



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**SECRETARÍA DE SALUD DEL DISTRITO FEDERAL
DIRECCIÓN DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN
SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

**CURSO UNIVERSITARIO DE ESPECIALIZACIÓN EN
GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA**

***“EXPRESIÓN DE LOS GENES SERPINA 1 Y SERPINA 2 EN LAS CÉLULAS ENDOTELIALES
DE CORDÓN UMBILICAL DE PACIENTES CON PREECLAMPSIA EN COMPARACIÓN CON
PACIENTES SANAS”***

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN: CUASI EXPERIMENTAL

**PRESENTA
DRA. MARÍA DEL CARMEN MÉNDEZ RÍOS**

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALISTA EN GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA

**DIRECTOR DE LA TESIS
DR. STUARTH KENNETH GONZALEZ MONROY**

2015



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.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**SECRETARÍA DE SALUD DEL DISTRITO FEDERAL
DIRECCIÓN DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN
SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
CENTRO DE INVESTIGACIONES Y ESTUDIOS AVANZADOS DEL IPN
DEPARTAMENTO DE TOXICOLOGÍA**

**CURSO UNIVERSITARIO DE ESPECIALIZACIÓN EN
GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA**

***“EXPRESIÓN DE LOS GENES SERPINA 1 Y SERPINA 2 EN LAS CÉLULAS ENDOTELIALES
DE CORDÓN UMBILICAL DE PACIENTES CON PREECLAMPSIA EN COMPARACIÓN CON
PACIENTES SANAS”***

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN: CUASI EXPERIMENTAL

**PRESENTA
DRA. MARÍA DEL CARMEN MÉNDEZ RÍOS**

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALISTA EN GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA

**DIRECTOR DE LA TESIS
DR. STUARTH KENNETH GONZALEZ MONROY**

2015

**"EXPRESIÓN DE LOS GENES SERPINA 1 Y SERPINA 2 EN LAS CÉLULAS ENDOTELIALES
DE CORDÓN UMBILICAL DE PACIENTES CON PREECLAMPSIA EN COMPARACIÓN CON
PACIENTES SANAS"**

Dra. María del Carmen Méndez Ríos

Vo. Bo.

Dr. Juan Carlos de la Cerda Ángeles

Dr. J. Carlos de la Cerda Angeles



CED. PROF. 3626298
GINECO-OBSTETRA

Titular del Curso de Especialización en
Ginecología Y Obstetricia.

Vo. Bo.

Dr. Antonio Fraga Mouret

Director de Educación e Investigación.



DIRECCION DE EDUCACION
E INVESTIGACION
SECRETARIA DE
SALUD DEL DISTRITO FEDERAL

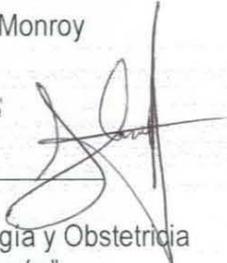
**"EXPRESIÓN DE LOS GENES SERPINA 1 Y SERPINA 2 EN LAS CÉLULAS ENDOTELIALES
DE CORDÓN UMBILICAL DE PACIENTES CON PREECLAMPSIA EN COMPARACIÓN CON
PACIENTES SANAS"**

Dra. María del Carmen Méndez Ríos

Vo. Bo.

Dr. Stuarth Kenneth González Monroy

González Monroy Stuarth Kenneth
Ginecología
Ced. Prof. 5907492



Director de tesis
Médico Adscrito al Servicio de Ginecología y Obstetricia
del "Hospital General de Ticomán".

DEDICATORIAS Y AGRADECIMIENTOS

A dios por protegerme y darme siempre la fortaleza para enfrentar las dificultades de mi vida profesional y personal.

A mis padres Yolanda Ríos López y Carlos Méndez Blanca por su apoyo moral, cariño, comprensión y confianza que siempre me han brindado, por ser la fuente de mi inspiración y aspiraciones en la vida, por enseñarme a luchar y perseverar para logra mis metas. Por guiar mi camino y estar conmigo en los momentos más difíciles. Los amo.

A mis hermanas Yolanda Méndez Ríos y Guadalupe Méndez Ríos por su comprensión y compañía, siendo grandes ejemplos en mi vida como mujeres, madres, profesionistas y grandes seres humanos. Las amo.

A mis amigos y compañeros de generación, que a pesar de las dificultades que se nos presentaron, siempre se mostraron ser grandes amigos y extraordinarias personas, con mucha fortaleza, entusiasmo, dedicación, amor y pasión por nuestra profesión.

A mi asesor de tesis Stuarth Kenneth González Monroy Y al Dr. Federico Miguel Lazcano Ramírez por su confianza, paciencia, enseñanza, motivaciones y apoyo incondicional.

A mis profesores y médicos adscritos que confiaron en mí, y que con sus experiencias, enseñanzas y paciencia contribuyeron a mi desarrollo médico y quirúrgico.

En especial al Dr José Antonio Memije Neri que siempre demostró interés en nuestra enseñanza profesional y brindó su apoyo moral.

A la institución y universidad por brindarme la enseñanza, su respaldo, los valores universitarios y portar con orgullo su escudo y sus colores.

Al CINVESTAV y equipo de investigación del Departamento de Toxicología constituido por Yuri Rodríguez Yáñez, Irais Poblete Naredo, Dr Arnulfo Albores Medina quienes con su experiencia y pasión por la investigación, se pudo realizar el estudio con alto profesionalismo. Además de contar con el apoyo del CONACyT con el No. De proyecto CONACyT-SSA /IMSS/ISSSTE 162391.

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	4
MATERIAL Y MÉTODOS.....	21
RESULTADOS	24
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.	35
BIBLIOGRAFIA.....	39
ANEXOS.....	42

RESUMEN

Objetivo: Comparar la expresión del RNA mensajero (mRNA) de *Serpina-1*, *Serpina-2*, en cultivos primarios de células endoteliales de la vena del cordón umbilical obtenidas de pacientes sanas vs con pacientes con preeclampsia del Hospital General de Ticomán.

Material y métodos: Se obtuvieron cordones umbilicales de pacientes con preeclampsia y pacientes sanas del Hospital General de Ticomán, inmediatamente posterior al alumbramiento, en el periodo comprendido de 07 de mayo del 2012 al 31 de diciembre del 2013. Los cordones umbilicales se conservaron y transportaron en contenedores con Buffer HEPES, procesándose dichas muestras en las primeras ocho horas. Se obtuvieron las células endoteliales de la vena umbilical humana, mediante colagenasa y mitógeno endotelial, después se llevó a cabo la extracción y cuantificación de RNA por PCR en tiempo real, extrayéndose el RNA mediante el método de TRIzol para su cuantificación. Posteriormente; a partir de este RNA se obtendrá el DNA complementario para realizar en tiempo real la cuantificación de mRNA mediante sondas específicas para los genes: SERPINA-1 y SERPINA-2.

Para el análisis de la expresión génica de SERPINA 1 y 2 se comparó de manera cuantitativa el mRNA de ambos genes con respecto a una muestra de referencia o normalizador, dividiendo el resultado del gen blanco -a partir de una curva estándar- entre el gen de referencia.- gliceraldehido 3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH).

Para el análisis estadístico se obtuvieron los valores para la media y la desviación estándar de las variables y a partir de estos estadísticos se estratificaron; edad, presión arterial sistólica, diastólica, SERPINA 1 y 2. Como prueba de Hipótesis y significancia estadística, se aplicaron pruebas de Chi², obteniendo valores de P para la comparación entre ambos grupos, mediante la aplicación del software Epi Info 6.04™

Resultados: Se analizó un total de 86 cordones umbilicales que incluyen 56 pacientes sanas (controles) y 30 con preeclampsia en diferentes grados (casos). Los controles representaron 65%; las pacientes con preeclampsia leve representaron 21% y la severa el 14%. Las edades de la población total estudiada corrieron de 15 a 44 años, con una media de 24 años. La distribución de la tensión arterial sistólica para los casos presento una media de 149.6 mmHg \pm 14.5 DS y para los controles de 110 mmHg \pm 7.5 DS. La tensión arterial diastólica en los casos represento una media de 97mmHg \pm 11.1 DS y para los controles una media de 67 mmHg \pm 7.1 DS. SERPINA 1 normalizada en los casos presentó una media de 0.624 \pm 0.369 DS, para los controles una media de 0.809 \pm 0.345 DS y la SERPINA 2 normalizada para los casos alcanzo una media de 0.181 \pm 0.106 DS, en los controles la media fue de 0.245 \pm 0.107 DS.

La distribución de la población estudiada de acuerdo a los niveles de SERPINA 1 normalizada, según los niveles alto y bajo del gen se presentó mayormente niveles altos en un 57.1% en los controles y niveles bajos un 63.3% en los casos, con una Chi² de 3.28 y una P de 0.070. Y para SERPINA 2 normalizada, estratificada, por niveles alto y bajo del gen se presentó mayormente 81.1% para niveles altos en los controles y el nivel bajo un 46.9 % en los casos, con una Chi² de 7.29 y una P de 0.007.

La distribución de SERPINA 1 normalizada en los casos según severidad y por estratos cuenta con una Chi² de 6.09, con un valor P de 0.413. Presentándose mayor porcentaje de casos en el rango de 0.701 a 1.100 con un 72.4% en los controles y en menor cantidad en el mismo rango con un 6.9% en preeclampsia severa. Y para SERPINA 2 normalizada en los casos según severidad y por estratos, cuenta con una Chi² de 13.5, con un valor P de 0.036. Presentándose

mayor cantidad en el rango de 0.113 a 0.220 en un 61.5% en los controles y en menor cantidad en el rango mayor de 0.334 con un 6.3% en preeclampsia severa.

Conclusiones: La preeclampsia modifica el perfil de expresión de genes entre ellos varios inhibidores de la protein serina (SERPINAS). Observándose una mayor expresión en células endoteliales de cordón umbilical de SERPINA 1 en pacientes sanas y menor expresión de SERPINA 2 en pacientes con preeclampsia. Los valores de los estadísticos de prueba (χ^2), permiten concluir que efectivamente existe una alteración en la expresión de SERPINA 2, en cordón umbilical que correlaciona positivamente a la presencia de preeclampsia.

El presente estudio queda como precedente y ser la base para poder identificar probables biomarcadores moleculares realizando pruebas de alta sensibilidad para determinación del gen SERPINA 1 y 2 en suero materno, que se asocien con un riesgo más elevado o significativamente menor de desarrollar en algún momento la enfermedad, y puedan utilizarse como nuevas herramientas de tamizaje y/o predicción de ésta.

Palabras clave: Genes SERPINA 1 y SERPINA 2, RNA mensajero (mRNA) de Serpina-1 y 2, preeclampsia, presión arterial sistémica.

INTRODUCCIÓN

DEFINICIÓN DE PREECLAMPSIA

La preeclampsia es un síndrome multisistémico de severidad variable, específico del embarazo, caracterizado por una reducción de la perfusión sistémica generada por vasoespasmo y activación de los sistemas de coagulación. Se presenta después de la semana 20 de la gestación, durante el parto y puerperio. ¹.

EPIDEMIOLOGÍA

La hipertensión arterial en el embarazo constituye una causa importante de morbimortalidad materna y perinatal, ocurriendo en nuestro país del 2 al 10% de las gestaciones. Se estima que se presentan 50,000 muertes maternas a nivel mundial, constituyendo una de las primeras causas de muerte materna en nuestro país y del total de las muertes en el mundo, 40% ocurren en unidades hospitalarias, siendo la preeclampsia eclampsia la segunda causa de muerte en un 16% y de 20 a 25% de las causas de mortalidad perinatal. ^{1,3}.

- Morbilidad en México en el año 2010 por grupo de edad en que predominan:
- Embarazadas con preeclampsia entre 20 a 24 años, 188 casos de cada 100 mil mujeres de ese grupo de edad.
- Hipertensión gestacional de 25 a 29 años, 189 casos por cada 100 mil mujeres.
- Eclampsia entre 15 a 19 años, 17 casos por cada 100 mil mujeres.
- Mortalidad durante el 2011; 23 muertes por preeclampsia principalmente entre 30 y 34 años (1.9%), de 20 a 24 años (1.8 %) y por eclampsia 3.3% de las embarazadas de 25 a 29 años y entre 35 a 39 años 2.6%. ²⁰

- La preeclampsia se presenta en 70% de mujeres nulíparas y 30% multíparas.
- La hipertensión arterial sistémica crónica complica 3% de los embarazos y hasta 25% de los casos evolucionará a preeclampsia.
- La hipertensión gestacional ocurre en 6% de los embarazos y progresa a preeclampsia en 15 a 45%.²

FACTORES DE RIESGO

Dentro de los factores de riesgo asociados a preeclampsia se encuentran los preconceptionales, los asociados al embarazo y los relacionados a enfermedades médicas preexistentes.

- Factores de riesgo Preconceptionales: Primigestas (6-7%), multigestas (3-4%), Embarazo por semen de donador y donación de oocito (10-35%), nivel socioeconómico medio bajo, antecedente de preeclampsia en un embarazo previo (25 a 65%), pacientes con preeclampsia severa previa (5-7%), con preeclampsia leve (1%), historia familiar de hipertensión arterial sistémica crónica, alcoholismo.
- Factores de riesgo asociados al embarazo: Edad materna <18 y ≥ 40 años (10-20%), Obesidad (10-15%), Embarazo gemelar (8-20%), Embarazo múltiple (12-34%), embarazo molar e hidrops fetal e infección materna.
- Factores de riesgo asociados a enfermedades crónicas preexistentes: Hipertensión crónica o enfermedad renal preexistente (15-40%), Diabetes mellitus pre-existente (10-35%), Enfermedades del tejido conectivo (10-20%), trombofilia congénita o adquiridas (síndrome antifosfolípidos, deficiencia de proteína C ó S, deficiencia de antitrombina, mutación del factor V Leiden) (10-40%), resistencia a la insulina, hiperandrogenismo y dislipidemia. ^{1,2,3,6}

- El tabaquismo se ha referido como un factor protector en contra de preeclampsia basado en la hipótesis de la elevación del óxido nítrico inducido por la nicotina.³

CLASIFICACIÓN Y CRITERIOS DIAGNÓSTICOS DE PREECLAMPSIA:

Preeclampsia leve es aquella que presente:

- Elevación de la presión arterial \geq a 140 mmHg. la sistólica ó \geq 90 mmHg. la diastólica, en dos tomas con diferencia de 4 ó 6 horas, pero no mayor de 7 días, en un embarazo mayor a 20 semanas de gestación, con presión sanguínea previa normal.
- Proteinuria significativa mayor o igual a 300 mgs. en orina de 24 horas, que se correlaciona con una “+” en la tira reactiva^{1,4,5, 6}.

Preeclampsia severa presenta uno o más de los siguientes criterios:

Hipertensión arterial \geq de 160mmHg \geq 110 mmHg. (sistólica/diastólica), en dos tomas separadas por un intervalo de 4 ó 6 hrs pero no mayor a 7 días.^{1,4,5}

- Proteinuria de 2 grs.¹ (5 grs. ⁴) en orina de 24 horas.
- Creatinina sérica mayor de 1.2 mg/dl.
- Dolor epigástrico o dolor en hipocondrio derecho.
- Oliguria menor a 500 ml. en 24 horas.
- Disminución de la cuenta plaquetaria menor o igual a 100,000/mm³.
- Elevación de enzimas hepáticas.
- Trastornos visuales o cerebrales.
- Edema agudo de pulmón y cianosis.
- Insuficiencia hepática.

- Restricción del crecimiento intrauterino ^{1,4}.

Hipertensión arterial crónica es la hipertensión preexistente.

La hipertensión arterial con preeclampsia sobre agregada se define como desarrollo de preeclampsia-eclampsia en pacientes con hipertensión arterial crónica previa, en la cual se requiere por lo menos uno de los siguientes criterios:

- Aumento súbito de la presión arterial en pacientes previamente controladas.
- Trombocitopenia <100,000 plaquetas/mm³.
- Incremento de las transaminasas hepáticas.
- Incremento de la proteinuria en pacientes con proteinuria previa.
- Acufenos, fosfenos, cefalea y epigastralgia. ⁴

Preeclampsia atípica se define con la presencia de:

Hipertensión gestacional ó proteinuria gestacional con uno o más de los siguientes elementos:

- Síntomas de preeclampsia.
- Trombocitopenia (<100,000/mm³).
- Elevación de AST y ALT dos veces el límite superior del valor normal.

o presencia de signos y síntomas de preeclampsia- eclampsia antes de las 20 semanas de gestación.

o presencia de signos y síntomas de preeclampsia- eclampsia en el pos parto tardío después de las 48 hrs pos parto y antes de 4 semanas pos parto. ⁵.

ETIOLOGÍA DE LA PREECLAMPSIA

Se han propuesto diferentes teorías en la génesis de la preeclampsia, las cuales coinciden con la característica de disfunción endotelial, con el aumento de la reactividad vascular y la activación de la cascada de la coagulación, moléculas de adhesión, migración leucocitaria, aumento de moléculas inflamatorias y los componentes de la respuesta inmune.

Así mismo, es importante mencionar que la activación plaquetaria junto con la aterosclerosis aguda en las arterias espirales, niveles elevados de Factor de Von Willebrand (factor X), p-selectina y tromboxano A₂, y disminución en la síntesis de prostaciclina incrementan la agregabilidad plaquetaria y probablemente contribuyan al desarrollo de microangiopatía, aumentando la permeabilidad y ocupación del espacio subendotelial.^{6, 10.}

TEORÍA DE LA PLACENTACIÓN Y ANGIOGÉNESIS.

Durante la placentación normal, el citotrofoblasto, ancla el embrión en la pared uterina e invade el intersticio de las arterias espirales y decidua materna para proporcionar una vía de acceso a los nutrientes, el oxígeno y a la excreción de productos de desecho. Para lograr esto, la placenta debe formar nuevos vasos sanguíneos y aumentar el número de vasos sanguíneos ya existentes, el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) es el factor crítico y decisivo que rige el proceso de formación y maduración vascular (vasculogénesis y angiogénesis), estos vasos posteriormente serán estabilizados por la acción de otros factores angiogénicos como la angiopoyetina 1 (ANG-1) y la efrina B₂, ambas necesarias para la remodelación y maduración de los vasos neoformados.^{6.}

10.

La vasculogénesis inicia a partir del desarrollo de las vellosidades primarias durante los primeros 15 días postconcepción. Comenzando con la diferenciación de las células madre de citotrofoblasto en vellosidades primarias, que son núcleos de células citotrofoblasto rodeadas por una capa de sincitiotrofoblasto. Como estos núcleos de vellosidades primarias se llenan de las células mesenquimatosas, forman las vellosidades secundarias después del día 22 postconcepción. Estas células mesenquimatosas se diferencian en hemangioblastos durante los siguientes 7 días que posteriormente se diferenciarán en células angioblásticas, endoteliales y hematopoyéticas. Estas células sufren un proceso de proliferación y diferenciación *in situ* en un tejido previamente avascular. Posteriormente, por coalescencia, se produce la formación del vaso primitivo y la creación de su lumen, lo que crea una red capilar primitiva que posteriormente formarán el revestimiento de los primeros vasos sanguíneos en la placenta, y las células de Hofbauer, que son macrófagos que pueden desempeñar un papel en vasculogénesis y diferenciación trofoblástica.^{6, 10.}

Las primeras señales inductoras de la vasculogénesis aparecen en las vellosidades secundarias, donde el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) y sus receptores son los principales factores desencadenantes.^{10.}

Las células de citotrofoblasto situadas en las vellosidades también se diferencian células extravelosas trofoblásticas. Cuando las vellosidades invaden el endometrio materno, la capa de sincitiotrofoblasto desaparece, permitiendo que las células extravelosas trofoblásticas migren en el tejido materno, introduciéndose hacia las arterias espirales. Produciéndose una remodelación fisiológica compleja de estos vasos, por el cual las estructuras musculares y elásticas normales de las arterias espirales se sustituyen parcialmente por éstas células. Los nuevos vasos fetales se

generarán mediante la angiogénesis ramificada, que consiste en la gemación y agrandamiento de los vasos ya existentes para formar una red de vasos interconectados característicos de la vasculatura madura. Estos cambios fisiológicos ocurren en las arterias espirales en su tercio interior del miometrio. Durante este proceso, las células extravelosas trofoblásticas cambian de un fenotipo epitelial a un fenotipo más endotelial y hay cambios en la expresión de moléculas de adhesión a la superficie celular.

Las células extravelosas trofoblásticas amplían y fortalecen el diámetro de las paredes de los vasos, convirtiendo a las arterias espirales en vasos de baja resistencia, proporcionando que el feto reciba un suministro óptimo de sangre ^{6,10}.

Los niveles de tensión de oxígeno aumentan tres veces, con niveles más altos en las áreas periféricas de la placenta en desarrollo y los niveles más bajos hacia el centro. El pico de pO₂ es de aproximadamente 60 mm Hg a las 16 semanas de gestación. El aumento en los niveles de oxígeno no sólo estimula el crecimiento del feto, si no también causa una regulación en la presencia de moléculas de adhesión por las células citotrofoblasticas que facilitan la invasión del trofoblasto. Cuando hay un suministro deficiente de sangre de la madre, se produce la hipoxia prolongada, con efectos perjudiciales para la formación de la vasculatura placentaria.

En la preeclampsia se produce una placentación anormal con remodelación superficial o ausente de las arterias espirales, conservando sus revestimientos endoteliales y paredes musculares, teniendo vasos de alta resistencia. Este fracaso en la remodelación vascular puede ser la lesión inicial en la patogénesis de la preeclampsia. Además, de los defectos de las moléculas de adhesión celular, así como las células asesinas naturales (NK deciduales) o los macrófagos activados pueden desempeñar un papel en la remodelación vascular. ⁶.

FACTORES DE CRECIMIENTO ANGIOGÉNICOS

El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), factor de crecimiento placentario (PlGF), tirosina quinasa soluble (sFlt1) y endoglina soluble (sEng), han sido implicados en la patogénesis de la preeclampsia.

Se ha observado que el receptor del factor de crecimiento vascular endotelial-1 (sFlt-1) se encuentra elevado en la placenta y suero de mujeres con preeclampsia. Esta proteína se adhiere al dominio del receptor del VEGF y del PlGF, lo que impide su interacción con los receptores de membrana de las células endoteliales, que eventualmente conduce a disfunción endotelial.

La evidencia actual sugiere que la fisiopatología de la preeclampsia está íntimamente relacionada con el desequilibrio entre las proteínas angiogénicas y antiangiogénicas que se presenta desde el inicio del embarazo.^{6,10.}

La endoglina (CD105) es un co-receptor celular para el factor de crecimiento tumoral – beta (TGF-B) que se encuentra en trofoblasto y células endoteliales. Su acción principal es la de promover la angiogénesis, diferenciación endotelial y regulación de la óxido nítrico sintetasa. La forma soluble de la endoglina (sEng) tiene propiedades antiangiogénicas potentes; aparentemente inhibe la unión de la endoglina al TGF-B en células endoteliales.⁶

ATEROSIS AGUDA

La placentación anormal produce una lesión obstructiva en los extremos distales de las arterias “aterosis espiral aguda”, caracterizado por la necrosis fibrinoide y la acumulación de macrófagos cargados de lípidos o células de espuma e infiltración de leucocitos. El estado aterogénico fisiológico durante el embarazo se agrava en la preeclampsia. Es probable, aunque no probado,

que las células espumosas se forman de manera similar a los de la aterosclerosis en pacientes no embarazadas. La dislipidemia, la inflamación y el deterioro del transporte inverso del colesterol vascular, tienen muchas probabilidades de contribuir. La trombosis en arterias espirales afectadas conducen al infarto placentario.^{7, 11.}

La lesión no afecta la circunferencia o longitud de todas las arterias espirales. Se piensa que tiene una regresión después del parto cuando se desprenden las porciones deciduales. Está presente del 20-40% de todos los embarazos con preeclampsia.

Durante el embarazo el trofoblasto extraveloso fetal es un semi- aloinjerto. Por lo tanto la Interacción inmunológica anormal en la decidua entre las células madre y el feto contribuyen a la placentación disfuncional en la preeclampsia.

Los factores deciduales locales pueden aumentar el riesgo de depósito de lípidos en las paredes de las arterias espirales, tales como los factores inmunológicos (inflamatorios) lo cual tiene impacto sobre el flujo sanguíneo intervilloso, reduciendo significativamente el calibre del vaso asociándose con trombos arteriales e infartos placentarios posteriores.^{11.}

TEORÍA INMUNOLÓGICA

A medida que el embrión expresa antígenos paternos ajenos para el sistema inmunológico de la madre, la regulación activa de la respuesta inmune materna a la interfaz de la placenta es esencial para un embarazo sea sostenible.

El Antígeno de Histocompatibilidad leucocitaria C (HLA-C) se expresa en el trofoblasto extraveloso invasivo. Es el ligando para los receptores de inmunoglobulinas asesinas (immunoglobulin like asesino, KIR) que expresan las células (unk) por las células naturales asesinas uterinas. El sistema

KIR contiene dos haplotipos diferentes A y B, y algunas combinaciones KIR / HLA -C favorecen la invasión de las células del trofoblasto. Esta interfaz inmunológica regresa en la segunda mitad del embarazo, cuando el sincitio de las vellosidades que carece de la expresión de HLA se vuelve dominante. La importancia de una regulación inmunológica en la interfase materno placentaria se da por la exposición a los antígenos paternos en los fluidos seminales antes de la embarazo, lo cual produce algún tipo de " memoria inmunológica ", probablemente por las células T maternas. Es por eso que las pacientes que se someten a técnica de reproducción asistida con donación de ovocitos con un alto grado de diferencia antigénica tiene un mayor riesgo de desarrollar hipertensión inducida por el embarazo.¹⁹

TEORÍA DEL ESTRÉS OXIDATIVO Y LA INFLAMACIÓN

El estrés oxidativo producido por la hipoxia placentaria y su poca reperusión provocan la disfunción endotelial a través de muchas vías, un indicador fiable de estrés oxidativo es 8-iso-prostaglandina (PG-F2), Una isoprostona importante generada a través de la peroxidación no enzimática del ácido araquidónico.^{17.}

La invasión restringida del citotrofoblasto y la remodelación arterial modifica a las arterias espirales con el objeto de incrementar el flujo sanguíneo materno con mayor presión y mayor velocidad lo cual expone a las vellosidades de la placenta a la fluctuación de las concentraciones de oxígeno. El estrés oxidativo resultante de dicha hipoxia / reoxigenación, genera modificaciones de lípidos y oxidación de proteínas placentarias que son pro-inflamatorias, dando lugar al estrés del retículo endoplásmico y mitocondrial provocando la apoptosis y necrosis del tejido placentario.

El aumento de trofoblasto necrótico debido a mecanismos de estrés oxidativo puede ser importante en la patogénesis de la preeclampsia en dos formas; fagocitosis de trofoblastos necróticos como resultando en la activación de células endoteliales a través de la secreción de interleucina 6 (IL - 6).

Las citocinas inflamatorias como el Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF- α), IL-6 e IL-10 han sido implicadas en el proceso inflamatorio durante la preeclampsia. ¹⁹.

TEORÍA GENÉTICA DE LA PREECLAMPSIA

Cada uno de los factores etiológicos implicados: desadaptación inmune, isquemia placentaria y estrés oxidativo, pueden tener una base genética.⁹ La preeclampsia modifica el perfil de expresión de genes de la placenta, entre ellos varios inhibidores de la proteín serina (serpinas).¹³

La regulación anormal en el sistema fibrinolítico puede desempeñar un papel importante en la mediación de la preeclampsia. El inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 (PAI-1) sintetizado por las células endoteliales se considera un marcador de la disfunción de la célula endotelial en la preeclampsia. Es el principal inhibidor de la fibrinólisis, puede ser producida por distintos tipos de células, tales como las células musculares lisas vasculares, plaquetas y neutrófilos. Por lo tanto, es biológicamente posible que los niveles elevados pudieran suprimir la fibrinólisis y el resultado es un mayor riesgo de tromboembolismo arterial y venoso. Se sabe que los niveles de PAI-1 se incrementan en placentas de pacientes con preeclampsia.^{8,17}.

El inhibidor del activador del plasminógeno tipo 2 (PAI-2) se produce principalmente por el trofoblasto y se considera que es un marcador de la función placentaria durante el embarazo ya que se ha observado que al disminuir los niveles de PAI-2 y al aumentar los niveles de PAI-1 en

mujeres con preeclampsia de inicio temprano. Los polimorfismos génicos más estudiados se clasifican en cinco grupos:

- 1) Polimorfismos de genes vasoactivos (p. ej. *M235T* del gen *AGT*, *I/D* del gen *ACE* y *E298D* del gen *eNOS*).
- 2) Mutaciones y polimorfismos de genes trombofílicos (p. ej. *1691G>A* del *factor V Leiden*, *677C>T* del gen *MTHFR* y *20210G>A* del gen *protrombina*).
- 3) Polimorfismos en genes del metabolismo lipídico y estrés oxidativo (p. ej. *Exon3 Tyr113His* del gen *EPHX* y *Exon 6 Asn291Ser* del gen *LPL*).
- 4) Polimorfismos de genes involucrados en la respuesta inmune e inflamatoria (p. ej. *-308G>A* del gen *TNF α* y *-1082G>A* del gen de *IL10*).
- 5) Otros, entre los cuales se encuentran genes implicados en inmunogenética, placentación e impronta y factores de crecimiento.

Los biomarcadores, identificados por espectrometría de masas (SELDI-TOF) seguida por secuenciación *de novo*, correspondieron a productos de cribaje proteolítico de SERPINA-1 (SwissProt P01009) y albúmina (SwissProt P02768). El perfil proteómico, en especial un fragmento de 21 aminoácidos del extremo C-terminal de la SERPINA-1 (aa 397-418), se asoció con las formas severas de preeclampsia.

La proteómica ha identificado a la SERPINA-1 como un biomarcador en orina útil para detectar embarazadas que estén desarrollando la enfermedad, con al menos 10 semanas previas a las manifestaciones clínicas, constituyendo una herramienta importante en el diagnóstico precoz.⁹

La alfa-1 antitripsina (AAT) es la principal α 1-globulina del suero humano, la proteína fue inicialmente identificada por electroforesis y aislada en 1962 por Schultzel, denominada de esta

manera por su habilidad para inhibir la tripsina pancreática, recibe distintas denominaciones, entre éstas: alfa1 proteinasa inhibidor, proteasa inhibidor 1 (anti-elastasa), inhibidor de serín o cisteín proteinasas, además de una cantidad similar de símbolos inconsistentes como A1A, A1AT, A1AT_human, PI, PI1, entre otros.

El Comité de Nomenclatura de Genes dependiente de la Organización del Genoma, establece la nomenclatura para el gen de la AAT es: Inhibidor de serpin peptidasa clase A, miembro 1 cuyo nombre en inglés corresponde a serpin peptidase inhibitor, clase A (alpha-1 antiproteínase, antitrypsin), member 1 y el símbolo aprobado es SERPINA1.

Los SERPIN por su acrónimo en inglés (**SER**ine **P**roteinase **INH**ibitors) son una super familia de proteínas de tamaño relativamente grande (330 a 500 aminoácidos), tienen una estructura conservada y emplean un mecanismo inhibidor único, ya que actúan como inhibidores de la proteasa y se caracterizan por su comportamiento "suicida", que implica una unión covalente inusual con la proteasa de destino, antes de la degradación de los complejos serpina-proteasa participando en diversos procesos biológicos tales como la coagulación, fibrinólisis, angiogénesis, inflamación y la apoptosis. Sirviendo también como proteínas de almacenamiento (ovoalbúmina), proteínas transportadoras (steroidbinding globulina) y precursores de hormonas (angiotensinógeno o SERPINA8) sin función inhibitoria. ^{14, 15, 18.}

La mayoría de los genes presentan una organización común, con un exón no traducido y cuatro exones de codificación, presentando la alfa 1 antitripsina (clade A), lo que sugiere que evolucionaron a partir de un gen ancestral común a través de una serie de eventos de duplicación.

Su distribución se expande a los reinos metazoa, plantae, archaeae y ciertos poxvirus (animales, plantas, virus, y bacterias).^{14,18.}

Los SERPIN surgieron antes del desarrollo eucariota, hace más de 3.9 billones de años, otra posibilidad dicta que los SERPIN son una familia joven de genes adquirida por transferencia horizontal a través de los virus.

Actualmente se han descrito más de 1,500 miembros de esta familia de genes. Muchos SERPIN inhiben serín proteasas de la familia quimotripsina. Algunos miembros de esta familia y sus blancos biológicos son: CrmA y PI9 (SERPINB9) que inhiben la cisteín proteasa caspasa 1 y SCCA1 (SERPINB3) que neutraliza las cisteín proteasas similares a papaína Cathepsinas L, K y S. Aunque en humanos, la mayoría de los SERPIN (27 de 36) tienen funciones inhibitorias, algunos ejercen otras funciones, como el transporte de hormonas (SERPINA6 y 7), regulación de la presión sanguínea (SERPINA8), y supresores de tumores.

Estudio filogenético dividió a los SERPIN de eucariotas en 16 "clases" (de A-P). Las proteínas son denominadas SERPINXy, donde la "X" es la clase y la "y" es el número dentro de la clase. A la fecha, se han descrito 13 miembros para SERPIN de clase A, 13 para B, 3 para E, 2 para F e I y sólo 1 para cada una de los clases C, D, G y H. Se han determinado alrededor de 70 estructuras proteicas de SERPIN.

Cuentan con una estructura terciaria conservada compuesta por tres láminas β (A, B y C) y 8 a 9 α -hélices (nombradas hA a hI).¹⁴

Son guardianes que regulan la homeostasis de varias vías moleculares, tales como la inflamación, la coagulación, la fibrinólisis, la activación del complemento, y la fagocitosis.

Se ha observado que estos están probablemente relacionados con la fisiopatogenia de las enfermedades de la placenta, tal como una respuesta inflamatoria exagerada y trombosis ¹⁵.

La alfa-1 antitripsina o SERPINA 1 se expresa principalmente en los hepatocitos y también es sintetizada por macrófagos neutrófilos, el trofoblasto. La proteína se libera a la circulación sanguínea por el hígado, en una concentración de 120-220 mg/dL.

En condiciones normales el hígado secreta 34 mg/kg/ día, que se incrementan 2-5 veces en procesos inflamatorios, tumorales e infecciosos. La AAT presente en el suero representa el 40% del total de la proteína, el restante 60% se encuentra en el espacio extracelular presente en todos los tejidos corporales, pero al parecer su relevancia fisiológica es en el pulmón y se secreta desde fuentes distintas de las vellosidades placentarias ya que es altamente expresado en células deciduales. ^{14,15, 16}.

La localización de SERPINA1 Y SERPINA 2 se encuentra en el brazo largo del cromosoma 14, banda citogenética 14q32, el inicio del gen SERPINA 1 se ha determinado en la posición 93, 914,451 pb y el de término en 93, 926,782 pb, estableciendo un tamaño de 12,332 pb para el gen. ¹⁴.

SERPINA1 es una proteína plasmática abundante y el principal inhibidor de la proteasa serina de transmisión sanguínea. Aunque su función principal es la inhibición de la elastasa de neutrófilos, que también tiene actividad frente a la catepsina G, proteinasa 3, elastasa pancreática, tripsina, quimotripsina, colagenasas, y la calicreína.

Los incrementos de SERPINA1 en suero se producen en enfermedades como la artritis reumatoide, vasculitis, infecciones, y otras enfermedades asociadas con un componente inflamatorio, así

mismo se asocia con el desarrollo de hipertensión arterial y un aumento del riesgo de enfermedad cardiovascular, mediante la inhibición de la actividad del sistema de calicreína-quinina, una regulación de SERPINA1 de plasma favorece el sistema renina-angiotensina, que conduce a la vasoconstricción sistémica y la hipertensión.¹⁶

Se confirmó que SERPINA G1, SERPINA1, y SERPINA2, miembros de la inhibidor de serinproteasa, son inducidos por la hipoxia y modifican a menudo su expresión en placentas de pacientes con preeclampsia.

Así mismo se encontró un aumento de la expresión de SERPINA 3 la cual es un inhibidor específico de la elastasa. La elastasa pertenece a la familia de metaloproteasas de la matriz, que desempeña un papel crucial durante el proceso de implantación. Esto puede sugerir que un aumento de la síntesis SERPINA3 puede inhibir la desintegración necesaria de la matriz extracelular para una implantación eficiente que contribuya a la patogénesis de la preeclampsia.

La SERPINA5 (inhibidor de proteína C) es secretada para inactivar varias proteasas del sistema fibrinolítico. Por lo tanto, la reducción observada de la SERPINA5 puede servir para controlar la trombosis. Del mismo modo, SERPINA B2 que participa en la regulación de la fibrinólisis disminuye en pacientes con preeclampsia.

Para SERPINA1 y SERPINA8, diferentes estudios han demostrado un aumento inducido por preeclampsia en suero materno, sin embargo el aumento no fue significativo a nivel de la placenta. La SERPINA8 (AGT) codifica para angiotensinógeno y está implicado en las enfermedades hipertensivas.¹⁵

SERPINA2 fue pensado originalmente para ser un pseudogene porque no se detectó región promotora o expresión en el hígado, y se observó un importante nivel de secuencia de degeneración, que incluía un codón de partida interrumpida (ATG a ATA) y una delección de 2 kb que abarca el exón IV y parte del exón V.

Actualmente, varias líneas de evidencia indican que SERPINA2 tiene una isoforma activa y se expresa de forma diferente de su homólogo más cercano, SERPINA1.

Se expresa principalmente en los testículos y leucocitos, y una expresión residual en el hígado, cerebro, colon, útero, esófago, bazo, tráquea, riñón y pulmón.

En contraste con SERPINA1, que podría ser detectada tanto intracelular (aparato de Golgi) y extracelularmente, SERPINA2 se detectó exclusivamente en la fracción intracelular (lisados celulares), localizándose en el retículo endoplásmico rugoso.

Por otra parte, hemos demostrado que SERPINA2 ha experimentado una divergencia desde SERPINA1, lo que contribuyó a la adquisición de una nueva actividad, posiblemente como Serpin tipo quimotripsina. ¹⁸.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se diseñó un estudio observacional, prospectivo para comparar la expresión del RNA mensajero (mRNA) de Serpina 1 y Serpina 2, en cultivos primarios de células endoteliales de la vena del cordón umbilical obtenidas de pacientes sanas vs. pacientes con preeclampsia, bajo la hipótesis de trabajo: en pacientes con preeclampsia, las células endoteliales de cordón umbilical muestran una sobreexpresión genética del gen SERPINA 1 y disminución en la expresión de SERPINA 2, en comparación con pacientes sanas.

El universo se definió como las pacientes embarazadas con más de 20 sdg, sanas y con preeclampsia, entre 12 a 40 años de edad, que acudiera al Hospital General de Ticomán durante el periodo comprendido del 07 de Mayo del 2012 al 31 de Diciembre del 2013.

Se aplicó un censo a la población que cumplió los criterios de inclusión que definieron al universo; pacientes embarazadas con presión arterial $\leq 139/89$ mmHg y con presión arterial $\geq 140/90$ mmHg (sistólica/ diastólica). Los criterios de no inclusión fueron; embarazos con feto óbito, nefropatía, ruptura de membranas, proceso séptico y trastornos inmunitarios.

Se definieron las siguientes variables para su análisis y prueba de hipótesis:

VARIABLE / CATEGORÍA (Índice-indicador/constructo-criterio)	TIPO	DEFINICIÓN OPERACIONAL	ESCALA DE MEDICIÓN	CALIFICACIÓN
Edad.	Control	Tiempo que ha transcurrido desde el nacimiento a la fecha del estudio.	Cuantitativa Continua.	1) ≤ 18 años 2) 19 a 25 años 3) 26 a 30 años 4) > 31 años
Presión arterial sistémica	Dependiente	La fuerza que ejerce la sangre contra las paredes de las arterias en el momento de la sístole y la resistencia arterial en la diástole.	Cuantitativa continua	1) Óptima: $< 120/80$ mmHg. 2) Normal: 120/80 a 129/84 mmHg 3) Normal alta: 130/85 a 139/89 mmHg 4) Preeclampsia leve: $\geq 140/90$ a 159/109 mmHg 5) Preeclampsia severa: $\geq 160/110$ mmHg.
SERPINA 1 (mRNA)	Independiente	mRNA que codifica para gen Inhibidor de serpín peptidasa clase A, miembro 1 en cordón umbilical	Cuantitativa continua	SERPINA 1 (mRNA) Normalizado Alto: ≥ 0.701 Bajo: ≤ 0.700 Estratificación: 1. < 0.390 2. 0.391 a 0.700 3. 0.700 a 1.100 4. 1.101
SERPINA 2 (mRNA)	Independiente	mRNA que codifica para gen Inhibidor de Serpín Peptidasa Clase A, miembro 2	Cuantitativa continua	SERPINA 2 (mRNA) Normalizado Alto: ≥ 0.221 Bajo: ≤ 0.220 Estratificación: 1. < 0.112 2. 0.113 a 0.220 3. 0.221 a 0.333 4. 0.334
Proteínas en orina mediante tira reactiva.	Control	Determinación semicuantitativa de las proteínas en orina mediante tira reactiva.	Cuantitativa discreta	Una o más cruces en tira reactiva

Se obtuvieron cordones umbilicales de pacientes con preeclampsia y pacientes sanas, inmediatamente posterior al alumbramiento, se conservaron y transportaron en contenedores con Buffer HEPES, procesándose dichas muestras en las primeras ocho horas, se obtuvieron las células endoteliales de la vena umbilical, mediante colagenasa y mitógeno endotelial, después se llevó a cabo la extracción y cuantificación de RNA por PCR en tiempo real, extrayéndose el RNA mediante el método de TRizol para su posterior cuantificación. Posteriormente, a partir de este RNA se obtiene el DNA complementario para realizar en tiempo real la cuantificación de mRNA mediante sondas específicas para los genes: SERPINA-1 y SERPINA-2.

Para análisis de la expresión génica de SERPINA 1 y 2, se realizará la comparación de manera cuantitativa del mRNA de estos dos genes, con respecto a una muestra de referencia o normalizador, como el gen gliceraldehido 3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH), el cual tiene como característica expresarse constitutivamente en todos los tipos de muestra que hay en el experimento. Los resultados se expresan como un cambio en el número de veces que un mRNA de SERPINA 1 y 2 se expresan en una muestra con respecto al gen de referencia GAPDH. Posteriormente se utilizara una curva de calibración estándar en la cual la amplificación de SERPINA 1 y 2 genera tres líneas por cada dilución de acuerdo los ciclos que alcanzan el umbral. Esta curva se representa gráficamente como la regresión semi logarítmica del valor de ciclos o CT promedio de cada dilución contra el logaritmo de la cantidad de RNA empleado en ese punto.

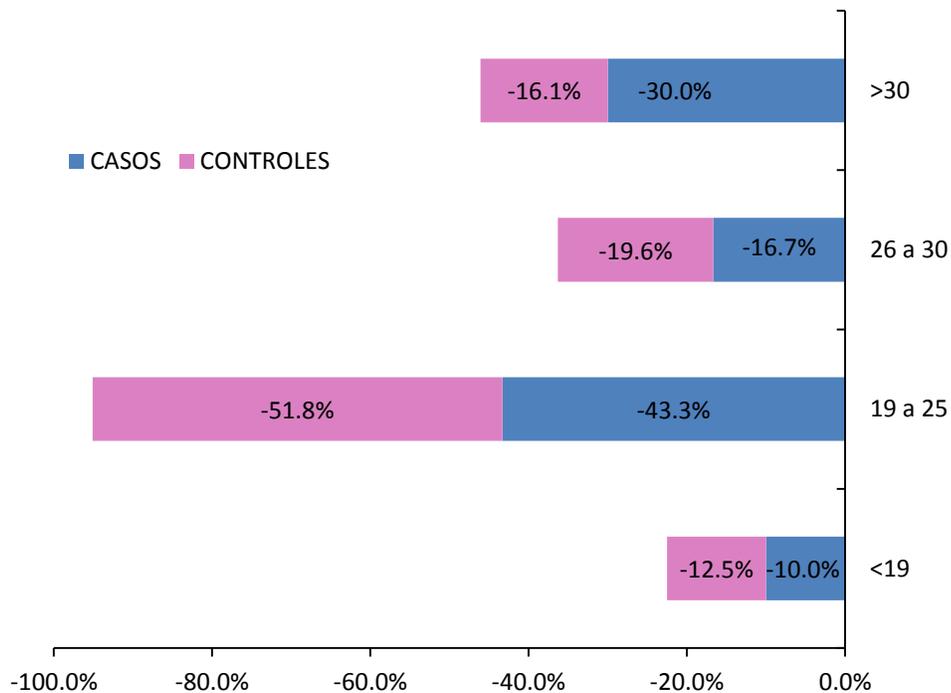
A continuación se normaliza con respecto al gen de referencia, dividiendo el resultado del gen blanco obtenidos en la curva estándar entre el gen de referencia. Con el objetivo de eliminar diferencias debidas a concentración inicial o carga, y finalmente comparar la diferencia en los niveles de expresión de los genes SERPINA 1 y 2.

Para el análisis estadístico se obtuvieron los valores para la media y la desviación estándar de las variables y a partir de estos estadísticos se estratificaron: edad, presión arterial sistólica, diastólica, SERPINA 1 y 2. Como prueba de Hipótesis y significancia estadística, se aplicaron pruebas de χ^2 , obteniendo valores de P para la comparación entre ambos grupos, mediante la aplicación del software Epi Info 6.04™

RESULTADOS

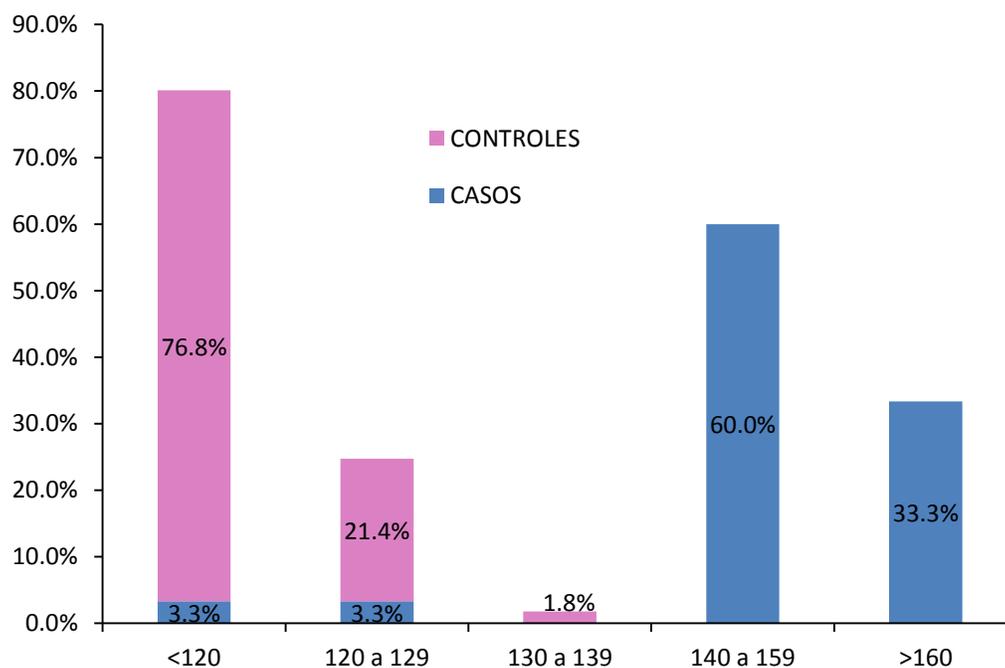
Las edades de la población total estudiada corrieron de 15 a 44 años, con una media de 24 años y una desviación estándar de 6.3 y a partir de estos dos estadísticos, se construyeron rangos de edad, presentándose un 11.6% para menores de 19 años, 48.8% entre 19 y 25, 18.6% entre 26 a 30 y 20.9% para mayores de 30 años. En los casos se obtuvo una media de 26 años presentando un 10% para las pacientes menores de 19 años, 43.3% estuvieron entre 19 y 25 años, 16.7% entre 26 y 30, y finalmente 30% para las mayores de 30 años; y en los controles de 12.5% para las pacientes menores de 19 años, 51.8% estuvieron entre 19 y 25 años, 19.6% entre 26 y 30, y finalmente 16.1% para las mayores de 30 años con una media de 24 años. (Gráfica. 1).

Gráfica 1
Distribución de la población estudiada según grupos de edad en los casos y controles.



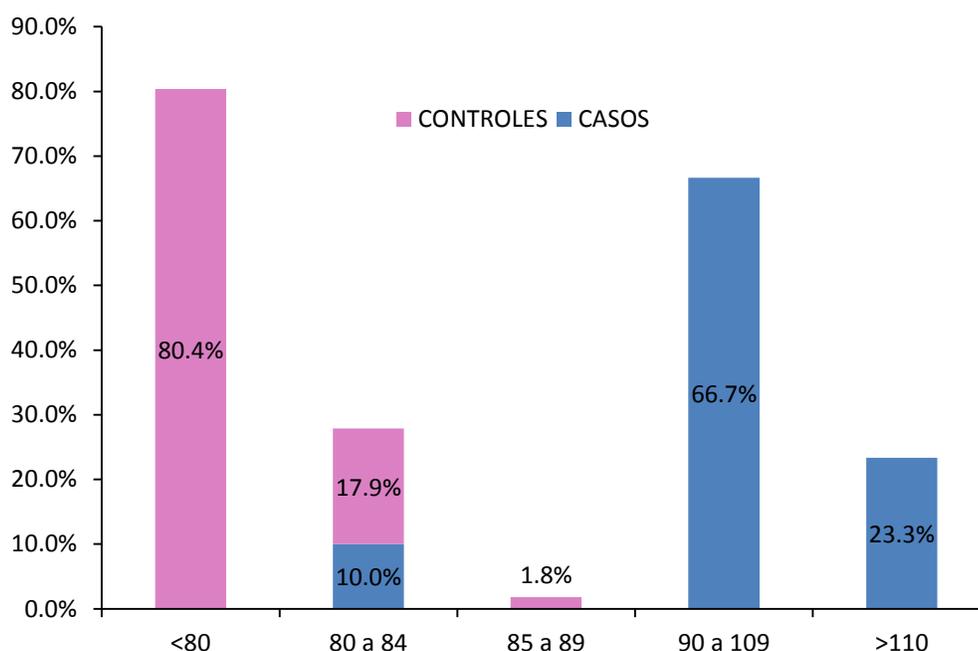
La presión arterial sistólica en la población total presentó una media de 124mmHg y una desviación estándar de 21. Representando el 51.2% en menos de 120mmHg, 15.10% entre 120 y 129mmHg, 1.2% entre 130 y 139mmHg, 20.9% entre 140 y 159mmHg y 11.6% en mayor de 160mmHg. La distribución de la tensión arterial sistólica para los casos fue de 3.3% por debajo de 120mmHg, 3.3% entre 120 y 129 mmHg, 0 entre 130 y 139 mmHg, 60% entre 140 y 159 mmHg y 33.3% para mayor de 160mmHg, con una media de 149.6 mmHg \pm 14.5 DS. Para los controles es de 76.8% por debajo de 120 mmHg, 21.4% entre 120 y 129 mmHg, 1.8% entre 130 y 139 mmHg, y 0 para el resto, con una media de 110 mmHg \pm 7.5 DS. (Gráfica. 2).

Gráfica 2
Distribución de la población estudiada según rangos de presión arterial sistólica en los casos y controles



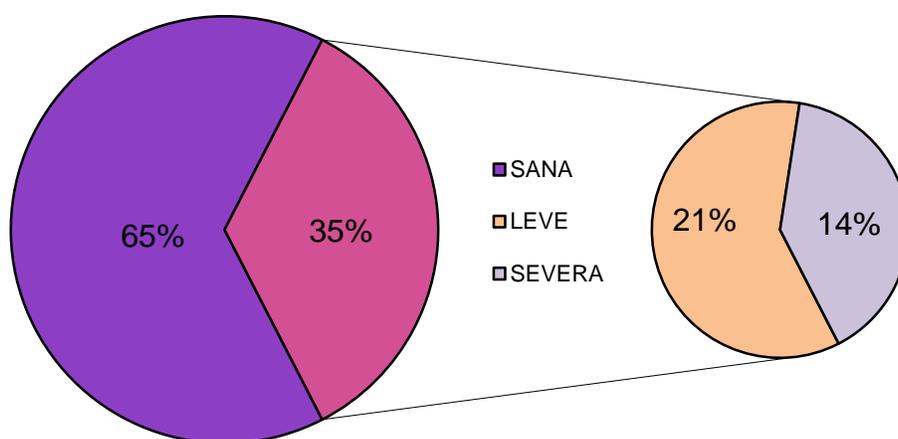
La presión arterial diastólica en la población total presentó una media de 79mmHg y una desviación estandar de 16. Representando el 51.3% en menos de 80mmHg, 15.10% entre 80 y 84mmHg, 1.20% entre 85 y 89mmHg, 23.3% entre 90 y 109mmHg y 8.10% en mayor de 110mmHg. La distribución en los casos fue de 0% para menor de 80mmHg, 10% entre 80 y 84 mmHg, 0% entre 85 y 89 mmHg, 66.7% entre 90 a 109 mmHg, y 23.3% mayor de 110 mmHg con una media de 97mmHg \pm 11.1 DS. Para los controles fue de 80.4% para menor de 80 mmHg, 17.9% entre 80 y 84 mmHg, 1.8% entre 85 y 89 mmHg y 0 para el resto, con una media de 67 mmHg \pm 7.1 DS (Gráfica. 3).

Gráfica 3
Distribución de la población estudiada según rangos de presión arterial diastólica en los casos y controles.



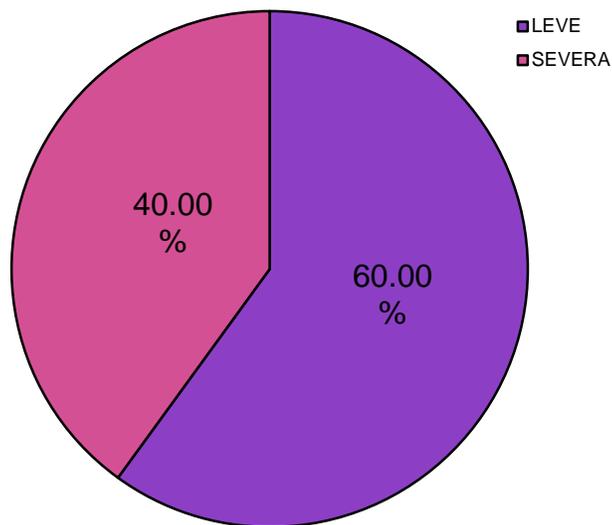
Se analizaron en total 86 cordones umbilicales que incluyen 56 pacientes sanas (controles) y 30 con preeclampsia en diferentes grados (casos). Los controles representaron 65%; las pacientes con preeclampsia leve representaron 21%; severa de 12.8%, síndrome de Hellp de 1.2% de la población total (Gráfica. 4).

Gráfica 4
Distribución de la población estudiada según clasificación de niveles de presión arterial.



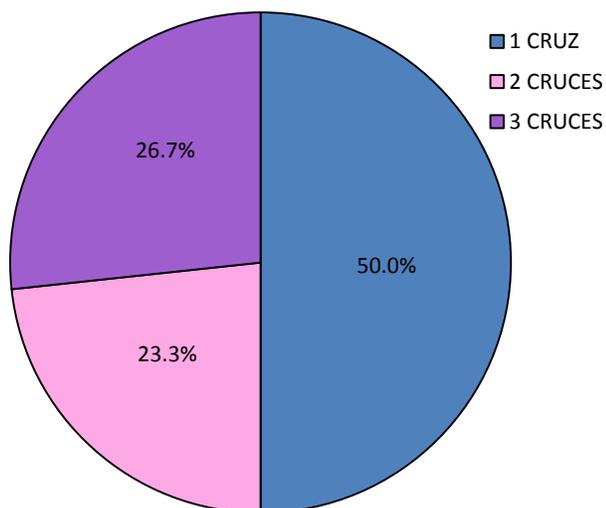
La distribución de casos según severidad es de 40% para preeclampsia severa y 60% para preeclampsia leve. (Gráfica. 5).

Gráfica 5
Distribución de casos según severidad de preeclampsia



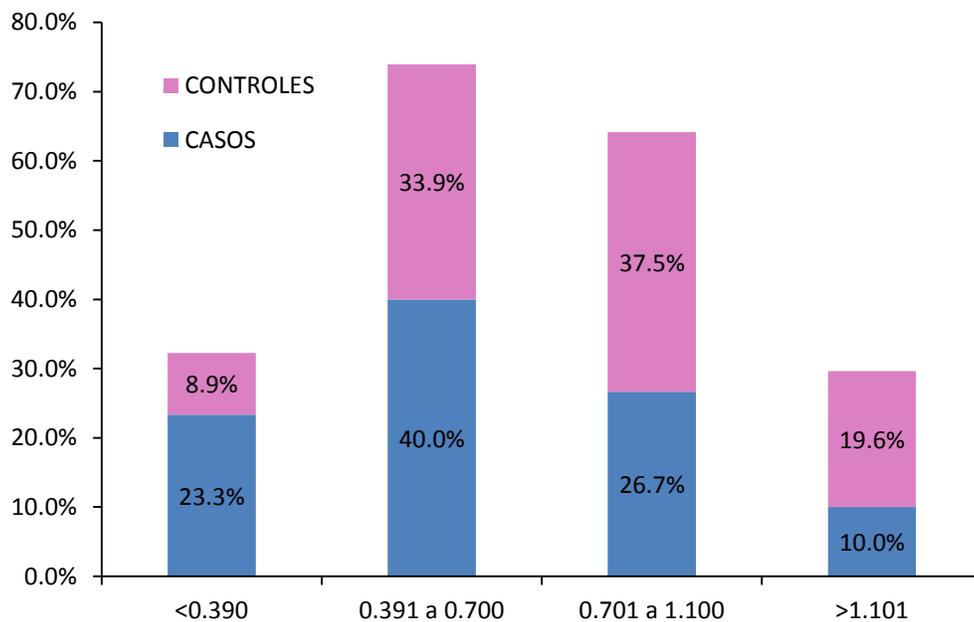
Se midieron proteínas en orina mediante tira reactiva, en las pacientes con preeclampsia para su diagnóstico, representando el 50% para una +, 23.3% para dos + y 26.7% para tres +. (Gráfica.6).

Gráfica 6
Distribución de los casos según presencia de proteínas en orina.



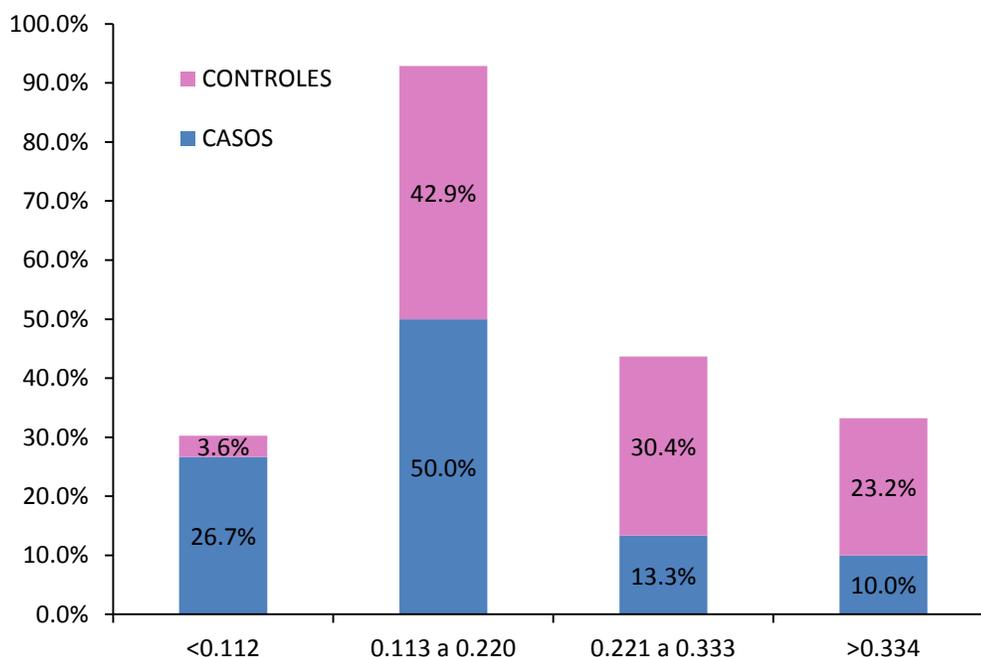
La distribución de SERPINA 1 Normalizada en la población total presentó una media de 0.744 y desviación estándar de 0.362. Representando el 14% para menos de 0.390, 36% entre 0.391 y 0.700, 33.7% entre 0.701 y 1.1, y 16.3% para mayores de 1.101. En los casos fue de 23.3% para menor de 390, 40% entre 0.391 a 0.700, 26.7% entre 0701 a 1.100 y 10% para mayor de 1.101, con una media de 0.624 ± 0.369 DS; para los controles 8.9% para menos de 390, 33.9% entre 0.391 a 0.700, 37.5% entre 0701 a 1.100 y 10% para mayor de 1.101, con una media de 0.809 ± 0.345 DS (Gráfica. 7).

Gráfica 7
Distribución de la población estudiada según rangos de SERPINA 1 normalizada para casos y controles.



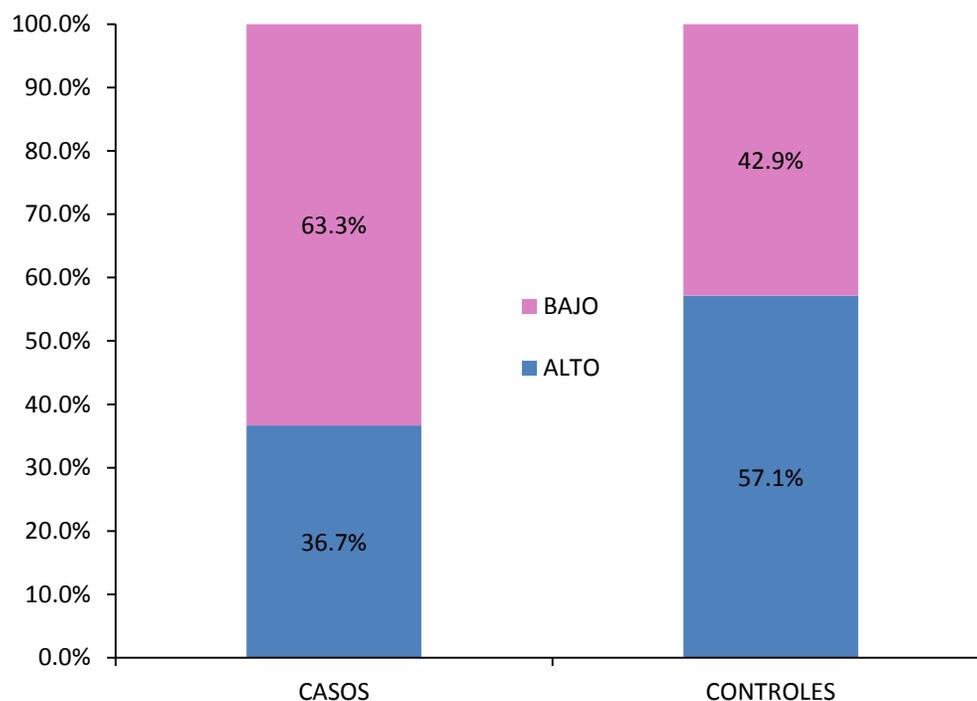
La distribución de SERPINA 2 Normalizada en la población total presentó una media de 0.223 y una desviación estándar de 0.110. Representando el 11.6% para menos de 0.112, 45.3% entre 0.113 y 0.220, 24.4% entre 0.221 y 0.333, y 18.6% para mayores de 0.334. Para los casos fue de 26.7% para menos de 0.112, 50% entre 0.113 a 0.220, 13.3% entre 0.221 a 0.333, 10% para mayor de 0.334, con una media de 0.181 ± 0.106 DS; para los controles de 3.6% para menos de 0.112, 42.9% entre 0.113 a 0.220, 30.4% entre 0.221 a 0.333, 23.2% para mayor de 0.334, con una media de 0.245 ± 0.107 DS. (Gráfica. 8).

Gráfica 8
Distribución de la población estudiada según rangos de SERPINA 2 normalizada para casos y controles



La distribución de la población estudiada de acuerdo a los niveles de SERPINA 1 normalizada, según los niveles alto y bajo del gen fue: en los controles de 57.1% para niveles altos y 42.9% para niveles bajos del gen; en los casos 36.7% para el nivel alto y 63.3% para niveles bajos. Con una χ^2 de 3.28 y una P de 0.070 (Gráfica 9).

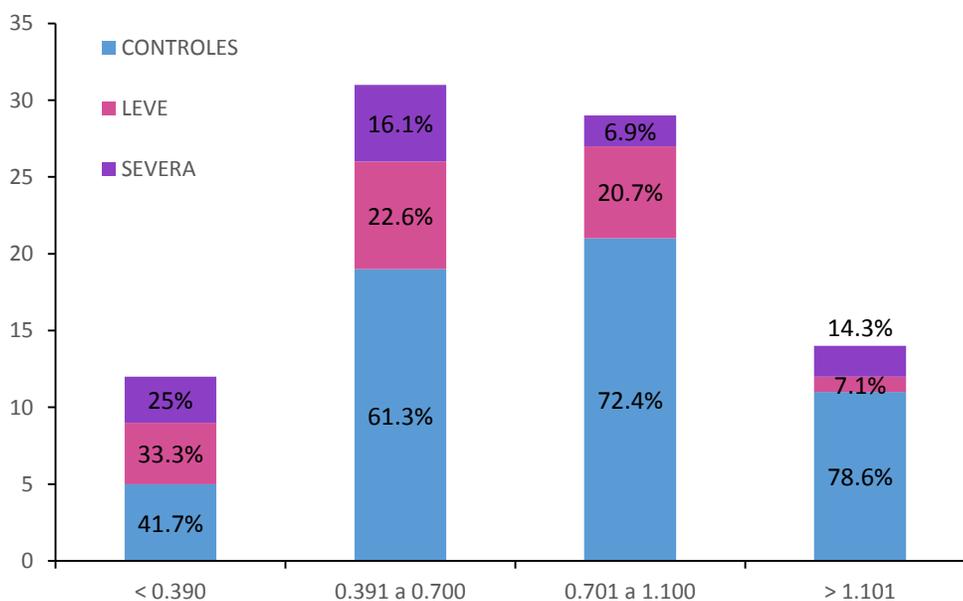
Grafica 9
Distribución de la población estudiada según niveles de SERPINA 1 normalizada para casos y controles



En relación a los valores para SERPINA 1 normalizada, en el rango menor de 0.390 se encontraron 41.7% de los controles; 33.3% de los casos de preeclampsia leve y 25% de las pacientes con preeclampsia severa, en el rango de 0.391 y 0.700; se ubicaron 61.3% de los controles, 22.6% en la leve y 16.1% en la severa, entre 0.701 y 1.100 se encontraron 72.4% de los controles, 20.7% en los casos con preeclampsia leve y 6.9% en la severa y en rango mayor a 1.101 se ubicaron 78.6% en los controles, 7.1% en los casos con preeclampsia leve y 14.3% en la severa. (Gráfica. 10).

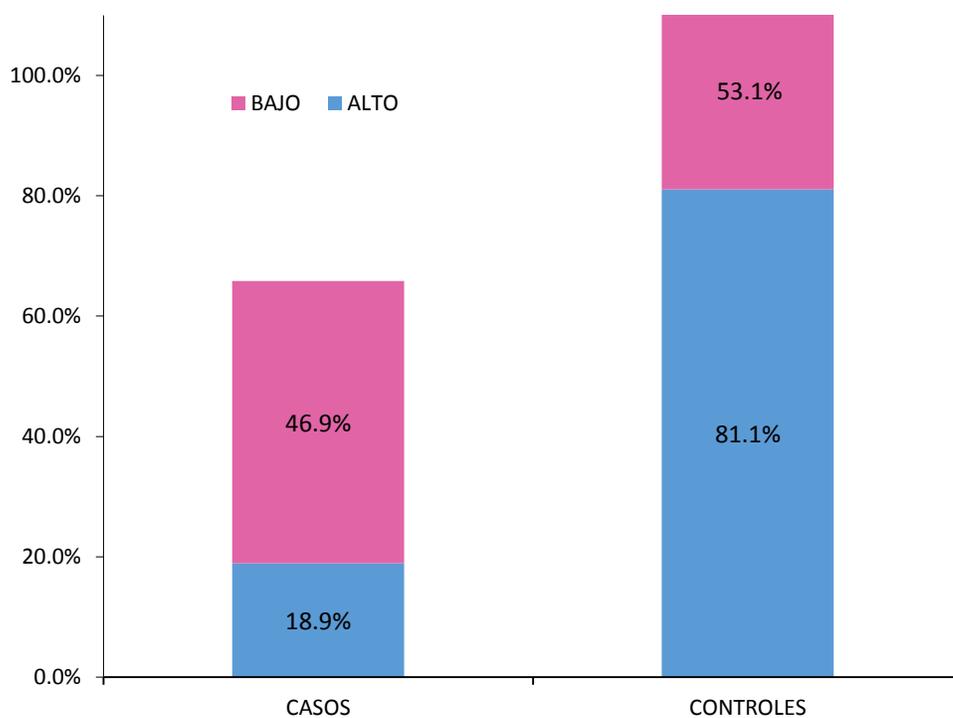
La prueba de Chi² para datos estratificados fue de 6.09, con un valor P de 0.413 para la distribución según rangos de SERPINA 1 normalizada y a severidad de la preeclampsia.

Grafica 10
Distribución de los casos y controles según severidad y estratos de SERPINA 1 normalizada



La distribución de la población estudiada de acuerdo a los niveles de SERPINA 2 normalizada en niveles alto y bajo del gen fue: en los controles de 81.1% para niveles altos y 53.1% para niveles bajos. En los casos el nivel bajo fue de 46.9% y en niveles altos de 18.9%. La χ^2 fue de 7.29 y una P de 0.007. (Gráfica 11).

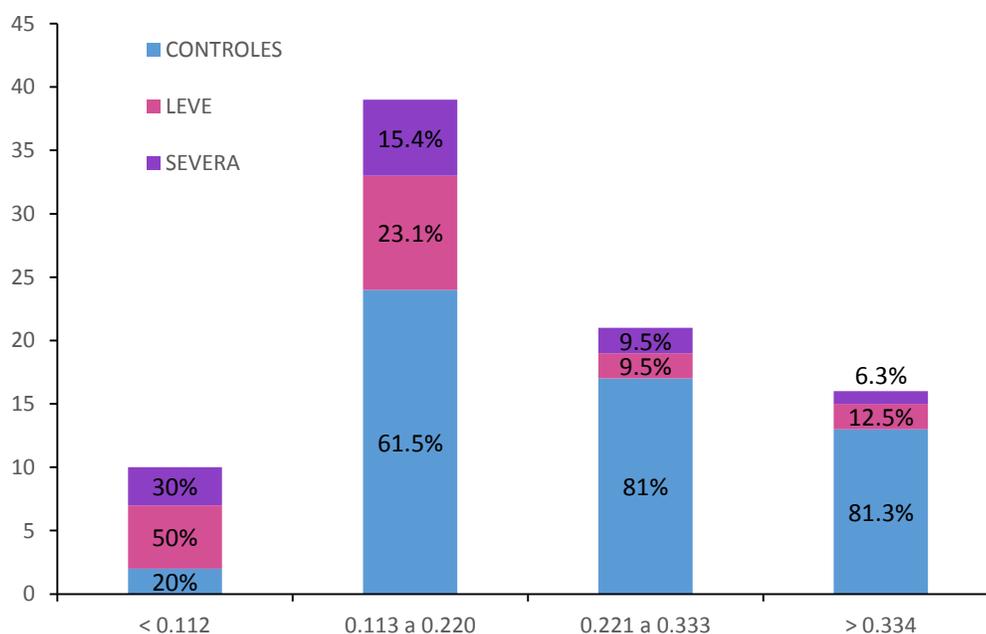
Grafica 11
Distribución de la población estudiada según niveles de SERPINA 2 normalizada para casos y controles



En relación a los valores para SERPINA 2 normalizada, en el rango menor de 0.112 se encontraron 20% de los controles; 50% de los casos de preeclampsia leve y 30% de las pacientes con preeclampsia severa; en el rango de 0.113 y 0.220; se ubicaron 61.5% de los controles, 23.1% en la leve y 15.4% en la severa, entre 0.221 y 0.333 se encontraron 81% de los controles, 9.5% en los casos con preeclampsia leve y 9.5% en la severa y en rango mayor a 0.334 se ubicaron 81.3% en los controles, 12.5% en los casos con preeclampsia leve y 6.3% en la severa. (Gráfica. 12).

La prueba de Chi² para datos estratificados fue de 13.5, con un valor P de 0.036 para la distribución según rangos de SERPINA 2 normalizada y la severidad de la preeclampsia.

Gráfica 12
Distribución de los casos y controles según severidad y estratos de SERPINA 2 normalizada



DISCUSIÓN

La regulación anormal en el sistema fibrinolítico puede desempeñar un papel importante en la mediación de la preeclampsia, participando en diversos procesos biológicos como la coagulación, fibrinólisis, angiogénesis, inflamación y apoptosis.

Según el Instituto Nacional de Estadística y Geografía 2013 (20) en México las embarazadas con preeclampsia predominan entre los 20 y 24 años con 188 casos de cada 100 mil mujeres de ese grupo de edad. En nuestro estudio la mayoría de las pacientes con preeclampsia se encontraron en el rango de edad entre 19 y 25 años en 43.3%, es decir; 43 de cada 100 mujeres en este grupo de edad.

La Guía de práctica clínica SS-020-OS (1) clasifica la preeclampsia de acuerdo a las cifras tensionales. En nuestro estudio se observó en las pacientes con preeclampsia una presión arterial sistólica predominante entre 140 a 159 mmHg en un 60% y una diastólica entre 90 y 109 mmHg en un 66.7%, encontrándose dentro de los rangos establecidos para su clasificación.

Así mismo se mencionan los niveles de proteinuria que corresponden a preeclampsia leve y severa con tira reactiva en orina. Nosotros encontramos que el 50% de las pacientes con preeclampsia presentó una cruz en tira reactiva, 23.3% para dos cruces y 26.7% tres cruces, correspondiendo a los niveles de proteinuria que corresponden según la clasificación de la preeclampsia mencionados en la literatura.

A comparación de lo mencionado por Chelbi et al y Wikström et. al. (8 y 17) acerca del estudio de SERPINA 1 y 2 en placenta y suero materno, nuestro estudio se realizó en cordones umbilicales para observar la expresión de dichos genes y realizar su comparación, ya que no hay precedente de estudios en tejido de cordón umbilical, considerándolo como una unidad feto placenta, el cual también está constituido por células endoteliales y por lo tanto podrían responder a estímulos que puedan alterar su homeostasis.

Buhimschi IA et al y Augusto Valderrama-Aguirre et al., encontraron niveles elevados de SERPINA1 en suero materno y placenta de estas pacientes, sin embargo nosotros observamos de acuerdo a los niveles alto y bajo de los genes normalizados y estratificados, un mayor porcentaje de niveles más elevados de la expresión de SERPINA 1 en los no casos, en comparación con un mayor porcentaje de los niveles bajos en las pacientes con preeclampsia.

Y para SERPINA 2 se observó mayor porcentaje de niveles altos de la expresión de este gen en los no casos en comparación a un mayor porcentaje de niveles bajos en los casos con preeclampsia; es decir, hay una baja expresión del gen en estas pacientes.

La distribución de SERPINA 1 normalizada en los casos según severidad y por estratos en este estudio presentó un mayor porcentaje de la expresión del gen en los no casos, en el rango entre 0.701 a 1.100, en la preeclampsia leve y severa en el rango de 0.391 a 0.700. Y para SERPINA 2 se observó un mayor porcentaje de la expresión del gen en los no casos, en preeclampsia leve y severa en el rango entre 0.113 a 0.220.

Nuestro estudio presenta una adecuada repuesta a la aplicación de las pruebas de significancia estadística en cuanto a la expresión de SERPINA 2 encontrando un valor de Chi^2 de 7.29 y una P

de 0.007, estadísticamente significativa. No siendo así para SERPINA 1 en la cual no se encuentra significancia estadística de acuerdo a las pruebas realizadas encontrando una Chi^2 de 3.28 y una P de 0.070.

Por lo tanto, se acepta la hipótesis, dado que sí se observa una disminución en la expresión de SERPINA 2 en el cordón umbilical al igual que en las placentas de pacientes con preeclampsia, sin embargo no se observa un incremento significativo en la expresión de SERPINA 1.

CONCLUSIONES.

Se han propuesto diferentes teorías en la génesis de la preeclampsia, las cuales coinciden con la característica de disfunción endotelial, con aumento de la reactividad vascular y activación de la cascada de la coagulación; moléculas de adhesión, migración leucocitaria, aumento de moléculas inflamatorias y los componentes de la respuesta inmune.

La preeclampsia modifica el perfil de expresión de genes, entre ellos varios inhibidores de la proteína-serina (SERPINAS). Observándose una mayor expresión en células endoteliales de cordón umbilical de SERPINA 1 en pacientes sanas y menor expresión de SERPINA 2 en pacientes con preeclampsia.

Los valores de los estadísticos de prueba (Chi^2), permiten concluir que efectivamente existe una alteración en la expresión de SERPINA 2, en cordón umbilical que correlaciona positivamente a la presencia de preeclampsia.

No existen al momento estudios en universos extensos que investiguen la expresión genética en células endoteliales de cordón umbilical en pacientes con preeclampsia, por lo que se necesitan más investigaciones para extender los conocimientos genéticos sobre esta patología.

El presente estudio queda como precedente y ser la base para poder identificar probables biomarcadores moleculares realizando pruebas de alta sensibilidad para determinación del gen SERPINA 1 y 2 en suero materno, que se asocien con un riesgo más elevado o significativamente menor de desarrollar en algún momento la enfermedad, y puedan utilizarse como nuevas herramientas de tamizaje y/o predicción de la aparición de la preeclampsia, ya que hasta la fecha, no existen herramientas predictivas o preventivas lo suficientemente sensibles para disminuir el impacto en morbilidad de esta enfermedad. Esperando poder desarrollar nuevas herramientas para detectarla de manera oportuna, evitando así las complicaciones materno-fetales y disminuir la mortalidad materna en un futuro.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Guía de práctica clínica SS-020-OS Atención integral de la preeclampsia en el segundo y tercer niveles de atención: Secretaría de Salud (2008). 7-44.
2. Juan Pablo Núñez Urquiza, et all. Enfermedad hipertensiva del embarazo. Medicina crítica y terapia intensiva. Vol. XXIV, Núm. 4 / Oct.-Dic. 2010.
3. Morgan-Ortiz F et all. Factores de riesgo asociados con preeclampsia: estudio de casos y controles. Ginecol Obstet Mex 2010;78(3):153-159.
4. Baha M. Sibai, et all. Evaluation and management of severe preeclampsia before 34 weeks' gestation. American Journal of Obstetrics and Gynecology - Volume 205, Issue 3 (September 2011).
5. Baha M. Sibai, et all. Diagnosis and management of atypical preeclampsia-eclampsia American Journal of Obstetrics and Gynecology - Volume 200, Issue 5 (May 2009).
6. Michelle Silasi et all. Abnormal placentation, angiogenic factors, and the pathogenesis of preeclampsia. Obstet Gynecol Clin N Am 37 (2010) 239–253.
7. C.W.G. Redman. Preeclampsia: A multi-stress disorder La Revue de médecine interne 32S (2011) S41–S44.
8. Manal Kamal et all. Do Serum Angiopoietin-1, Angiopoietin-2, and Their Receptor Tie-2 and 4G/5G Variant of PAI-1 Gene Have a Role in the Pathogenesis of Preeclampsia? Journal of Investigative Medicine & Volume 59, Number 7, October 2011.
9. Augusto Valderrama-Aguirre et all. ¿Cuáles son los avances de la genómica Y la proteómica en el tamizaje y/o Predicción de la preeclampsia? Rev Colomb Obstet Ginecol 2011;62:64-70.

10. Briones Vega CG et al. Una nueva teoría para un viejo problema. Rev Asoc Mex Med Crit y Ter Int 2008;22(2):99-104.
11. A.C. Staff et al. Preeclampsia, acute atherosclerosis of the spiral arteries and future cardiovascular disease: Two new hypotheses. Placenta 34, Supplement A, Trophoblast Research, Vol. 27 (2013) S73-S78.
12. A.M. Rubio Lorente et al. Morbimortalidad materna y fetal en pacientes con preeclampsia grave. Prog Obstet Ginecol. 2011;54(1):4—8.
13. E. Curiel-Balsera et al. Análisis de la morbimortalidad materna de las pacientes con preeclampsia grave, eclampsia y síndrome HELLP que ingresan en una Unidad de Cuidados Intensivos gineco-obstétrica. Med Intensiva. 2011;35(8):478---483.
14. Ramcés falfán-valencia et al. Bases genéticas y moleculares de alfa-1 antitripsina (serpina1) y su papel en la epoc. Rev Inst Nal Enf Resp Mex volumen 22 - número 2 abril-junio 2009 páginas: 124-136.
15. Chelbi et al. Expressional and Epigenetic Alterations of Placental Serine Protease Inhibitors *SERPINA3* Is a Potential Marker of Preeclampsia *Hypertension*. 2007;49:76-83.
16. Buhimschi IA et al. Proteomic profiling of urine identifies specific fragments of SERPINA1 and albumin as biomarkers of preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 2008;199:551.e1-551.e16.
17. Wikström A-K, et al. Evidence of increased oxidative stress and a change in the plasminogen activator inhibitor (PAI)-1 to PAI-2 ratio in early-onset but not late-onset preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 2009;201:597.e1-8.
18. Marques PI et al. (2013) SERPINA2 Is a Novel Gene with a Divergent Function from SERPINA1. PLoS ONE 8(6): e66889. doi:10.1371/journal.pone.0066889.

19. Jiska Jebbink, et all. Molecular genetics of preeclampsia and HELLP syndrome — A review. *Biochimica et Biophysica Acta* 1822 (2012) 1960–1969.
20. Instituto Nacional de Estadística y Geografía de Aguascalientes. Estadísticas a propósito del día mundial de la salud. 2013. 1-16.

ANEXO 1

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

México D.F. a de del año

A quien corresponda:

Yo _____ declaro libre y voluntariamente que acepto participar en el estudio de **“Expresión de los genes SERPINA 1 y SERPINA 2 en las células endoteliales de cordón umbilical de pacientes con preeclampsia en comparación con pacientes sanas”**, que se realiza en esta institución y cuyos objetivos consisten en: Comparar la expresión del RNA mensajero (mRNA) de *Serpine-1*, *Serpine-2*, en cultivos primarios de células endoteliales de la vena del cordón umbilical obtenidas de pacientes sanas vs con pacientes con preeclampsia del Hospital General de Ticomán.

Estoy consciente de que los procedimientos y pruebas para lograr los objetivos mencionados consisten en que:

- 1) Se obtendrá una porción del cordón umbilical inmediatamente posterior al alumbramiento de mi placenta.
- 2) Comparar la expresión del RNA mensajero (mRNA) de *Serpine-1*, *Serpine-2*, en cultivos primarios de células endoteliales de la vena del cordón umbilical.

También sé que no existen riesgos y efectos para mi persona ni para mi bebé.

Entiendo que del presente estudio se derivarán los siguientes beneficios.

1. Obtener las bases genéticas de la preeclampsia, que pudieran estar implicados en la patogénesis, y en un futuro ser la base para poder identificar probables biomarcadores moleculares que se asocien con un riesgo más elevado o significativamente menor de desarrollar en algún momento la enfermedad, que puedan utilizarse como nuevas herramientas de tamizaje y/o predicción de la aparición de la preeclampsia.

Es de mi conocimiento que seré libre de desistir en la utilización del cordón umbilical de mi hijo y que la atención que como paciente recibo en esta institución no se verá afectada

Entiendo que mi información personal será manejada con las reservas que establece la normatividad vigente en materia de protección de datos personales.

Nombre.	Firma:
(En caso necesario, datos del padre, tutor o representante legal)	

Nombre y firma del testigo.	Firma:
-----------------------------	--------

Nombre y firma del testigo.	Firma.
-----------------------------	--------

Nombre y firma del Investigador responsable.	Firma.
--	--------

c. c. p. Paciente o familiar

c. c. p. Investigador (conservar en el expediente de la investigación).