



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI

CAMPO DEL CONOCIMIENTO
CIENCIAS MÉDICAS

**Utilidad de la sEng, sFlt-1 y PlGF para la predicción de preeclampsia
sobregregada en embarazos complicados con enfermedad renal crónica
subyacente.**

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS MEDICAS

PRESENTA
CARLOS JOSÉ MOLINA PÉREZ

TUTOR
DOCTOR ALFREDO LEAÑOS MIRANDA
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN MÉDICA EN MEDICINA REPRODUCTIVA
UMAE HGO 4 "LUIS CASTELAZO AYALA"

Ciudad Universitaria, CD. MX.
Septiembre 2022.



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.



Doctor Mauro Eduardo Berta Ramasko
Responsable de la entidad académica



Doctor Alfredo Leños Miranda.
Tutor



Carlos José Molina Pérez
Alumno

Esta tesis se realizó en el Laboratorio G, Unidad de Investigación Médica en Medicina Reproductiva en el Instituto Mexicano del Seguro Social, en la Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Ginecología y Obstetricia No. 4 “Luis Castelazo Ayala”, bajo la tutoría del Dr. Alfredo Leños Miranda y el Comité Tutorial integrado por la Dra. Silvia Palomo Piñón y el Dr. Salvador Espino y Sosa.

El contenido de esta tesis está publicado en la Revista:

***Journal of Nephrology* (2022) Jul;35(6):1699-1708, con el título: “Clinical usefulness of angiogenic factors in women with chronic kidney disease and suspected superimposed preeclampsia”.**

<https://doi.org/10.1007/s40620-022-01299-9>

Agradecimientos.

Agradezco al Dr. Alfredo Leños Miranda a quien respeto y admiro por haberme apoyado incondicionalmente, por su enseñanza como tutor, por su amistad, por los gestos de amabilidad, paciencia y empatía que me ha brindado durante todos estos años. Para mí es un gran privilegio ser su alumno y testigo de su genialidad. También agradezco a Ismael Carrillo quien me ha brindado su amistad y quien participó en el desarrollo de este proyecto con su trabajo en el laboratorio de investigación.

Agradezco a la Dra. Silvia Palomo Piñón, quien ha estado presente en mi formación como investigador desde el inicio en la Coordinación de Investigación en Salud.

Expreso mi gratitud a los integrantes del Jurado, por su tiempo y asistencia; Dra. Irma Isordia Salas, Dra. Guadalupe del Carmen Estrada Gutiérrez, Dr. Rafael Valdez Ortiz y Dr. Ricardo Figueroa Damián.

Agradezco todas las mujeres embarazadas que participaron en el estudio de forma altruista y desinteresada.

Reconozco al Instituto Mexicano del Seguro Social, institución en donde me formé como Médico; Especialista en Ginecología y Obstetricia; Maestro en Ciencias; y ahora Doctor en Ciencias, y que es el lugar donde actualmente me desempeño como Coordinador Clínico en el Hospital General de Zona 252 del Órgano de Operación Administrativa Desconcentrada Regional México Poniente.

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México, a la Facultad de Medicina, a la Unidad de Posgrado y al Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Médicas, Odontológicas y de la Salud por mi formación como médico y como ser humano.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca recibida en mis estudios de posgrado (Número de CVU 278767).

Agradezco a mis familiares y amigos que siempre han estado conmigo y me han brindado su apoyo en los momentos más difíciles.

Dedicatoria.

A mi madre Eleazar Eugenia Pérez Sánchez, a quien le debo todo y aún me sigue amando como el niño que alguna vez fui.

A mi padre Edmundo Molina López, como un recuerdo póstumo, quien en vida me regaló su amor y consejo para enfrentar las vicisitudes de la mía.

A mi esposa y compañera María Guadalupe Berumen Lechuga, quien ha compartido conmigo su amor, alegrías, tristezas y su pasión por la medicina durante veinte años. Gracias por tu apoyo, paciencia y comprensión.

A mi hijo Carlos Eduardo Molina Berumen a quien amo con todo mi ser tal y como es. Eres mi orgullo y fuente de satisfacciones. Espero que alcanzar este objetivo te inspire lograr tus objetivos y ojalá que pueda ser testigo de todos ellos.

A mis hermanos Daniel, Edmundo e Isaac por su afecto, apoyo incondicional y paciencia. A mis cuñadas Nallely, Hilda y Lourdes por ser la parte complementaria de la familia.

A mis sobrinos Sofía, Edmundo, Emilia y Emiliano quienes son el semillero de la familia y que nos comparten la felicidad, inocencia y dulzura de la infancia.

“La permanencia, perseverancia y persistencia a pesar de todos los obstáculos, desalientos e imposibilidades: es eso lo que distingue las almas fuertes de las débiles”.

Thomas Carlyle

Contenido.

Resumen.	1
Antecedentes.	4
Justificación.....	30
Planteamiento del problema.....	32
Hipótesis.....	33
Objetivo general.	33
Material y métodos.....	34
Descripción general del estudio.	37
Definición de las variables.	40
Análisis estadístico.....	54
Aspectos éticos.....	58
Resultados.	63
Tablas de resultados.	68
Figuras.....	72
Discusión.....	75
Conclusión.....	79

Recursos	80
Referencias bibliográficas.	81
Anexos.....	94

Abreviaturas.

IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
ERC	Enfermedad Renal Crónica
sFlt-1	Tirosin cinasa fms-1 soluble
sEng	Endoglina soluble
PIGF	Factor de crecimiento placentario
VEGF	Factor de crecimiento vascular endotelial
TNGF	Factor de crecimiento transformante
RM	Razón de momios
IC95%	Intervalo de confianza al 95%

Resumen.

Utilidad de la sEng, sFlt-1 y PlGF para la predicción de preeclampsia sobreagregada en embarazos complicados con Enfermedad Renal Crónica subyacente.

Antecedentes:

La preeclampsia es la complicación más común en las mujeres embarazadas con enfermedad renal crónica subyacente, su diagnóstico representa un reto ya que las manifestaciones clínicas como la hipertensión y la proteinuria pueden estar presentes tanto en la enfermedad renal crónica como en la preeclampsia. La fisiopatología de la preeclampsia se caracteriza por un desequilibrio entre los factores pro y anti angiogénicos. En diversos estudios se ha demostrado que las mujeres con preeclampsia presentan una elevación de las proteínas anti-angiogénicas como la tirosin cinasa fms-1 soluble (sFlt-1) y la Endogлина soluble (sEng) y una disminución de las proteínas pro-angiogénicas como el factor de crecimiento placentario (PlGF).

Objetivo:

El propósito de este estudio fue evaluar las características clínicas y los resultados de las mujeres embarazadas con enfermedad renal crónica con sospecha de preeclampsia sobreagregada, estratificadas según el grado de desequilibrio angiogénico (nulo, moderado y severo), evaluado mediante la relación entre la determinación sérica de sFlt-1 y PlGF.

Sitio del estudio:

Esta investigación se llevó a cabo en el Laboratorio G de la Unidad de Investigación Médica en Medicina Reproductiva de la UMAE Hospital de Ginecología y Obstetricia No. 4 “Luis Castelazo Ayala” del IMSS, ubicada en Av. Rio Magdalena 289, Col. Tizapan San Ángel. CP 01090, Ciudad de México.

Material y Métodos:

Mediante un estudio transversal comparativo, incluimos 171 mujeres embarazadas con enfermedad renal crónica, con sospecha de preeclampsia, que ingresaron a la UMAE Hospital de Ginecología y Obstetricia No. 4 Luis Castelazo Ayala del IMSS.

Las mujeres incluidas en el estudio se dividieron en tres grupos según el grado de desequilibrio angiogénico, evaluado por la relación sFlt-1/PIGF: sin desequilibrio angiogénico (relación sFlt-1/PIGF \leq 38), desequilibrio angiogénico moderado (relación sFlt-1/PIGF > 38 a < 85), y desequilibrio angiogénico severo (relación sFlt-1/PIGF ≥ 85). La preeclampsia sobreagregada y los resultados adversos relacionados con la preeclampsia se definieron de acuerdo con los criterios del Colegio Americano de Obstetricia y Ginecología. Los niveles séricos de sFlt-1, PIGF y sEng se determinaron por duplicado mediante un inmuno ensayo enzimático siguiendo las instrucciones del fabricante (R & D Systems, Minneapolis, MN).

La tasa de filtración glomerular se calculó utilizando la fórmula de la colaboración epidemiológica de la enfermedad renal crónica (CKD-EPI), en registros previos a la gestación.

Resultados:

El grupo de mujeres embarazadas con enfermedad renal crónica con un desequilibrio angiogénico severo tuvo una frecuencia mayor de preeclampsia sobreagregada confirmada, de eventos adversos maternos y perinatales adversos en comparación con las mujeres con un desequilibrio angiogénico moderado o nulo ($p < 0.001$).

Hubo una tendencia al incremento de las concentraciones séricas de Endoglina soluble cuando el grado de desequilibrio angiogénico se incrementaba. La tasa de progresión a preeclampsia sobreagregada se incrementó progresivamente cuando se incrementó el grado de desequilibrio angiogénico (sin desequilibrio 11.8%, moderado 60% y severo 100%).

Conclusiones:

El desequilibrio angiogénico severo se asocia significativamente con el desarrollo de preeclampsia sobreagregada confirmada o con la progresión a preeclampsia sobreagregada en mujeres embarazadas con enfermedad renal crónica. Las pacientes sin desequilibrio angiogénico tienen una menor tasa de progresión hacia la preeclampsia sobreagregada, así como las mujeres con un desequilibrio angiogénico moderado. Estos resultados favorecen la utilización sistemática de la relación sFlt1 / PlGF y otros marcadores en el manejo clínico de las mujeres embarazadas con enfermedad renal crónica.

Antecedentes.

La Enfermedad Renal Crónica.

La Enfermedad Renal Crónica (ERC) es un término general para una serie heterogénea de trastornos que afectan la función renal, se clasifica en cinco categorías de severidad con base en la determinación de la tasa de filtrado glomerular y se establece el tratamiento a seguir según el daño en la función renal (1-4). La función renal se evalúa a través de la tasa de filtración glomerular, la proteinuria y el diagnóstico clínico. No se suele considerar a la causa de la enfermedad para la clasificación o para el tratamiento de la enfermedad (4), Ilustración 1.

La ERC se define por la *National Kidney Foundation* (NKF) como la existencia de anomalías de la estructura o función renal, presente durante al menos tres meses y que esto tenga implicaciones para la salud. Esto es una tasa de filtrado glomerular inferior a 60 ml/min/1.73 m² durante más de 3 meses con o sin evidencia de daño renal, o la presencia de daño renal durante un periodo superior a 3 meses evidenciado por la existencia de alteraciones estructurales en el riñón como son las anormalidades detectadas con técnicas de imagen, el antecedente de un trasplante renal, o alteraciones histológicas en la biopsia renal; o funcionales del riñón como la evidencia de albuminuria, proteinuria, alteraciones en el sedimento urinario, con o sin descenso en la tasa de filtrado glomerular(3, 4).

La combinación de ambos criterios es la base para la clasificación y plan de acción de las guías de manejo de la NKF. Estas se enfocan la atención en etapas tempranas de la enfermedad, cuando los signos de daño renal están presentes y

son persistentes aunque la función renal pudiera estar en rangos normales (5), Ilustración 1. En la biopsia renal se puede observar daño al glomérulo o glomeruloesclerosis en la etapa terminal de la enfermedad independientemente de la causa (2).

Prognosis of CKD by GFR and albuminuria category

Prognosis of CKD by GFR and Albuminuria Categories: KDIGO 2012				Persistent albuminuria categories Description and range		
				A1	A2	A3
				Normal to mildly increased	Moderately increased	Severely increased
				<30 mg/g <3 mg/mmol	30-300 mg/g 3-30 mg/mmol	>300 mg/g >30 mg/mmol
GFR categories (ml/min/1.73 m ²) Description and range	G1	Normal or high	≥90			
	G2	Mildly decreased	60-89			
	G3a	Mildly to moderately decreased	45-59			
	G3b	Moderately to severely decreased	30-44			
	G4	Severely decreased	15-29			
	G5	Kidney failure	<15			

Green: low risk (if no other markers of kidney disease, no CKD); Yellow: moderately increased risk; Orange: high risk; Red, very high risk.

Ilustración 1 Clasificación actual de la Enfermedad Renal Crónica utilizada por National Kidney Foundation. La ERC se define como la evidencia de anomalías de la estructura o función del riñón, presentes durante un lapso mayor a 3 meses, con implicaciones para la salud. La ERC se clasifica según la tasa de filtración glomerular (TFG) y la determinación de la albuminuria (3).

La prevalencia de la ERC se está incrementando a nivel global, y se estima entre el 8-16% en la población general (6). La prevalencia estimada es de 200 casos por millón de habitantes, por año, en muchos países, en los EE. UU, Taiwán y en algunas regiones de México. En algunas regiones de México, la prevalencia se está acercando a 400 casos por millón y se incrementa rápidamente en personas adultos mayores (2). Se estima que en México hay alrededor de 52 000 pacientes en terapia sustitutiva de la función renal, de los cuales el 80% son atendidos en el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) (7).

La enfermedad renal crónica se asocia causalmente con la vejez, la diabetes, la hipertensión, la obesidad y la enfermedad cardiovascular. El aumento de la prevalencia de la ERC, los altos costos y los malos resultados del tratamiento constituyen una amenaza para la salud pública en todo el mundo. Los costos de diálisis y trasplante están aumentando junto con los costos de otras enfermedades crónicas (8). Las recomendaciones para la prevención incluyen mejoras en la vigilancia, el tamizaje, la educación y la concientización; y se dirigen a las poblaciones con mayor riesgo de la enfermedad; proveedores de la salud, hospitales y laboratorios clínicos y el público en general (9). El aumento mundial en el número de pacientes con enfermedad renal crónica y de pacientes con terapia de reemplazo de la función renal tiene proporciones epidémicas y solo un pequeño número de países que tienen economías sólidas son capaces de satisfacer la demanda de los servicios de salud que esto implica (1).

La Enfermedad Renal Crónica en el Embarazo.

La ERC afecta hasta al 6% de las mujeres en edad fértil en los países desarrollados y se estima que afecta del 3% al 5% de las mujeres embarazadas (10-12). A pesar de la ERC se asocia con infertilidad, el embarazo puede ocurrir en cualquier etapa de la ERC (13). La disfunción renal avanzada, la proteinuria, la hipertensión y la enfermedad renal primaria subyacente mal controlada, representan un riesgo significativo de resultados adversos maternos, fetales y renales (14). Con el aumento de la prevalencia de la enfermedad renal crónica en todo el mundo, se espera que aumente el número de casos de mujeres embarazadas con diversos grados de disfunción renal (15).

En el pasado, cualquier grado de insuficiencia renal se consideraba incompatible con el embarazo y se aconsejaba a esas mujeres que optaran por la interrupción del embarazo(16). Para obtener los mejores resultados en mujeres embarazadas con ERC es de suma importancia que estos embarazos se planifiquen siempre que sea posible para brindar la oportunidad de una asesoría oportuna a estas mujeres y a sus parejas con antelación y prevenir las posibles complicaciones.

Complicaciones asociadas

Estos embarazos deben considerarse como de alto riesgo y requieren una estrecha vigilancia prenatal por parte de un equipo multidisciplinario experto (14). La complicación más frecuente es la preeclampsia y esta se presenta en más del 40% de los casos (16-18) y la frecuencia puede aumentar hasta el 70% de los casos en etapas avanzadas (17, 19, 20). La etapa de la enfermedad renal, el tipo de la enfermedad, el grado de proteinuria y la excreción urinaria de IgM

son factores de riesgo independientes para el desarrollo de preeclampsia en las mujeres embarazadas con ERC subyacente ([17](#), [19-21](#)). La mortalidad materna es ahora extremadamente baja y la supervivencia fetal ha aumentado notablemente incluso en mujeres con estadios avanzados de la ERC. Sin embargo, rara vez las mujeres embarazadas con ERC están libres de complicaciones y hay preguntas sin respuesta sobre los efectos que el embarazo en este tipo de mujeres tenga a largo plazo en la salud materna e infantil. En general, actualmente se tiene una actitud más optimista con respecto al embarazo en mujeres con ERC que no requieren tratamiento de reemplazo renal ([22](#)).

Las mujeres con enfermedad renal crónica están en riesgo de tener resultados adversos asociados con el embarazo como la preeclampsia y el parto prematuro ([16](#), [23-26](#)). A pesar de los avances en la atención prenatal, la frecuencia de eventos adversos en la madre y el feto sigue siendo alta en mujeres embarazadas con ERC en comparación con la esperada en la población general ([16](#)). En este sentido, en una revisión sistemática realizada por Nevis y colaboradores se reportó que los eventos maternos adversos, como: hipertensión gestacional, preeclampsia, eclampsia y mortalidad materna son mucho más frecuentes en las mujeres con ERC que en las mujeres sin ERC y el riesgo global de un resultado fetal adverso es al menos dos veces mayor en las mujeres con ERC en comparación con las que no tienen esta condición. Las complicaciones de los hijos de estas mujeres son: los nacimientos prematuros, el bajo peso al nacer y la muerte perinatal ([27](#)), Ilustración 2.

En otra revisión sistemática, en la que se incluyeron 23 estudios, de un total de 506 340 mujeres embarazadas con ERC, se reportó que estas, tienen mayor

probabilidad de desarrollar preeclampsia (Razón de Momios [RM] de 10.36 con un intervalo de confianza del 95% [IC 95%], 6.28 a 17.09), parto prematuro (RM, 5.72; IC 95%, 3.26 a 10.03), nacimiento de infantes con bajo peso al nacer (RM, 4,85; IC del 95%, 3,03 a 7,76), cesárea (RM, 2,67; IC del 95%, 2,01 a 3,54) y fracaso del embarazo (aborto o muerte fetal) (RM, 1,80; IC del 95%, 1,03 a 3.13). El análisis de subgrupos mostró que las probabilidades de preeclampsia ($P < 0.01$) y parto prematuro ($P < 0.01$) fueron mayores en mujeres con nefropatía no diabética en comparación con la nefropatía diabética, y que la frecuencia de preeclampsia ($P = 0.01$) y parto prematuro ($P < 0.01$) fue mayor en mujeres con proteinuria en comparación con microproteinuria. La mediana del tiempo de seguimiento para los eventos renales fue de 5 años. No hubo diferencias significativas en la aparición de eventos renales entre las mujeres embarazadas con ERC y las que no tenían embarazo (OR, 0,96; IC 95%, 0,69 a 1,35) (18), Ilustración 3.

Asimismo, Piccoli y colaboradores reportan que las mujeres con ERC tienen más complicaciones en comparación con los embarazos fisiológicos: parto prematuro (44% frente al 5%); cesárea (44% frente a 25%); y la necesidad de cuidados intensivos neonatales (26% frente a 1%) y que las diferencias son altamente significativas desde la etapa inicial de la ERC en comparación con mujeres sin ERC subyacente (19).

Consistente con lo anterior, en otro estudio se reportó que las complicaciones asociadas al embarazo en mujeres con ERC son: la enfermedad hipertensiva asociada con el embarazo, el empeoramiento de la función renal con disfunción permanente, el parto prematuro y la restricción del crecimiento fetal (28). Al considerar la interacción entre la enfermedad renal y el embarazo, los resultados

maternos están relacionados con el nivel inicial de la disfunción renal más que a la enfermedad subyacente específica. Con respecto a los resultados fetales, puede existir una distinción entre la disfunción renal resultante de la enfermedad renal primaria y en la que la afectación renal es parte de una enfermedad sistémica (29).

En contraste con lo anteriormente expuesto, no es claro si el embarazo empeora la función renal de las mujeres con ERC, en este sentido se ha reportado que el embarazo no siempre representa un factor de riesgo para la progresión de la enfermedad renal preexistente en mujeres con ERC subyacente (18). El empeoramiento de la función renal no es una regla absoluta y se ha reportado que la presencia de ERC avanzada no debe ser la única razón para la finalización del embarazo (19).

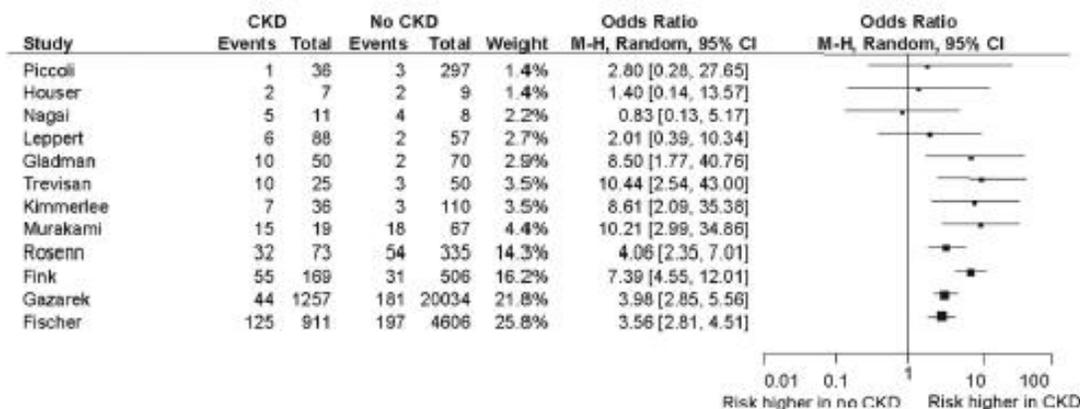


Ilustración 2. Riesgo de resultados maternos adversos (preeclampsia, eclampsia y mortalidad materna). CKD, enfermedad renal crónica; IC, intervalo de confianza. Extraído de (27)

La presencia de una enfermedad glomerular, incluso en remisión (con ausencia de proteinuria relevante al inicio del embarazo, con la presión arterial normal y la función renal normal), se asocia con un mayor riesgo de parto prematuro y

de desarrollo de proteinuria e hipertensión en el embarazo. Los riesgos están modulados por la etapa de la ERC, la proteinuria y esto sugiere que durante el control prenatal de estas mujeres se debe centrar la atención en la proteinuria basal o inicial (21).

El embarazo en la mayoría de las mujeres normotensas con disfunción renal leve o incluso moderada, tiene un buen desenlace, sin embargo, es más frecuente que estas mujeres desarrollen complicaciones en comparación con las mujeres embarazadas con una función renal previa al embarazo. Sin embargo, el embarazo es mucho más peligroso cuando la disfunción renal está avanzada (23). Las mujeres con enfermedad renal crónica avanzada tienen una menor probabilidad de concebir debido a la disminución de la fertilidad asociada con los cambios hormonales del empeoramiento de la función renal. Cuando conciben, la ERC avanzada predispone a la restricción de crecimiento intrauterino y parto prematuro; se ha culpado al embarazo de acelerar el ritmo de disminución de la función renal, aumentar la proteinuria y la hipertensión. Sin embargo, estas opiniones se basan en datos insuficientes, por lo que el nivel de la disfunción renal y su efecto en el embarazo sigue siendo un área de debate (30).

El embarazo en mujeres con ERC terminal puede dar lugar a resultados adversos maternos y fetales graves, sin embargo, se han observado mejores resultados en los últimos años, probablemente secundarios a los regímenes de diálisis intensificados. Una diálisis más intensiva permite la eliminación suave del agua, los solutos y las toxinas urémicas, lo que en teoría produce una fisiología renal materna casi normal, una mejora en el flujo sanguíneo de la placenta y, por lo tanto, un mejor ambiente para el crecimiento y desarrollo

fetal. Dado que el manejo sigue siendo complejo, es esencial una colaboración conjunta estrecha entre el equipo obstétrico de alto riesgo y el equipo de nefrólogos (30).

La preeclampsia constituye el evento adverso más frecuente en las mujeres con ERC (17, 31). Dado que la hipertensión y la proteinuria se presentan tanto en la ERC como la preeclampsia es difícil de diagnosticar en mujeres embarazadas con ERC subyacente (11, 12, 17, 32). Aunque la causa de la preeclampsia aún es desconocida, la evidencia acumulada sugiere que existe un desequilibrio entre los factores pro y anti angiogénicos que finalmente llevan al daño vascular endotelial a nivel sistémico de la madre y por lo tanto a las manifestaciones clínicas de la enfermedad (33, 34).

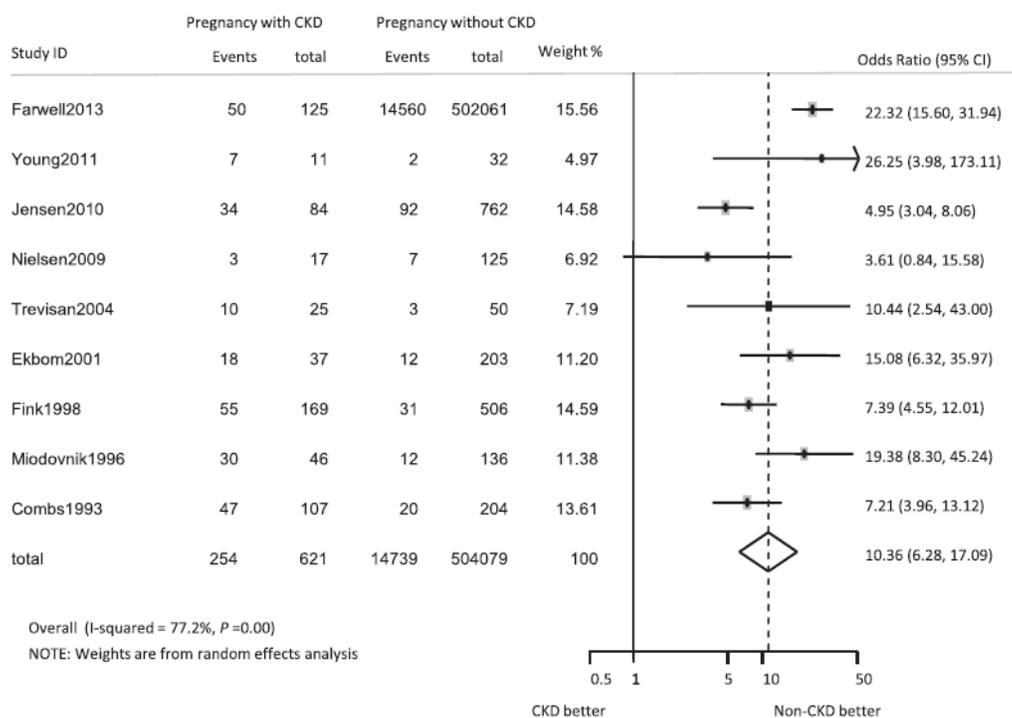


Ilustración 3. Cocientes de probabilidades globales de la asociación de ERC con preeclampsia. IC del 95%, intervalo de confianza del 95% (18)

Se ha reportado que usualmente las mujeres que tienen preeclampsia al momento del diagnóstico tienen altas concentraciones de proteínas antiangiogénicas como la tirosin cinasa fms-1 soluble (sFlt-1) y la Endoglina soluble (sEng); y bajas concentraciones de proteínas proangiogénicas como el factor de crecimiento placentario (PlGF); así como una alta relación sFlt-1: PlGF. Asimismo, estos hallazgos se asocian con un riesgo incrementado de desarrollar preeclampsia u otros eventos adversos en mujeres sin ERC (35-40). Asimismo, se ha reportado que los factores angiogénicos como marcadores séricos como son como sFlt1 y el PlGF pueden ser útiles para establecer el diagnóstico definitivo de la preeclampsia en estas mujeres (26).

La preeclampsia sobreagregada en mujeres con ERC se define como el inicio o empeoramiento de la hipertensión y/o proteinuria. Esto es una elevación persistente de la presión sanguínea a niveles iguales o mayores de 140 mm Hg (sistólica) o 90 mm Hg (diastólica) en dos ocasiones con varias horas de diferencia y / o proteinuria (> 300 mg / día). La preeclampsia sobreagregada grave o severa se define como hipertensión grave (presión arterial sistólica igual o mayor de 160 mm Hg o presión arterial diastólica igual o mayor de 110 mm Hg). Asimismo, se establece el diagnóstico de la preeclampsia en estas mujeres es por el deterioro de la función renal, la trombocitopenia, el daño a otro órgano blanco o el incremento de la proteinuria basal, lo que comúnmente se conoce como criterios de severidad (41).

Fisiopatología de la preeclampsia.

La preeclampsia es un trastorno multisistémico y específico del embarazo caracterizado por la aparición de hipertensión arterial y proteinuria que se desarrollan después de las 20 semanas de gestación en mujeres previamente normotensas o que se superponen a la hipertensión o proteinuria preexistentes. Esta afecta a varios órganos, incluidos los riñones, el hígado y el cerebro, y es la principal causa de morbilidad y mortalidad materna y perinatal (42). Además, la evidencia reciente ha revelado que la preeclampsia es un factor de riesgo significativo para futuras enfermedades cardiovasculares (43). Ocurre en aproximadamente el 5% de todos los embarazos y da como resultado una morbilidad y mortalidad maternas y neonatales sustanciales (42, 44).

Cada vez hay más evidencia que indica que el desequilibrio en los factores pro y anti angiogénicos maternos producidos por la placenta desempeñan un papel central en la disfunción vascular sistémica de la preeclampsia (38, 39, 43, 45-47). La gravedad del estado anti-angiogénico materno se correlaciona estrechamente con los resultados maternos y perinatales (48). Por esta razón, la evaluación del desequilibrio angiogénico a través de diversas pruebas de función vascular también ha surgido como una forma de detectar disfunción vascular sistémica durante el embarazo(43). El crecimiento vascular anormal y la función endotelial alterada en la placenta son el resultado de la invasión trofoblástica inadecuada de las arterias espirales maternas durante la gestación temprana (49), Ilustración 4. El desarrollo placentario defectuoso puede reflejarse en la circulación materna y puede detectarse como alteraciones en las concentraciones de marcadores biológicos, incluido el factor de crecimiento endotelial vascular y el factor de crecimiento transformante β (49) . En

consecuencia, se producen factores derivados de la placenta que podrían ser parcialmente responsables de la preeclampsia.

El resultado es una disfunción endotelial generalizada que se manifiesta por hipertensión, proteinuria y microangiopatía trombótica. Las mujeres con enfermedad renal crónica son menos capaces de realizar las adaptaciones renales necesarias para un embarazo saludable y reflejan esta disfunción endotelial con niveles elevados de sFlt-1 (49). Por lo tanto, un leve desequilibrio de los factores angiogénicos derivados de la placenta podría causar preeclampsia en el embarazo asociada con la ERC (41, 50).

La hipertensión y la proteinuria son características del diagnóstico convencional de preeclampsia. Normalmente, durante el embarazo, la circulación materna experimenta notables adaptaciones fisiológicas, incluido un aumento del volumen intravascular y una resistencia vascular notablemente reducida, dando como resultado una presión arterial ligeramente por debajo de lo normal y una tasa de filtración glomerular aumentada. En la preeclampsia, se cree que el aumento de sFlt1 placentario aumenta la resistencia vascular periférica (y, por lo tanto, la presión arterial) al contrarrestar la relajación microvascular inducida por el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) y el factor de crecimiento placentario (PIGF). La señalización de VEGF también es importante para el mantenimiento del endotelio fenestrado; la inhibición de la señalización de VEGF limita la fenestración endotelial glomerular y causa endoteliosis capilar glomerular, lo que disminuye la filtración glomerular y aumenta la excreción urinaria de proteínas. La inhibición de la señalización de VEGF también induce una disfunción de podocitos que puede contribuir a la endoteliosis capilar glomerular y la microangiopatía trombótica renal (43) .

Por otra parte, también se ha descrito que las mujeres que presentan complicaciones graves del embarazo como la preeclampsia pueden tener asociado un daño renal subyacente. Esto se identificó en un estudio en donde las mujeres con preeclampsia severa o proteinuria gestacional severa antes de 30 semanas de gestación, tenían más probabilidades de haber tenido enfermedad una renal subyacente no diagnosticada previa al embarazo ([51](#)).

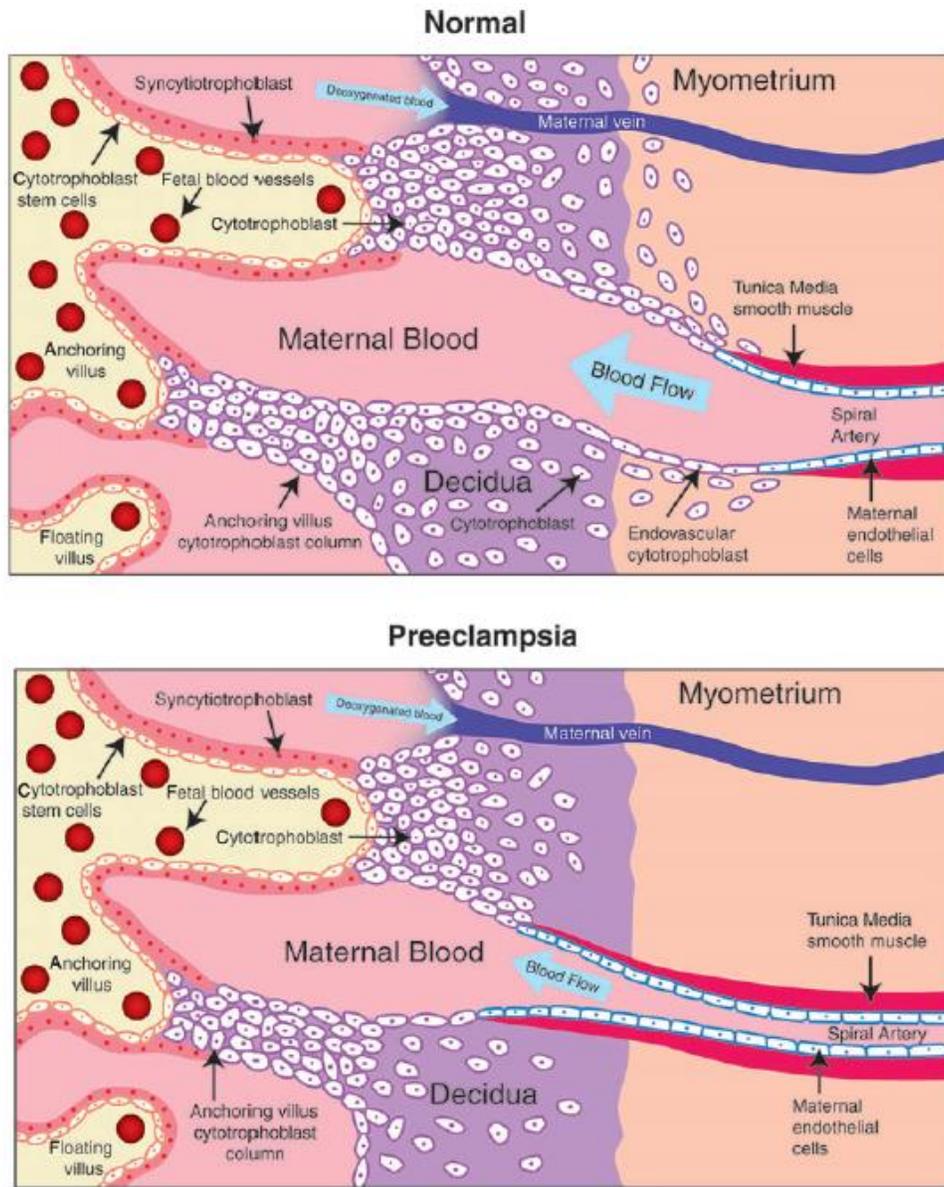


Ilustración 4. Placentación anormal en la preeclampsia. En el desarrollo placentario normal, los citotrofoblastos invasores de origen fetal invaden las arterias espirales maternas, transformándolos de vasos de resistencia de pequeño calibre a vasos de capacidad alta y de alto calibre capaces de proporcionar una perfusión placentaria adecuada para sostener el feto en crecimiento. Durante el proceso de invasión vascular, los citotrofoblastos se diferencian de un fenotipo epitelial a un fenotipo endotelial, en un proceso denominado "pseudovasculogénesis" o "mimetismo vascular" (panel superior). En la preeclampsia, los citotrofoblastos no logran adoptar un fenotipo endotelial invasivo. En cambio, la invasión de las arterias espirales es poco profunda, y siguen siendo vasos de alta resistencia de pequeño calibre (panel inferior)(52)

Factores pro y anti angiogénicos.

Angiogénesis.

La angiogénesis o formación de los vasos sanguíneos es un proceso celular mediado por la interacción entre factores estimulantes de la formación de los vasos sanguíneos y sus receptores ubicados en la membrana celular. El receptor Flt-1 está presente en la membrana celular de la célula endotelial al unirse a su ligando que es el factor de crecimiento placentario provoca la señalización celular que finalmente formará un nuevo vaso sanguíneo (53).

Pasa algo similar con la Endoglina, que es un receptor de la membrana celular que al unirse a su ligando el factor de crecimiento transformante Beta 1 (TGF β 1), desencadena la formación de vasos sanguíneos. Esto es algo que sucede normalmente durante la formación de la placenta o en algunas patologías como en el cáncer.(38)

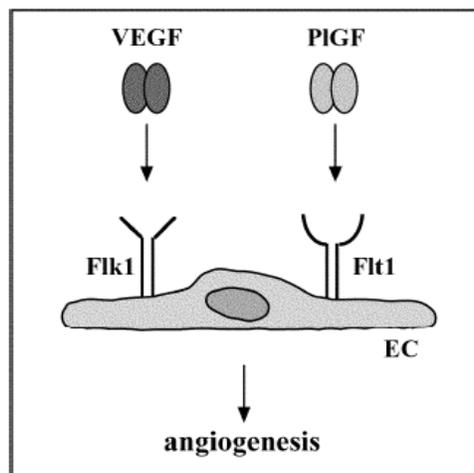


Ilustración 5. La angiogénesis es mediada por VEGF y PlGF asimismo a través de Flk-1 y Flt-1, ambos presentes en las células endoteliales (53).

La tirosin cinasa fms-1 soluble (sFlt-1).

La tirosin cinasa fms-1 soluble (sFlt-1) o también conocida como el receptor soluble del factor de crecimiento endotelial vascular-1 (sVEGFR-1) es una proteína tirosin cinasa con propiedades antiangiogénicas y es producida por una gran variedad de tejidos. Esta es una variante de empalme no asociada a la membrana celular, de ahí proviene la denominación soluble, la sFlt-1 se une a los factores angiogénicos como el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) o el factor de crecimiento placentario (PIGF), reduciendo la formación de los vasos sanguíneos mediante la reducción de las concentraciones de VEGF libre y PIGF libre ([54](#)), Ilustración 6. En los seres humanos, sFlt-1 es importante en la regulación de la formación de vasos sanguíneos en diversos tejidos, incluidos los riñones, la córnea y el útero([55](#)). Se han reportado concentraciones altas de sFlt-1 en la preeclampsia ([43](#), [45](#), [47](#), [56](#)). La investigación de las concentraciones séricas de sFlt-1 en vena uterina después de la cesárea en la preeclampsia ha sugerido su producción placentaria ([33](#)). El hecho de que haya una rápida caída en las concentraciones circulantes de sFlt-1 dentro de las 48 horas posteriores a la interrupción del embarazo, es consistente con este concepto. También se han identificado fuentes extra placentarias, que incluyen las células endoteliales, los monocitos y las células mononucleares de sangre periférica ([22](#), [57](#)).

En otras palabras, la proteína sFlt-1 es una forma truncada del receptor de membrana VEGF (Flt-1). Aunque sFlt-1 contiene un dominio extracelular idéntico al de Flt-1, carece de los dominios transmembrana e intercelulares presentes en Flt-1. En su lugar, sFlt-1 contiene una nueva secuencia C-terminal de 31 aminoácidos ([38](#), [45](#)). La sFlt-1 está compuesta de 6 dominios similares

a las inmunoglobulinas, con un sitio de unión para VEGF y PlGF dentro del segundo dominio desde el extremo N (58). La sFlt-1 tiene un punto isoeléctrico de 9.51, lo que le da a la proteína una carga positiva a pH fisiológico (59) Ilustración 6.

Debido a que sFlt-1 carece del dominio transmembrana que típicamente incorpora receptores de tirosina quinasa en la membrana celular, sFlt-1 viaja libremente en la circulación sanguínea y, por lo tanto, puede viajar desde el tejido en el que se secreta originalmente a otras áreas del cuerpo (45). Como contiene el mismo dominio extracelular que Flt-1, sFlt-1 compite con Flt-1 para unirse a VEGF y PlGF, reduciendo efectivamente las concentraciones séricas de estos dos factores de crecimiento angiogénico (45). Aunque sFlt-1 puede dimerizar efectivamente, su falta de un dominio de quinasa significa que no se produce fosforilación de tirosina en la unión del ligando (59). Como resultado, sFlt-1 secuestra eficazmente a los agonistas de Flt-1, y se ha implicado como un regulador de este receptor en el riñón, el hígado y el cerebro (60).

La participación de sFlt-1 en la patogenia de la preeclampsia puede explicar varias tendencias demográficas en la incidencia de la enfermedad. El gen humano Flt-1/sFlt-1 está ubicado en 13q12; La asociación de la trisomía fetal-13 con tasas más altas de preeclampsia podría explicarse teóricamente por la copia adicional del gen. Además, las mujeres primíparas tienen niveles más altos de sFlt-1, una tendencia que podría explicar la mayor incidencia de preeclampsia entre las madres primerizas (45). Los cambios de sFlt-1 son los más predictivos de la preeclampsia de inicio temprano; los casos de preeclampsia incidentes al final del embarazo generalmente están acompañados solo por pequeñas disminuciones de PlGF (47).

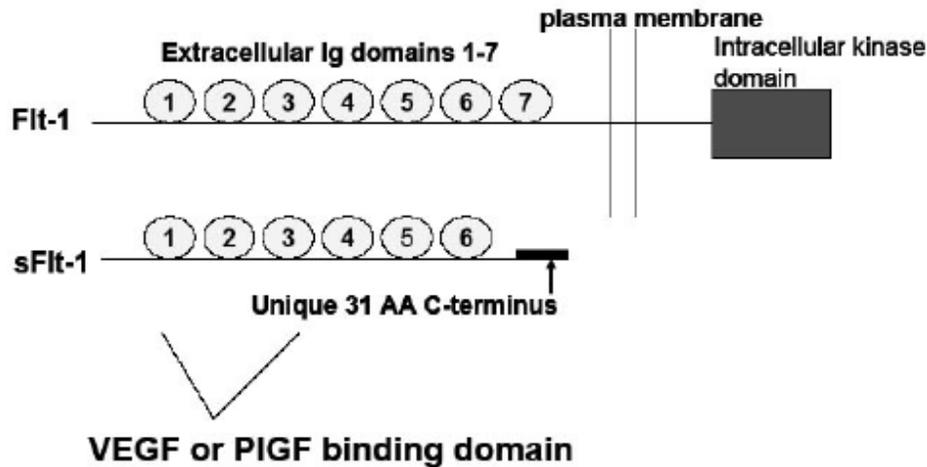


Ilustración 6. Se ilustra la estructura de FIt-1 y sFIt-1. FIt-1 tiene 7 dominios inmunoglobulina (IgG), los cuales se unen a VEGF y a PlGF. La proteína sFIt-tiene una única región C-terminal de 31 aminoácidos derivada de un empalme alternativo y carece de los dominios transmembrana y citoplasmático (45).

Endoglina Soluble (sEng).

La Endoglina humana es una glicoproteína integral de la membrana celular, compuesta de un polipéptido de 658 aminoácidos con una señal N-terminal. Tiene un dominio huérfano, un dominio de la zona pelúcida, una región yuxtamembrana, una región transmembrana y un dominio citoplásmico corto. Se encuentra en la superficie celular y es altamente expresada en las células endoteliales y del sincitiotrofoblasto (61, 62).

La sEng es la forma soluble de endoglina que se encuentra en el suero, pesa 80 kDa y es generada por un corte proteolítico de la endoglina de membrana, producido por la metaloproteasa MMP14 (MT1-MMP). La sEng solo contiene el dominio extracelular. La MMP14 se expresa en las mujeres con preeclampsia y podría escindir endoglina del sincitiotrofoblasto, produciendo la sEng,

Ilustración 7 e Ilustración 8. Su nivel aumenta en la circulación de pacientes con tumores angiogénicos, en la neovascularización, en neoplasias mieloides y en las mujeres embarazadas (54). Esta forma soluble de endoglina es capaz de unir y antagonizar los efectos proangiogénicos de los miembros de la familia del factor de crecimiento transformante β . La forma soluble de endoglina está presente en mayores cantidades en el suero de mujeres con preeclampsia, por lo que se ha implicado en la patogénesis de la preeclampsia. Comienza a aumentar de 8 a 10 semanas antes del inicio de la preeclampsia y se correlaciona bien con la gravedad de la enfermedad, incluso mejor que el sFlt-1(62).

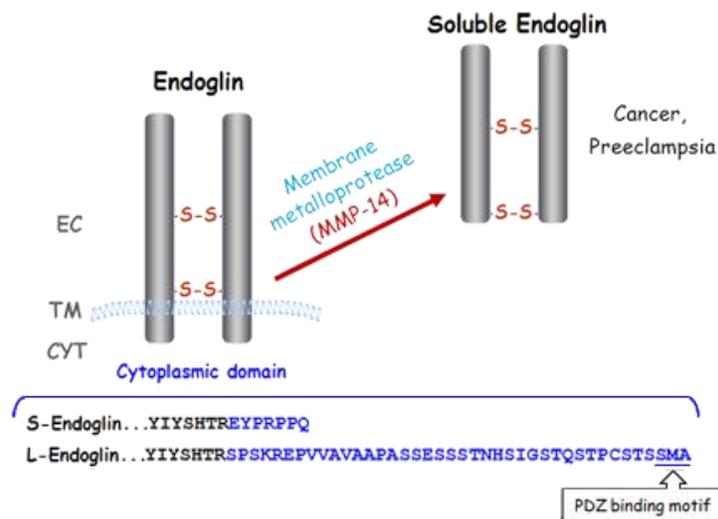


Ilustración 7. Endoglina unida a la membrana celular y la forma soluble de endoglina. Dos diferentes isoformas unidas a la membrana son generadas por empalme alternativo, S-endoglina y L-endoglina. Se diferencian entre sí en la longitud y composición de sus colas citoplásmicas. Se indican las secuencias de aminoácidos de colas citoplásmicas cortas (S)-endoglina y largas (L)-endoglina. Las secuencias que difieren entre las isoformas L y S están en azul. El lugar de unión a PDZ en L-endoglina está subrayado. El procesamiento proteolítico de la endoglina unida a la membrana genera una endoglina soluble que se regula al alza en el cáncer y en la preeclampsia. La metaloproteasa MMP-14, una de las principales proteasas que desprenden endoglinas, actúa sobre la región yuxtamembrana que conduce a la secreción del gran ectodominio de endoglina (61).

Los cambios en la concentración de las proteínas pro- y anti- angiogénicas pueden ser útiles para establecer el diagnóstico de preeclampsia en casos desafiantes, ambiguos o atípicos. Por ejemplo, estos biomarcadores pueden discriminar la preeclampsia de otras causas de hipertensión en el embarazo, como en pacientes con enfermedad renal preexistente, otras causas de trombocitopenia gestacional como la púrpura trombocitopénica idiopática, o en casos de hipertensión o proteinuria gestacional antes de las 20 semanas de gestación.

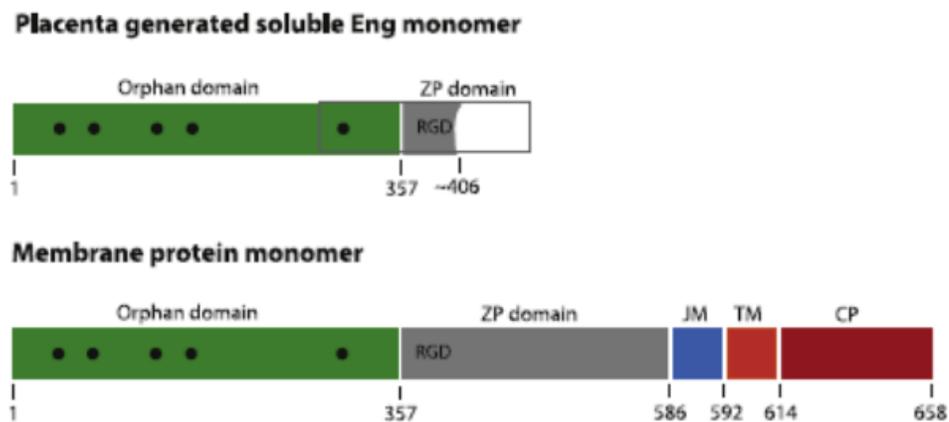


Ilustración 8. Representación esquemática de la endoglina de membrana y de la endoglina soluble (s-Eng). La endoglina de membrana es un polipéptido de 658 aminoácidos y la sEng es de 406. La sEng es el producto del corte proteolítico de la endoglina de membrana por la metaloproteasa MMP14 y está presente en el suero en mayores cantidades en las mujeres con preeclampsia incluso hasta 10 semanas antes del inicio de los síntomas clínicos de la enfermedad (62).

Factor de crecimiento placentario (PlGF).

El factor de crecimiento placentario es una proteína que en los humanos está codificada por el gen PlGF, es un miembro de la subfamilia VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular), es una molécula clave en la angiogénesis (53) y la vasculogénesis, en particular durante la embriogénesis. La principal fuente

de PIGF durante el embarazo es el trofoblasto placentario (63). El PIGF también se expresa en muchos otros tejidos, incluido el trofoblasto vellosos. Específicamente, el PIGF desempeña un papel en el crecimiento y diferenciación del trofoblasto. Las células trofoblásticas, específicamente las células trofoblásticas extra vellosas que son las responsables de invadir las arterias espirales maternas en el útero. El desarrollo adecuado de los vasos sanguíneos en la placenta es crucial para el desarrollo embrionario. En condiciones fisiológicas normales, el PIGF también se expresa en un nivel bajo en otros órganos, como el corazón, los pulmones, la tiroides y el músculo esquelético (60).

El factor de crecimiento placentario es el segundo miembro de la familia VEGF descubierto. El nombre hace referencia a la placenta ya que se clonó a partir de una biblioteca de ADNc placentario humano. El gen PIGF humano se encuentra en el cromosoma 14q24, El gen está formado por siete exones que abarcan 13.7 kb en humanos y excluyendo las secuencias reguladoras ascendentes y descendentes (64).

Los niveles séricos de PIGF y sFlt-1 están alterados en mujeres con preeclampsia(38, 39, 45, 48, 60, 65). Los estudios muestran que en las mujeres que presentan preeclampsia tanto temprana como tardía, los niveles séricos maternos de sFlt-1 son más altos y los del PIGF son más bajos. Además, los niveles placentarios de sFlt-1 aumentan significativamente y los de PIGF disminuyen en mujeres con preeclampsia en comparación con aquellas con embarazos sin complicaciones(33, 36, 38, 39, 54, 66, 67). Esto sugiere que las concentraciones placentarias de sFlt-1 y PIGF se reflejan en los cambios del

suero materno. Esto es consistente con la opinión de que la placenta es la principal fuente de sFlt-1 y PlGF durante el embarazo.

PlGF es un biomarcador potencial para la preeclampsia, una condición en la cual los vasos sanguíneos en la placenta son demasiado estrechos, lo que resulta en hipertensión arterial. Como se mencionó anteriormente, las células trofoblásticas extra vellosas invaden las arterias maternas. La diferenciación inadecuada puede dar lugar a una hipo-invasión de estas arterias espirales maternas y, por lo tanto, no ampliar lo suficiente los vasos sanguíneos. En diversos estudios han sido reportados niveles bajos de PlGF en mujeres que fueron diagnosticadas con preeclampsia durante su embarazo (60).

Los factores angiogénicos como predictores de Preeclampsia en la ERC.

Las mujeres con enfermedad renal crónica son menos capaces de realizar las adaptaciones renales necesarias para un embarazo saludable y presentan una disfunción endotelial con un nivel elevado de sFlt-1(57). Por lo tanto, un leve desequilibrio de los factores angiogénicos derivados de la placenta podría causar preeclampsia en el embarazo asociado a la ERC (41).

Se sabe que los factores anti-angiogénicos y pro-angiogénicos juegan un papel importante en la fisiopatología de la preeclampsia (38, 39) , Ilustración 9 e Ilustración 10. Los estudios de los niveles séricos maternos de estos factores han demostrado que endoglina soluble (sEng) y tirosina quinasa 1 similar a fms soluble (sFlt-1), están elevadas en mujeres que presentan preeclampsia mientras que el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) y factor de crecimiento placentario (PlGF) están disminuidos (41). Algunos de estos cambios pueden

ser detectados varias semanas antes de la aparición de síntomas clínicos de la enfermedad ([54](#)).

Las concentraciones de PIGF y sFlt-1 medidas por inmunoensayo en sangre materna mejoran las posibilidades de pronóstico en la preeclampsia, que generalmente se diagnostica únicamente sobre la base de los síntomas clínicos, proteinuria y velocimetría Doppler de la arteria uterina ([68](#), [69](#)). En particular, el aumento en la concentración de sFlt-1 y la endoglina soluble junto con la disminución en la concentración de PIGF y VEGF se pueden detectar al menos cinco semanas antes del inicio de los síntomas de la preeclampsia, lo que posiblemente facilitaría el diagnóstico y tratamiento temprano y oportuno ([35](#), [38](#), [39](#)).

Las mujeres embarazadas con ERC subyacente tienen un riesgo mayor de presentar complicaciones obstétricas como son la preeclampsia sobreagregada y el deterioro de la función renal ([18](#), [19](#), [41](#), [70](#), [71](#)). Se ha demostrado que los factores asociados a un resultado perinatal adverso son el desarrollo de hipertensión, la proteinuria y la etapa de la ERC ([41](#)).

Aunque la causa principal de la preeclampsia no está clara, la evidencia sugiere que esta enfermedad se debe a un desequilibrio entre los factores proangiogénicos placentarios y antiangiogénicos que dañan el endotelio vascular materno y esto conduce a las manifestaciones clínicas tardías de esta condición ([33](#), [38](#), [39](#), [45](#), [54](#), [63](#), [72](#)).

Las concentraciones elevadas de sFlt1 y sEng, y bajas de PIGF en embarazadas de alto riesgo que desarrollan preeclampsia en comparación con las que no desarrollan esta condición, puede ser útil en la predicción de esta complicación,

antes de que se presenten las manifestaciones clínicas de la enfermedad como son la hipertensión y la proteinuria (46).

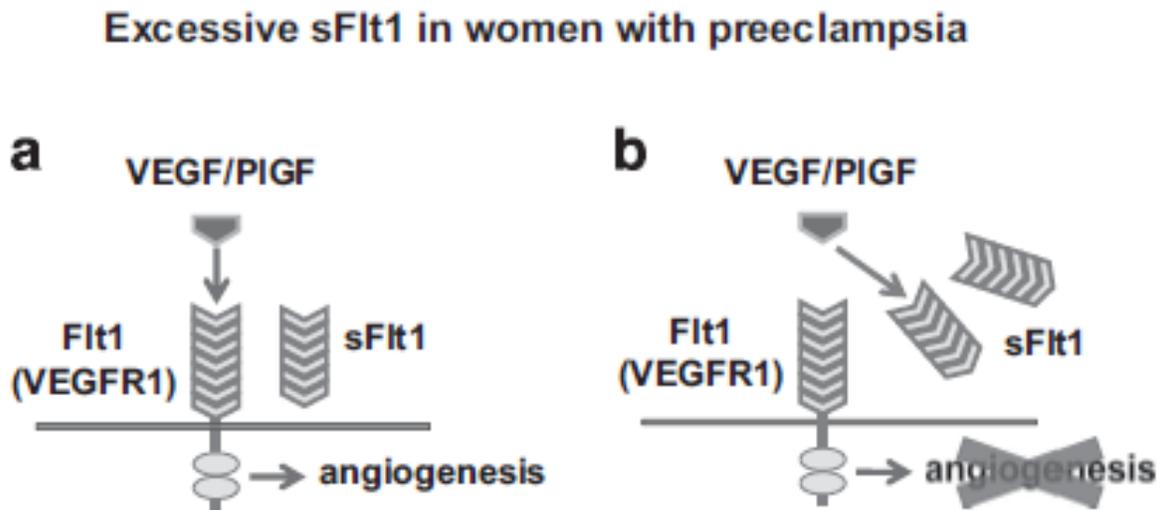


Ilustración 9. Tirosin cinasa fmd 1 soluble (sFlt1) en mujeres con preeclampsia. El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y el factor de crecimiento placentario (PlGF) se unen al receptor 1 de VEGF (VEGFR1: también conocido como Flt1) e inducen la angiogénesis que es esencial para un embarazo normal (a). En la preeclampsia, la placenta hipoperfundida produce una forma soluble en exceso de VEGFR1 (sFlt1) que antagoniza el VEGF y el PlGF en el suero materno y altera la angiogénesis (b) (43).

Por otra parte, en diversos estudios se ha demostrado que las mujeres con Preeclampsia presentan una elevación de las proteínas antiangiogénicas como son la sFlt-1 y la sEng y una disminución de los factores angiogénicos como son el PlGF y el factor de crecimiento vascular endotelial (48).

La formación anormal de la placenta es parte de la fisiopatología de la preeclampsia en las mujeres que desarrollan esta enfermedad y esto puede ser consecuencia del desajuste en el balance de los factores pro y anti angiogénicos

(56). En diversos estudios se ha encontrado que al momento del diagnóstico clínico de la Preeclampsia se puede documentar este desequilibrio (35, 73).

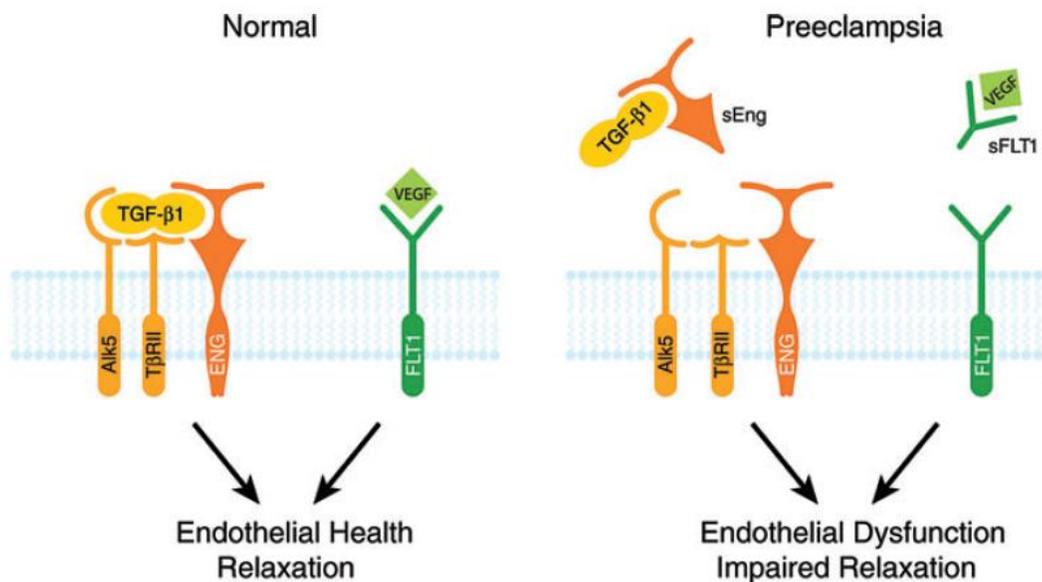


Ilustración 10. Los factores antiangiogénicos, sFlt1 y sEng causan disfunción endotelial al antagonizar la señalización de VEGF y TGF-β1. Existe una creciente evidencia de que VEGF y TGF-β1 son necesarios para mantener la salud endotelial en varios tejidos, incluido el riñón y quizás la placenta. Durante el embarazo normal, la homeostasis vascular se mantiene por los niveles fisiológicos de señalización de VEGF y TGF-β1 en la vasculatura. En la preeclampsia, el exceso de secreción placentaria de sFlt1 y sEng (dos proteínas antiangiogénicos circulantes endógenas) inhibe la señalización de VEGF y TGF-β1, respectivamente, en la vasculatura. Esto da lugar a disfunción de las células endoteliales, incluida la disminución de la producción de prostaciclina y óxido nítrico, y la liberación de proteínas procoagulantes (60)

Asimismo, en un estudio en donde se incluyeron 501 mujeres mexicanas con preeclampsia, se reportó que un aumento en la relación sFlt 1/PlGF y una mayor cantidad sEng en el suero de las mujeres durante la gestación que se asoció con mayor riesgo de resultados adversos maternos combinados como la preeclampsia (36). En estudios transversales se ha demostrado que las concentraciones de los

factores pro y anti-angiogénicos son diferentes en las mujeres con ERC que desarrollaron Preeclampsia en comparación con aquellas con solo presentan ERC, del mismo modo se ha informado que hay diferencias en la determinación sFlt-1 y PlGF en mujeres embarazadas con ERC que presentaron preeclampsia y las que no la presentaron (41).

Por otra parte, existe evidencia de que los cambios en las concentraciones de PlGF, sFlt-1 y la relación sFlt-1/PlGF preceden la presentación de la preeclampsia en mujeres con embarazos de bajo riesgo (35). Algunos estudios han evaluado la utilidad en la predicción de preeclampsia en embarazos de alto riesgo, sin embargo, no existe alguno que la evalúe la utilidad predictiva en pacientes con ERC.

En la actualidad no existen reportes que evalúen la utilidad de los factores pro y anti angiogénicos para la predicción de la preeclampsia en mujeres con ERC. Es necesaria la investigación en busca de marcadores para poder identificar tempranamente a las mujeres embarazadas con ERC subyacente con mayor riesgo de presentar preeclampsia que es el evento adverso más común. La identificación de mujeres con mayor riesgo es un propósito importante debido a la necesidad de adecuar la atención prenatal con el fin de detectar oportunamente las complicaciones y dar un tratamiento adecuado y oportuno.

Justificación.

A nivel mundial ha surgido el interés por detectar y tratar adecuadamente la ERC para reducir su progresión hacia ERC terminal (1, 74). Se ha declarado en diversos estudios que la ERC es un problema de salud pública que se ha incrementado en los últimos años y que se espera que siga aumentando en proyecciones a futuro (2).

Se estima que el 3% de las mujeres embarazadas presentan algún grado de ERC. Asimismo, las pacientes con ERC y embarazo representan un reto multidisciplinario ya que el embarazo afecta a la función renal y viceversa (8). Las mujeres con ERC y embarazo por lo general presentan complicaciones graves como la preeclampsia, el bajo peso al nacer de sus hijos y la prematuréz. Esto implica un gran impacto social y económico al incrementarse la morbilidad y la mortalidad materna y perinatal (75, 76), originando que los servicios de salud sean insuficientes. Por estas razones es de gran importancia poder diagnosticarla y tratarla en forma oportuna durante el embarazo. El punto clave es la identificación temprana de los factores que se asocian con un peor pronóstico (76).

Los factores angiogénicos, como el factor de crecimiento placentario (PlGF) y el factor de crecimiento vascular endotelial son reguladores importantes en la formación normal de la placenta humana y se han observado concentraciones reducidas de PlGF libre en mujeres con preeclampsia clínica. Además, los informes recientes han indicado que los niveles de sFlt-1 y de endoglina soluble (sEng) se incrementan en la placenta y el suero de las mujeres con preeclampsia. El sFlt-1 y la sEng actúan mediante el secuestro de PlGF libre y VEGF libre,

evitando así la interacción entre los receptores endoteliales y estos factores en la superficie celular e induciendo con ello la disfunción de las células endoteliales ([33](#), [38](#), [39](#), [45](#), [63](#), [76](#)).

Se ha demostrado que el nivel de sFlt-1 aumenta significativamente y que el nivel de PlGF se reduce en pacientes con preeclampsia sobreagregada en mujeres con ERC en comparación con controles normales. Esto sugiere que los factores angiogénicos tienen un papel importante en la patogénesis de la preeclampsia y que los factores angiogénicos podrían ser marcadores potenciales que ayuden a establecer el diagnóstico diferencial entre la preeclampsia y la ERC y también podrían ser útiles como una herramienta para establecer el pronóstico de desarrollar preeclampsia, ya que el desequilibrio de los factores angiogénicos se presenta hasta cinco semanas antes de que se presentes los síntomas clínicos de la enfermedad ([41](#)).

Las mujeres en todas las etapas de la ERC pueden beneficiarse de un asesoramiento cuidadoso durante el embarazo mediante la estratificación del riesgo, asimismo pueden beneficiarse de una cuidadosa consejería, evaluación y seguimiento durante el cuidado prenatal y en el puerperio ([24](#)).

Planteamiento del problema.

En diversos estudios se ha demostrado que las mujeres con preeclampsia presentan una elevación de las proteínas anti - angiogénicos como son la sFlt-1 y la sEng y una disminución de las proteínas pro - angiogénicos como son el PIGF (48). La formación anormal de la placenta es parte de la fisiopatología de la preeclampsia en las mujeres que desarrollan esta enfermedad y esto tiene como consecuencia un desajuste en el balance de los factores pro y anti angiogénicos (15).

Actualmente no se ha reportado la utilidad de la determinación de los factores pro y antiangiogénicos como predictor del desarrollo de preeclampsia en mujeres con embarazadas con ERC subyacente. La evidencia sugiere que podría existir una fuerte asociación entre la probabilidad de desarrollar preeclampsia y la concentración sérica de los factores pro y antiangiogénicos hasta 5 semanas antes de que haya manifestaciones clínicas de la preeclampsia. Con base a lo anterior, el estudio se dirige a contestar la siguiente pregunta:

Pregunta de Investigación:

En mujeres embarazadas con enfermedad renal crónica:

¿Cuál es la fuerza de asociación entre el grado de desequilibrio angiogénico evaluado mediante determinación de las concentraciones séricas de los factores pro y anti angiogénicos (sEng, sFlt-1 y PLGF, medidos con la técnica de ELISA, R & D Systems, Minneapolis, MN) y el desarrollo de Preeclampsia Sobreagregada?

Hipótesis.

En mujeres embarazadas con enfermedad renal crónica:

El grado de desequilibrio angiogénico evaluado mediante las concentraciones séricas elevadas de sFlt-1 y sEng y disminuidas del PIGF se asocian con el desarrollo de preeclampsia sobreagregada.

Objetivo general.

En mujeres embarazadas con enfermedad renal crónica:

Determinar la fuerza de asociación entre el grado de desequilibrio angiogénico evaluado mediante la determinación sérica de los factores pro y anti angiogénicos (sEng, sFlt-1 y PLGF, medidos con la técnica de ELISA) y el desarrollo de preeclampsia sobreagregada.

Objetivos específicos.

1. Conocer las concentraciones séricas de sFlt-1, PIGF y sEng, en mujeres embarazadas con enfermedad renal crónica desde el inicio de su embarazo y hasta el término de la gestación.
2. Conocer cuál es la fuerza de asociación entre el grado de desequilibrio angiogénico medido mediante la relación sFlt-1 / PIGF el desarrollo preeclampsia sobreagregada en mujeres con enfermedad renal crónica.
3. Conocer cuál es la fuerza de asociación entre los niveles séricos de sEng y el desarrollo preeclampsia sobreagregada en mujeres con enfermedad renal crónica.

Material y métodos.

Universo de trabajo:

- **Población Diana:** Mujeres embarazadas con ERC.
- **Población accesible:** Mujeres derechohabientes, embarazadas con ERC, que acudan a la UMAE Hospital de Ginecología y Obstetricia No. 4 "Luis Castelazo Ayala" del Instituto Mexicano del Seguro Social.
- **Muestra:** Mujeres embarazadas con diagnóstico de ERC preexistente o que se le detecte por primera vez durante el embarazo, cualquiera que sea la causa (glomerulopatías primarias o secundarias).
- **Tipo de muestreo:** No probabilístico de casos consecutivos. Se tomarán a todas las mujeres con ERC y embarazo que se capten consecutivamente de la población accesible.
- **Periodo de reclutamiento:** Del 1 de enero del 2019 al 30 de agosto de 2022 o hasta alcanzar el tamaño de la muestra propuesto.

Criterios de inclusión para la muestra.

1. Mujeres embarazadas mayores de 18 años, que decidan aceptar colaborar en el estudio, con un feto único vivo de cualquier edad gestacional.
2. Con diagnóstico de ERC preexistente al embarazo o que se detecte por primera vez durante el embarazo de cualquier causa según los criterios de la NFK. Se considerará a cualquier mujer embarazada con el diagnóstico previo o inicial de una enfermedad glomerular primaria o secundaria sin el antecedente de proteinuria, o que se detecte una proteinuria significativa (mayor de 300 mg/24hr) persistente por más de

tres meses durante el embarazo actual y que se descarte preeclampsia al momento del reclutamiento. El estadio de la ERC durante el embarazo se basará en la tasa estimada de filtración glomerular con la fórmula CKD-EPI previa a la gestación, de acuerdo con la guía de la NFK (77).

3. Que sean atendidas en la UMAE Hospital de Ginecología y Obstetricia No. 4 "Luis Castelazo Ayala" del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Criterios de no inclusión.

1. Mujeres embarazadas que al momento del diagnóstico de la ERC presenten preeclampsia de acuerdo a los criterios vigentes del Colegio Americano de Ginecología y Obstetricia (78).

Criterios de eliminación.

2. Mujeres en las que no pudo obtenerse en forma completa la información clínica o los resultados de las pruebas de laboratorio.

Lugar donde se desarrolló el estudio:

La investigación se realizó en el Laboratorio G de la Unidad de Investigación Médica en Medicina Reproductiva, ubicada en el Sexto Piso, Sección Sur de la Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Ginecología y Obstetricia No. 4 "Luis Castelazo Ayala" del Instituto Mexicano del Seguro Social, Delegación 3 Suroeste.

Dirección:

Avenida Rio Magdalena #289. Colonia Tizapan San Ángel. Delegación Álvaro Obregón. México, Distrito Federal. Código Postal: 01090. Teléfono: 55 50 64 22. Extensión 28003.

Descripción general del estudio.

Características del estudio:

1. Tipo de diseño: **Transversal analítico.**
2. Por el control de la maniobra experimental por el investigador: **Observacional.**
3. Por la captación de la información: **Prolectivo.**
4. Por la medición del fenómeno en el tiempo: **Transversal.**
5. Por la presencia de un grupo control: **Comparativo.**
6. Dirección: **De la causa al efecto.**
7. Por el tipo de muestreo: **No probabilístico (por conveniencia, de casos consecutivos).**
8. Por el tipo de comparación: **Concurrente (los dos brazos corren en forma paralela para hacer las comparaciones).**
9. Por la búsqueda de inferencias: **Analítico.**
10. Por el espectro de la enfermedad en la población: **Heterodémica (contempla todo el espectro de la enfermedad).**

Procedimientos.

Se realizó un estudio de casos y controles anidado en una cohorte. La cohorte la integraron mujeres embarazadas con ERC subyacente en cualquier estadio de

acuerdo con la clasificación y plan de acción de la ERC de las guías de la *National Kidney Foundation* (77) que acudieron a atención médica al Hospital de Ginecología y Obstetricia No. 4 del IMSS. Se solicitó la aprobación del presente estudio al Comité Local de Investigación en Salud Número 3606 del Instituto Mexicano del Seguro Social con número de registro 17 CI 09010 024 ante COFEPRIS y número de registro 09 CEI 026 2016121 ante CONBIOÉTICA. Se obtuvo el dictamen de aprobación por dicho comité el 21 de enero de 2019 con número de registro R-2019-3606-006. Posteriormente se invitó a las pacientes a participar en el estudio a través de una entrevista. Las pacientes que aceptaron colaborar en el estudio en forma voluntaria a través de consentimiento informado.

Al reclutamiento se realizó una historia clínica completa, se les tomó una muestra de sangre periférica y se les pidió la recolección de orina en 24 horas. Posteriormente se citó a las pacientes en intervalos de 4 semanas hasta el término de la gestación. Los casos fueron aquellas mujeres embarazadas con ERC que desarrollaron preeclampsia de acuerdo con las guías emitidas por el Colegio Americano de Ginecología y Obstetricia (78). Los controles fueron aquellas mujeres con ERC que no desarrollaron esta patología durante el embarazo. Todas las pacientes fueron reclutadas antes de la sospecha clínica o diagnóstico de la preeclampsia.

Los niveles séricos de sFlt-1 y PlGF y sEng se determinarán mediante un inmuno ensayo enzimático (ELISA) siguiendo las instrucciones del fabricante (R & D Systems, Inc., Minneapolis, Min., EE. UU.). Todas muestras se examinaron por duplicado y la media de determinación en el suero de cada mujer se utilizó para el análisis estadístico.

Procesamiento de los datos.

Se realizó la captura de los datos clínicos y de laboratorio de las pacientes, al reclutamiento y durante el seguimiento de las pacientes hasta la octava semana del puerperio. La construcción de la base de datos se realizó mediante la elaboración de una “Hoja de captura” en el programa EPI info 7.

Definición de las variables.

Variable independiente: Desequilibrio angiogénico

Definición conceptual:

1. **PlGF: Factor de crecimiento placentario.** Polipéptido presente en el suero humano, con tres isoformas cuyo efecto biológico se realiza a través de su unión con los receptores VEGFR-1 (Flt-1) y VEGFR-2. Posee actividad mitogénica en las células endoteliales. Tiene un efecto pro-angiogénico.
2. **sFlt-1: La tirosin cinasa fms-1 soluble,** proteína soluble presente en el suero humano que resulta del empalme alternativo del gen Flt-1. Se produce en el trofoblasto, tiene un efecto anti-angiogénico.
3. **sEng: Endoglina soluble,** es una glicoproteína homodimérica presente en el suero humano, resultado de la actividad de una enzima metaloproteínasa que actúa sobre la endoglina considerada como el correceptor funcional para el factor de crecimiento transformante (TGF)- β 1 y TGF- β 3.
4. **Relación sFlt-1 / PlGF,** se determinó mediante la división aritmética de la concentración sérica de sFlt-1 en pg/ml entre la concentración sérica de PlGF en pg/ml.

Los puntos de corte utilizados para la clasificación de los grupos fueron extraídos de estudios previos ([40](#), [67](#)).

Definición operativa:

Determinación sérica de la concentración de los factores angiogénicos circulantes en el suero (sFlt-1, sEng y PlGF). Las mediciones en suero de sFlt-1, PlGF y sEng fue realizada por duplicado mediante un inmuno ensayo enzimático (ELISA) sensible y específico empleando estuches comerciales siguiendo las instrucciones del fabricante (R&D Systems, Minneapolis, Minn, USA). Los límites más bajos de detección para sFlt-1, PlGF y sEng reportados son 3.5, 7.0 y 7.0 pg/ml, respectivamente. Se determinaron los coeficientes de variación intraensayo y solo se consideraron aquellas en donde fue menor al 10%.

La determinación de la concentración sérica de sFlt-1 y PlGF se realizó en una muestra de suero utilizando el equipo Elecsys assays (Roche Diagnostics) (35).

Escala de medición: Nominal

Unidad de medición: 3 categorías, de acuerdo con la determinación de la relación sFlt-1 / PlGF

Sin desequilibrio angiogénico (≤ 38)

Con desequilibrio angiogénico moderado (>38 y < 85)

Con desequilibrio angiogénico severo (≥ 38)

Variable dependiente: Preeclampsia Sobreagregada.

Definición conceptual:

La preeclampsia es un síndrome específico del embarazo, caracterizado por hipertensión y proteinuria, que también puede asociarse con múltiples signos y síntomas, como edema, alteraciones visuales, cefalea, dolor en epigastrio. El diagnóstico de preeclampsia se basa en los criterios del Colegio Americano de Obstetricia y Ginecología (ACOG) (78) . Se considera que una paciente tuvo preeclampsia sin criterios de severidad cuando sin el antecedente de hipertensión arterial sistémica desarrolló 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 6 horas de diferencia y la proteinuria por una relación proteína : creatinina ≥ 0.3 (72) o >300 mg en la recolección de orina de 24 horas.

Se consideró como preeclampsia sobreagregada con criterios de severidad al presentar al menos uno o más de los siguientes hallazgos: una TA sistólica ≥ 160 mmHg y/o una TA diastólica de ≥ 110 mmHg sin historia de hipertensión arterial, con duplicación de proteinuria basal, la presencia de cefalea persistente, síntomas visuales, dolor epigástrico, elevación de la enzimas hepáticas por arriba de dos veces el valor máximo de referencia, trombocitopenia, síndrome de HELLP (hemólisis, elevación de enzimas hepáticas y trombocitopenia). Así como también si la hipertensión arterial y la proteinuria regresaron a sus valores iniciales posterior al parto (<12 semanas). La eclampsia se definió por la presencia de crisis convulsivas.

Para el diagnóstico de preeclampsia sobreagregada se utilizaron los criterios del “Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy” (79) que son:

1. En mujeres con hipertensión y sin proteinuria antes de las 20 SDG, cuando se le detecta la presencia de proteinuria significativa (≥ 300 mg en orina de 24 horas).
2. En mujeres con hipertensión y proteinuria antes de las 20 SDG, cuando se presenta cualquiera de las siguientes condiciones: (a) Incremento súbito de la proteinuria (al menos dos veces al del valor basal), (b) Incremento súbito en la presión arterial en mujeres cuya hipertensión previamente estaba bien controlada, (c) Trombocitopenia ($< 100,000/\text{mm}^3$), (d) Incremento en las transaminasas (AST o ALT, al menos dos veces por arriba del valor máximo normal), (e) eclampsia, síndrome de HELLP, epigastralgia, cefalea persistente y/o alteraciones visuales o edema agudo de pulmón.

Definición operativa:

La preeclampsia sobreagregada en mujeres con ERC se definió de acuerdo con lo estipulado en la definición conceptual, como el inicio reciente o un empeoramiento de la hipertensión y/o proteinuria.

Escala de medición: Nominal

Categoría de las variables: 1. Con Preeclampsia sobreagregada; 2. Sin preeclampsia sobreagregada.

Variables confusoras:

Nombre de la variable: Edad materna.

Definición conceptual: La edad de la madre en el embarazo. (Definición conceptual tomada de Medline. Términos MeSH. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>.)

Definición operacional: Edad de la madre en años en el momento del reclutamiento de la paciente.

Tipo de variable: Cuantitativa, continua, de razón.

Escala de medición: Número de años.

Nombre de la variable: Tabaquismo.

Definición conceptual: Inhalar y exhalar el humo de la combustión del tabaco. (Definición conceptual tomada de Medline. Términos MeSH. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>.)

Definición operacional: Acción de inhalar y exhalar el humo de la combustión del tabaco durante el embarazo.

Tipo de variable: Cualitativa, nominal, dicotómica.

Categorías: 0= Ausente; 1= Presente.

Nombre de la variable: Hipertensión arterial crónica.

Definición conceptual: Presión arterial sistémica persistentemente alta. Sobre la base de múltiples lecturas (determinación de la presión arterial), la hipertensión

se define actualmente como cuando la presión sistólica es consistentemente mayor que 140 mm Hg o cuando la presión diastólica es siempre de 90 mm Hg o más. (Definición conceptual tomada de Medline. Términos MeSH. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>.)

Definición operacional: Presión arterial mayor o igual de 140/90, en dos tomas separadas con un intervalo mayor de 4 horas al momento del reclutamiento.

Tipo de variable: Cualitativa, nominal, dicotómica.

Categorías: 0= Ausente; 1= Presente.

Nombre de la variable: Diabetes Mellitus.

Definición conceptual: Un grupo heterogéneo de trastornos caracterizados por la hiperglucemia y la intolerancia a la glucosa. (Definición conceptual tomada de Medline. Términos MeSH. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>.)

Definición operacional: Presencia de cualquier trastorno metabólico que se caracterice por hiperglucemia e intolerancia a la glucosa de acuerdo con los criterios de las Guías de la Asociación Americana de Diabetes (ADA) 2014: diagnóstico y tratamiento American Diabetes Association. Se incluye a la diabetes gestacional y pregestacional.

Tipo de variable: Cualitativa, nominal, dicotómica.

Categorías: 0= Ausente, 1= Presente.

Nombre de la variable: Paridad.

Definición conceptual: El número de hijos de una mujer ha dado. Se pone en contraste con la gravidez, que se refiere al número de embarazos, independientemente del resultado. (Definición conceptual tomada de Medline. Términos MeSH. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>.)

Definición operacional: Número de hijos que una mujer ha tenido mayores de 24 semanas.

Tipo de variable: Cualitativa, dicotómica.

Categorías: 1. Primípara (el embarazo actual es primer embarazo de la mujer en su vida); 2. Multípara (la mujer ya ha tenido embarazos que se han resuelto con el nacimiento de sus hijos después de las 24 semanas)

Nombre de la variable: Edad gestacional.

Definición conceptual: La edad del feto o embrión, a partir del momento de la fecundación. En obstetricia clínica, la edad gestacional se calcula a menudo como el tiempo desde el último día de la última menstruación, que es aproximadamente 2 semanas antes de la ovulación y la fertilización. La edad gestacional se expresa en semanas y días completos (Perinatología definiciones y conceptos.).

Definición operacional: Duración del embarazo en semanas calculado desde el primer día de la última menstruación normal hasta el nacimiento.

Tipo de variable: Cuantitativa, continua, de razón.

Escala de medición: Número de semanas.

Nombre de la variable: Etapa de la ERC.

Definición conceptual: La condición en que los riñones realizan su función por debajo del nivel normal durante más de tres meses. La insuficiencia renal crónica se clasifica en cinco etapas de acuerdo con la disminución de la tasa de filtración glomerular y al grado de daño renal (medida por el nivel de proteinuria). La forma más severa es la enfermedad renal en etapa terminal (77).

Definición operacional: Se utilizó la definición y clasificación de las 5 etapas de la pérdida progresiva e irreversible de la función renal por 3 meses o más de acuerdo con la “*Kidney Disease: Improving Global Outcomes*” (KDIGO), cuyo grado de afección se determina con tasa de filtración glomerular, basados en los criterios de la *National Kidney Foundation* en las guías para la evaluación, clasificación y estratificación de la ERC.

Tipo de variable: Cualitativa, ordinal.

Categorías: Etapa 1, 2, 3, 4, 5.

Nombre de la variable: Proteinuria en orina de 24 horas.

Definición conceptual: La presencia de proteínas en la orina, un indicador de enfermedades renales. (Términos MeSH. / pubmed.)

Definición operacional: Cuantificación de proteínas en la orina recolectada durante 24 horas al inicio del reclutamiento, determinado mediante el Método de Bradford.

Tipo de variable: Cuantitativa, continua.

Escala de medición: Miligramos (mg/volumen de orina en 24 horas)

Variables descriptoras:

Nombre de la variable: Peso corporal de la madre.

Definición conceptual: La masa o cantidad de pesadez de un individuo. Se expresa en unidades de libras o kilogramos (Definición conceptual tomada de Medline. Términos MeSH. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>).

Definición operacional: La cantidad de pesadez de un individuo expresada en unidades de kilogramos al momento del reclutamiento.

Tipo de variable: Cualitativa, nominal, dicotómica.

Escala de medición. Número de Kilogramos (Kg).

Nombre de la variable: Talla de la madre.

Definición conceptual: La distancia desde la base a la corona de la cabeza con el cuerpo de pie sobre una superficie plana y totalmente extendida (Definición conceptual tomada de Medline. Términos MeSH. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>).

Definición operacional: La distancia desde la base a la corona de la cabeza con el cuerpo de pie sobre una superficie plana y totalmente extendida, determinada en el momento del reclutamiento.

Tipo de variable: Cuantitativa, continua.

Escala de medición. Número de metros (m).

Nombre de la variable: Índice de masa corporal (IMC).

Definición conceptual: Un indicador de la densidad del cuerpo según lo determinado por la relación de peso del cuerpo a la talla. $IMC = \text{peso (kg)} / \text{talla al cuadrado (m}^2\text{)}$. IMC se correlaciona con la grasa corporal (tejido adiposo). Su relación varía con la edad y el género. Para los adultos, el IMC se divide en estas categorías: por debajo de 18.5 (bajo peso); 18,5-24,9 (normal); 25,0 a 29,9 (sobrepeso); 30,0 y por encima (obeso). (Centro Nacional para Estadísticas de Salud, Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades) (Definición conceptual tomada de Medline. Términos MeSH. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>.)

Definición operacional: Un indicador de la densidad del cuerpo según lo determinado por la relación de peso del cuerpo a la talla. $IMC = \text{peso (kg)} / \text{talla al cuadrado (m}^2\text{)}$, determinado al momento del reclutamiento.

Tipo de variable: Cuantitativa, continua.

Escala de medición. Continua.

Nombre de la variable: Tasa estimada de filtración glomerular. (eTFG)

Definición conceptual:

El volumen de agua filtrada de plasma a través de las paredes capilares glomerulares en cápsulas de Bowman por unidad de tiempo. Se considera que es equivalente al aclaramiento de inulina. (Definición conceptual tomada de Medline. Términos MeSH. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>.)

Definición operacional:

Debido a la falta de un consenso internacional para determinar cual es el mejor marcador de la función renal durante el embarazo, la tasa de filtrado glomerular (TFG) fue calculada utilizando la fórmula de la colaboración epidemiológica de la Enfermedad Renal Crónica (CKD-EPI), tomando lo valores de la determinación sérica de Creatinina antes de la concepción del embarazo actual o aquella registrada en los resultados de los exámenes de laboratorio de la primera consulta del control prenatal (80).

Tipo de variable:

Cuantitativa, continua.

Escala de medición.

Mililitros/minuto/metros cuadrados de superficie corporal. (ml/min/1.73 m²).

Nombre de la variable: Doppler de las arterias uterinas.

Definición conceptual: Determinación del índice de pulsatilidad mediante ultrasonido Doppler de las arterias uterinas (81).

Definición operacional: Determinación del índice de pulsatilidad de las arterias uterinas > percentil 95, para la edad gestacional según las tablas de referencia.

Tipo de variable: Nominal, categórica, binominal.

Escala de medición: 1 = Normal; 2 = Anormal.

Nombre de la variable: Creatinina Sérica.

Definición conceptual: Determinación de la cantidad de creatinina en el suero. (Medline).

Definición operacional: Determinación de la Creatinina Sérica mediante un ensayo clororimétrico directo.

Tipo de variable: Cuantitativa, continua.

Escala de medición: Unidades en mg/dL

Nombre de la variable: Creatinina Urinaria.

Definición conceptual: Determinación de la cantidad creatinina en la orina de 24 horas. (Medline).

Definición operacional: Determinación de la Creatinina Urinaria mediante un ensayo colorimétrico directo.

Tipo de variable: Cuantitativa, continua.

Escala de medición: Unidades en mg/dL

Nombre de la variable: Vía de resolución del embarazo.

Definición conceptual: Entrega del feto y la placenta bajo el cuidado de un obstetra o un trabajador de salud. Las entregas obstétricas pueden implicar intervenciones físicas, psicológicas, médicas o quirúrgicas. (Definición

conceptual tomada de Medline. Términos MeSH. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>.)

Definición operacional: Tipo de nacimiento del feto en la resolución del embarazo.

Tipo de variable: Cualitativa, nominal, dicotómica.

Categorías: 0= Parto; 1= Cesárea.

Nombre de la variable: Calificación de Apgar.

Definición conceptual: Un método, desarrollado por la Dra. Virginia Apgar, para evaluar la adaptación de un recién nacido a la vida extrauterina. Se evalúan cinco elementos: la frecuencia cardíaca, el esfuerzo respiratorio, tono muscular, irritabilidad refleja y el color. La determinación se realiza a los 60 segundos después de su nacimiento y de nuevo cinco minutos, en una escala de 0-2, donde 0 es el más bajo, 2 siendo normal. Los cinco números se suman para la puntuación de Apgar. Una puntuación de 0-3 representa la asfixia severa, 4-7 indica asfixia moderada, y una puntuación de 7-10 predice la ausencia de dificultades para adaptarse a la vida extrauterina. Año de introducción: 1973 (1971) (Definición conceptual tomada de Medline. Términos MeSH. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>.)

Definición operacional: Calificación de la escala de Apgar al minuto y a los 5 minutos después del nacimiento.

Tipo de variable: Cuantitativa, continua.

Escala de medición: Número: 0-10

Nombre de la variable: Peso al nacer.

Definición conceptual: La masa o cantidad de pesadez de un individuo al nacer. Se expresa en unidades de libras o kilogramos. (Definición conceptual tomada de Medline. Términos MeSH. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>.)

Definición operacional: Peso al nacer del recién nacido expresado en gramos.

Tipo de variable: Cuantitativa, continua.

Escala de medición: Unidades en gramos.

Análisis estadístico.

Análisis Exploratorio.

Consistió en el análisis inicial de los datos obtenidos. La información de los sujetos de investigación se concentró en una base de datos creada con el software SPSS versión 21. Se ordenó la base de datos y se buscó intencionalmente errores en la captura, como son valores no plausibles, perdidos o no ingresados en la base.

Análisis Descriptivo.

El segundo paso fue realizar un análisis de las variables descriptoras de la población estudiada en el total de población y en cada grupo estudiado (mujeres con ERC que presentaron preeclampsia y mujeres que no la presentaron), de acuerdo con el tipo de distribución y al tipo de cada variable, con medidas de resumen y de dispersión apropiadas para cada caso. Posteriormente se realizó un análisis bivariado en donde se determinó si existe una diferencia de medias de las variables aleatorias continuas entre los dos grupos con la prueba t student para muestras no relacionadas o con la prueba U de Mann-Whitney (según el tipo de distribución de los datos). Las diferencias ente variables categóricas se determinaron o con la prueba de Chi cuadrada con la corrección de continuidad de Yates, con la prueba exacta de Fisher para muestras pequeñas (o con la prueba de Chi cuadrada de Mantel y Haenszel con tendencia lineal para las variables con más de dos categorías). Las diferencias entre variables continuas entre tres o más grupos se determinaron mediante el análisis de varianza de una vía (ANOVA) seguido de procedimientos post-hoc (Prueba Schefft) o por la

prueba de Kruskal-Wallis de una vía seguido de la prueba de U Mann-Whitney para las variables que no tuvieron una distribución normal. Para determinar la magnitud de las diferencias encontradas se utilizó la prueba D de Cohen.

Análisis Inferencial.

Se realizó un análisis de supervivencia entre tiempo entre la toma de la muestra inicial y el desarrollo de preeclampsia sobreagregada, en tres categorías de acuerdo con el grado de desequilibrio angiogénico determinado por los puntos de corte propuestos de la relación sFlt-1 / PlGF utilizando curvas de Kaplan-Meier. Se consideró que hubo diferencias estadísticamente significativas cuando el valor de p fue menor de 0.05 a dos colas.

Se determinó la fuerza de asociación entre los valores de la determinación de la sEng y la ocurrencia o no de preeclampsia por medio del cálculo de la Razón de Momios e intervalos de confianza del 95%. Se comparó el cuartil más alto con los niveles de la concentración sérica sEng versus los 3 más bajos para obtener la razón de momios.

Tamaño de la muestra.

El tamaño de muestra se calculó para encontrar una diferencia de proporciones en la ocurrencia de preeclampsia de al menos el 30% entre los casos y los controles, para encontrar la fuerza de asociación entre dos variables categóricas dicotómicas (concentración alta o baja de sFlt-1, sEng y PlGF) para el cual se calculará una Razón de Momios (RM) a través de una tabla de contingencia de 2x2 para cada caso, tomando en cuenta el supuesto de que la mínima prevalencia

esperada de la concentración alta de sFlt-1 y sEng en los controles será del 10%. Asimismo, la prevalencia de PIGF alta en los controles será del 10%

		Preeclampsia sobreagregada		Total
		Casos+	Controles -	
[sFlt-1, sEng, PIGF]	Alta↑ (concentración en el cuarto cuartil)	40(a)	10(b)	
	Baja↓ (concentración del primer al cuarto cuartil)	60(c)	90(d)	
Total				Gran Total

Las determinaciones [sFlt-1, sEng, PIGF] se agruparán en cuartiles, se espera que las mujeres cuyas concentraciones de que se encuentren en el cuartil más alto presenten una mayor frecuencia de preeclampsia (+) en comparación con aquellas que estén en los tres cuartiles más bajos, con una diferencia esperada del 30% aproximadamente (magnitud del efecto). Entonces, se estima que un 10% de los controles sin preeclampsia estén en el cuartil 4 y el 90% en los cuartiles 1 a 3, en cambio en las mujeres con preeclampsia (casos) esperamos al menos un 40% de las determinaciones se encuentren en el cuartil 4 y 60% en los cuartiles del 1 a 3. Para este cálculo también asumimos un nivel de significancia del 95% (alfa de 0.5) y un poder del estudio 0.8 (beta de 0.2).

Alfa: 0.05 Proporción 1: .4

Beta: 0.2 Proporción 2: .1

Potencia: 0.8 P: .25

Z Alfa: 1.64

Z Beta: 0.84

Fórmula para calcular el tamaño de la muestra.

$$N = \frac{\{Z_{1-\alpha} \sqrt{2P(1-P)} + Z_{1-\beta} \sqrt{P_1(1-P_1) + P_2(1-P_2)}\}^2}{(P_1 - P_2)^2}$$

Sustitución de los valores.

$$N = \frac{\{1.64\sqrt{2} * 0.25 * 0.75 + 0.84\sqrt{0.4} * 0.6 + 0.1 * 0.9\}^2}{0.09}$$

$$N = \frac{\{1.64 * 1.29 + 0.84 * 0.57\}^2}{0.09}$$

$$N = \frac{\{2.57\}^2}{0.09}$$

$$N = \frac{6.06}{0.09}$$

*N = 73 pacientes + 19 pacientes (posibles pérdidas) =
92 pacientes (46 por grupo)*

Aspectos éticos.

Apego a las normas éticas.

El presente estudio se realizó en estricto apego a las normas éticas nacionales e internacionales de investigación en salud como son el Código de Nuremberg, la Declaración de Helsinki de 1975 y sus enmiendas, al informe Belmont, a la Ley General de Salud (LGS), al Reglamento de la LGS en materia de investigación para la salud, y a la Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012, que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos así como a los códigos y normas internacionales vigentes para las buenas prácticas en la investigación clínica.

El desarrollo del presente protocolo se realizó siempre salvaguardando el respeto a las personas, la justicia, la beneficencia, la no maleficencia, la dignidad y la integridad de cada una de las mujeres que decidieron participar voluntariamente en el estudio. Asimismo, los investigadores involucrados en la realización del presente trabajo declaramos que no existe conflicto de intereses que ponga en riesgo a los sujetos que participaran en el desarrollo del proyecto de investigación.

El presente protocolo investigación cuenta con la aprobación y registro R-2019-3606-006 del Comité Local de Investigación en Salud y Ética de la UMAE HGO 4 número 3606. Asimismo, el reclutamiento, la implementación y el desarrollo de este, se realizó hasta después de haber obtenido la aprobación por dicho Comité. El presente estudio utilizó muestras biológicas (sangre) provenientes de mujeres embarazadas con el diagnóstico de ERC. Todas las pacientes fueron atendidas en la UMAE Hospital de Ginecología y Obstetricia

No. 4 “Luis Castelazo Ayala del IMSS. En todos los casos las muestras fueron colectadas con estricto apego a las normas éticas vigentes y con la aceptación de los sujetos a participar en el estudio manifestada mediante un consentimiento informado.

Riesgo del estudio.

De acuerdo con el artículo 17 del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación, el riesgo de este proyecto es mínimo en población vulnerable (mujeres embarazadas). 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 la predicción de preeclampsia. Asimismo, aunque esta investigación se realizó en mujeres embarazadas no existe riesgo de vulnerar a este tipo de población particular ya que estos procedimientos son parte del protocolo habitual de atención.

Consentimiento informado.

Todas las mujeres embarazadas incluidas en el protocolo manifestaron su voluntad de participar en el estudio mediante la firma de aceptación plasmada en una carta de consentimiento informado (Anexo 1), documento que fue entregado a cada una de las participantes. En dicha carta, se emplea un lenguaje sencillo y accesible para las participantes, poniendo de manifiesto su libre decisión de participar o permanecer en el estudio sin que esto afecte o demerite la atención que reciben en el IMSS.

Contribuciones y beneficios del estudio para los participantes y para la sociedad.

La participación de las mujeres embarazadas en este estudio no generó ningún beneficio económico para las participantes. Como la intención del protocolo es saber si las pruebas que aquí se proponen son útiles en la ERC durante el embarazo, es probable que no tenga una utilidad inmediata para el diagnóstico o manejo médico de la paciente. Sin embargo, se ha manifestado que la participación en el estudio será de gran utilidad en el avance del conocimiento científico y contribuir de esta manera a que en corto o mediano plazo se puedan utilizar como métodos de predicción para establecer mejores planes en el manejo médico en este tipo de 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 ERC en el embarazo. El beneficio de participar en este estudio será importante ya que podrá contribuir en la posibilidad de predecir la preeclampsia, que puede poner en riesgo la vida de estas mujeres y de sus hijos en el embarazo de mujeres con ERC.

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 puede ser identificada cada muestra. Los datos completos sólo son accesibles al investigador responsable del protocolo, quien tiene la obligación de no revelar la identidad de los participantes.

Obtención del consentimiento informado.

La carta de consentimiento informado de todas las mujeres embarazadas con ERC fue obtenida por cualquiera de los investigadores participantes en el protocolo. El documento se obtuvo antes de la toma de muestra de sangre y orina en la que los médicos explicaran los objetivos del protocolo a cada uno de los posibles participantes. Los investigadores involucrados en el protocolo se han comprometido con la realización de este y cabe señalar que tienen una amplia experiencia en sus áreas de especialidad. No existe dependencia o subordinación de las participantes al investigador principal debido a que los investigadores de este proyecto no forman parte de los médicos tratantes de estas pacientes.

Selección de participantes.

Las participantes fueron identificadas en Hospitalización y Consulta Externa de los servicios embarazo de alto riesgo de la UMAE HGO4 Luis Castelazo Ayala. Las participantes en el estudio fueron identificadas por los médicos tratantes quienes notificarán de cada caso al grupo de investigación. Las pacientes fueron reclutadas por los médicos tratantes y los miembros del grupo de investigación, previa aceptación y firma del consentimiento informado. En todos los casos la selección de las mujeres embarazadas fue imparcial, sin sesgo social, racial, preferencia sexual y cultural, respetando en todo momento la libertad y confidencialidad de las participantes.

Beneficios al final del estudio.

Los beneficios de este estudio tienen un carácter estrictamente científico y en ningún momento se persiguen beneficios lucrativos para ninguno de los participantes.

Resultados.

Descripción General de la Población.

Se incluyeron un total de 171 casos consecutivos de mujeres embarazadas, con un feto único de 20 semanas o más, con ERC subyacente con la sospecha de preeclampsia sobreagregada las cuales fueron ingresadas a Hospitalización de la UMA HGO 4 Luis Castelazo Ayala. Las manifestaciones clínicas para sospechar de preeclampsia sobreagregada incluyeron, tensión arterial elevada, proteinuria de novo o incremento de los niveles basales de la proteinuria existente, o cualquier síntoma asociado a la preeclampsia como la cefalea, alteraciones visuales do dolor en el cuadrante superior derecho del abdomen.

Estas mujeres fueron clasificadas en tres grupos de acuerdo con el grado de desequilibrio angiogénico. Hubo 102 (59.6%) mujeres sin desequilibrio angiogénico, 18 (10.5%) con un desequilibrio angiogénico moderado y 51(29.8%) con un desequilibrio angiogénico severo. No hubo diferencias significativas entre los grupos en la edad materna, paridad, abortos, antecedente de preeclampsia, tabaquismo, edad gestacional al reclutamiento, tasa estimada de filtración glomerular, creatinina sérica, prevalencia de hipertensión crónica, diabetes pregestacional, hipotiroidismo y estadios de la ERC (Tabla 1). Las pacientes sin desequilibrio angiogénico tuvieron menor índice de masa corporal, un mayor número de gestaciones previas y una menor prevalencia de anomalías en las determinaciones del ultrasonido Doppler de las arterias uterinas en comparación con aquellas que tuvieron un desequilibrio angiogénico moderado o severo. Las pacientes con un desequilibrio angiogénico severo tuvieron una presión arterial sistólica y diastólica en

comparación con aquellas que no tuvieron evidencia de desequilibrio angiogénico. Las mujeres con un desequilibrio angiogénico severo tuvieron una mayor proporción de mujeres con nefritis lúpica y niveles de ácido úrico más altos en comparación con aquellas mujeres con un desequilibrio moderado o nulo. Solo una minoría de mujeres con ERC tuvo una nefropatía tubulointersticial y en ninguna de estas pacientes se pudo documentar la presencia de desequilibrio angiogénico. Ocho pacientes requirieron hemodiálisis. En las seis pacientes en etapa 5 de la ERC fue necesaria la hemodiálisis y en 2 que estaban en etapa 4 al momento de ser referidas a la unidad. Se observó una tendencia hacia el aumento en las concentraciones séricas de sEng al aumentar el grado de desequilibrio angiogénico.

Frecuencia con la que se descartó o confirmó el diagnóstico de preeclampsia sobreagregada y el desarrollo subsecuente de preeclampsia de acuerdo con el grado de desequilibrio angiogénico.

De las 171 mujeres con ERC incluidas en el estudio, en 39 (22.8%) se confirmó el diagnóstico de preeclampsia sobreagregada. El diagnóstico de preeclampsia sobreagregada se asoció significativamente con el grado de desequilibrio angiogénico: sin desequilibrio angiogénico, 0/102; desequilibrio angiogénico moderado 3/18 (16.7%, en estas tres pacientes la relación sFlt-1 / PIGF fue ≥ 81.6), y con desequilibrio angiogénico severo 36/51 (70.6%), Tabla 2. Las características demográficas, clínicas y de laboratorio de las mujeres embarazadas con ERC de desarrollaron preeclampsia y de las que no desarrollaron esta complicación se muestran en la Tabla 3. Las pacientes sin preeclampsia sobreagregada tuvieron un índice de masa corporal más alto.

Hubo una mayor proporción de estas pacientes con hipertensión crónica y diabetes pregestacional. Estas pacientes tuvieron una menor tensión arterial sistólica y diastólica, una proteinuria inicial al momento de tomar la muestra, creatinina sérica, ácido úrico. También tuvieron una menor frecuencia de anormalidades detectadas en el ultrasonido Doppler de las arterias uterinas, nefropatía lúpica, duplicación de la proteinuria, así como una tasa estimada de filtración glomerular más alta.

Hubo una mayor proporción de casos confirmados de preeclampsia sobreagregada a medida de progresaba la etapa de la ERC. En la etapa 1 de la ERC hubo 15/87 (17.2%) de casos confirmados; en etapa 2 de la ERC hubo 3/27 (11.1%); en etapa 3 hubo 18/45 (40%); en etapa 4, 3/6 (50.0%) ($p = 0.002$). El lapso en días desde que se tomó la muestra hasta la resolución del embarazo fue más corto en las pacientes con preeclampsia sobreagregada, en las cuales el parto se presentó antes de 14 días en todos los casos (Tabla 3, Figura 1), a una menor edad gestacional al momento del nacimiento y con un menor peso de los recién nacidos.

En suma, las tasas de parto pretérmino fueron mayores en las pacientes en las pacientes que presentaron preeclampsia sobreagregada en comparación con las mujeres embarazadas con ERC que no presentaron esta complicación. Asimismo, la concentración sérica de sFlt-1, sEng y la relación sFlt-1 / PIGF fue mayor y la concentración sérica de PIGF fue menor en las mujeres con ERC que desarrollaron preeclampsia sobreagregada en comparación con las mujeres que no desarrollaron esta complicación ($p < 0.001$). En las 132 pacientes en las cuales el diagnóstico de preeclampsia se descartó en el momento de tomar la muestra, la progresión acumulada de preeclampsia sobreagregada fue de 27.3%

(36 casos). La frecuencia y el lapso en el que las mujeres desarrollaron preeclampsia sobreagregada de acuerdo con el grado de desequilibrio angiogénico se muestran en la Tabla 2 y Figura 2. El desarrollo de preeclampsia sobreagregada se correlacionó con el grado de desequilibrio angiogénico: sin desequilibrio angiogénico, 12/102 (11.8%); desequilibrio angiogénico moderado, 9/15 (60.0%), y desequilibrio angiogénico severo, 15/15 (100%).

Desequilibrio angiogénico y las indicaciones para la interrupción de la gestación.

En las pacientes con un desequilibrio angiogénico moderado y severo, la hipertensión arterial severa a menudo no respondía al tratamiento y esta fue la indicación para la interrupción de la gestación. En contraste las mujeres sin desequilibrio angiogénico, no fue clara la indicación para la interrupción de la gestación y la segunda indicación para la resolución del embarazo fue la edad gestacional ≥ 37 semanas sin considerar si tenían o no trabajo de parto (Tabla 4).

Relación entre el grado de desequilibrio angiogénico y los resultados perinatales.

El lapso entre el momento que se incluyó a las pacientes y la interrupción de la gestación fue mayor en las pacientes sin desequilibrio o con desequilibrio angiogénico moderado en comparación con aquellas con un desequilibrio angiogénico severo (Tabla 3 y Figura 3). Los pacientes con un desequilibrio angiogénico severo presentaron una edad gestacional menor al momento de la resolución del embarazo, así como también tuvieron infantes pequeños para la

edad gestacional, con restricción del crecimiento, admitidos a la unidad de cuidados intensivos neonatales y muertes perinatales. Veintisiete pacientes presentaron al menos uno o más eventos adversos asociados a la preeclampsia y todas estas pacientes estaban en el grupo de mujeres con un desequilibrio angiogénico severo (Tabla 2). La lesión renal aguda se presentó en 2 mujeres con ERC en el grupo de pacientes sin desequilibrio angiogénico y esta fue debido a la nefritis lúpica. No hubo muertes maternas entre las mujeres incluidas en este estudio.

Tablas de resultados.

Tabla 1. Características clínicas, demográficas y de laboratorio de las mujeres con ERC subyacente con sospecha de preeclampsia sobre agregada de acuerdo con el grado de desequilibrio angiogénico.

Variables	Grado de Desequilibrio Angiogénico			Valor de <i>p</i>
	Sin desequilibrio (≤38) n=102	Moderado (>38 a <85)n=18	Severo (≥85) n=51	
Edad materna, años, media±DE	29.2±6.3	27.3±2.7	28.0±4.6	0.27
Índice de Masa Corporal, media±DE	26.0±2.3	29.5±5.4*	28.3±5.6*	<0.001
Primigestas, n (%)	30 (29.4)	15 (83.3)	18 (35.3)	0.23
Número de embarazos, mediana (RIQ)	2 (1–3)	1 (1–1)*	2 (1–2)*	0.001
Abortos, mediana (RIQ)	0 (0–1)	0 (0–1)	0 (0–1)	0.19
Antecedente de preeclampsia, n (%)	21 (20.6)	3 (16.7)	15 (29.4)	0.25
Tabaquismo, n (%)	3 (2.9)	1 (5.6)	2 (3.9)	0.71
Semanas de gestación al reclutamiento, media±DE	27.2±4.1	27.9±4.8	28.8±4.6	0.92
Hipertensión crónica, n (%)	90 (88.2)	15 (83.3)	42 (82.4)	0.31
Diabetes pregestacional, n (%)	15 (14.7)	3 (16.7)	3 (5.9)	0.14
Hipotiroidismo, n (%)	18 (17.6)	3 (16.7)	9 (17.6)	0.99
Anormalidad del Doppler de arterias uterinas, n (%)	15 (14.7)	12 (66.7)*	39 (76.5)*	<0.001
Máxima tensión arterial sistólica, media±DE	148±20	152±21	159±18*	0.006
Máxima tensión arterial diastólica, media±DE	98±13	102±16	106±10*	0.002
Etapa de la ERC(KDIGO)				
1	48 (47.1)	12 (66.7)	27 (52.9)	0.29
2	18 (17.6)	6 (33.3)	13 (25.5)	0.85
3	27 (26.5)	0 (0.0)	18 (35.3)	0.39
4	3 (2.9)	0 (0.0)	3 (5.9)	0.41
5	6 (5.9)	0 (0.0)	0 (0.0)	0.06
Tipo de Enfermedad Renal				
Glomerulonefritis, n (%)	54 (52.9)	12 (66.7)	24 (47.1)	0.59
Nefropatía Lúpica, n (%)	18 (17.6)	3 (16.7)	24 (47.1)*, †	<0.001
Nefropatía Diabética, n (%)	15 (14.7)	3 (16.7)	3 (5.9)	0.14
Nefropatía Tubulointersticial, n (%)	15 (14.7)	0 (0.0)	0 (0.0)*	0.002
eTFG, CKD-EPI, ml/min/1.73 m ² , media±DE	83.1±40.8	108.7±23.0	82.9±39.3	0.05
Proteinuria basal, g/24 h, mediana (RIQ)	1.23 (0.55–3.02)	0.55 (0.38–0.84)*	1.16 (0.84–1.45)†	0.003
Proteinuria al momento de tomar la muestra, g/24h, mediana (RIQ)	1.74 (0.68–5.33)	1.04 (0.85–1.15)*	4.71 (1.25–5.66)*, †	<0.001
Creatinina sérica, mg/dL, mediana (RIQ)	0.93 (0.63–1.43)	0.70 (0.61–0.90)	0.87 (0.71–1.57)	0.07
Ácido úrico sérico, mg/dL, media±DE	5.9±2.7	5.5±1.3	7.4±1.8*, †	0.001
sFlt-1, pg/ml, mediana (RIQ)	2359 (1611–3367)	4,431 (2218–6456)*	9,676 (5,863–13,937)*, †	<0.001
PIGF, pg/ml, mediana (RIQ)	228 (148–384)	94 (49–141)*	28 (23–43)*, †	<0.001
Relación sFlt-1/PIGF, mediana (RIQ)	11.4 (4.5–19.9)	42.6 (41.3–45.6) *	318.0 (218.8–517.6)*, †	<0.001
sEng, ng/ml, media±DE	6.3±2.2	9.8±6.1*	16.8±3.9*, †	<0.001

Pudo haber más de una comorbilidad, RIQ quiere decir rango intercuartílico; DE, desviación estándar, PIGF, factor de crecimiento placentario; sFlt-1, tirosin cinasa fms-1 soluble; sEng, Endoglina soluble; eTFG, tasa estimada de filtración glomerular utilizando la fórmula CKD-EPI. *vs mujeres sin desequilibrio angiogénico o † vs pacientes con desequilibrio angiogénico moderado después de aplicar la prueba estadística apropiada,

Tabla 2. Resultado del embarazo de las mujeres con enfermedad renal crónica con sospecha de preeclampsia sobreagregada de acuerdo con el grado de desequilibrio angiogénico.

Variables	Grado de Desequilibrio Angiogénico			Valor de <i>p</i>
	Sin desequilibrio (≤38) n=102	Moderado (>38 a <85) n=18	Severo (≥85) n=51	
Edad gestacional al parto, semanas, media±DE	33.2±4.2	33.3±1.4	30.4±4.5*,†	<0.001
Peso al nacer de los infantes, g, media±DE	1856±671	1704±301	1200± 682*,	†
Parto <34 semanas, n (%)	39 (38.2)	9 (50.0)	33 (64.7)*	0.002
Parto <37 semanas, n (%)	84 (82.4)	15 (83.3)	51 (100)*,†	0.002
Parto antes de 14 días, n (%)	36 (35.3)	6 (33.3)	42 (82.4)*,†	<0.001
Parto por cesárea, n (%)	93 (91.2)	18 (100)	45 (88.2)	0.66
Resultado perinatal				
Apgar al minuto1, mediana (RIQ)	7 (7–8)	7 (7–8)	7 (7–8)	0.44
Apgar al minute 5, mediana (RIQ)	8 (8–9)	8 (8–9)	8 (8–9)	0.13
Infante pequeño para la edad gestacional, n (%)	13 (12.7)	6 (33.3)	36 (70.6)*,†	<0.001
Restricción de crecimiento fetal, n (%)	11 (10.8)	4 (22.2)	36 (70.6)*,	†
Ingreso a la UCIN, n (%)	48 (47.1)	8 (44.4)	45 (88.2)*,†	<0.001
Muertes perinatales, n (%)	12 (11.8)	0 (0.0)	15 (29.4)*,†	0.01
Resultados Maternos:				
Elevación de las enzimas hepáticas, n (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	6 (11.8)	*
Trombocitopenia, n (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	12 (23.5)*†	<0.001
Síndrome HELLP, n (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (9.8)*	0.001
Daño renal agudo, n (%)	2 (2.0)	0 (0.0)	8 (15.7)*	0.001
Muerte materna, n (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1.00
Resultado perinatal adverso combinado, n (%)	2 (2.0)	0 (0.0)	27 (52.9)*,†	<0.001
Diagnóstico confirmado de PES al momento de tomar la muestra, n (%)	0 (0.0)	3 (16.7)*	36 (70.6)*,†	<0.001
Sin PES al momento de tomar la muestra, n	102	15	15	
Evolución a PES, n (%)	12 (11.8)	9 (60.0)*	15 (100)*,†	<0.001
En la siguiente semana, n (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1.00
En las siguientes 2 semanas, n (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	6 (40.0)*,†	<0.001
En las siguientes 4 semanas, n (%)	0 (0.0)	3 (20.0)*	9 (60.0)*,†	<0.001
En las siguientes 8 semanas, n (%)	3 (2.9)	6 (40.0)*	15 (100)*,†	<0.001

Pudo haber más de un resultado adverso materno o perinatal, todos los nacimientos menores de 37 semanas fueron inducidos, RIQ quiere decir rango intercuartílico; DE, desviación estándar; HELLP hemolisis, elevación de enzimas hepáticas y trombocitopenia; PES, preeclampsia sobre agregada *vs mujeres sin desequilibrio angiogénico o† vs pacientes con desequilibrio angiogénico moderado después de aplicar la prueba estadística apropiada,

Tabla 3. Características clínicas, demográficas y de laboratorio de las mujeres embarazadas con ERC de acuerdo con el diagnóstico confirmado de preeclampsia sobreagregada al momento de tomar la muestra de suero.

Variables	Preeclampsia sobreagregada		Valor de p
	No (n=132)	Si (n=39)	
Edad materna, años, media±DE	29.0±5.7	27.2±4.8	0.73
Índice de Masa Corporal, media±DE	27.5±4.1	25.5±4.0	0.009
Primigestas, n (%)	48 (36.4)	15 (38.5)	0.96
Número de embarazos, mediana (RIQ)	2 (1–3)	2 (1–2)	0.39
Abortos, mediana (RIQ)	0 (0–1)	0 (0–1)	0.74
Antecedente de preeclampsia, n (%)	27 (20.5)	12 (30.8)	0.29
Tabaquismo, n (%)	4 (3.0)	2 (5.1)	0.90
Semanas de gestación al reclutamiento, media±DE	27.3±4.1	29.2±4.9	0.16
Hipertensión crónica, n (%)	120 (90.9)	27 (69.2)	0.002
Diabetes pregestacional, n (%)	21 (15.9)	0 (0.0)	0.004
Hipotiroidismo, n (%)	24 (18.2)	6 (15.4)	0.87
Anormalidad del Doppler de arterias uterinas, n (%)	39 (29.5)	27 (69.2)	<0.001
Máxima tensión arterial sistólica, media±DE	148±20	165±14	<0.001
Máxima tensión arterial diastólica, media±DE	98±13	110±8	<0.001
Tipo de Enfermedad Renal			
Glomerulonefritis, n (%)	78 (59.1)	12 (30.8)	0.003
Nefropatía Lúpica, n (%)	18 (11.1)	27 (69.2)	<0.001
Nefropatía Diabética, n (%)	21 (15.9)	0 (0.0)	0.004
Nefropatía Tubulointersticial, n (%)	15 (11.4)	0 (0.0)	0.02
eTFG, CKD-EPI, ml/min/1.73 m ² , media±DE	90.0±39.3	71.4±37.0	0.009
Proteinuria basal, g/24 h, mediana (RIQ)	0.85 (0.66–1.16)	1.20 (0.73–2.50)	<0.001
Proteinuria al momento de tomar la muestra, g/24h, mediana (RIQ)	1.01 (0.78–2.95)	5.49 (4.62–6.47)	<0.001
Duplicación de la proteinuria, n (%)	33 (25.0)	33 (84.6)	<0.001
Creatinina sérica, mg/dL, mediana (RIQ)	0.78 (0.62–1.28)	1.30 (0.75–1.61)	0.005
Ácido úrico sérico, mg/dL, media±DE	5.9±2.4	7.9±1.6	<0.001
sFlt-1, pg/ml, mediana (RIQ)	2562 (1810–4369)	12,206 (8529–15,001)	<0.001
PIGF, pg/ml, mediana (RIQ)	166 (86–340)	33 (25–46)	<0.001
sFlt-1/PIGF ratio, mediana (RIQ)	16.2 (6.1–31.3)	318.0 (218.8–595.4)	<0.001
sEng, ng/ml, media±DE	7.3±3.3	18.3±4.0	<0.001
Resultados perinatales			
Latencia, días, median (RIQ)	31 (6–63)	3 (2–6)	<0.001
Edad gestacional al parto, semanas, media±DE	33.1±3.8	29.9±5.0	<0.001
Peso al nacer de los infantes, g, media±DE	1795±630	1135±722	<0.001
Parto <34 semanas, n (%)	54 (40.9)	27 (69.2)	0.003
Parto <37 semanas, n (%)	114 (86.4)	39 (100)	0.01
Parto antes de 14 días, n (%)	45 (34.1)	39 (100)	<0.001
Infante pequeño para la edad gestacional, n (%)	26 (19.7)	36 (92.3)	<0.001
Restricción de crecimiento fetal, n (%)	17 (12.9)	36 (92.3)	<0.001
Ingreso a la UCIN, n (%)	54 (40.9)	24 (61.5)	0.04
Muerte fetal o perinatal, n (%)	12 (9.1)	15 (38.5)	<0.001

RIQ significa rango intercuartílico; PIGF, factor de crecimiento placentario; sFlt-1 tirosin quinasa soluble fms-1; sEng, Endoglina soluble; UCIN, unidad de cuidados intensivos neonatales.

Tabla 4. Indicaciones para interrupción de la gestación en las mujeres con ERC con la sospecha de preeclampsia sobreagregada de acuerdo con el grado de desequilibrio angiogénico.

Variable	Grado de Desequilibrio Angiogénico			Valor de <i>p</i>
	Sin desequilibrio (≤38) n=102	Moderado (>38 a <85) n=18	Severo (≥85) n=51	
Hipertensión severa	11 (10.8)	10 (55.6)*	46 (90.2)*, †	<0.001
Sin respuesta a tratamiento, n (%)	1 (1.0)	7 (38.9)*	40 (78.4)*, †	<0.001
Elevación de las enzimas hepáticas, n (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	6 (11.8)*	<0.001
Trombocitopenia, n (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	12 (23.5)*, †	<0.001
Cefalea, n (%)	0 (0.0)	7 (38.9)*	12 (23.5)*	<0.001
Síndrome HELLP, n (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (9.8)*	0.001
Dolor epigástrico en el cuadrante superior derecho, n (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	6 (11.8)*	<0.001
Alteraciones visuales o cerebrales, n (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (5.9)*	0.02
Incremento en la creatinina sérica, n (%)	6 (5.9)	0 (0.0)	9 (17.6)†	0.06
Estado fetal no alentador, n (%)	3 (2.9)	0 (0.0)	9 (17.6)*	0.001
Ruptura premature de membranas, n (%)	3 (2.9)	3 (16.7)	0 (0.0)	0.57
Edad gestacional al TDP ≥37 semanas, n (%)	18 (17.6)	3 (16.7)	0 (0.0)*, †	0.002
Parto inducido, n (%)	16 (15.7)	1 (5.6)	0 (0.0)*	0.002
Parto espontaneo, n (%)	2 (1.9)	2 (11.1)	0 (0.0)	0.65
Sin confirmación diagnóstica, n (%)	63 (61.8)	0 (0.0)*	0 (0.0)*	<0.001

Pudo haber más de una indicación para la interrupción de la gestación; HELLP significa hemólisis, elevación de enzimas hepáticas y trombocitopenia; TDP, trabajo de parto; * vs mujeres sin desequilibrio angiogénico o † vs pacientes con desequilibrio angiogénico moderado después de aplicar la prueba estadística apropiada para cada caso.

Figuras.

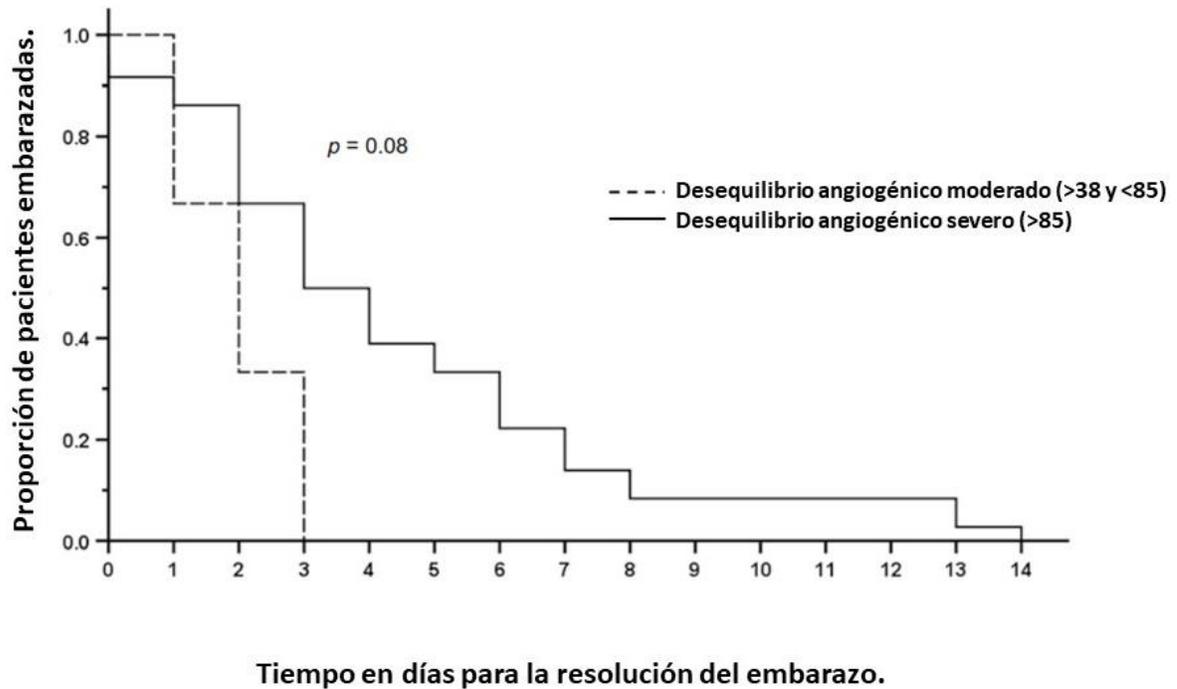
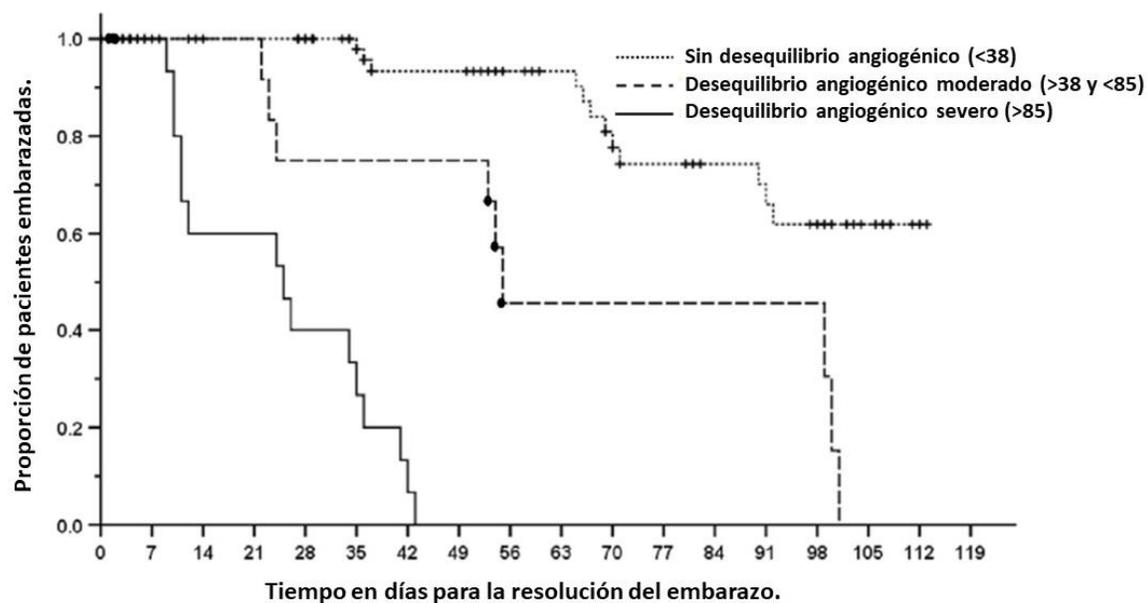


Figura 1. Curvas de Kaplan–Meier del lapso entre la toma de la muestra hasta la resolución del embarazo en mujeres con ERC con el diagnóstico confirmado de preeclampsia de acuerdo con el grado de desequilibrio angiogénico evaluado mediante la relación de la concentración sérica de sFlt-1 / PlGF y la proporción de mujeres sin preeclampsia.



Número de mujeres en riesgo.

.....	102	70	66	66	58	44	39	39	33	30	23	21	18	16	12	6	1	0
- - - -	15	12	12	12	9	9	9	9	3	3	3	3	3	3	3	0	0	0
—	15	15	15	9	6	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Figura 2. Curvas de Kaplan–Meier del lapso entre la toma de la muestra y la resolución del embarazo de las 132 pacientes en las cuales el diagnóstico de preeclampsia fue descartado al momento de tomar la muestra de acuerdo con el grado de desequilibrio angiogénico evaluado mediante la relación entre la concentración sérica de sFlt-1 y PlGF ($p < 0.001$ para todas las comparaciones), • y + representan datos censurados.

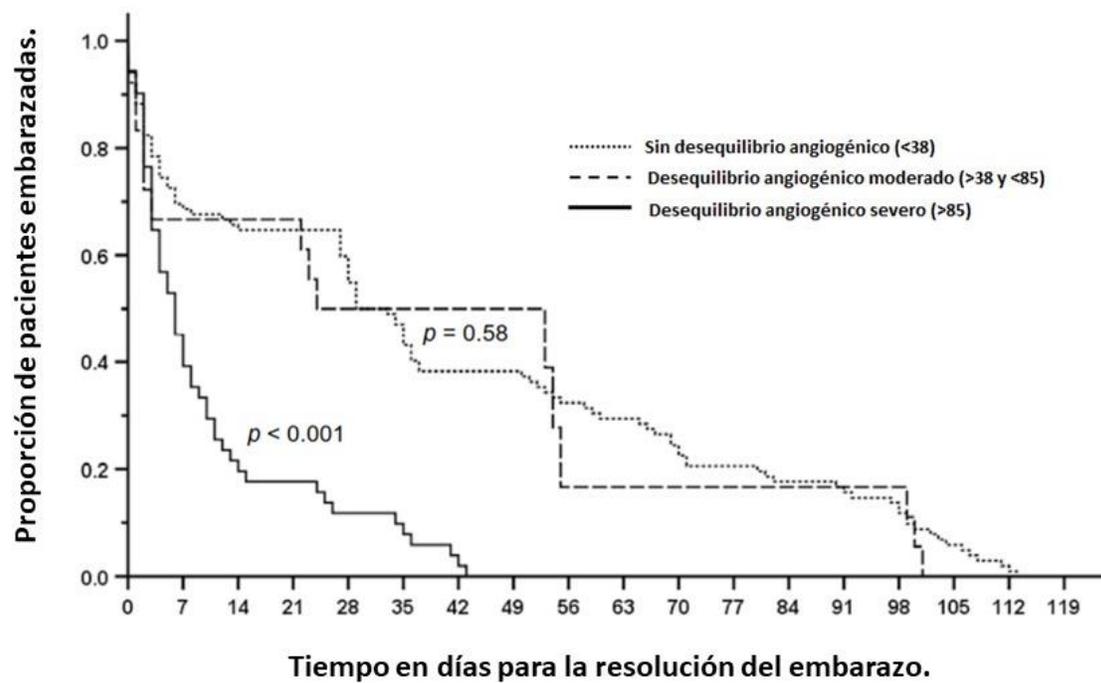


Figura 3. Curvas de Kaplan–Meier del lapso entre la toma de la muestra y la resolución de la gestación de mujeres embarazadas con ERC con la sospecha de preeclampsia sobreagregada de acuerdo con el grado de desequilibrio angiogénico evaluado mediante la relación entre la concentración sérica de sFlt-1 y PlGF

Discusión.

El presente trabajo examina prospectivamente la cuantificación de la relación entre la concentración sérica de sFlt-1 entre la concentración sérica del PlGF como biomarcadores para confirmar el diagnóstico de preeclampsia sobreagregada, así como la probabilidad de progresión de la enfermedad hacia la preeclampsia sobreagregada en mujeres con enfermedad renal crónica subyacente. Incluimos un gran número de mujeres embarazadas con enfermedad renal crónica abarcando todo el espectro de la severidad de la enfermedad renal con un estricto criterio diagnóstico para definir a la preeclampsia sobreagregada. Encontramos que el 70.6% de los pacientes con un desequilibrio angiogénico severo tuvieron el diagnóstico confirmado de preeclampsia sobreagregada, mientras que el resto de los pacientes tenían altas probabilidades de desarrollar esta complicación. Nuestros resultados confirman y dan soporte a otras observaciones en las cuales se incluyeron mujeres con ERC indicando que el desequilibrio de los factores angiogénicos se asocia con la preeclampsia sobreagregada ([41](#), [50](#)). Asimismo, encontramos que las mujeres con un desequilibrio angiogénico severo tenían un lapso menor (principalmente en los 14 días siguientes) desde el momento en que se tomó la muestra y la resolución de la gestación, también tuvieron una mayor frecuencia de nacimientos pretérmino y otras complicaciones maternas y perinatales asociadas a la preeclampsia.

Consistente con nuestros hallazgos, dos estudios previos en mujeres sin enfermedad renal crónica han demostrado que una alta relación sFlt-1 / PlGF se asocia con un resultado adverso dentro de las siguientes dos semanas. Se reportó que en el 86% de las mujeres con una relación sFlt-1 / PlGF ≥ 85 ([40](#)), la

resolución del embarazo ocurrió en las siguientes dos semanas, mientras que las mujeres con el diagnóstico clínico de preeclampsia con la misma relación sFtl-1 / PIGF tuvieron una alta frecuencia de resultados adversos de la gestación (47% al 53%) ([82](#), [83](#)). Las mujeres embarazadas con enfermedad renal crónica deben ser consideradas como gestantes con alto riesgo de desarrollar preeclampsia sobreagregada y los principales factores de riesgo incluyen las el grado de disfunción renal, el grado de proteinuria, la presencia de hipertensión arterial y de enfermedades sistémicas ([17](#), [18](#), [25](#)); en congruencia con estas afirmaciones encontramos que el mayor grado de daño en la función renal, una proteinuria mayor, y la presencia de nefritis lúpica se asocian con el desarrollo de preeclampsia sobreagregada confirmada.

Tanto la preeclampsia como la restricción del crecimiento fetal se asocian a una disfunción endotelial causada por un defecto en la perfusión placentaria ([84](#)). De acuerdo con esto, encontramos que eran más frecuentes los hallazgos de anormales en las arterias uterinas determinadas mediante el ultrasonido Doppler en pacientes con diagnóstico de preeclampsia sobreagregada y restricción del crecimiento fetal. Asimismo, las pacientes con el diagnóstico confirmado de preeclampsia sobreagregada presentaron mayores concentraciones séricas de sEng en comparación con mujeres que no presentaron esta complicación, lo que resalta el hecho fisiopatológico de que existe una disfunción endotelial generalizada.

Las mujeres sin desequilibrio angiogénico ([67](#), [83](#)) tuvieron una menor probabilidad de desarrollar una preeclampsia sobreagregada, una menor frecuencia de presentar eventos adversos relacionados a la preeclampsia o

progresión a la preeclampsia sobreagregada, asimismo una menor frecuencia de eventos adversos perinatales como la prematuréz.

Es posible que un desequilibrio angiogénico moderado represente una etapa temprana en el proceso de desarrollar preeclampsia y que eventualmente progresarían hacia un desequilibrio angiogénico severo en un lapso de algunos días. De acuerdo con esto hallazgos, se ha reportado que en las mujeres sin ERC con una presentación temprana de la restricción del crecimiento fetal y con una relación sFlt-1 / PlGF por encima de 38, la relación de sFlt-1/ PlGF se incrementa progresivamente desde 28 y hasta 2 días antes de la resolución de la gestación. Esta relación de sFlt-1 / PlGF se incrementa aún más en mujeres que desarrollan preeclampsia cuando se comparan con aquellas que solo desarrollan restricción del crecimiento fetal (85).

Es de especial interés el hecho de que la concentración sérica de sEng se correlaciona con el grado de desequilibrio angiogénico determinado por la relación de sFlt-1 / PlGF. Estudios previos han reportado que la sEng tiene altas tasa de detección de eventos adversos en mujeres sin ERC cuando se sospecha o se confirma la preeclampsia en comparación con diferentes combinaciones de otros parámetros de laboratorio (86, 87). Los mismos estudios han encontrado que el desempeño de la determinación sérica de sEng es comparable con el de la relación sFlt-1 / PlGF para la predicción de eventos adversos (87) y que las concentraciones séricas de la sEng también se asocian con la severidad de la preeclampsia (86).

En el análisis de seguimiento en las pacientes en las cuales la preeclampsia sobreagregada fue descartada al momento de tomar la muestra, encontramos que la frecuencia de desarrollar preeclampsia sobreagregada fue de 11.8%, 60%

y 100% en mujeres sin desequilibrio angiogénico, desequilibrio moderado y desequilibrio severo respectivamente. De acuerdo con los puntos de corte que proponemos en este estudio, encontramos que las tasas para predecir el desarrollo de preeclampsia son similares a aquellas reportadas en mujeres sin ERC ([17](#), [67](#), [88](#)).

Los hallazgos del presente estudio subrayan la ventaja potencial de la aplicación clínica de la determinación de los niveles de sFlt-1, PlGF y sEng en la estratificación del riesgo de presentar resultados adversos del embarazo en las mujeres embarazadas con ERC subyacente ([36](#), [37](#), [40](#), [67](#), [86](#), [87](#), [89](#)).

Las fortalezas de este estudio incluyen una población bien definida de mujeres embarazadas con ERC las cuales tuvieron un seguimiento con el mismo protocolo estandarizado y el hecho de que los médicos responsables de la atención médica de las pacientes no conocieron los resultados de la relación sFlt-1 / PLGF o de las concentraciones séricas de sEng. Sin embargo, reconocemos las limitaciones del estudio como son el número limitado de mujeres incluidas en el estudio y la falta de determinaciones seriadas de sFlt-1 /PlGF, a pesar de ello el presente estudio contiene la serie más larga de casos con mujeres embarazadas con ERC y preeclampsia sobreagregada estudiadas en forma prospectiva.

Conclusión.

En conclusión, nuestros resultados sugieren que la concentración sérica de sEng, sFlt-1, PIGF y la relación sFlt-1 / PIGF permiten una mejor clasificación y manejo de las mujeres embarazadas con ERC subyacente con sospecha de preeclampsia sobreagregada. La relación sFlt-1 / PIGF se asocia fuertemente con la ocurrencia de preeclampsia sobreagregada, otros eventos adversos relacionados a la misma como la prematuréz o la restricción del crecimiento fetal y con la progresión a preeclampsia sobreagregada en mujeres con ERC subyacente. Es deseable que en un futuro se realicen estudios clínicos prospectivos longitudinales para evaluar el papel que puede tener el grado de desequilibrio angiogénico en la toma de decisiones en el manejo clínico de las mujeres con ERC con sospecha de preeclampsia sobreagregada.

Recursos

Recursos humanos.

Los investigadores, el alumno de Doctorado Carlos José Molina Pérez, y el Tutor Dr. Alfredo Leños Miranda quien es el Investigador Titular del Laboratorio G de la Unidad de Investigación en Medicina Reproductiva, trabajaron en la realización de este trabajo para lo cual se utilizarán los instrumentos disponibles en la unidad de investigación.

Recursos financieros.

El presente proyecto tuvo apoyo financiero del Fondo de Investigación en Salud (FIS/IMSS/PROT/PRI0/14/036) para A.L.M. de acuerdo con las convocatorias emitidas

Referencias bibliográficas.

1. Meguid El Nahas A, Bello AK. Chronic kidney disease: the global challenge. *Lancet*. 2005;365(9456):331-40.
2. Levey AS, Coresh J. Chronic kidney disease. *Lancet*. 2012;379(9811):165-80.
3. Andrassy KM. Comments on 'KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease'. *Kidney International*. 2013;84(3):622-3.
4. Levin A, Stevens PE, Bilous RW, Coresh J, De Francisco AL, De Jong PE, et al. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney international supplements*. 2013;3(1):1-150.
5. Levey AS, Tangri N, Stevens LA. Classification of chronic kidney disease: a step forward. *Ann Intern Med*. 2011;154(1):65-7.
6. Jha V, Garcia-Garcia G, Iseki K, Li Z, Naicker S, Plattner B, et al. Chronic kidney disease: global dimension and perspectives. *Lancet*. 2013;382(9888):260-72.
7. Méndez-Durán A, Francisco Méndez-Bueno J, Tapia-Yáñez T, Montes AM, Aguilar-Sánchez L. Epidemiología de la insuficiencia renal crónica en México. *Diálisis y Trasplante*. 2010;31(1):7-11.

8. Yach D, Hawkes C, Gould CL, Hofman KJ. The global burden of chronic diseases: overcoming impediments to prevention and control. *Jama*. 2004;291(21):2616-22.
9. Levey AS, Schoolwerth AC, Burrows NR, Williams DE, Stith KR, McClellan W. Comprehensive public health strategies for preventing the development, progression, and complications of CKD: report of an expert panel convened by the Centers for Disease Control and Prevention. *Am J Kidney Dis*. 2009;53(3):522-35.
10. Jha V, Garcia-Garcia G, Iseki K, Li Z, Naicker S, Plattner B, et al. Chronic kidney disease: global dimension and perspectives. *The Lancet*. 2013;382(9888):260-72.
11. Munkhaugen J, Lydersen S, Romundstad PR, Widerøe TE, Vikse BE, Hallan S. Kidney function and future risk for adverse pregnancy outcomes: a population-based study from HUNT II, Norway. *Nephrol Dial Transplant*. 2009;24(12):3744-50.
12. Rolfo A, Attini R, Tavassoli E, Neve FV, Nigra M, Cicilano M, et al. Is It Possible to Differentiate Chronic Kidney Disease and Preeclampsia by means of New and Old Biomarkers? A Prospective Study. *Dis Markers*. 2015;2015:127083.
13. Wiles KS, Nelson-Piercy C, Bramham K. Reproductive health and pregnancy in women with chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol*. 2018;14(3):165-84.

14. Webster P, Lightstone L, McKay DB, Josephson MA. Pregnancy in chronic kidney disease and kidney transplantation. *Kidney Int.* 2017;91(5):1047-56.
15. Koratala A, Bhattacharya D, Kazory A. Chronic Kidney Disease in Pregnancy. *South Med J.* 2017;110(9):578-85.
16. Bharti J, Vatsa R, Singhal S, Roy KK, Kumar S, Perumal V, et al. Pregnancy with chronic kidney disease: maternal and fetal outcome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2016;204:83-7.
17. Leanos-Miranda A, Campos-Galicia I, Ramirez-Valenzuela KL, Berumen-Lechuga MG, Isordia-Salas I, Molina-Perez CJ. Urinary IgM excretion: a reliable marker for adverse pregnancy outcomes in women with chronic kidney disease. *J Nephrol.* 2019;32(2):241-51.
18. Zhang JJ, Ma XX, Hao L, Liu LJ, Lv JC, Zhang H. A Systematic Review and Meta-Analysis of Outcomes of Pregnancy in CKD and CKD Outcomes in Pregnancy. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2015;10(11):1964-78.
19. Piccoli GB, Attini R, Vasario E, Conijn A, Biolcati M, D'Amico F, et al. Pregnancy and chronic kidney disease: a challenge in all CKD stages. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010;5(5):844-55.
20. Williams D, Davison J. Chronic kidney disease in pregnancy. *Bmj.* 2008;336(7637):211-5.
21. Piccoli GB, Attini R, Cabiddu G, Kooij I, Fassio F, Gerbino M, et al. Maternal-foetal outcomes in pregnant women with glomerulonephritides. Are all glomerulonephritides alike in pregnancy? *J Autoimmun.* 2017;79:91-8.

22. Hall M. Pregnancy in Women With CKD: A Success Story. *Am J Kidney Dis.* 2016;68(4):633-9.
23. Feng Z, Minard C, Raghavan R. Pregnancy outcomes in advanced kidney disease. *Clin Nephrol.* 2015;83(5):272-8.
24. Hladunewich MA. Chronic Kidney Disease and Pregnancy. *Semin Nephrol.* 2017;37(4):337-46.
25. Piccoli GB, Cabiddu G, Attini R, Vigotti FN, Maxia S, Lepori N, et al. Risk of Adverse Pregnancy Outcomes in Women with CKD. *J Am Soc Nephrol.* 2015;26(8):2011-22.
26. Vellanki K. Pregnancy in chronic kidney disease. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2013;20(3):223-8.
27. Nevis IF, Reitsma A, Dominic A, McDonald S, Thabane L, Akl EA, et al. Pregnancy outcomes in women with chronic kidney disease: a systematic review. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011;6(11):2587-98.
28. Phelan ST. Renal disease in pregnancy ambulatory issues. *Clin Obstet Gynecol.* 2012;55(3):829-37.
29. Vidaeff AC, Yeomans ER, Ramin SM. Pregnancy in women with renal disease. Part II: specific underlying renal conditions. *Am J Perinatol.* 2008;25(7):399-405.
30. Alkhunaizi A, Melamed N, Hladunewich MA. Pregnancy in advanced chronic kidney disease and end-stage renal disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2015;24(3):252-9.

31. Singh R, Prasad N, Banka A, Gupta A, Bhadauria D, Sharma RK, et al. Pregnancy in patients with chronic kidney disease: Maternal and fetal outcomes. *Indian J Nephrol.* 2015;25(4):194-9.
32. Piccoli GB, Gaglioti P, Attini R, Parisi S, Bossotti C, Olearo E, et al. Preeclampsia or chronic kidney disease? The flow hypothesis. *Nephrol Dial Transplant.* 2013;28(5):1199-206.
33. Maynard SE, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li J, Mondal S, et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest.* 2003;111(5):649-58.
34. Venkatesha S, Toporsian M, Lam C, Hanai J, Mammoto T, Kim YM, et al. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med.* 2006;12(6):642-9.
35. Leños-Miranda A, Campos-Galicia I, Isordia-Salas I, Rivera-Leños R, Romero-Arauz JF, Ayala-Méndez JA, et al. Changes in circulating concentrations of soluble fms-like tyrosine kinase-1 and placental growth factor measured by automated electrochemiluminescence immunoassays methods are predictors of preeclampsia. *J Hypertens.* 2012;30(11):2173-81.
36. Leños-Miranda A, Campos-Galicia I, Ramírez-Valenzuela KL, Chinolla-Arellano ZL, Isordia-Salas I. Circulating angiogenic factors and urinary prolactin as predictors of adverse outcomes in women with preeclampsia. *Hypertension.* 2013;61(5):1118-25.

37. Leños-Miranda A, Méndez-Aguilar F, Ramírez-Valenzuela KL, Serrano-Rodríguez M, Berumen-Lechuga G, Molina-Pérez CJ, et al. Circulating angiogenic factors are related to the severity of gestational hypertension and preeclampsia, and their adverse outcomes. *Medicine (Baltimore)*. 2017;96(4):e6005.
38. Levine RJ, Lam C, Qian C, Yu KF, Maynard SE, Sachs BP, et al. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med*. 2006;355(10):992-1005.
39. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim K-H, England LJ, Yu KF, et al. Circulating Angiogenic Factors and the Risk of Preeclampsia. *New England Journal of Medicine*. 2004;350(7):672-83.
40. Rana S, Powe CE, Salahuddin S, Verlohren S, Perschel FH, Levine RJ, et al. Angiogenic factors and the risk of adverse outcomes in women with suspected preeclampsia. *Circulation*. 2012;125(7):911-9.
41. Masuyama H, Nobumoto E, Okimoto N, Inoue S, Segawa T, Hiramatsu Y. Superimposed preeclampsia in women with chronic kidney disease. *Gynecol Obstet Invest*. 2012;74(4):274-81.
42. Karumanchi SA, Maynard SE, Stillman IE, Epstein FH, Sukhatme VP. Preeclampsia: a renal perspective. *Kidney Int*. 2005;67(6):2101-13.
43. Tomimatsu T, Mimura K, Endo M, Kumasawa K, Kimura T. Pathophysiology of preeclampsia: an angiogenic imbalance and long-lasting systemic vascular dysfunction. *Hypertens Res*. 2017;40(4):305-10.

44. Stillman IE, Karumanchi SA. The glomerular injury of preeclampsia. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18(8):2281-4.
45. Maynard SE, Venkatesha S, Thadhani R, Karumanchi SA. Soluble Fms-like tyrosine kinase 1 and endothelial dysfunction in the pathogenesis of preeclampsia. *Pediatr Res.* 2005;57(5 Pt 2):1r-7r.
46. Powers RW, Jeyabalan A, Clifton RG, Van Dorsten P, Hauth JC, Klebanoff MA, et al. Soluble fms-Like tyrosine kinase 1 (sFlt1), endoglin and placental growth factor (PlGF) in preeclampsia among high risk pregnancies. *PLoS One.* 2010;5(10):e13263.
47. Wang A, Rana S, Karumanchi SA. Preeclampsia: the role of angiogenic factors in its pathogenesis. *Physiology (Bethesda).* 2009;24:147-58.
48. Baltajian K, Hecht JL, Wenger JB, Salahuddin S, Verlohren S, Perschel FH, et al. Placental lesions of vascular insufficiency are associated with anti-angiogenic state in women with preeclampsia. *Hypertens Pregnancy.* 2014;33(4):427-39.
49. Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Pre-eclampsia. *Lancet.* 2005;365(9461):785-99.
50. Masuyama H, Suwaki N, Nakatsukasa H, Masumoto A, Tateishi Y, Hiramatsu Y. Circulating angiogenic factors in preeclampsia, gestational proteinuria, and preeclampsia superimposed on chronic glomerulonephritis. *Am J Obstet Gynecol.* 2006;194(2):551-6.

51. Murakami S, Saitoh M, Kubo T, Koyama T, Kobayashi M. Renal disease in women with severe preeclampsia or gestational proteinuria. *Obstet Gynecol.* 2000;96(6):945-9.
52. Lam C, Lim KH, Karumanchi SA. Circulating angiogenic factors in the pathogenesis and prediction of preeclampsia. *Hypertension.* 2005;46(5):1077-85.
53. Luttun A, Tjwa M, Carmeliet P. Placental growth factor (PlGF) and its receptor Flt-1 (VEGFR-1): novel therapeutic targets for angiogenic disorders. *Ann N Y Acad Sci.* 2002;979:80-93.
54. Khalil A, Muttukrishna S, Harrington K, Jauniaux E. Effect of antihypertensive therapy with alpha methyldopa on levels of angiogenic factors in pregnancies with hypertensive disorders. *PLoS One.* 2008;3(7):e2766.
55. Luft FC. Soluble fms-like tyrosine kinase-1 and atherosclerosis in chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2014;85(2):238-40.
56. Seki H. Balance of antiangiogenic and angiogenic factors in the context of the etiology of preeclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2014;93(10):959-64.
57. Rajakumar A, Michael HM, Rajakumar PA, Shibata E, Hubel CA, Karumanchi SA, et al. Extra-placental expression of vascular endothelial growth factor receptor-1, (Flt-1) and soluble Flt-1 (sFlt-1), by peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) in normotensive and preeclamptic pregnant women. *Placenta.* 2005;26(7):563-73.

58. Kendall RL, Thomas KA. Inhibition of vascular endothelial cell growth factor activity by an endogenously encoded soluble receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993;90(22):10705-9.
59. Thadhani R, Kisner T, Hagmann H, Bossung V, Noack S, Schaarschmidt W, et al. Pilot study of extracorporeal removal of soluble fms-like tyrosine kinase 1 in preeclampsia. *Circulation*. 2011;124(8):940-50.
60. Maynard S, Epstein FH, Karumanchi SA. Preeclampsia and angiogenic imbalance. *Annu Rev Med*. 2008;59:61-78.
61. Blanco FJ, Bernabeu C. Alternative splicing factor or splicing factor-2 plays a key role in intron retention of the endoglin gene during endothelial senescence. *Aging Cell*. 2011;10(5):896-907.
62. Gregory AL, Xu G, Sotov V, Letarte M. Review: the enigmatic role of endoglin in the placenta. *Placenta*. 2014;35 Suppl:S93-9.
63. Tjoa ML, Levine RJ, Karumanchi SA. Angiogenic factors and preeclampsia. *Front Biosci*. 2007;12:2395-402.
64. De Falco S. The discovery of placenta growth factor and its biological activity. *Exp Mol Med*. 2012;44(1):1-9.
65. Leanos-Miranda A, Campos-Galicia I, Berumen-Lechuga MG, Molina-Perez CJ, Garcia-Paleta Y, Isordia-Salas I, et al. Circulating Angiogenic Factors and the Risk of Preeclampsia in Systemic Lupus Erythematosus Pregnancies. *J Rheumatol*. 2015;42(7):1141-9.

66. Nguyen TH, Bui TC, Vo TM, Tran QM, Luu LT, Nguyen TD. Predictive value of the sFlt-1 and PlGF in women at risk for preeclampsia in the south of Vietnam. *Pregnancy Hypertens.* 2018;14:37-42.
67. Zeisler H, Llurba E, Chantraine F, Vatish M, Staff AC, Sennström M, et al. Predictive Value of the sFlt-1:PlGF Ratio in Women with Suspected Preeclampsia. *N Engl J Med.* 2016;374(1):13-22.
68. Hirashima C, Ohkuchi A, Arai F, Takahashi K, Suzuki H, Watanabe T, et al. Establishing reference values for both total soluble Fms-like tyrosine kinase 1 and free placental growth factor in pregnant women. *Hypertens Res.* 2005;28(9):727-32.
69. Thadhani R, Mutter WP, Wolf M, Levine RJ, Taylor RN, Sukhatme VP, et al. First trimester placental growth factor and soluble fms-like tyrosine kinase 1 and risk for preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(2):770-5.
70. Bramham K, Briley AL, Seed PT, Poston L, Shennan AH, Chappell LC. Pregnancy outcome in women with chronic kidney disease: a prospective cohort study. *Reprod Sci.* 2011;18(7):623-30.
71. Imbasciati E, Gregorini G, Cabiddu G, Gammara L, Ambroso G, Del Giudice A, et al. Pregnancy in CKD stages 3 to 5: fetal and maternal outcomes. *Am J Kidney Dis.* 2007;49(6):753-62.
72. Govender N, Naicker T, Rajakumar A, Moodley J. Soluble fms-like tyrosine kinase-1 and soluble endoglin in HIV-associated preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2013;170(1):100-5.

73. Rhee JS, Young BC, Rana S. Angiogenic factors and renal disease in pregnancy. *Case Rep Obstet Gynecol*. 2011;2011:281391.
74. Franco-Marina F, Tirado-Gómez LL, Estrada AV, Moreno-López JA, Pacheco-Domínguez RL, Durán-Arenas L, et al. [An indirect estimation of current and future inequalities in the frequency of end stage renal disease in Mexico]. *Salud Publica Mex*. 2011;53 Suppl 4:506-15.
75. Alsuwaida A, Mousa D, Al-Harbi A, Alghonaim M, Ghareeb S, Alrukhaimi MN. Impact of early chronic kidney disease on maternal and fetal outcomes of pregnancy. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2011;24(12):1432-6.
76. Bramham K, Lightstone L. Pre-pregnancy counseling for women with chronic kidney disease. *J Nephrol*. 2012;25(4):450-9.
77. Chapter 1: Definition and classification of CKD. *Kidney Int Suppl* (2011). 2013;3(1):19-62.
78. Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy. *Obstet Gynecol*. 2013;122(5):1122-31.
79. Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2000;183(1):s1-s22.
80. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF, 3rd, Feldman HI, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med*. 2009;150(9):604-12.

81. Gómez O, Figueras F, Fernández S, Bennasar M, Martínez JM, Puerto B, et al. Reference ranges for uterine artery mean pulsatility index at 11-41 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008;32(2):128-32.
82. Leños-Miranda A, Graciela Nolasco-Leños A, Ismael Carrillo-Juárez R, José Molina-Pérez C, Janet Sillas-Pardo L, Manuel Jiménez-Trejo L, et al. Usefulness of the sFlt-1/PlGF (Soluble fms-Like Tyrosine Kinase-1/Placental Growth Factor) Ratio in Diagnosis or Misdiagnosis in Women With Clinical Diagnosis of Preeclampsia. *Hypertension.* 2020;76(3):892-900.
83. Rana S, Schnettler WT, Powe C, Wenger J, Salahuddin S, Cerdeira AS, et al. Clinical characterization and outcomes of preeclampsia with normal angiogenic profile. *Hypertens Pregnancy.* 2013;32(2):189-201.
84. Tomimatsu T, Mimura K, Matsuzaki S, Endo M, Kumasawa K, Kimura T. Preeclampsia: Maternal Systemic Vascular Disorder Caused by Generalized Endothelial Dysfunction Due to Placental Antiangiogenic Factors. *Int J Mol Sci.* 2019;20(17).
85. Herraiz I, Quezada MS, Rodriguez-Calvo J, Gómez-Montes E, Villalaín C, Galindo A. Longitudinal change of sFlt-1/PlGF ratio in singleton pregnancy with early-onset fetal growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2018;52(5):631-8.
86. Leanos-Miranda A, Navarro-Romero CS, Sillas-Pardo LJ, Ramirez-Valenzuela KL, Isordia-Salas I, Jimenez-Trejo LM. Soluble Endoglin As a Marker for Preeclampsia, Its Severity, and the Occurrence of Adverse Outcomes. *Hypertension.* 2019;74(4):991-7.

87. Rana S, Cerdeira AS, Wenger J, Salahuddin S, Lim KH, Ralston SJ, et al. Plasma concentrations of soluble endoglin versus standard evaluation in patients with suspected preeclampsia. *PLoS One*. 2012;7(10):e48259.
88. Verlohren S, Galindo A, Schlembach D, Zeisler H, Herraiz I, Moertl MG, et al. An automated method for the determination of the sFlt-1/PlGF ratio in the assessment of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2010;202(2):161.e1-.e11.
89. Bian X, Biswas A, Huang X, Lee KJ, Li TK, Masuyama H, et al. Short-Term Prediction of Adverse Outcomes Using the sFlt-1 (Soluble fms-Like Tyrosine Kinase 1)/PlGF (Placental Growth Factor) Ratio in Asian Women With Suspected Preeclampsia. *Hypertension*. 2019;74(1):164-72.

Anexos.

Anexo 1. Carta de consentimiento informado:



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL.
UNIDAD DE EDUCACION, INVESTIGACION Y POLITICAS
EN SALUD.

COORDINACION DE INVESTIGACIÓN EN SALUD.

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA
PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN.

Nombre del estudio: **Utilidad de la sEng, sFlt-1 y PLGF para la predicción de preeclampsia sobreagregada en embarazos complicados con enfermedad renal crónica subyacente.**

Patrocinador externo: Ninguno.

Lugar: Unidad de Investigación Médica en Medicina Reproductiva, Ciudad de México.

Fecha: dd/mm/aaaa.

Número de registro: F-2019-3606-1

Justificación y objetivo del estudio: Le estamos invitando a participar en un estudio de investigación que se lleva a cabo en la Unidad de Investigación Médica en Medicina Reproductiva de la Unidad Médica de Alta Especialidad del Hospital de Ginecología y Obstetricia No. 4 “Luis Castelazo Ayala” del Instituto Mexicano del Seguro Social. El estudio tiene como propósito medir los niveles en su sangre de las proteínas sEng, sFlt-1 y PLGF conocidas como factores pro y anti angiogénicos. Estas proteínas participan en el funcionamiento y la formación de nuevos vasos sanguíneos en la placenta y pueden estar presentes en diferentes concentraciones en la sangre, dependiendo de las manifestaciones clínicas, es decir los síntomas o dolencias relacionadas con la enfermedad. La Enfermedad Renal Crónica en el embarazo se asocia con complicaciones graves como la preeclampsia, que pueden poner en peligro la vida de la madre y del bebé. El realizar la medición de sustancias llamadas factores angiogénicos presentes en la sangre puede ser útil en la predicción de complicaciones graves en mujeres embarazadas con enfermedad renal crónica. Usted ha sido invitada a participar en este estudio por qué de acuerdo con su historial médico pensamos que es un buen

candidato. Al igual que usted, 150 mujeres embarazadas con enfermedad renal crónica serán invitadas a participar en este estudio. Por favor lea la información que le proporcionamos y haga las preguntas que quiera antes de decidir si desea o no participar

Procedimientos:

Sí usted acepta participar en el estudio ocurrirá lo siguiente

En primer lugar, realizaremos una evaluación clínica, que consiste en la medición de su peso, talla y la presión arterial, además le pediremos que responda un cuestionario sobre su historial médico. Para todo esto nos tardaremos aproximadamente 20 minutos. Posteriormente procederemos a la toma de muestras biológicas (sangre y orina). Para poder realizar le la toma de muestra de sangre no es necesario que esté en ayuno, tomaremos una muestra de sangre venosa de uno de sus brazos (aproximadamente $\frac{1}{2}$ cuchara sopera, lo cual equivale a 7 ml), esto con la intención de realizar la medición de los factores angiogénicos. Esto tarda aproximadamente cinco minutos. Además, se le pedirá una muestra de orina, para lo cual es necesario que orine en un frasco estéril, el cual se le

proporcionará antes de tomar la muestra de sangre. Esto con la finalidad de medir la cantidad de proteínas en la orina.

Posibles riesgos y molestias: Las molestias o riesgos asociados con los procedimientos de la evaluación clínica no ocasionan dolor, incomodidad o riesgo alguno. Las molestias durante la toma de muestra de sangre son mínimas. En algunas ocasiones el procedimiento para tomar la muestra de sangre puede causar dolor leve o una discreta molestia y raramente un moretón que desaparece en algunos días.

Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio: No recibirá un pago por su participación en este estudio, tampoco implica gasto alguno para usted. No recibirá ningún beneficio al participar en este estudio. Sí bien los beneficios directos para usted pudieran no existir, los resultados del presente estudio contribuirán al avance del conocimiento para el diagnóstico de la preeclampsia y la predicción de complicaciones en mujeres embarazadas con enfermedad renal crónica.

Beneficios al final del estudio: Los resultados de este estudio darán información relevante para un posible mejor manejo de personas embarazadas con enfermedad renal crónica.

Información sobre los resultados y alternativas de tratamiento: Debido a que no sabemos con certeza si estas y pruebas son útiles para el manejo médico de las complicaciones en las mujeres con enfermedad renal crónica, hasta después de finalizar el estudio, consideramos que es preferible no darle los resultados de estos estudios ni a usted ni a su médico tratante.

Participación o retiro: Su participación en este estudio es completamente voluntaria. Si decide no participar, de cualquier manera, continuará recibiendo atención médica habitual en el IMSS y se le ofrecerán los procedimientos establecidos dentro de los servicios de atención medica habitual. Es decir que si decide no participar esto no afectará su relación con el IMSS, ni tampoco se afectará su derecho a tener los servicios de salud que reciben por parte del IMSS. Sí en un principio desea participar y posteriormente cambia de opinión usted puede abandonar el estudio en cualquier momento y esto no modificará de ninguna manera los beneficios que usted tiene cómo

derechohabiente del IMSS. Usted puede hacer las preguntas que desee al inicio y a lo largo del estudio a las personas encargadas del mismo

Privacidad y La información que se obtenga cómo parte de este estudio es estrictamente confidencial.
Confidencialidad:

Su identidad será protegida y ocultada. Los datos personales que puedan identificarla como su nombre y teléfono serán guardados con un código de seguridad. Para proteger su identidad y toda su información utilizaremos un código para identificar sus datos y usaremos este código en lugar de su nombre en las muestras y las bases de datos correspondientes. Sólo el equipo de investigación tendrá acceso a esta información. Su médico tratante y las personas que están involucradas en el cuidado de su salud sabrán que usted está participando en este estudio, sin embargo, nadie más tendrá acceso a esta información sobre usted o su participación en el estudio, a menos de que usted así lo autorice. Cuando lo resultados de este estudio sean publicados o presentados en conferencias no se dará información que pudiera revelar su identidad. Guardaremos toda la información en bases de datos seguras que estarán protegidas por una clave de

acceso. Toda la información será destruida al pasar cinco años.

Disponibilidad de tratamiento médico en derechohabientes: de En cualquier caso, usted continuará recibiendo la atención médica habitual en el IMSS y se le ofrecerán los procedimientos establecidos dentro de los servicios de su atención medica habitual.

Por lo anterior (Marque con una X):) No deseo participar y no autorizo que se tomen las muestras.

) Deseo participar y sí autorizo que se tomen las muestras solo para este estudio.

) Deseo participar y sí autorizo que se tomen las muestras para este estudio y estudios futuros.

En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con la investigación dirigirse a:

Investigador Responsable: Alfredo Leños Miranda. Médico Cirujano, Especialista en Medicina Interna, Maestro en Ciencias, Doctor en Ciencias, Investigador Titular del IMSS, Miembro del Sistema Nacional de Investigadores.

Colaboradores Carlos José Molina Pérez. Médico Cirujano, Especialista en Ginecología y Obstetricia, Maestro en Ciencias, Alumno de Doctorado de la UNAM.

Unidad de Laboratorio G de la Unidad de Investigación Médica en Medicina Reproductiva, ubicada en el Sexto Piso de la Unidad Médica de Alta Especialidad “Luis Castelazo Ayala” del Instituto Mexicano del Seguro Social. Dirección: Río de la Magdalena 289 Col. Tizapan San Ángel, Álvaro Obregón, CP 01090, Ciudad de México Tel 5550-6422 extensión 28003

Dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante: En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación del IMSS ubicada en: Avenida Cuauhtémoc 330, 4° piso, Bloque “B” de la Unidad de Congresos, Col. Doctores. Ciudad de México, CP 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: comisión.etica@imss.gob.mx

Nombre completo y firma de la
paciente.

Nombre y firma de quien obtiene el
consentimiento.

Testigo 1

Testigo 2

Nombre, dirección, relación y
firma.

Nombre, dirección, relación y firma.

Anexo 2. Manual de Procedimientos.

Unidad dónde se realizó este estudio.

La realización del protocolo se llevará a cabo en el IMSS, específicamente en la UMAE HGO No.4, en el Laboratorio G de la Unidad de Investigación en Medicina Reproductiva.

Reclutamiento de los sujetos de investigación.

Los sujetos de investigación fueron detectados por los médicos tratantes en la consulta externa en Hospitalización del departamento Clínico de Perinatología o de las Complicaciones Hipertensivas asociadas al embarazo durante su atención medica habitual, la detección de casos también se realizó mediante el pase diario de visita o durante la entrega de guardia de los diferentes servicios. Los médicos tratantes notificaron personalmente o por vía telefónica a los investigadores localizados en la Unidad de Investigación, de los cuales, alguno era el encargado de identificar e invitar a las pacientes a participar en el estudio. En caso de aceptar participar en el estudio, se leyó y compartió la carta de consentimiento informado. Se realizó un procedimiento similar en caso de detectar otras pacientes en algún otro servicio de la unidad.

Elegibilidad:

Solo se reclutó a aquellos sujetos de investigación que cumplieron todos los requisitos de inclusión especificados en el apartado correspondiente. Un miembro del equipo de investigación se encargó de explicar la naturaleza del estudio, la ausencia de beneficios directos y de dar las citas para el seguimiento subsecuente.

Manejo habitual:

El seguimiento se realizó cada cuatro semanas hasta la resolución de la gestación. En la primera entrevista se realizó una Historia Clínica completa la cual incluyó los siguientes apartados (Duración 30 minutos): ficha de identificación, interrogatorio de antecedentes heredo familiares, personales no patológicos y patológicos, ginecobstétricos y padecimiento actual. En cada consulta de seguimiento se realizó la toma de signos vitales (peso, talla, tensión arterial, pulso, frecuencia respiratoria) y una exploración física completa.

Visitas en relación con el protocolo de investigación.

Las mujeres que aceptaron participar en la investigación acudieron el mismo día de su consulta habitual del control prenatal a la unidad de investigación en donde se realizó un interrogatorio dirigido y se tomaron las muestras de sangre (10 ml) y se solicitó la recolección de orina de 24 horas para su procesamiento.

Toma y almacenamiento de las muestras:

Se tomó una muestra de sangre venosa por punción y una muestra de orina aleatoria de aproximadamente 10 ml y una muestra de la orina recolectada en durante 24 horas. Una vez tomadas las muestras de sangre y orina fueron centrifugadas a 3000 revoluciones por minuto a 4° C. De la recolección de orina de 24 horas, se midió y registró el volumen urinario. Posteriormente se les asignó un número de folio para la identificación de las muestras. Una vez centrifugadas las muestras se tomó al menos 2 tubos de 2 ml de suero y 2 tubos 2 ml de orina sin sedimento.

Una vez identificadas, las muestras fueron congeladas en la red fría de la unidad en el ultra congelador asignado al investigador principal a una temperatura de -80° C para su conservación hasta que se sometieron al ensayo. Todas las muestras se colectaron en el momento de la sospecha de preeclampsia y hasta que se registró el resultado clínico y de la resolución del embarazo.

Anexo 3 Aspectos de bioseguridad.

En este estudio se realizó la manipulación de muestras biológicas (sangre y orina) las cuales fueron transportadas para su almacenaje al Laboratorio de G, de la Unidad de Investigación en Medicina Reproductiva del IMSS, en este lugar fueron etiquetados y almacenados en congeladores especializados.

El equipo de investigación tiene conocimiento y cumplirá con el reglamento de la Ley General de Salud en el Título Cuarto Capítulo 1, Artículos 78,79 y 83, así como La Ley General de Salud en Materia de la Investigación para la Salud en el Título Segundo “De los aspectos éticos de la investigación en seres humanos” y Capítulo Primero, Artículos 13, 14 y del Capítulo Tercero “De la investigación en menores de edad o con incapacidades” Artículos 34 a 39.

El laboratorio involucrado en el proyecto cuenta con manuales de procedimientos para el manejo y control de los residuos peligrosos biológicos infecciosos y tóxicos peligrosos. En el Instituto Mexicano del Seguro Social, el personal del Laboratorio G tiene conocimiento de las actividades para la identificación, clasificación, recolección, tratamiento en sitio y transporte interno hasta el área de almacén temporal de residuos peligrosos biológico-infecciosos de acuerdo con la NOM-087-ECOL-SSA1-2002, la NOM-052 - SEMARNAT-2005 y a la NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002.

La Unidad de Investigación cuenta con sitios destinados para el confinamiento controlado de residuos peligrosos previamente estabilizados de acuerdo con los lineamientos de la NOM-055-SEMARNAT-2003. Así como de la NOM-058-ECOL-1993, que establecen los requisitos para la operación de un confinamiento controlado de residuos peligrosos biológico-infecciosos.

En este proyecto las muestras de sangre se mantendrán en congelación durante cinco años (sí el participante así lo permite), en un ultracongelador del laboratorio de la Unidad de Investigación. Las muestras se podrán utilizar para estudios futuros sobre la enfermedad renal crónica y la preeclampsia y el embarazo de alto riesgo. Los responsables de la custodia de las muestras son El Doctor Alfredo Leños Miranda y el Maestro Carlos José Molina Pérez.

La toma de muestra de sangre como la de orina fueron realizadas por los investigadores participantes de este proyecto o por personal calificado asignado a laboratorio del investigador Titular. Las muestras de sangre fueron tomadas con un equipo vacutainer en un tubo con gel de 7 ml, mientras que la muestra de orina se obtuvo por micción espontánea de la paciente en un frasco de orina estéril. La toma de sangre se llevó a cabo en la cama del paciente y para la orina, se le solicitó a la paciente la recolección en el baño asignado a su cama.

El manejo y desecho de las muestras biológicas cómo de las agujas fue realizado de acuerdo con el “Manual de procedimientos para el manejo de residuos peligrosos biológico-infecciosos del Instituto Nacional de Perinatología”, el cual puede ser encontrado en la siguiente liga: <http://www.inper.mx/descargas/pdf/ManualProcedimientosManejoRPBI.pdf> (hojas, 17,25-27 y 57-67).

Las muestras de sangre para la genotipificación y expresión de proteínas fue tomada por personal capacitado del IMSS con experiencia en la toma y procesamiento de las muestras. El investigador responsable manifiesta que las instalaciones y equipo de los laboratorios se encuentran en un estado adecuado de operación de las actividades involucradas en el proyecto y qué las

instalaciones y equipos reciben mantenimiento preventivo y correctivo para garantizar su adecuado funcionamiento.

Asimismo, manifiesta que el personal cuenta con los dispositivos personales de protección y que los participantes involucrados en el proyecto reciben una capacitación previa al inicio del proyecto para el manejo de muestras biológicas.

Anexo 4. Técnica de ELISA para determinar Endoglina soluble en suero.

Se analizan las muestras en placas de 96 pozos, se utilizaron los primeros 16 pozos para la curva de calibración, se utilizaron 2 muestras con concentraciones conocidas como controles positivos. Cada muestra se procesó por duplicado (2 pozos por muestra), en cada ensayo se analizaron un total de 40 muestras.

Sensibilización de la placa.

Se realiza poniendo 100 µl de 1 µg/mL de Anticuerpo policlonal Mab anti s-Eng (R&D) con amortiguador carbonatos-bicarbonatos 0.1 M (pH 9.5) /0.2% azida, una hora a 37° C y se guarda a 4° C.

Preparación del Buffer de dilución (PBS/0.05%Tween 20/0.1 ASB)

Para preparar el buffer de dilución de PBS con albúmina (PBS- Tween /ABS 1%) se realiza el siguiente procedimiento: Por cada placa se necesitan preparar 50 ml, el frasco de la albumina está al 10%, por lo que se colocan 5 ml de albumina + 45 ml de PBS-Tween.

Preparación del amortiguador carbonatos-bicarbonatos.

Se prepara el amortiguador carbonatos-bicarbonatos 0.1 M (pH 9.5) /0.2% azida en un frasco de Gerber estéril. Por cada placa se necesitarán 10 ml porque cada pozo contuvo 100 µl por lo que se multiplica por 96 (pozos) para un total de 9600 µl o 9.6 ml. La solución de amortiguadores se encuentra a una concentración al 1M (en el refrigerador de la unidad) y la concentración deseada

es al 0.1M, por lo que se extrae 1 ml y se agregan 9.2 ml de agua destilada. Esta solución se utiliza para sensibilizar a la placa de ELISA.

Colocación del primer anticuerpo o anticuerpo de captura:

Posteriormente se colocó a la solución el Anticuerpo rata-anti-s-Eng (R&D) a una concentración de 1 µg/ml. La alícuota se encuentra a una concentración de 2 mg/ml). Se mezclan 5 µl de anticuerpo + 10.2 ml de amortiguador de carbonatos bicarbonatos por cada placa. Se incubaron por una hora a 37 °C. Se puede envolver la placa en papel aluminio y posteriormente guardar a 4°C en el refrigerador o en el cuarto frío de la unidad por 24 horas.

Lavar la placa 3 veces con PBS-Tween 20/al 0.1% ASB

Bloqueo de la placa.

Cada pozo de la placa se debe bloquear con 300 µl de PBS-T/Leche al 5%.

Solución de PBS-Tween 20 0.05%/ Leche al 5%. (Leche Nestle Svelty en polvo). Preparación: se van a utilizar 300 µl por cada pozo por lo que para un total de 96 pozos se utilizarán 28800 µl o 28.8 ml. Se preparan 40 ml por cada placa. Se agregan 2 gramos de leche +40 ml PBS-T. Posteriormente se agregan 300 µl (2 veces 150 µl en cada pozo). Incubar por una hora a 37 °C (en la parte inferior de estufa de bacterias).

Lavar la placa 3 veces con PBS-Tween 20 al 0.05%.

Construcción de la curva de calibración.

En esta parte se deben colocar los estándares de calibración para la curva, para ello se utilizan los primeros 16 pozos para la curva de calibración. 2 por cada concentración conocida o estándar. Marcar alícuotas con la dilución 48.4-24.6-13.3-6.6-3.7-1.5-0.65-0 (ng/ml). Poner en cada alícuota marcada 200 μ l de buffer de dilución.(Ya está estandarizada)

Posteriormente se debe colocar el Calibrador. Para realizar los estándares de la curva de medición para la cuantificación de sEng. Del calibrador se debe tomar 1 μ l (ζ ? ng/ μ l) y diluirlo en 439 μ l de PBS/ASB 1% (Buffer de dilución), dando una concentración final de ζ ? ng/ml.

El volumen final es de 440 μ l. Se colocan los 440 μ l en el alícuota marcado con 1000. Hacer 6 diluciones más 1:2 (De la primera alícuota con el volumen final se pasan 200 μ l al siguiente tubo y posteriormente sucesivamente hasta llegar a la menor dilución que es la 0.65.). El estándar 0 es el buffer de dilución.

Posteriormente se deben poner 20 μ l del calibrador+80 de Buffer de dilución por pozo.

Colocación de las muestras en cada pozo.

Poner 10 μ l de estándar o suero por pozo + 90 μ l de buffer de dilución.

Nota: En cuanto se termine e poner las muestras en cada fila agregar los 90 μ l del buffer de dilución, no hacerlo hasta después de poner todas las muestras.

Incubar 1 hora a 37 C.

Lavar 3 veces con PBS-Tween 20 al 0.05%.

Colocación del Segundo anticuerpo.

Se deben agregar 100 μ l a cada pozo con una concentración de 200 ng/ml de anticuerpo conjugado a biotina (anti-sEng monoclonal de murino) en buffer de dilución

El anticuerpo conjugado a biotina que se encuentra en una alícuota a una concentración de 200 mg/ml. De esta se toman 5 μ l +10.2 ml de buffer de dilución. (Concentración final 1 μ g/ml.). Colocar 100 μ l por pozo

Incubar una hora a 37 C.

Lavar 3 veces con PBS-Tween 20 al 0.05%.

Colocación del conjugado estreptavidina-HRPO (peroxidasa) a una dilución de 1:200

Agregar 100 μ l del conjugado estreptavidina-HRPO a una dilución de 1:200. Se colocan 10.2 ml de buffer de dilución + 5 μ l del anticuerpo conjugado estreptavidina-HRPO. (Concentración ¿?).

Incubar una hora a 37 C.

Lavar 5 veces con PBS-Tween 20 al 0.15%.

Colocación del cromógeno y lectura de resultados.

Agregar cromógeno 100 μ l (Pesar el polvo OPD 6 mg + 12 ml de citratos pH 5.5 + 10 μ l de H₂O₂ al 30%, mezclar todo en un frasco oscuro). Incubar por ~ 15 a 30 minutos (Vigilar el desarrollo de color) a temperatura ambiente, protegiendo a la placa de la luz.

Parar la reacción con 50 μ l de ácido sulfúrico al 2 N.

Resultados.

La lectura se hace a 490 nm. Poner background, en lugar del estándar 0 que es el buffer de dilución. (Gráfica 4-PL). Tiempo utilizado (1 horas).

Anexo 5: Técnica de ELISA para la determinación de sFlt-1.

Sensibilizar cada tubo con 100µl de la concentración de anticuerpo de captura en búfer de carbonatos/azida (1µg/ml) e incubar a 37°C durante una hora y guardar los tubos a 4°C. Aspirar y lavar una vez el tubo con 1 ml de PBS/T.

Poner 1 ml de él de leche al 5% /PBS-T e incubar por una hora a 37°C

Aspirar y lavar una vez el tubo con 1 ml de PBS/T

Poner la muestra de suero (50µl) y agregar 150 µl de PBS7T/0.1 ASB e incubar a temperatura ambiente durante 60 minutos en agitación continua a 200 revoluciones por minuto.

Aspirar y lavar una vez el tubo con 1 ml de PBS/T

Poner 200 µl del anticuerpo biotilado utilizado a una concentración de 25 ng/ml diluido en PBS/T/0.1% ASB e incubar a temperatura ambiente durante 60 minutos en agitación continua a 200 revoluciones por minuto.

Aspirar y lavar una vez el tubo con 1 ml de PBS/T

Poner 200 µl del conjugado estreptavidina-HRP a una dilución de 1:1000 en PBS/T/0.1% ASB e incubar a temperatura ambiente por 30 minutos en la agitación continua a 200 revoluciones por minuto.

Aspirar y lavar 3 veces el tubo con 1 ml de PBS/T

Poner 15 µl de luminol y vórtexear el tubo brevemente.

Anexo 6. Producción científica personal publicada concerniente a la línea de investigación sobre los factores angiogénicos, la preeclampsia, la enfermedad renal crónica y el embarazo de alto riesgo.

2022

- Molina-Pérez CJ, Nolasco-Leaños AG, Carrillo-Juárez RI, Leaños-Miranda A. Clinical usefulness of angiogenic factors in women with chronic kidney disease and suspected superimposed preeclampsia. *J Nephrol*. 2022 Jul;35(6):1699-1708. doi: 10.1007/s40620-022-01299-9. Epub 2022 Mar 30. PMID: 35353367.

2021

- Molina Pérez CJ, Nolasco Leaños AG, Carrillo Juárez RI, Berumen Lechuga MG, Isordia Salas I, Leaños Miranda A. Soluble Endoglin and Uterine Artery Flow Doppler Ultrasonography as Markers of Progression to Preeclampsia in Women with Gestational Hypertension. *Gynecol Obstet Invest*. 2021 Oct 18:1-9. doi: 10.1159/000519371. Epub ahead of print. PMID: 34662881.
- Leaños-Miranda A, Nolasco-Leaños A, G, Carrillo-Juárez R, I, Molina-Pérez CJ, Isordia-Salas I, Ramírez-Valenzuela K, L: Interleukin-6 in Amniotic Fluid: A Reliable Marker for Adverse Outcomes in Women in Preterm Labor and Intact Membranes. *Fetal Diagn Ther* 2021. doi: 10.1159/000514898 PMID: 33794521.

- Nolasco-Leaños AG, Ramírez-Valenzuela KL, Carrillo-Juárez RI, Molina-Pérez CJ, Isordia-Salas I, Leaños-Miranda A. Circulating angiogenic factors are associated with progression to preeclampsia and the occurrence of adverse outcomes in women with gestational hypertension. *J Hypertens.* 2021 Mar 1;39(3):573-580. doi: 10.1097/HJH.0000000000002669. PMID: 33149103.

2020

- Leaños-Miranda A, Nolasco-Leaños GA, Carrillo-Juárez IR, Molina-Pérez CJ, Sillas-Pardo JL, Jiménez-Trejo ML, Isordia-Salas I, Ramírez-Valenzuela KL. Usefulness of the sFlt-1/PlGF (Soluble fms-Like Tyrosine Kinase-1/Placental Growth Factor) Ratio in Diagnosis or Misdiagnosis in Women With Clinical Diagnosis of Preeclampsia. *Hypertension.* 2020 Sep;76(3):892-900. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.15552. Epub 2020 Jul 27. PMID: 32713272.
- Berumen-Lechuga, María Guadalupe; Leaños-Miranda, Alfredo; Molina-Pérez, Carlos José. Enfermedad por COVID-19 durante el embarazo: una narrativa. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, [S.l.], v. 58, jul. 2020. ISSN 2448-5667. Disponible en: http://revistamedica.imss.gob.mx/editorial/index.php/revista_medica/article/view/3714 .

2019

- Leños-Miranda A, Campos-Galicia I, Ramírez-Valenzuela KL, Berumen-Lechuga MG, Isordia-Salas I, Molina-Pérez CJ. Urinary IgM excretion: a reliable marker for adverse pregnancy outcomes in women with chronic kidney disease. *J Nephrol.* 2019 Apr;32(2):241-251. doi: 10.1007/s40620-018-0536-9. PMID: 30206800; PMCID: PMC6423310.

2018

- Leños-Miranda A, Inova Campos-Galicia, Méndez-Aguilar F, Molina-Pérez CJ, Ramírez-Valenzuela KL, Sillas-Pardo LJ, Uraga-Camacho NC, Isordia-Salas I, Berumen-Lechuga MG. Lower circulating angiotensin II levels are related to the severity of preeclampsia and its risk as disclosed by a specific bioassay. *Medicine (Baltimore).* 2018 Sep;97(39):e12498. doi: 10.1097/MD.0000000000012498. PMID: 30278540; PMCID: PMC6181462.

2017

- Leños-Miranda A, Méndez-Aguilar F, Ramírez-Valenzuela KL, Serrano-Rodríguez M, Berumen-Lechuga G, Molina-Pérez CJ, Isordia-Salas I, Campos-Galicia I. Circulating angiogenic factors are related to the severity of gestational hypertension and preeclampsia, and their adverse outcomes. *Medicine (Baltimore).* 2017 Jan;96(4):e6005. doi: 10.1097/MD.0000000000006005. PMID: 28121958; PMCID: PMC5287982.

2015

- Leños-Miranda A, Campos-Galicia I, Berumen-Lechuga MG, Molina-Pérez CJ, García-Paleta Y, Isordia-Salas I, Ramírez-Valenzuela KL. Circulating Angiogenic Factors and the Risk of Preeclampsia in Systemic Lupus Erythematosus Pregnancies. *J Rheumatol*. 2015 Jul;42(7):1141-9. doi: 10.3899/jrheum.141571. Epub 2015 May 15. PubMed PMID: 25979720.

2008

- Romero-Arauz JF, Ramos-León JC, Rivera-Velásquez P, Alvarez-Jimenez G, Molina-Pérez CJ. Velocimetría Doppler de la arteria umbilical y resultado perinatal adverso en preeclampsia severa [Umbilical artery Doppler velocimetry and adverse perinatal outcome in severe preeclampsia]. *Ginecol Obstet Mex*. 2008 Aug; 76 (8):440-9. Spanish. PubMed PMID: 18798446. Cited by 1 PubMed Central article (BMC Res Notes.2013 Nov 19; 6:477).