yoshino O, et al. Elevated serum soluble vascular endothelial growth factor receptor 1 (sVEGFR-1) levels in women with preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88:2348-2351.
37. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med* 2004;350:672-683.
38. Hertig A, Berkane N, Lefevre G, et al. Maternal serum sFlt1 concentration is an early and reliable predictive marker of preeclampsia. *Clin Chem* 2004;50:1702-1703.
39. Schlembach D, Beinder E. Angiogenic factors in preeclampsia. *J Soc Gynecol Invest* 2003;10:316A.
40. Bowers RW, Cooper KM, Gallaher MJ. Longitudinal analysis of serum sFlt-1 concentrations in normal pregnancy and preeclampsia. *J Soc Gynecol Invest* 2004;11:187A.
41. Chaiworapongsa T, Romero R, Espinoza J, et al. Evidence supporting a role for blockade of the vascular endothelial growth factor system in the pathophysiology of preeclampsia: Young Investigator Award. *Am J Obstet Gynecol* 2004;190:1541-1547.
42. Thadhani R, Mutter WP, Wolf M, et al. First trimester placental growth factor and soluble fms-like tyrosine kinase 1 and risk for preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:770-775.
43. McKeeman GC, Ardill JE, Caldwell CM, et al. Soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 (sFlt-1) is increased throughout gestation in patients who have preeclampsia develop. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:1240-1246.
44. Shibata E, Rajakumar A, Powers RW, et al. Soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt-1) is increased in preeclampsia but not in normotensive pregnancies with small for gestational age neonates: relationship to circulating placental growth factor (PlGF). *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:4895-4903.
45. Chaiworapongsa T, Romero R, Kim YM, et al. Plasma soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 concentration is elevated prior to the clinical diagnosis of pre-eclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2005;17:3-18.
46. Autiero M, Waltenberger J, Communi D, et al. Role of PlGF in the intra- and intermolecular cross talk between the VEGF receptors Flt1 and Flk1. *Nat Med* 2003;9:936-943.

47. Torry DS, Mukherjea D, Arroyo J, et al. Expression and function of placenta growth factor: implications for abnormal placentation. *J Soc Gynecol Invest* 2003;10:178-188.
48. Torry DS, Wang HS, Wang TH, et al. Preeclampsia is associated with reduced serum levels of placenta growth factor. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:1539-1544.
49. Taylor RN, Grimwood J, Taylor RS, et al. Longitudinal serum concentrations of placental growth factor: evidence for abnormal placental angiogenesis in pathologic pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 2003;188:177-182.
50. Reuvekamp A, Velsing-Aarts FV, Poulina IE, et al. Selective deficit of angiogenic growth factors characterises pregnancies complicated by pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 1999;106:1019-1022.
51. Livingston JC, Chin R, Haddad B, et al. Reductions of vascular endothelial growth factor and placental growth factor concentrations in severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:1554-1557.
52. Livingston JC, Haddad B, Gorski LA, et al. Placenta growth factor is not an early marker for the development of severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2001;184:1218-1220.
53. Tjoa ML, van Vugt JM, Mulders MA, et al. Plasma placenta growth factor levels in midtrimester pregnancies. *Obstet Gynecol* 2001;98:600-607.
54. Shore VH, Wang TH, Wang CL, et al. Vascular endothelial growth factor, placenta growth factor and their receptors in isolated human trophoblast. *Placenta* 1997;18:657-665.
55. Nagamatsu T, Fuji T, Kusumi M, et al. Cytotrophoblasts up-regulate soluble fms-like tyrosine kinase-1 expression under reduced oxygen: An implication for the placental vascular development and the pathophysiology of preeclampsia. *Endocrinology* 2004;145: 4838-4845.
56. Tidwell SC, Ho HN, Chiu WH, et al. Low maternal serum levels of placenta growth factor as an antecedent of clinical preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2001;184:1267-1272.
57. Bersinger NA, Odegard RA. Second- and third-trimester serum levels of placental proteins in preeclampsia and small-for-gestational age pregnancies. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2004;83:37-45.

58. Chappell LC, Seed PT, Briley A, et al. A longitudinal study of biochemical variables in women at risk of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2002;187:127-136.
59. Krauss T, Pauer HU, Augustin HG. Prospective analysis of placenta growth factor (PlGF) concentrations in the plasma of women with normal pregnancy and pregnancies complicated by preeclampsia. *Hypertens Pregnancy* 2004;23:101-111.
60. Polliotti BM, Fry AG, Saller DN, et al. Second-trimester maternal serum placental growth factor and vascular endothelial growth factor for predicting severe, early-onset preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2003;101:1266 -1274.
61. Su YN, Lee CN, Cheng WF, et al. Decreased maternal serum placenta growth factor in early second trimester and preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2001;97:898 -904.
62. Ong CY, Liao AW, Cacho AM, et al. First trimester maternal serum levels of placenta growth factor as predictor of preeclampsia and fetal growth restriction. *Obstet Gynecol* 2001;98:608-611.
63. Levine RJ, Thadhani R, Qian C, et al. Urinary placental growth factor and risk of preeclampsia. *JAMA* 2005;293:77-85.
64. Buhimschi CS, Norwitz ER, Funai E, et al. Urinary angiogenic factors cluster hypertensive disorders and identify women with severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2005;192:734 -741.
65. Widmer M, Villar J, Benigni A, et al. Mapping the theory of preeclampsia and the role of angiogenic factors: A systemic review. *Obstet Gynecol* 2007;109:168-180.
66. Barbara NP, Wrana JL, Letarte M. Endoglin is an accessory protein that interacts with the signaling receptor complex of multiple members of the transforming growth factor-beta superfamily. *J Biol Chem* 1999;274:584-594.
67. Goumans MJ, Valdimarsdottir G, Itoh S, et al. Balancing the activation state of the endothelium via two distinct TGF-beta type I receptors. *EMBO J* 2002;21:1743-1753.
68. Gougos A, Letarte M. Identification of a human endothelial cell antigen with monoclonal antibody 44G4 produced against a pre-B leukemic cell line. *J Immunol* 1988;141:1925-1933.
69. Lastres P, Bellon T, Cabanas C, et al. Regulated expression on human macrophages of endoglin, an Arg-Gly-Asp containing surface antigen. *Eur J Immunol* 1992;22:393-397.

70. O'Connell PJ, McKenzie A, Fisicaro N, et al. Endoglin: A 180-kD endothelial cell and macrophage restricted differentiation molecule. *Clin Exp Immunol* 1992;90:154-159.
71. Buhring HJ, Muller CA, Letarte M, et al. Endoglin is expressed on a subpopulation of immature erythroid cells of normal human bone marrow. *Leukemia* 1991;5:841-847.
72. Gougos A, St Jacques S, Greaves A, et al. Identification of distinct epitopes of endoglin, an RGD-containing glycoprotein of endothelial cells, leukemic cells, and syncytiotrophoblasts. *Int Immunol* 1992;4:83-92.
73. Fonsatti E, Del Vecchio L, Altomonte M, et al. Endoglin: An accessory component of the TGF-beta-binding receptor-complex with diagnostic, prognostic, and bioimmunotherapeutic potential in human malignancies. *J Cell Physiol* 2001;188:1-7.
74. Buhring HJ, Muller CA, Letarte M, et al. Endoglin is expressed on a subpopulation of immature erythroid cells of normal human bone marrow. *Leukemia* 1991;5:841-847.
75. Venkatesha S, Toporsian M, Lam C, et al. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med* 2006;12:642-649.
76. Levine RJ, Lam C, Qian C, et al. Soluble endoglin and other circulating angiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med* 2006; 355:992-1005.
77. Romero R, Nien JK, Espinoza J, et al. A longitudinal study of angiogenic (placental growth factor) and anti-angiogenic (soluble endoglin and soluble vascular endothelial growth factor receptor-1) factors in normal pregnancy and patients destined to develop preeclampsia and deliver a small for gestational age neonate. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2008;21:9-23.
78. Powers RW, Jeyabalan A, Clifton RG, et al., for the Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. Soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1), Endoglin and placental growth factor (PlGF) in preeclampsia among high risk pregnancies. *PLOS one* 2010;5:e13263
79. Ghosh SK, Raheja S, Tuli A, et al. Serum PLGF as a potential biomarker for predicting the onset of preeclampsia. *Archives of Gynecology & Obstetrics*. 2012;285:417-422.

80. Schiettecatte J, Russcher H, Anckaert E, et al. Multicenter evaluation of the first automated Elecsys sFlt-1 and PlGF assays in normal pregnancies and preeclampsia. *Clin Biochem* 2010;43:768-770
81. Newgard CB, Hwang PK, Fletterick RJ. The family of glycogen phosphorylases: structure and function. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 1989;24:69-99.
82. Kato K, Shimizu A, Kurobe N, et al. Human brain-type glycogen phosphorylase: quantitative localization in human tissues determined with an immunoassay system. *J Neurochem* 1989;52:1425-1432.
83. Lee J, Romero R, Dong Z, et al. Glycogen phosphorylase isoenzyme BB plasma concentration is elevated in pregnancy and preterm preeclampsia. *Hypertension* 2012;59:274-282.
84. Dobric M, Ostojic M, Giga V, et al. Glycogen phosphorylase BB in myocardial infarction. *Clin Chim Acta* 2015;438:107-111.
85. Krause EG, Rabitzsch G, Noll F, et al. Glycogen phosphorylase isoenzyme BB in diagnosis of myocardial ischaemic injury and infarction. *Mol Cell Biochem* 1996;160-161:289-295.
86. Apple FS, Wu AH, Mair J, et al. Future biomarkers for detection of ischemia and risk stratification in acute coronary syndrome. *Clin Chem* 2005;51:810-824.
87. Peetz D, Post F, Schinzel H, et al. Glycogen phosphorylase BB in acute coronary syndromes. *Clin Chem Lab Med* 2005;43:1351-1358.
88. Genbacev O, Zhou Y, Ludlow JW, et al. Regulation of human placental development by oxygen tension. *Science* 1997;277:1669-1672.
89. Burton GJ, Jauniaux E, Watson AL. Maternal arterial connections to the placental intervillous space during the first trimester of human pregnancy: the Boyd collection revisited. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181:718-724.
90. Gagnon R. Placental insufficiency and its consequences. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2003;110(suppl 1):S99-S107.

91. Gilbert JS, Ryan MJ, LaMarca BB, et al. Pathophysiology of hypertension during preeclampsia: linking placental ischemia with endothelial dysfunction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008;294:H541-H550.
92. McCarthy FP, Doyle A, Khashan AS, et al. Altered maternal plasma glycogen phosphorylase isoenzyme BB as a biomarker for preeclampsia and small for gestational age. *Reprod Sci* 2015 (in press) Nov 26. pii: 1933719115616495.
93. American College of Obstetricians and Gynecologists, Task Force on Hypertension in Pregnancy. Hypertension in Pregnancy. *Obstet Gynecol* 2013;122:1122-1131.
94. Leñanos-Miranda A, Márquez-Acosta J, Romero-Arauz F, et al. Protein:creatinine ratio in random urine samples is a reliable marker of increased 24-hour protein excretion in hospitalized women with hypertensive disorders of pregnancy. *Clin Chem* 2007;53:1623-1628.

ANEXOS

Anexo 1: CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

	<p style="text-align: center;">INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN Y POLITICAS DE SALUD COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD</p>
CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO	
(ADULTOS)	
CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN	
Nombre del estudio:	Glucógeno fosforilasa isoenzima BB como biomarcador del diagnóstico de preeclampsia.
Patrocinador externo (si aplica):	Ninguno
Lugar y fecha:	
Número de registro:	
Justificación y objetivo del estudio:	<p>La estamos invitando a participar en un estudio de investigación que se lleva a cabo en la Unidad de Investigación Médica en Medicina Reproductiva y en el Servicio de Enfermedades Hipertensivas del Embarazo de la Unidad Médica de Alta Especialidad del Hospital de Ginecología y Obstetricia No. 4 “Luis Castelazo Ayala”, IMSS.</p> <p>El estudio tiene como propósito evaluar si el uso de algunas pruebas en su sangre para detectar la presencia de una proteína llamada “glucógeno fosforilasa isoenzima BB” (que es una enzima que sirve para abastecer de energía a las células en condiciones de poca irrigación sanguínea) pueden ayudarnos a saber si una mujer embarazada tiene preeclampsia, así como saber la severidad de la enfermedad, dado que la enfermedad que se llama preeclampsia se manifiesta por hipertensión arterial y puede poner en peligro la vida de la madre y de su bebe.</p> <p>Usted ha sido invitada a participar en este estudio porque de acuerdo a su historial médico pensamos que pudiera ser un buen candidato para participar en este proyecto.</p> <p>Al igual que usted, 198 mujeres embarazadas más serán invitadas a participar en este estudio.</p> <p>Su participación en este estudio es completamente voluntaria. Por favor lea la información que le proporcionamos y haga las preguntas que desee antes de decidir si desea o no participar.</p>
Procedimientos:	<p>Si usted acepta participar en el estudio ocurrirá lo siguiente:</p> <p>a) Evaluación clínica. Consiste en la medición de su peso, estatura y le tomaremos su presión arterial. Además le pediremos que responda un cuestionario en el que le preguntaremos sobre: sus ciclos menstruales, embarazos previos y de su historial médico. Para todo esto nos tardaremos aproximadamente 20 minutos. Además le tomaremos una muestra de sangre y le pediremos una muestra de orina.</p> <p>b) Toma de muestras biológicas. Para poder realizarle la toma de muestra de sangre no es necesario que este en ayuno. Tomaremos una muestra de sangre venosa de uno de sus brazos, aproximadamente 4 cucharadas de su sangre, para realizarle algunos estudios de laboratorio. Nos tardaremos aproximadamente 5 minutos en tomarle la muestra de sangre.</p> <p>Además, se le pedirá una muestra de su orina. Para la muestra de orina se le pedirá que orine en un frasco estéril que se le proporcionará antes de tomarle la muestra de sangre.</p> <p>Los estudios de laboratorio que le realizaremos incluyen: la medición de su nivel en sangre de la enzima glucógeno fosforilasa isoenzima BB y en la orina la medición de proteínas. El propósito de realizarle los estudios de laboratorio es para saber si los niveles de estas sustancias en su sangre pueden ayudarnos a confirmar el diagnóstico de la preeclampsia y también a diferenciar la preeclampsia de otras enfermedades que también cursan con hipertensión arterial en el embarazo.</p>
Posibles riesgos y molestias:	<p>Las molestias o riesgos asociados con los procedimientos de la evaluación clínica (medición de peso, talla y presión arterial) no ocasionan dolor, incomodidad o riesgo alguno.</p> <p>Las molestias durante la toma de muestra de sangre son mínimas. En algunas ocasiones el procedimiento para tomarle una muestra de sangre puede causar un poco de dolor o una discreta molestia o raramente un moretón que desaparece en menos de una semana.</p>
Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio:	<p>No recibirá un pago por su participación en este estudio, ni implica gasto alguno para usted.</p> <p>No recibirá ningún beneficio al participar en este estudio.</p> <p>Si bien los beneficios directos para usted pudieran no existir, los resultados del presente estudio contribuirán al avance en el conocimiento para el diagnóstico de la preeclampsia, por lo tanto, los resultados de este estudio brindarán información relevante para un posible mejor manejo de personas embarazadas que pudieran complicarse con preeclampsia.</p>

<p>Información sobre resultados y alternativas de tratamiento:</p>	<p>Debido a que no sabemos si estas pruebas pueden ser útiles para el diagnóstico de la preeclampsia hasta no finalizar el estudio, consideramos que es preferible no darle los resultados de estos estudios ni a usted o a su médico tratante.</p>		
<p>Participación o retiro:</p>	<p>Su participación en este estudio es completamente voluntaria. Si usted decide no participar, de cualquier manera recibirá la atención médica que suele recibir en el IMSS, y se le ofrecerán los procedimientos establecidos dentro de los servicios de atención médica del IMSS. Esto es, no afectará su relación con el IMSS y tampoco afectará su derecho a obtener los servicios de salud u otros servicios que recibe del IMSS. Si en un principio desea participar y posteriormente cambia de opinión, usted puede abandonar el estudio en cualquier momento. El abandonar el estudio en momento que quiera no modificará de ninguna manera los beneficios que usted tiene como derechohabiente del IMSS. Usted puede hacer las preguntas que desee al inicio o a lo largo del estudio a las personas encargadas del estudio.</p>		
<p>Privacidad y confidencialidad:</p>	<p>La información que se obtenga como parte de este estudio es estrictamente confidencial. La información que nos proporcione que pudiera ser utilizada para identificarla (su nombre y teléfono) será guardada de manera confidencial. Sus datos personales serán guardados por separado para mantener la confidencialidad de sus respuestas a los cuestionarios y de los resultados de sus pruebas clínicas. Sólo el equipo de investigación del IMSS tendrá acceso a su información. El equipo de investigadores, su médico tratante en el Servicio de Enfermedades Hipertensivas del embarazo y las personas que estén involucradas en el cuidado de su salud sabrán que usted está participando en este estudio. Sin embargo, nadie más tendrá acceso a la información sobre usted, o que usted nos proporcione durante su participación en este estudio, al menos de que usted así lo desee. Cuando los resultados de este estudio sean publicados o presentados en conferencias, no se dará información que pudiera revelar su identidad. Su identidad será protegida y ocultada. Para proteger su identidad, su nombre y toda información que pudiera ser utilizada para identificarla no estará vinculada con la información que nos proporcione en los cuestionarios y con los resultados de sus estudios de laboratorio. Le asignaremos un número que utilizaremos para identificar sus datos, y usaremos ese número en lugar de su nombre en nuestras bases de datos. Guardaremos toda su información en bases de datos seguras que estarán protegidas por una clave de acceso. Toda la información será destruida cinco años después de concluir el estudio.</p>		
<p>En caso de colección de material biológico (si aplica):</p>	<table border="0"> <tr> <td data-bbox="267 934 316 1039" style="vertical-align: top;"> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> </td> <td data-bbox="462 934 1549 1050" style="vertical-align: top;"> <p>No autoriza que se tome la muestra.</p> <p>Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio.</p> <p>Si autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros.</p> </td> </tr> </table>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<p>No autoriza que se tome la muestra.</p> <p>Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio.</p> <p>Si autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros.</p>
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<p>No autoriza que se tome la muestra.</p> <p>Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio.</p> <p>Si autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros.</p>		
<p>Disponibilidad de tratamiento médico en derechohabientes (si aplica): Beneficios al término del estudio:</p>	<p>Incremento del conocimiento de la utilidad de la glucógeno fosforilasa isoenzima BB para el diagnóstico de la preeclampsia.</p>		
<p>En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrá dirigirse a: Investigador Responsable:</p>	<p>Dr. Alfredo Leños Miranda. Unidad de Investigación Médica en Medicina Reproductiva. Unidad Médica de Alta Especialidad del Hospital de Ginecología y Obstetricia No. 4 "Luis Castelazo Ayala", IMSS. Sexto Piso, Laboratorio G. Tel 5550 6422, ext. 28003</p>		
<p>Colaboradores:</p>	<p>Dra. Inova Campos Galicia y Dra. Marilyn Serrano Rodríguez. Unidad de Investigación Médica en Medicina Reproductiva. Unidad Médica de Alta Especialidad del Hospital de Ginecología y Obstetricia No. 4 "Luis Castelazo Ayala", IMSS. Sexto Piso, Laboratorio G. Tel 5550 6422, ext. 28003</p>		
<p>En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque "B" de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores. México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: comision.etica@imss.gob.mx</p>			
<p>_____ Nombre y firma del sujeto Testigo 1</p>	<p>_____ Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento Testigo 2</p>		
<p>_____ Nombre, dirección, relación y firma</p>	<p>_____ Nombre, dirección, relación y firma</p>		
<p>Este formato constituye una guía que deberá completarse de acuerdo con las características propias de cada protocolo de investigación, sin omitir información relevante del estudio.</p>			
<p>Clave: 2810-009-013</p>			

VISITA INICIAL

Fecha _____ No. Progresivo (Codificación interna) _____

Nombre _____

Edad _____ Afiliación _____

Teléfono _____

Antecedentes Gineco-Obstétricos.

Menarca _____ años FUM _____ Ritmo _____

Gesta _____ Para _____ Abortos _____ Cesáreas _____ Preeclampsia previa _____

Riesgo de preeclampsia, especifique _____

Tabaquismo (NO) (SI), Habito durante el embarazo _____

Embarazo actual.

Semanas de embarazo: Por clínica _____ Por ultrasonido _____

Presión arterial (mmHg): Sistólica _____ Diastólica _____

Peso en Kg _____ Talla _____

Peso en Kg antes del actual embarazo _____

Resultados de laboratorio			
Creatinina urinaria (mg/dL)			
Proteínas en orina (mg/dL)			
Relación proteína/creatinina urinaria (mg/mg)			
GPBB por ELISA (ng/ml)			
Inmunocromatografía lateral para GPBB	(-) (+)		

CURSO DEL EMBARAZO

Semana de término del embarazo _____ () Parto () Cesárea

() con producto muerto

() con producto vivo

Recién nacido

Sexo () Masculino () Femenino APGAR _____

Malformación congénita () No () Si, especifique _____

Peso (Kg) _____ Talla (cm) _____

Edad gestacional por clínica (semanas) _____

Muerte perinatal () No () Si, tiempo postparto y causa _____

Complicaciones del recién nacido

No () Si (), especifique _____

La madre curso:

() Pre-eclampsia, severidad _____ () Sx de HELLP () Eclampsia

() Sin otra complicación () Con otra complicación, especifique _____

Observaciones _____

ANEXO 3: TECNICA DE ELISA PARA LA DETERMINACION DE GPBB

Caliente todos los reactivos a temperatura ambiente antes de usar. Mezclar suavemente sin causar espuma.

Colocar 100 μ l de anticuerpo monoclonal anti GPBB en todos los pozos y añadir:
100 μ l de muestra sin diluir
100 μ l de estándar 100, 50, 20, 8, 3 ng/ml, y el control en 8.

Utilizando el pipette mezclar bien los reactivos extrayendo y expulsando el fluido en los pocillos tres veces. Tapar las tiras con un sello adhesivo e incubar durante 30 min a 37 grados sin agitar.

Lavar 5 veces cada pozo con solución buffer y colocar en papel secante después de lavar.

Agregar 200 μ l de sustrato TMB (tetra metil benzidine) en cada pozo.

Incubar por 15 min en temperatura ambiente protegido de la luz.

Agregar 100 μ l de solución de stop (0.95N H₂SO₄) en cada pozo, mezclar gentilmente.

Leer a 450 nm con lector de microplacas dentro de los siguientes 30 minutos de parada la reacción.



Dictamen de Autorizado

Centro Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud No. 3606 con número de registro: **15 CI 03 010 173**, de
EFERFMS

HOSPITAL DE QUINCUA QUÉZOTL RIA KAN'YI I'NCH'ESTE' ATO'AYALA DE EJIB

FFC-03 27/05/2016

DR. ALFREDO LEAÑOS MIRANDA

P R E S E N T E

Tengo el agrado de notificar, que el antecesor de investigación con título:

Glucógeno fosforilasa isoenzima BB como biomarcador del diagnóstico de preeclampsia

que sometió a consideración de este Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación, por lo que el dictamen es **AUTORIZADO**, por el término de registro institucional:

Núm. de Registro
15 2016 3606 15

ATENTAMENTE

DR.(A). OSCAR MORENO ALVAREZ

Presidente del Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud No. 3606

IMSS

SISTEMA DE SOLIDARIDAD SOCIAL