



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO E INVESTIGACIÓN
HOSPITAL GENERAL “DR. MANUEL GEA GONZÁLEZ”

“EVALUACIÓN DEL VALOR DIAGNÓSTICO DE LA MEDICIÓN DE LOS PRODUCTOS FINALES DE GLICACIÓN AVANZADA PARA LA DETECCIÓN OPORTUNA DE EMBARAZADAS EN RIESGO DE DESARROLLAR PREECLAMPSIA”

TÉSIS:

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

PRESENTA:

DRA. MARÍA FERNANDA HERNÁNDEZ CASTILLO

TUTORES:

DR. JORGE IVAN CEBALLOS MENDOZA*

DR. EULISES DÍAZ DÍAZ**

***MÉDICO ADSCRITO A LA DIVISIÓN DE GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA DEL HOSPITAL GENERAL “DR. MANUEL GEA GONZÁLEZ”.**

****INVESTIGADOR EN CIENCIAS MÉDICAS “D” DEL DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN, DEL INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN “SALVADOR ZUBIRÁN”.**

HOSPITAL GENERAL “DR. MANUEL GEA GONZÁLEZ”



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

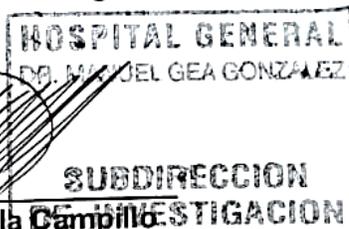
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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.

AUTORIZACIONES



Dr. Héctor Manuel Prado Calleros
Director de Enseñanza e Investigación



Dr. José Pablo Maravilla Campillo
Subdirector de Investigación Biomédica

Dr. Jorge Román Audifred Salomón
Jefe de la División y Profesor titular del Curso de
Ginecología y Obstetricia

Doctor Jorge Iván Ceballos Mendoza
Asesor metodológico y Médico Adscrito de la División de
Ginecología y Obstetricia

Este trabajo de tesis con número de registro: 11-04-2019, presentado por la Doctora María Fernanda Hernández Castillo, se presenta en forma con visto bueno por el tutor interno de la tesis Doctor Jorge Iván Ceballos Mendoza con fecha febrero de 2022 para su impresión final.



Dr. José Pablo Maravilla Campillo
Subdirector de Investigación Biomédica



Dr. Jorge Iván Ceballos Mendoza
Tutor Interno

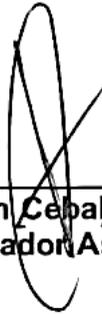
**“EVALUACIÓN DEL VALOR DIAGNÓSTICO DE LA MEDICIÓN DE LOS PRODUCTOS
FINALES DE GLICACIÓN AVANZADA PARA LA DETECCIÓN OPORTUNA DE
EMBARAZADAS EN RIESGO DE DESARROLLAR PREECLAMPSIA”**

Este trabajo fue realizado en la División de Ginecología y Obstetricia del Hospital General “Dr. Manuel Gea González”, bajo la dirección de los Doctores: Jorge Iván Ceballos Mendoza (Tutor interno) y Eulises Díaz Díaz (Tutor principal externo) del Departamento de Biología de la Reproducción del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”. El presente protocolo fue financiado fundamentalmente con presupuesto para la investigación del Departamento de Biología de la Reproducción del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”; y contó con todos los vistos buenos de los comités de ética en investigación y de investigación biomédica de ambas instituciones.

COLABORADORES



Dr. Eulises Díaz Díaz
Investigador Principal



Dr. Jorge Iván Ceballos Mendoza
Investigador Asociado



Doctora María Fernanda Hernández Castillo
Investigador Asociado

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue posible gracias a la valiosa colaboración de investigadores del Departamento de Biología de la Reproducción del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”, así como de los médicos residentes, internos y adscritos del Hospital General Dr. Manuel Gea González. A mis tutores y Dr. Jorge Iván Ceballos Mendoza y al Dr. Eulises Díaz por hacerme parte de este gran proyecto.

A mis compañeros de residencia, muchas gracias por sus enseñanzas y su paciencia, en especial a quienes no solo considero compañeros sino muy grandes amigos, Daniel Alemán, Danielle Jauregui, Kevin David Jiménez, Gladys Almaraz, Diego Elain, Natalia Sánchez, porque por ustedes me convertí en la ginecóloga que soy.

A los más pequeños, Diana, Ximena, Chantal, Noe, Raúl, Esmeralda, Alfonso por su apoyo al reclutar pacientes y por la amistad que forjamos.

A mis padres Sandra y Sergio por apoyarme y acompañarme en cada paso, porque por ustedes tuve la oportunidad de cumplir mi sueño.

A mi hermana Mariana, mi cómplice, gracias porque tú me animas a hacer cosas que no imagine que lograría.

A mi gran amiga Karla Centelles porque nos hemos apoyado paso a paso en esta vida de residencia.

A Juan Pablo Portales infinitas gracias, me siento muy afortunada de estar cumpliendo esta meta contigo, culminando juntos lo que hace 4 años empezamos.

ÍNDICE

1. <u>RESUMEN.....</u>	<u>8</u>
2. <u>INTRODUCCIÓN.....</u>	<u>10</u>
3. <u>MATERIAL Y</u> <u>MÉTODOS.....</u>	<u>22</u>
4. <u>RESULTADOS.....</u>	<u>24</u>
5. <u>DISCUSIÓN.....</u>	<u>25</u>
6. <u>CONCLUSIONES.....</u>	<u>29</u>
7. <u>REFERENCIAS</u> <u>BIBLIOGRÁFICAS.....</u>	<u>30</u>
8. <u>TABLAS.....</u>	<u>33</u>

1. RESUMEN

INTRODUCCIÓN: La preeclampsia (PE), es un trastorno hipertensivo del embarazo que afecta del 3 al 10% de todas las embarazos. Esta enfermedad representa una de las principales causas de morbilidad y mortalidad materno-fetal. A pesar de que su etiología aún no se comprende completamente, se sabe que existen múltiples factores implicados en su patogenia, entre ellos los productos finales de glicación avanzada (AGEs). Estudios recientes han descrito una mayor concentración sérica de AGEs, asociada a alteraciones del control glucémico, el estrés oxidativo y los procesos pro-inflamatorios típicos de esta enfermedad. El presente trabajo pretende evaluar el valor diagnóstico de la medición de estos productos para identificar pacientes embarazadas en riesgo de desarrollar preeclampsia durante el tercer trimestre del embarazo.

OBJETIVO GENERAL: Evaluar las concentraciones séricas de AGEs durante el tercer trimestre del embarazo, y verificar su posible utilización como marcador bioquímico para el diagnóstico de embarazadas con preeclampsia.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se presentan los resultados de un estudio transversal realizado en el tercer trimestre del embarazo, para evaluar las concentraciones séricas de AGEs, y su asociación con el desarrollo de preeclampsia. Para ello se reclutaron 27 mujeres embarazadas con preeclampsia y 27 mujeres normotensas controles, todas ellas de entre 20 a 40 años de edad. Se evaluaron parámetros clínicos como la edad, talla, peso, presión arterial, frecuencia cardiaca; y marcadores bioquímicos como el examen general de orina, la biometría hemática, las concentraciones séricas de creatinina, colesterol, triglicéridos y glucosa; algunos marcadores metabólicos de control glucémico, como las concentraciones séricas de insulina, el índice HOMA, las concentraciones séricas de hemoglobina glicosilada; así como las concentraciones circulantes de los productos finales de glicación avanzada derivados de glucosa (AGEs). Parámetros que fueron comparados entre grupos; así mismo se evaluó la sensibilidad y especificidad de la medición de AGEs para realizar el diagnóstico de preeclampsia.

RESULTADOS: A cada mujer preecláptica estudiada se le asignó una mujer normotensa control, el grupo de embarazadas normotensas controles fue cuidadosamente escogido para garantizar que tuvieran edades gestacionales y características antropométricas similares a las del grupo de embarazadas preeclápticas, por lo cual no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la mayoría de las características clínicas estudiadas, excepto en la presión arterial que fue mayor en el grupo de embarazadas preeclápticas, como era de esperarse por la definición de la enfermedad.

Tampoco hubo grandes diferencias en los resultados de la biometría hemática entre los grupos, excepto en la concentración media de hemoglobina y en los leucocitos totales que fueron ligeramente mayores en las mujeres con PE. El examen general de orina mostró que las mujeres con PE tuvieron una mayor incidencia de proteinuria, y de presencia de urobilinógeno, bilirrubina y eritrocitos en la orina. Los análisis de bioquímica clínica sólo mostraron incrementos estadísticamente significativos en las concentraciones séricas de creatinina y de AGEs en el grupo de mujeres con PE. Así mismo, se observó que a través de la medición de las concentraciones séricas de AGEs, se pudo clasificar correctamente al 85.2% de las mujeres con PE, utilizando como valor de corte el límite superior del intervalo de confianza al 95% de la media para las concentraciones séricas de AGEs del grupo de embarazadas normotensas controles ($\geq 122 \mu\text{U/mL}$).

CONCLUSIONES: El presente estudio demuestra que al utilizar el Radioinmunoensayo (RIA) desarrollado por el Departamento de Biología de la Reproducción del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”, para la cuantificación de los productos finales de glicación avanzada derivados de glucosa (AGEs), se pueden identificar aquellas embarazadas que tienen alteraciones en el control glucémico típicas de la diabetes gestacional y de la preeclampsia y que por tanto tienen concentraciones séricas de AGEs elevadas. Estas alteraciones en las concentraciones circulantes de los AGEs, permitió identificar correctamente al 85.2% de las mujeres embarazadas con PE, por lo que su utilización pudiera ser de utilidad en la práctica médica para el monitoreo de las mujeres embarazadas en riesgo de desarrollar esta enfermedad hipertensiva del embarazo.

Palabras clave: Preeclampsia; AGEs; Embarazo; Tamizaje.

2. INTRODUCCIÓN

La preeclampsia, un trastorno hipertensivo que afecta del 3 al 10% de todos los embarazos, ocurre solo durante el embarazo y es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad materno-fetal. Sin embargo, la etiología de la preeclampsia aún no se comprende completamente y existen múltiples factores implicados en su patogenia. Estudios recientes han encontrado una mayor concentración circulante de productos finales de glicación avanzada (AGEs) en mujeres con preeclampsia. Los AGEs se forma cuando los grupos aldehídos de un azúcar reductor, como la glucosa, reacciona de forma no enzimática con los grupos aminos libres de las proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. La exposición de los residuos de aminoácidos de las proteínas a azúcares reductores, como la glucosa, da como resultado una glicación no enzimática, que inicialmente forma bases de Schiff que son estructuras reversibles, y que posteriormente dan lugar compuestos de Amadori. Una serie de reordenamientos moleculares complejos adicionales que incluyen deshidratación, condensación y reticulación, producen derivados irreversibles y heterogéneos denominados AGEs. Los AGEs son un grupo de compuestos químicamente heterogéneos. Aparte de los AGEs formados endógenamente, los AGEs exógenos de los alimentos se absorben en el tracto gastrointestinal y, según se informa, constituyen 10% del total de AGEs en el cuerpo. Los AGEs son los productos irreversibles de la glicación no enzimática y de la oxidación de proteínas y lípidos. Los AGEs pueden conducir directamente a daño celular y tisular, y también puede tener efectos biológicos al unirse al receptor AGEs (RAGE).¹

Las interacciones de los AGEs con el RAGE pueden conducir a la generación de estrés oxidativo, producción de citocinas inflamatorias, promoción de apoptosis e inducción de disfunción endotelial, causando daño a células y tejidos. El RAGE es una molécula receptora multiligando de la superficie celular que fue encontrada en 1992 por Schmidt. El RAGE contiene un dominio de tipo V y dos dominios de tipo C similar a inmunoglobina, una región transmembrana hidrófoba corta y una cola citoplásmica de 43 aminoácidos altamente cargada. De estos dominios, se ha demostrado que el amino-terminal (dominio de tipo V) es importante para la unión de ligandos, mientras que la región citosólica es crítica para aumentar los efectos celulares, una vez que los ligandos se unen al receptor. Se ha demostrado que el embarazo induce una elevación significativa de la proteína RAGE en la vasculatura del miometrio y del epiplón, lo que genera la agregación de afecciones patológicas al cambiar la función de las células vasculares. La preeclampsia se caracteriza por disfunción circulatoria sistémica y uteroplacentaria que, en el tercer trimestre, se manifiesta como hipertensión materna.

La activación del RAGE está relacionada con la alteración de la función de las células vasculares mediante la promoción del TNF alfa o el control vasodilatador por prostaciclina, y estos cambios se observan comúnmente en la preeclampsia. Además, recientemente se demostraron diferencias significativas de los niveles de RAGE soluble circulante total en el embarazo normal y en los estados patológicos del embarazo. Los niveles circulantes de esRAGE receptor secretor endógeno y la relación esRAGE / sRAGE fueron significativamente más altos en pacientes con preeclampsia que en embarazadas sanas, aunque no hubo una diferencia significativa en el RAGE soluble total en suero. ²

Los AGE se acumulan lentamente durante el envejecimiento natural, pero aumentan drásticamente en algunos trastornos, especialmente en aquellos asociados al estrés oxidativo como la diabetes, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, enfermedad de Alzheimer y en pacientes fumadores de cigarrillos. Con la investigación continua sobre la preeclampsia, se han propuesto varias hipótesis nuevas para describir su patogénesis, y ahora se sabe que el estrés oxidativo puede participar en el desarrollo de la preeclampsia. Se ha propuesto que los factores angiogénicos, incluido el factor de crecimiento del endotelial vascular (VEGF), desempeñan un papel clave en el mantenimiento de la función de las células endoteliales. La tirosina quinasa-1 similar a FMS soluble (sFit-1) y la endoglina soluble (sEng) son proteínas anti-angiogénicas endógenas que neutralizan las proteínas pro-angiogénicas como el VEGF y el factor de crecimiento placentario (PIGF). La disfunción endotelial materna, posiblemente relacionada con estos factores circulantes, es una característica clave de esta patología.

Los factores adicionales que pueden contribuir a la patogénesis de la preeclampsia, incluyen autoanticuerpos del receptor de angiotensina-II, ligandos infecciosos, productos finales de glicación avanzada (AGE), receptores tipo Toll (TLR) y receptores para AGEs (RAGE). En la actualidad se reconoce cada vez más que la placentación anormal y la inflamación sistémica representan las características distintivas de la preeclampsia. Además, el estrés celular, el daño y la inflamación provocan la liberación de moléculas de patrón molecular asociado al daño endógeno (DAMP) o señales de peligro endógenas. La compleja interacción bidireccional entre la angiogénesis y la inmunidad / inflamación puede establecer un "círculo vicioso" que podría contribuir a la patogénesis de la preeclampsia. La glicación no enzimática y la oxidación de proteínas y lípidos conducen a la formación de una amplia gama de especies, denominadas "productos finales de glicación avanzada" (AGEs). La inflamación y el estrés oxidativo crónico favorecen la modificación de las proteínas y los lípidos, lo que conduce a la producción de AGEs.

Los AGEs son proteínas, lípidos y polinucleótidos, modificados químicamente; entre estas modificaciones químicas se incluyen la formación de N-carboximetil-lisina, pentosidina, derivados del glicoxal y del metilglicoxal entre otros. Se sabe que los AGEs causan daño oxidativo en varias células a través de la señalización mediada por el RAGE. No solo el RAGE sino también LOX-1 [receptor 1 de lipoproteínas de baja densidad oxidadas (tipo lectina)], galectina-3, SR-A (receptor 1 eliminador de macrófagos), CD36 (trombospondina receptor), SR-BI (receptor eliminador de clase B, miembro 1), FEEL-1 (estabilina 1) y FEEL-2 (estabilina 2) son conocidos por actuar como receptores AGEs. Además de los AGEs, RAGE se une a ciertos miembros de la familia S100 / calgranulina (como S100A12 y S100B), a HMGB1, transtiretina (TTR), Mac-1 y anfoterina.

El RAGE se expresa en múltiples tipos de células, como células endoteliales, células de músculo liso, monocitos / macrófagos, linfocitos T, células dendríticas, células epiteliales glomerulares, podocitos, cardiomiocitos, neuronas de los sistemas nerviosos tanto central como periférico, y en la placenta. El RAGE activa la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato de forma reducida (NADPH) oxidasa, una fuente importante de estrés oxidativo, y genera especies reactivas de oxígeno. Por tanto, es probable que el sistema AGEs-RAGE, que está regulado al alza en la preeclampsia, esté implicado en el estrés oxidativo inducido por especies reactivas de oxígeno y podría contribuir a la disfunción vascular en la preeclampsia. El estrés celular puede resultar en la liberación de los ligandos S100, HMGB1 y transtiretina (TTR) proinflamatorios de RAGE. En conjunto, el mecanismo dependiente de la hipoxia-estrés oxidativo-inflamación persistente durante el embarazo puede ser el estímulo desencadenante a través del cual el RAGE puede participar en la patología de la preeclampsia.³

Tsukahara y col., Chekir y col., y Villa y col., mostraron que los niveles de productos finales de glicación avanzada (AGEs) y ácidos grasos libres (FFA) aumentan en mujeres con preeclampsia, mostraron también que las pacientes con preeclampsia presentaban una expresión más alta de RAGE en placenta y cordón umbilical en comparación con su expresión durante el embarazo normal; y los marcadores del daño por estrés oxidativo en la placenta aumentaron significativamente. Esto sugiere que alta expresión de AGEs y su receptor RAGE puede tener un papel importante en la fisiopatología de la preeclampsia, al igual que el estrés oxidativo. Para mantener las necesidades de crecimiento y desarrollo fetal durante el embarazo normal, las mujeres embarazadas experimentan una serie de cambios adaptativos, uno de los cuales es la disfunción del metabolismo de los lípidos.

El embarazo normal se caracteriza por hiperlipidemia fisiológica. Curiosamente, el cambio se exagera en la preeclampsia. Los ácidos grasos libres son un reflejo más sensible y más temprano de la disfunción del metabolismo de los lípidos. Los ácidos grasos libres séricos, un producto intermedio del metabolismo de las grasas, se generan principalmente por la descomposición de las grasas neutras, que se derivan de los tejidos subcutáneos y viscerales.

El metabolismo de los lípidos cambia durante el embarazo. Las lipoproteínas en sangre aumentan gradualmente con la edad gestacional, especialmente la hipertrigliceridemia. Cameron y col., encontraron que las lipoproteínas de baja densidad (LDL) en el suero podían glicosilarse fácilmente, formando finalmente AGE-LDL. Sin embargo, la formación de AGE-LDL significó que el receptor no podía reconocer correctamente el colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad, lo que hacía más lenta la degradación del colesterol LDL y provocaba un aumento de los lípidos en sangre. Hu y col., reportaron resultados similares: encontraron que las concentraciones de AGEs séricos se correlacionaban positivamente con el colesterol total sérico, triglicéridos, LDL-C y apolipoproteína B. Ray y col., observó que había una asociación positiva entre triglicéridos elevados maternos y el riesgo de preeclampsia. El estudio encontró que la concentración sérica de ácidos grasos libres en suero fue significativamente mayor en la preeclampsia que en el embarazo normal, y concluyó que había una asociación entre la concentración de ácidos grasos libres en suero y el riesgo de preeclampsia.⁴

Se sabe que los productos finales de glicación avanzada (AGEs) causan daño oxidativo en varias células al unirse con su receptor, RAGE. Chekir y col., midieron el nivel sérico de AGEs y su receptor RAGE y otros biomarcadores de estrés oxidativo en suero y en las placentas de mujeres preeclámplicas. Encontraron que el nivel medio de AGEs en suero en mujeres preeclámplicas fue significativamente más alto que en mujeres sanas no embarazadas o mujeres embarazadas sanas. Los análisis bioquímicos de Western blot revelaron que el nivel de AGEs y RAGE en la placenta preeclámptica era significativamente más alto que en la placenta normal. Los análisis inmunohistoquímicos mostraron que los niveles de nitrotirosina y nitroguanósina, que están formados por especies reactivas de nitrógeno, eran más altos en la placenta preeclámptica que en la placenta normal. La acumulación de 4-hidroxi-2-nonenal y 8-hidroxi-2'-desoxiguanósina indicó un aumento de las modificaciones oxidativas de los lípidos y el ADN en la placenta preeclámptica. Es probable que el sistema AGE-RAGE, que se regula al alza en la preeclampsia, esté involucrado en el estrés oxidativo de la preeclampsia.

La unión de AGEs al RAGE conduce a estrés oxidativo, que podría ser de importancia en los sitios de inflamación. Los AGEs provocan la generación de óxido nítrico (NO) y anión superóxido en varias células, incluidas las células endoteliales, macrófagos y células mesangiales a través de la unión a RAGE “*in vitro*”. La interacción del óxido nítrico y el anión superóxido, genera peroxinitrito, que probablemente contribuya a la citotoxicidad mediada por AGEs. La formación y acción de peroxinitrito, particularmente en el endotelio, puede resultar en daño vascular que contribuye al aumento de la resistencia vascular. La acumulación de AGEs, que se forman por estrés oxidativo, puede promover más daño oxidativo y daño por especies reactivas de nitrógeno en la placenta preecláptica.^{4,5}

La inflamación anormal se ha asociado con diversas patologías del embarazo como preeclampsia. Los receptores para productos finales de glicación avanzada (RAGE) son receptores de reconocimiento de patrones de superficie celular detectados en muchos tipos celulares, incluidos el endotelio, el músculo liso, los macrófagos y varios tipos de células epiteliales específicas y en la placenta humana. El RAGE se caracterizó inicialmente por su capacidad de unirse a macromoléculas no glicosiladas enzimáticamente, los AGEs. La activación del RAGE está implicada en la inflamación y migración celular, la expresión de RAGE es relativamente baja en la mayoría de los entornos fisiológicos. Curiosamente, las respuestas inflamatorias regulan positivamente el RAGE y mejoran su activación culminando en un aumento actividad de varias quinasas MAPK y movilización de NF- κ B para el núcleo. El NF- κ B es entonces capaz de coordinar expresión y secreción aumentadas de una variedad de moléculas relacionadas con la respuesta inflamatoria como factor de necrosis tumoral alfa, interferón e interleucina 6. En condiciones asociadas con abundantes ligandos de RAGE, los bucles de retroalimentación positiva también pueden exacerbar la inflamación persistente. La placenta a menudo funciona insuficientemente en términos de satisfacer las necesidades del feto en desarrollo durante las complicaciones del embarazo. Durante la implantación, el citotrofoblasto placentario se diferencia e invade el endometrio y el miometrio y remodelan las arterias espirales uterinas para convertirlas en vasos de alta capacidad y baja resistencia. La remodelación de estas arterias permite un mayor intercambio de oxígeno y nutrientes. En patologías del embarazo, como la preeclampsia, la remodelación del trofoblasto es insuficiente y la placenta es incapaz de nutrir suficientemente al feto en maduración. Los procesos que conducen a la disminución de la función placentaria son multifactoriales y pueden variar entre diferentes patologías, así como entre pacientes.

La detección elevada de RAGE en la placenta con preeclampsia también corrobora un descubrimiento reciente de que el RAGE soluble aumenta en el suero de pacientes con preeclampsia, el RAGE soluble circulante puede proporcionar evidencia de mecanismos de afrontamiento mediados por RAGE en el perfil inflamatorio de la preeclampsia.⁶

Existe evidencia considerable de que la obesidad materna, el aumento de la resistencia a la insulina, la inflamación y el metabolismo aberrante de los ácidos grasos están involucrados en la patogénesis de la preeclampsia. Las reacciones inflamatorias han atraído recientemente la atención como las características fisiopatológicas de la preeclampsia, incluida la disfunción del endotelio vascular y las anomalías placentarias. El vínculo entre la adiposidad, la inflamación y la resistencia a la insulina se ha reconocido cada vez más desde que Spiegelman y col., demostraron la relación. El tejido adiposo secreta citocinas proinflamatorias que contribuyen significativamente al estado inflamatorio crónico y las complicaciones metabólicas de la obesidad. El tejido adiposo, tejido complejo compuesto por preadipocitos, adipocitos y células vasculares del estroma, es uno de los órganos representativos que contribuye al empeoramiento de la resistencia a la insulina a través de la inflamación y disfunción posterior. La adiposidad visceral se correlaciona con el factor de riesgo metabólico y los resultados metabólicos adversos en el embarazo, incluida la diabetes mellitus gestacional y la preeclampsia.¹

La respuesta inflamatoria en la preeclampsia es una característica clave en su fisiopatología. Los productos finales de glicación avanzada (AGE), los receptores para AGEs (RAGE) y los ligandos de RAGE están involucrados en la inflamación sistémica en diversas afecciones patológicas. Naruse y col., realizaron un estudio, en donde midieron ligandos de RAGE en sueros de embarazos normales y pacientes con preeclampsia. Este estudio revela un aumento significativo en los niveles de HMGB1 y S100A12 (ligandos de RAGE) en pacientes con preeclampsia en comparación con el grupo de embarazo normal. Esto es un hallazgo novedoso, ya que el aumento de estas moléculas en el suero de pacientes con preeclampsia no se ha informado previamente.⁷

Recientemente, Redman y Sargent propusieron una teoría novedosa, que la preeclampsia se desarrolla en dos pasos: primero, hay una falla de la placentación, que incluye una defectuosa invasión del trofoblasto y remodelación de las arterias espirales uterinas, seguida del desarrollo de inflamación mediada por el sistema inmunitario. Esta inflamación sistémica está involucrada en el segundo paso de la progresión de la enfermedad.

Esta teoría promueve la idea de que “las micropartículas”, principalmente restos celulares de sincitiotrofoblasto, son posibles mediadores de la respuesta inmune, incluida el desarrollo de inflamación sistémica que conecta el primer y segundo paso de la preeclampsia. De hecho, ligandos del RAGE tales como el HMGB1 y los miembros de la familia S100, que se encuentran aumentados en el suero de pacientes con preeclampsia, se consideran ligandos para las moléculas de antígeno de superficie en las micropartículas que tienen un efecto sobre el desarrollo de la patología observada en pacientes con preeclampsia. Estas alteraciones pueden contribuir a comprender la fisiopatología de la preeclampsia y conducir a mejoras adicionales en el diagnóstico, tratamiento y prevención de la enfermedad.⁸

Los AGEs y el RAGE parecen actuar como mediadores importantes en la regulación de las vías inflamatorias de la preeclampsia. Se sabe poco sobre los AGEs circulantes durante el embarazo. Un pequeño estudio informó de AGEs séricos elevados en mujeres con preeclampsia.⁹

Los AGEs pueden causar lesiones tisulares tanto directamente a través de fenómenos como el entrecruzamiento molecular, como indirectamente al unirse al receptor específico de AGEs (RAGE). El RAGE se expresa en una amplia gama de tipos de células, como células vasculares, células inflamatorias, células epiteliales glomerulares (podocitos), neuronas del sistema nervioso central y periférico, cardiomiocitos, células ganglionares de Müller de la retina y neumocitos alveolares. La forma soluble de RAGE, es una forma truncada, constituye la parte extracelular del RAGE. El RAGE y RAGE soluble juegan un papel en la patogenia de varias enfermedades crónicas como la diabetes mellitus y sus complicaciones, enfermedades vasculares e inflamatorias y cánceres. El RAGE soluble es un biomarcador recientemente descubierto para estas enfermedades. La unión de los AGEs al RAGE conduce a la activación de las vías de señales intracelulares del factor nuclear kappa B (NF- κ B) y, por lo tanto, media la expresión de genes que codifican citocinas y factores de crecimiento, inducción de la migración de macrófagos, estimulación de la proliferación celular, regulación positiva de vías proinflamatorias y generación de estrés oxidativo. El factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α), un factor proinflamatorio, podría contribuir a la etiología de la preeclampsia al activar las células endoteliales, que se manifiestan por niveles aumentados de E-selectina y molécula de adhesión de células vasculares-1 (VCAM-1), y al inhibir la integración del trofoblasto en las redes celulares endoteliales. En mujeres con preeclampsia, el TNF- α sérico aumenta significativamente y los metabolitos del óxido nítrico (NO) disminuyen, y también se ha informado de una correlación negativa significativa entre el NO y el TNF- α circulante.

La VCAM-1 es una molécula de adhesión celular y un miembro de la superfamilia de inmunoglobulinas que es importante para reclutar leucocitos en sitios de inflamación porque media la adhesión de linfocitos, monocitos y eosinófilos a endotelios. Los niveles circulantes de VCAM-1 reflejan la activación endotelial en respuesta a estímulos inflamatorios como el TNF- α . Chen y col., realizaron un estudio en donde su objetivo fue determinar los niveles de AGE, RAGE, RAGE soluble, TNF- α y VCAM-1 en suero materno, tejidos placentarios y sangre de cordón umbilical, en mujeres embarazadas sanas y con preeclampsia severa. Se utilizaron TNF- α y VCAM-1 como indicadores de una respuesta inflamatoria. El estudio de la implicación de RAGE en embarazos normales y complicados por preeclampsia es un tema bastante reciente. Sin embargo, ya ha atraído una atención considerable porque parece que algunos de los factores involucrados exhiben un comportamiento de biomarcadores. En la placenta, el RAGE fue evidente en los sincitiotrofoblastos y citotrofoblastos de mujeres con preeclampsia a término, pero la expresión de RAGE parece comenzar temprano y se vuelve más intensa durante el curso del embarazo. En mujeres con preeclampsia, la escasez de datos no permite una conclusión sólida con respecto a su variación, pero los niveles de RAGE soluble parecen estar aumentados. Los resultados mostraron que los niveles de AGE en la sangre de mujeres con preeclampsia severa eran significativamente más altos que en mujeres sanas, y se detectó una correlación positiva entre los niveles de AGE y las citocinas inflamatorias TNF- α y VCAM-1. Se puede sospechar que los niveles crecientes de AGE podrían interactuar con RAGE y, por lo tanto, contribuir a promover la inflamación y participar en la fisiopatología de la preeclampsia. El eje AGE / RAGE podría actuar a través de la activación de NADPH oxidasa, junto con la activación de la vía ERK1 / MAPK 2, o las vías p38-SAPK / JNK que conducen a iniciar la activación de NF- κ B y la translocación nuclear, donde se activa un número de genes con una variedad de efectos sobre los tejidos. Estos incluyen inflamación local, proliferación o apoptosis de células vasculares, recambio de la matriz extracelular y acumulación de aductos de AGE. Mientras tanto, la activación de NF- κ B parece retroalimentar aún más la expresión de RAGE a través de los motivos de unión a NF- κ B del promotor de RAGE y convertir la reacción inflamatoria inicial en un estado crónico sostenido con trastornos tisulares. Aquí, se midieron las concentraciones séricas de AGE en los cordones umbilicales de los recién nacidos y encontramos que los niveles de mujeres con preeclampsia severa eran significativamente más altos que en mujeres sanas, pero no hubo correlaciones entre los niveles de AGE y citocinas inflamatorias.¹⁰

Algunos estudios han demostrado que el estrés oxidativo en el útero aumenta gradualmente durante la gestación. Además, algunos otros estudios sugirieron que los recién nacidos después de la preeclampsia habían estado expuestos a más estrés oxidativo en el útero que los bebés de mujeres sanas, por lo que estos factores podrían acelerar la acumulación de los AGE en la sangre del cordón umbilical, donde muestran diversas capacidades biológicas. La evidencia creciente sugiere que una respuesta inflamatoria sistémica materna excesiva durante embarazo, con activación de las reacciones tanto innatas como adaptativas del sistema inmunológico está involucrada en la patogenia de la preeclampsia.¹¹

Según informes anteriores, la preeclampsia se asocia con un entorno sistémico proinflamatorio general. Cantidades elevadas de citocinas proinflamatorias, quimiocinas (TNF- α) y moléculas de adhesión (VCAM-1) en la circulación materna podrían desempeñar un papel central en la respuesta inflamatoria sistémica excesiva, así como en la disfunción endotelial generalizada característica de la preeclampsia.¹²

La unión de AGE a RAGE conduce a estrés oxidativo, que podría ser importante en los sitios de inflamación. El sistema AGE-RAGE conduce a la generación de NO y aniones superóxido en células endoteliales, macrófagos y trofoblasto.¹³

La interacción del óxido nítrico y el anión superóxido genera peroxinitrito, que probablemente contribuya a la citotoxicidad e inflamación mediadas por AGE-RAGE. La acumulación de TNF- α y VCAM-1, que están formados por el sistema AGE-RAGE directa e indirectamente, podría exacerbar las reacciones inflamatorias locales y promover un mayor daño oxidativo y nitrativo en mujeres con preeclampsia. En resumen, se ha identificado el sistema AGE-RAGE como una nueva clase de mediadores potencialmente importantes en la regulación de las vías inflamatorias en mujeres con preeclampsia. Los niveles de AGE, RAGE, TNF- α y VCAM-1 mostraron tendencias consistentes de expresión con correlaciones positivas entre ellos, lo que implica que posiblemente haya una retroalimentación positiva con una red sinérgica en el sistema AGE-RAGE y reacciones inflamatorias, induciendo apoptosis, isquemia, anoxia placentaria y exacerbación de la preeclampsia.¹⁰

La preeclampsia es un trastorno multisistémico caracterizado por disfunción placentaria y endotelial, que conduce a hipertensión y otros daños en los órganos diana, como alteración de la función renal, hepática, neurológica o hematológica. Las anomalías placentarias bien descritas, incluida la invasión del trofoblasto y la formación de la arteria espiral uterina, sugieren que las raíces de la preeclampsia se establecen en las primeras semanas de embarazo, antes del desarrollo de signos y síntomas.¹⁴

Mientras que los marcadores de disfunción placentaria y endotelial, como aumentos en los niveles de tirosina quinasa 1 similar a FMS soluble (sFLT-1) y disminuciones en los niveles de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y factor de crecimiento placentario (PLGF), pueden ser valiosos clínicamente en descartar sospecha de preeclampsia, el diagnóstico precoz de la preeclampsia sigue siendo un desafío clínico, ya que ninguna prueba de diagnóstico detecta de manera confiable la preeclampsia en las primeras etapas de su desarrollo, por lo que el tratamiento puede iniciarse solo después de la aparición de los signos y síntomas, momento en el que es posible que ya se haya producido un daño irreparable para la madre y el feto.¹⁵

La inflamación sistémica y las alteraciones en las adaptaciones inmunitarias normales necesarias para el mantenimiento de un embarazo saludable son características centrales en la fisiopatología de la preeclampsia. La evidencia acumulada sugiere que la preeclampsia se asocia con un desglose de adaptaciones celulares tolerogénicas, incluyendo un cambio en las distribuciones de células T hacia Th1 y Th17 y menos respuesta contra reguladora Th2. El papel potencial del sistema inmunológico materno en la patogenia de la preeclampsia fue subrayado por un reciente estudio de factores placentarios, de coagulación, del complemento y vasculares, destacando que la mayoría de las proteínas plasmáticas asociadas con la preeclampsia estaban relacionadas con funciones inmunes. La disfunción inmunológica puede detectarse mucho antes del inicio clínico de la preeclampsia, ya durante el primer trimestre del embarazo.¹⁶

Por esta razón, la identificación de atributos inmunológicos en la sangre materna que predicen y ayuden a prevenir la preeclampsia en un estado preclínico es de considerable interés clínico. Sin embargo, debido a las limitaciones en la tecnología de análisis, los estudios previos de las respuestas inmunitarias asociadas con la preeclampsia se han restringido a un número selecto de subconjuntos de células y es posible que no hayan capturado los comportamientos de las células inmunitarias en el contexto de todo el sistema inmunológico periférico.

En particular, el número limitado de parámetros disponibles para la caracterización fenotípica y funcional de subconjuntos de células inmunes puede haber obstaculizado la detección de firmas celulares y funcionales importantes. Múltiples factores inflamatorios, pero también hormonales y placentarios implicados en el embarazo convergen en la vía JAK / STAT5, incluida la prolactina, la hormona somatomamotropina coriónica (CSH) -1, IFN- γ e IL-3.¹⁷

La leptina, que se ha asociado sistemáticamente con la preeclampsia en múltiples estudios de proteómica a gran escala, también puede activar la vía JAK / STAT5. Por lo tanto, la evaluación de la dinámica de señalización de JAK / STAT5 puede proporcionar una lectura celular sensible de la disfunción inmune que refleja la integración de múltiples señales que conducen finalmente a respuestas anormales de células T CD4 + en las primeras etapas de la patogenia de la preeclampsia. Además, los niveles de micro ARN de los miembros del sistema RAGE (*HMGB1*, *S100B* y *RAGE*) se encontraron elevados significativamente en suero de pacientes con preeclampsia, lo que sugiere una posible participación del sistema RAGE en la regulación positiva de IL-6 y ligando 2 de quimiocina CCL2 en los adipocitos. La IL-6 es un actor clave en la inflamación tisular y la resistencia a la insulina, y se observó en concentraciones séricas más altas en pacientes con preeclampsia. El CCL2, también conocida como proteína quimioatrayente de monocitos 1, es un regulador clave de la infiltración de monocitos en el tejido adiposo y desempeña un papel central en el desarrollo y mantenimiento de la inflamación crónica del tejido adiposo y la resistencia a la insulina. Por lo tanto, IL-6 y CCL2 podrían ser actores clave producidos a partir de adipocitos para inducir daños tisulares en pacientes con preeclampsia.¹⁸

La HMGB1 es una proteína nuclear que estabiliza la formación de nucleosomas y facilita la transcripción. La HMGB1 es un fuerte desencadenante inflamatorio de las células necróticas como resultado de la fuga pasiva y puede ser secretado activamente por monocitos activados, macrófagos, células dendríticas, células asesinas naturales y células endoteliales, aunque no hay una secuencia señal canónica en la proteína HMGB1. Es bien sabido que los niveles de AGE en suero, como la hemoglobina A1c (HbA1c), aumentan en pacientes con diabetes (hiperglucemia) y que la diabetes es un factor de riesgo típico de enfermedades hipertensivas del embarazo y preeclampsia. Se observó una elevación de la HMGB1 en mujeres embarazadas con otras afecciones proinflamatorias como obesidad y trabajo de parto prematuro.⁶

Algunos productos solubles de RAGE como el RAGE soluble y el RAGE secretor endógeno se generan a partir del gen RAGE y modulan la señalización de RAGE. Se informó anteriormente que los niveles de RAGE soluble (sRAGE) se redujeron en el suero de pacientes con preeclampsia y que el RAGE secretor endógeno (esRAGE) sérico y la relación esRAGE / sRAGE estaban elevados en el suero de pacientes con preeclampsia. También se informó que el embarazo indujo un aumento significativo en los niveles de proteína RAGE tanto en el miometrio como en la vasculatura omental y que los vasos sanguíneos de mujeres con preeclampsia tenían una tinción intensa para RAGE en ambos lechos vasculares.¹⁹

Los ligandos de RAGE suelen activar NF- κ B. La vía RAGE-NF- κ B-IL-6 / CCL2 podría funcionar en adipocitos estimulados por ligandos RAGE (AGE, HMGB1 y LPS), lo que da como resultado el desarrollo de inflamación que puede conducir a preeclampsia en mujeres embarazadas.²⁰ Han y col., realizaron un estudio que revela alteraciones significativas en la dinámica de las adaptaciones del sistema inmunológico materno meses antes del inicio clínico de la preeclampsia. Los datos y los enfoques analíticos presentados sugieren que las medidas de la dinámica del sistema inmunológico materno al principio del embarazo son muy prometedoras para identificar a las mujeres en riesgo de desarrollar preeclampsia más adelante durante el embarazo. Emplearon un inmunoensayo de citometría de masas de alto parámetro para una evaluación en profundidad de la dinámica del sistema inmunológico periférico durante los embarazos normales y preeclámpicos. El análisis del conjunto de datos inmunológicos de alta dimensión identificó una disfunción del sistema inmunológico detectable en la sangre materna de 12 a 14 semanas antes de que fueran evidentes los signos clínicos de preeclampsia. Los componentes individuales del modelo multivariado destacaron una profunda desregulación de la dinámica de señalización intracelular que estaba fuertemente asociada con el desarrollo posterior de preeclampsia.²¹

En esta institución, debido a carencias tecnológicas y de recursos suficientes para el apoyo a la investigación, no se había podido realizar estudios previos que evalúen el valor diagnóstico de la medición de los productos finales de glicación avanzada (AGEs) en mujeres embarazadas. Aprovechando la oportunidad brindada por el Departamento de Biología de la Reproducción del INCMNSZ, quienes han realizado un desarrollo tecnológico para la medición de los AGEs, hemos decidido realizar esta investigación con la finalidad de poder estudiar a las embarazadas en riesgo de desarrollar preeclampsia, en el servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital General “Dr. Manuel Gea González” en el periodo comprendido entre el 1 de mayo del 2019 y el 31 de mayo de 2021.

3. MATERIAL Y MÉTODOS.

El presente trabajo de tesis es el resultado parcial de un estudio analítico, observacional, y transversal, realizado durante el tercer trimestre del embarazo. El mismo, es parte de un estudio mayor, de tipo analítico, observacional, longitudinal y prospectivo. En este análisis se incluyen los datos obtenidos hasta el momento como parte del estudio “Evaluación del valor diagnóstico de la medición de los productos finales de glicación avanzada para la detección oportuna de embarazadas en riesgo de desarrollar preeclampsia”, con número de registro 11- 04-2019, aprobado por el comité de ética e investigación del Hospital General “Dr. Manuel Gea González”. Para este estudio, se capturaron 110 mujeres sanas sin patologías concomitantes de entre 20 y 40 años de edad, cursando su embarazo entre las semanas 10 y 13. Debido a los problemas asociados a la pandemia de COVID-19, que conllevó a que nuestra institución fuera reconvertida en hospital COVID, se suscitó una alta tasa de abandono entre las participantes del estudio, que ante la imposibilidad de recibir un servicio en nuestra institución, acudieron a otros hospitales. Por tales motivos, de las 110 embarazadas que iniciaron, solamente 37 completaron el estudio, para un 66.4% de abandono. Debido a que ninguna de las 37 embarazadas que concluyeron el estudio desarrolló preeclampsia, nos vimos en la necesidad de reclutar mujeres en el tercer trimestre del embarazo con preeclampsia. A pesar de las restricciones operativas de nuestra institución, debido a la aún persistente epidemia de COVID-19, se logró reclutar un total de 27 embarazadas preeclámpticas, a quienes se les asignó, para comparación pareada, una embarazada normotensa control de edad gestacional y características antropométricas similares.

A todas las embarazadas se les midieron parámetros clínicos tales como: edad biológica, peso, talla, edad gestacional, número de gestación, presión arterial sistólica, presión arterial diastólica, frecuencia cardíaca y fondo uterino. Además, se les realizaron pruebas de laboratorio para evaluar el estado metabólico general de las pacientes. Entre las pruebas de laboratorios realizadas podemos mencionar la evaluación hematológica, del funcionamiento renal, los niveles circulantes de creatinina, colesterol, triglicéridos, glucosa, insulina, las concentraciones de hemoglobina glicosilada A1c, y las concentraciones séricas de los Productos Finales de Glicación Avanzada derivados de glucosa (AGEs).

Los estudios de biometría hemática fueron realizados utilizando un equipo automatizado modelo DxH 800 marca Beckman Coulter (Beckman Coulter Corporation, California, EUA). Los análisis generales de orina fueron realizados utilizando tiras reactivas Combur10 Test marca Roche (Hoffmann-La Roche, Basilea, Suiza).

Las concentraciones séricas de creatinina, colesterol, triglicéridos y glucosa fueron medidas por métodos enzimáticos colorimétrico utilizando reactivos de la marca Pointe Scientific (Pointe Scientific Inc., Missouri, EUA). Las concentraciones de hemoglobina glicosilada fueron medidas a través de un método inmunofelométrico utilizando un reactivo de la marca Pointe Scientific (Pointe Scientific Inc., Missouri, EUA). La cuantificación de creatinina, colesterol, triglicéridos, glucosa y hemoglobina glicosilada se realizó utilizando un analizador bioquímico automatizado, marca Mindray BS-200 (Mindray Medical International Limited, Shenzhen, China). Las concentraciones circulantes de insulina y AGEs fueron medidas por métodos de Radioinmunoanálisis (RIA) desarrollados previamente en el Laboratorio de Hormonas Proteicas del Departamento de Biología de la Reproducción del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”; cuya metodología fue descrita detalladamente por Uribe y col., en el 2017.²² Para la lectura de los tubos y los cálculos de los radioinmunoensayos, se empleó un contador de radiaciones gamma marca Cobra II (Packard Instrument Company, Inc., Connecticut, USA). El grado de sensibilidad a la insulina se estimó a través del cálculo del índice HOMA.²⁵ Las concentraciones séricas de AGEs esperadas según su edad biológica fue calculada utilizando el modelo de regresión lineal descrito previamente por Uribe y col.²²

La comparación de las variables estudiadas entre grupos se realizó utilizando la prueba de t de Students si la variable seguía una distribución normal. Las variables que no seguían una distribución normal, fueron comparadas utilizando una prueba no paramétrica, el test U de Mann Whitney. La comparación de frecuencias entre grupos se realizó utilizando la prueba Chi cuadrado.

Se estableció como valor de corte para la concentración sérica de AGEs, el límite superior de intervalo de confianza al 95% de la media del grupo mujeres embarazadas normotensas controles, y con ello se estableció la sensibilidad y la especificidad de la medición de AGEs para el tamizaje de las embarazadas en normotensas y preeclámpticas.

Todos los análisis, incluyendo la estadística descriptiva, se realizaron utilizando el programa estadístico SigmaStat 3.5. Los resultados son presentados en las tablas como media e intervalos de confianza al 95% de la media, o como relación de embarazadas con el parámetro alterado sobre el total de ellas en cada grupo. Para establecer diferencias estadísticamente significativas entre los grupos se estableció un error de tipo alfa de 5% ($P < 0.05$).

4. RESULTADOS

A cada una de las 27 embarazadas preeclámpticas se le asignó, para comparación pareada, una embarazada normotensa control de edad biológica y gestacional, así como de características antropométricas similares. Los parámetros clínicos tanto del grupo de embarazadas preeclámpticas como del grupo normotenso control, se muestra en la tabla 1, donde se puede observar que los únicos parámetros diferentes entre los grupos fueron las presiones arteriales sistólicas y diastólicas, que como era de esperar fueron estadísticamente mayores en el grupo de embarazadas preeclámpticas. Además, a pesar de tener edades gestacionales similares, el fondo uterino fue ligeramente menor en el grupo de mujeres preeclámpticas. De forma similar, los resultados de las biometrías hemáticas, que pueden ser consultados en la tabla 2, no mostraron grandes diferencias entre los grupos, excepto las concentraciones media de hemoglobina y los leucocitos totales, que fueron estadísticamente mayores en el grupo de embarazadas preeclámpticas. En la tabla 3, se muestran los resultados de los exámenes generales de orina (EGO) de ambos grupos experimentales. Se puede observar que solamente las concentraciones urinarias de proteínas, de urobilinógeno, bilirrubina y de eritrocitos fueron mayores en el grupo de embarazadas preeclámpticas. El resto de los parámetros del EGO fueron similar en ambos grupos experimentales. Los resultados de los análisis de bioquímica clínica se muestran en la tabla 4, donde se puede observar que solamente las concentraciones séricas de creatinina y las de AGEs, así como la relación entre las concentraciones séricas de AGEs medidas y las esperadas para la edad biológica, fueron significativamente mayores en el grupo de embarazadas con preeclampsia. El resto de los parámetros bioquímicos, incluyendo la glucemia, la insulinemia y el índice HOMA, que aunque en promedio, fueron mayores en las embarazadas preeclámpticas, no fueron estadísticamente diferentes. En la tabla 5, se puede observar los resultados de sensibilidad y especificidad de la medición de las concentraciones séricas de AGEs empleando el desarrollo tecnológico producido por el Departamento de Biología de la Reproducción del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”, para el tamizaje de embarazadas normotensas controles y preeclámpticas durante el tercer trimestre del embarazo. Los resultados mostraron que la medición de las concentraciones séricas de AGEs tuvo un 85.2% de sensibilidad y un 81.5% de especificidad, utilizando el valor de corte de $\geq 122 \mu\text{U/mL}$, el límite superior del intervalo de confianza al 95% de la media del grupo control.

5. DISCUSIÓN

En el presente estudio se evaluó por primera vez las concentraciones séricas de los productos finales de glicación avanzada derivados de glucosa (AGEs) en el tercer trimestre del embarazo normal y la preeclampsia, utilizando un radioinmunoanálisis desarrollado en el Departamento de Biología de la Reproducción del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”. Este estudio piloto pretendió evaluar el posible valor diagnóstico de la medición de las concentraciones séricas de AGEs para el tamizaje de embarazadas con preeclampsia. Para la realización de este estudio, inicialmente reclutamos 110 mujeres en el primer trimestre del embarazo, para hacerle un seguimiento longitudinal; pero debido a la pandemia, y a que nuestro hospital fue convertido a hospital COVID, no fue posible continuar con el seguimiento de muchas de las pacientes, que se vieron en la necesidad de acudir a otras instituciones de salud para completar el seguimiento de sus embarazos. Por tal motivo, solamente 37 de las embarazadas inicialmente reclutadas completaron el estudio, lo que representó un 66.4% de abandono. Debido a que todas las 37 embarazadas que concluyeron el estudio tuvieron un embarazo normal, nos vimos en la necesidad de reclutar mujeres en el tercer trimestre del embarazo con preeclampsia. A pesar de las restricciones operativas de nuestra institución, debido a la aún persistente epidemia de COVID-19, se logró reclutar un total de 27 embarazadas preeclámpicas, a quienes se les asignó para comparación pareada, una embarazada normotensa control de edad biológica y gestacional, así como de características antropométricas similares.

Como extensamente discutimos en la introducción, los estados de estrés oxidativos y de descontrol del metabolismo de la glucosa, propios de la preeclampsia, favorecen la formación de los productos finales de glicación avanzada (AGEs). En un estudio previo, los investigadores que llevaron a cabo el desarrollo del radioinmunoanálisis para la medición de los AGEs, establecieron la relación que existe entre los estados de descontrol glucémico y las concentraciones séricas de AGEs, demostraron que los sujetos pre-diabéticos tenían concentraciones séricas de AGEs mayores a los normoglucémicos, y que los pacientes diabéticos tenían concentraciones circulantes de AGEs aún mayores. Así mismo, establecieron que los AGEs son buenos marcadores del estado de control glucémico a largo plazo, evidenciando que sujetos que tenían concentraciones séricas de AGEs ≥ 450 $\mu\text{U}/\text{mL}$, tuvieron aproximadamente 11 veces más riesgo de desarrollar diabetes mellitus en un lapso de 7 años.²²

En este mismo estudio, los investigadores demostraron la estrecha relación existente entre la edad biológica de los sujetos y las concentraciones circulantes de AGEs; y establecieron un modelo de regresión lineal que permite, utilizando este Radioinmunoanálisis, establecer las concentraciones esperadas según la edad biológica de los sujetos.²²

Como es sabido, durante el embarazo ocurren adaptaciones metabólicas, altamente reguladas hormonalmente, que promueven un manejo más óptimo de los combustibles, principalmente de la glucosa, con la finalidad de favorecer su suministro hacia el feto en crecimiento y desarrollo.²³ Nosotros, utilizando esta misma metodología analítica, hemos evaluado previamente las concentraciones séricas de los AGEs en mujeres embarazadas sanas durante el segundo trimestre, y observamos que las concentraciones séricas promedio de AGEs fueron apenas del 57.1% (53.9-60.4, IC95%) del que deberían tener dichas mujeres para sus edades biológicas en una condición de no embarazo.²⁴

En el presente estudio, se reclutaron 27 mujeres preeclámpticas que sufrían de hipertensión, proteinuria, y otras alteraciones típicas de esta enfermedad hipertensiva del embarazo, quienes fueron pareadas con 27 de las embarazadas que completaron el estudio, teniendo en cuenta que tuvieran características clínicas similares, como edad biológica, edad gestacional, talla y peso. Se observó que el grupo de mujeres embarazadas preeclámpticas, tenía en promedio mayores concentraciones séricas de glucosa, insulina e índice HOMA (un marcador de resistencia a la insulina), que aunque no fueron estadísticamente significativas entre los grupos, debido a la dispersión de los datos, apoyan el hecho conocido de que durante la preeclampsia ocurren alteraciones del control glucémico en menor o mayor medida.¹ Estas alteraciones en los mecanismos de control glucémico que suceden durante la preeclampsia, a pesar de no verse evidenciado con diferencias estadísticamente significativa en las variables antes mencionadas entre los grupos estudiados, se puede inferir del hecho de que a pesar de que la frecuencia de embarazadas con concentraciones séricas de glucosa mayor o igual al límite superior del intervalo de confianza al 95% de la media del grupo control (65 mg/dL) fue muy parecido entre los grupos (12/27 vs. 11/27, en el grupo preeclámptico y control; respectivamente), la frecuencia de embarazadas con concentraciones séricas de insulina mayor o igual al límite superior del intervalo de confianza al 95% de la media del grupo control (25 μ UI/mL) fue 3 veces mayor en el grupo de embarazadas con preeclampsia (12/27 vs. 4/27, en el grupo preeclámptico y control; respectivamente).

Pero sobre todo, las mayores concentraciones séricas de AGEs, un excelente marcador del control glucémico a largo plazo²² observadas en el grupo de embarazadas con preeclampsia, comparadas con las del grupo de embarazadas normotensa controles [2207 μ U/mL (798-3616 IC95%) vs. 97 μ U/mL (72-122, IC95%), respectivamente; $P < 0.001$], así lo sugieren. Por otro lado, los resultados obtenidos muestran que similarmente a lo observado previamente en las mujeres embarazadas normotensas controles durante el segundo trimestre del embarazo²⁴, las mujeres embarazadas normotensas controles del presente estudio, tuvieron durante el tercer trimestre, concentraciones séricas de AGEs menores a las concentraciones séricas de AGEs esperadas según sus edades biológicas en una condición de no embarazo. De forma diferente a las embarazadas normotensas controles que tuvieron en promedio sólo 40% (29-50, IC95%) de las concentraciones séricas de AGEs esperadas; las embarazadas preeclámpticas, de edad biológica y edad gestacional similares, tuvieron 917% (317-1518, IC95%) respecto a las concentraciones esperadas para sus edades biológicas en una condición de no embarazo; lo que demuestra de forma inequívoca la ocurrencia de alteraciones del metabolismo de la glucemia durante la preeclampsia que pueden ser monitoreadas de forma adecuada con la medición de las concentraciones séricas de AGEs derivados de glucosa, empleando el desarrollo tecnológico producido por el Departamento de Biología de la Reproducción del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán". Debido a que la formación de AGEs derivados de glucosa es un proceso lento y paulatino, que se sabe requiere del transcurso de meses para que ocurra, y que las concentraciones séricas de hemoglobina glicosilada en el tercer trimestre no mostraron diferencias significativas entre los grupos de mujeres preeclámpticas y controles, y debido a que la hemoglobina glicosilada solo refleja el estado del control glucémico en un lapso de alrededor de tres meses, los incrementos en las concentraciones séricas de AGEs observadas en el tercer trimestre del embarazo en el grupo de mujeres preeclámpticas, debieron haberse generado desde estadios anteriores a la manifestación de los síntomas clínicos. Por lo cual, muy probablemente la medición de las concentraciones séricas de AGEs derivados de la glucosa, por nuestra metodología analítica, pudiera ser útil no solo para diagnosticar a las embarazadas con preeclampsia, sino que probablemente tenga un valor pronóstico para identificar preventivamente a las embarazadas con alteraciones metabólicas en riesgo de desarrollar diabetes gestacional y preeclampsia en estadios anteriores a la manifestación de los síntomas clínicos.

Otro argumento que apoya esta propuesta es el hecho de que a pesar de que las embarazadas preeclámpticas, mostraron tener más parámetros del examen general de orina alterados, tales como mayor frecuencia de urobilinógeno y bilirrubina en orina, debemos entender que estos compuesto reflejan una alteración hepática propios de la enfermedad y no de la función renal. Por su parte la mayor frecuencia de proteinuria y eritrocitos en la orina, si bien si refleja algún grado de daño renal en el grupo de embarazadas preeclámpticas, que se pudiera asociar con las mayores concentraciones séricas de creatinina en este grupo, consideramos que dicha alteraciones renales no son suficientes para explicar una reducción importante en la excreción renal de los AGEs, que a su vez pueda explicar las altísimas concentraciones séricas de AGEs observadas en el grupo de embarazadas preeclámpticas. El hecho que soporta este punto de vista es que a pesar de que las mujeres preeclámpticas tienen concentraciones séricas de creatinina significativamente mayores a las del grupo control, [0.7 mg/dL (0.6-0.8 IC95%) vs. 0.6 mg/dL (0.5-0.7 IC95%), respectivamente], las concentraciones séricas de creatininas están en un rango fisiológicamente normal, por lo que no se puede considerar que haya un daño renal importante que sea el responsable de la acumulación de los AGEs en el suero.

Utilizando como valor de corte el límite superior del intervalo de confianza al 95% de la media de las concentraciones séricas de AGEs del grupo de embarazadas normotensas controles (122 μ U/mL), se pudo identificar directamente, y de forma correcta al 85% de las embarazadas preeclámpticas, quienes se caracterizaron por tener concentraciones séricas de AGEs \geq 122 μ U/mL. El 15% restante de las embarazadas preeclámpticas no pudieron ser correctamente clasificadas por la medición de las concentraciones séricas de AGEs, debido a que tuvieron, en el momento del análisis, concentraciones séricas de AGEs <122 μ U/mL. Por su parte, la cuantificación de las concentraciones séricas de AGEs, permitió identificar directamente cerca del 82% de las mujeres normotensas controles, quienes mostraron tener concentraciones circulantes de AGEs <122 μ U/mL. El 18% restante de las mujeres normotensas controles, no pudieron ser correctamente clasificadas, debido a que estas mujeres, a pesar de no tener preeclampsia, ni diabetes gestacional, debieron tener un marcado deterioro del control glucémico, un estrés oxidativo exacerbado o algún grado de afectación aguda en la función renal en algún momento previo a la evaluación, ya que tenían concentraciones circulante de AGEs \geq 122 μ U/mL.

6. CONCLUSIONES

Los resultados encontrados en el presente estudio sugieren que la medición de las concentraciones séricas de AGEs, utilizando este desarrollo tecnológico, tiene buenas características analíticas para ser empleado en el tamizaje de embarazadas con preeclampsia. Así mismo, debido a que los resultados encontrados en el presente estudio sugieren que las altas concentraciones séricas de AGEs observadas en las embarazadas preeclámpticas durante el tercer trimestre, pudieron haberse originado en estadios previos del embarazo, es muy probable que la medición de AGEs pudiera ser de utilidad para identificar oportunamente mujeres embarazadas en riesgo de desarrollar preeclampsia, probablemente antes de que tengan manifestaciones clínicas de la enfermedad. Esto sería de gran utilidad para el sistema de salud pública de nuestro país, ya que permitiría un manejo oportuno de las embarazadas en riesgo, pudiéndose evitar la ocurrencia de complicaciones maternas y fetales, lo que contribuiría a la reducción de la mortalidad materno-fetal en nuestro país.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Akasaka J, Naruse K, Sado T, Uchiyama T, Makino M, Yamauchi A, Ota H, Sakuramoto-Tsuchida S, Itaya-Hironaka A, Takasawa S, Kobayashi H. Involvement of Receptor for Advanced Glycation Endproducts in Hypertensive Disorders of Pregnancy. *Int J Mol Sci.* 2019 Nov 1;20(21):5462
2. Kwon JH, Kim YH, Kwon JY, Park YW. Clinical significance of serum sRAGE and esRAGE in women with normal pregnancy and preeclampsia. *J Perinat Med.* 2011 Sep;39(5):507-13.
3. Sado T, Naruse K, Noguchi T, Haruta S, Yoshida S, Tanase Y, Kitanaka T, Oi H, Kobayashi H. Inflammatory pattern recognition receptors and their ligands: factors contributing to the pathogenesis of preeclampsia. *Inflamm Res.* 2011 Jun;60(6):509-20.
4. Chekir C, Nakatsuka M, Noguchi S, Konishi H, Kamada Y, Sasaki A, Hao L, Hiramatsu Y. Accumulation of advanced glycation end products in women with preeclampsia: possible involvement of placental oxidative and nitrative stress. *Placenta.* 2006 Feb-Mar;27(2-3):225-33.
5. Germanová, A., Koucky, M., Hájek, Z., Parížek, A., Zima, T., Kalousová, M., 2010. Soluble receptor for advanced glycation end products in physiological and pathological pregnancy. *Clin. Biochem.* 43, 442–446
6. Fasshauer M, Seeger J, Waldeyer T, Schrey S, Ebert T, Lossner U, Bluher M, Stumvoll M, Faber R, Stepan H: Endogenous soluble receptor for advanced glycation endproducts is increased in preeclampsia. *J Hypertens* 2008.
7. Naruse, K., Sado, T., Noguchi, T., Tsunemi, T., Yoshida, S., Akasaka, J., Kobayashi, H. RAGE periférico (receptor de productos finales de glicación avanzada) -ligandos en el embarazo normal y preeclampsia: nuevos marcadores de respuesta inflamatoria. *Revista de inmunología reproductiva*, 93 (2), 69–74. 2012
8. Redman CW, Sargent IL. Immunology of pre-eclampsia. *Am J Reprod Immunol.* 2010 Jun;63(6):534-43.

9. Oliver EA, Buhimschi CS, Dulay AT, Baumbusch MA, Abdel-Razeq SS, Lee SY, Zhao G, Jing S, Pettker CM, Buhimschi IA. Activation of the receptor for advanced glycation end products system in women with severe preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011 Mar;96(3):689-98. doi: 10.1210/jc.2010-1418. Epub 2011 Feb 16. PMID: 21325454; PMCID: PMC3047223.]
10. Chen, W., Zhang, Y., Yue, C., Ye, Y., Chen, P., Peng, W. y Wang, Y. (2016). Acumulación de productos finales de glicación avanzada implicados en la inflamación y que contribuyen a la preeclampsia grave, en la sangre materna, la sangre umbilical y los tejidos placentarios. *Investigación ginecológica y obstétrica*, 82 (4), 388–397.
11. Saito S, Shiozaki A, Nakashima A, Sakai M, Sasaki Y: The role of the immune system in preeclampsia. *Mol Aspects Med* 2007; 28: 192–209.
12. Szarka A, Rigó J Jr, Lázár L, Beko G, Molvarec A: Circulating cytokines, chemokines and adhesion molecules in normal pregnancy and preeclampsia determined by multiplex suspension array. *BMC Immunol* 2010; 11: 59
13. Xu B, Charlton F, Makris A, Hennessy A: Nitric oxide (NO) reversed TNF- α inhibition of trophoblast interaction with endothelial cellular networks. *Placenta* 2014; 35: 417–421.
14. Freeman, DJ; McManus, F.; Brown, EA; Cherry, L.; Norrie, J.; Ramsay, JE; Clark, P; Walker, ID; Sattar; Greer, IA. Cambios a corto y largo plazo en los marcadores inflamatorios plasmáticos asociados con la preeclampsia. *Hipertensión* 2004, 44, 708–714.
15. Von Versen-Hoeynck, FM; Powers, RW *Metabolismo materno-fetal en el embarazo normal y preeclampsia. Parte delantera. Biosci.* 2000.
16. Harmon, AC; Cornelius, DC; Amaral, LM; Faulkner, JL; Cunningham, WW, Jr; Wallace, K; LaMarca, B. El papel de la inflamación en la patología de la preeclampsia. *Clin. Sci.* 2016.
17. Ouchi, N; Parker, JL; Lugus, JJ; Walsh, K. Adipokines en inflamación y enfermedad metabólica. *Nat. Rev. Immunol.* 2011.
18. Eder, K; Baffy, N .; Falus, A .; Fulop, AK El principal mediador inflamatorio interleucina-6 y obesidad. *Inflamm. Res.* 2009.

19. Cooke, CL; Brockelsby, JC; Baker, PN; Davidge, ST El receptor de productos finales de glicación avanzada (RAGE) está elevado en mujeres con preeclampsia. Hipertensos. Embarazo 2003, 22, 173-184.
20. Kay, AM; Simpson, CL; Stewart, J., Jr. A. El papel de la señalización de AGE / RAGE en la calcificación vascular mediada por la diabetes. *J. Diabetes Res.* 2016
21. Han X, et al. Differential Dynamics of the Maternal Immune System in Healthy Pregnancy and Preeclampsia. *Front Immunol.* 2019 Jun 11;10:1305.
22. Uribe Jiménez I, Díaz-Díaz A, Salmerón Castro J, Pérez Ramos J, Cárdenas León M, Alvarado Ríos J.A, Auriostigue Bautista J.C, Correa-Rotter R, Aguilar Salinas C.A, and Larrea F. Circulating Concentrations of Advanced Glycation end Products, its Association With the Development of Diabetes Mellitus. *Archives of Medical Research* 48 (2017) 360-369.
23. Carrillo-Mora P, García-Franco A, Soto-Lara M et al. Cambios fisiológicos durante el embarazo normal. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM.* Vol. 64, n° 1, Enero - febrero 2021
24. Chávez Pérez R, Ceballos Mendoza J.I, Díaz Díaz E, Evaluación del valor diagnóstico de la medición de los productos finales de glicación avanzada para el tamizaje de embarazadas con riesgo de desarrollar diabetes mellitus gestacional. Tesis de especialidad. Febrero 2021.
25. D. R. Matthews, J. R Hosker, A. S. Rudenski, B. A. Naylor, D. F. Treacher and R. C. Turner. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* (1985) 28:412-419.

8. TABLAS

8.1. Tabla 1. Características clínicas de las embarazadas estudiadas.

Parámetros Clínicos	Controles (n= 27)		Preeclápticas (n=27)		P
	Media	IC 95%	Media	IC 95%	
Edad (años)	25.6	24.0-27.2	25.5	23.3-27.6	0.521
Peso (kg)	77.2	72.5-82.0	77.7	72.9-82.5	0.884
Talla (m)	1.58	1.55-1.60	1.58	1.56-1.60	0.993
Presión Arterial Sistólica (mm Hg)	107	103-112	149	143-155	<0.001*
Presión Arterial Diastólica (mm Hg)	72	69-75	96	93-100	<0.001*
Frecuencia Cardíaca Materna (Latidos /min)	75	71-79	74	68-79	0.470
No. de Gestación	2.0	1.6-2.4	1.8	1.3-2.3	0.308
Semanas de gestación	36.8	36.4-37.2	36.6	35.3-37.9	0.284
Fondo Uterino (cm)	30.2	29.7-30.7	29.3	28.3-30.2	0.030*

8.2. Tabla 2. Características hematológicas de las embarazadas estudiadas.

Parámetros Clínicos	Controles (n= 27)		Preeclápticas (n=27)		P
	Media	IC 95%	Media	IC 95%	
<u>Formula Roja:</u>					
Eritrocitos (x10 ⁶ /μL)	4.3	4.2-4.4	3.9	3.5-4.3	0.063
Hemoglobina (g/dL)	12.9	12.5-13.3	12.6	11.8-13.4	0.910
Hematocrito (%)	38.5	37.5-39.5	36.8	34.6-39.0	0.203
Volumen Corpuscular Medio (fL)	89.0	86.5-91.5	89.2	86.9-91.5	0.880
Hemoglobina Corpuscular Media (pg)	29.8	28.8-30.8	30.6	29.5-31.7	0.691
Concentración Media de Hemoglobina (g/dL)	33.5	33.2-33.8	34.5	34.0-34.9	<0.001*
Amplitud de la Distribución Eritrocitaria (%)	14.9	14.3-15.4	14.6	14.1-15.1	0.494
<u>Serie Plaquetaria:</u>					
Plaquetas (x10 ³ /μL)	205	178-231	212	178-245	0.745
Volumen Plaquetario Medio (fL)	9.7	9.3-10.1	9.4	8.8-9.9	0.336
<u>Fórmula Blanca:</u>					
Leucocitos totales (x10 ³ /μL)	7.9	7.1-8.7	9.2	8.4-9.9	0.025*
Neutrófilos (%)	67.1	64.3-69.9	69.2	65.8-72.7	0.327
Monocitos (%)	6.2	6.6-6.9	6.2	5.4-7.0	0.988
Eosinófilos (%)	1.2	0.8-1.5	1.4	0.7-2.1	0.327
Basófilos (%)	0.6	0.4-0.9	0.5	0.4-0.6	0.766
Linfocitos (%)	24.6	21.9-27.3	22.6	19.7-25.4	0.300

8.3. Tabla 3. Resultados del examen general de orina de las embarazadas estudiadas.

Parámetros Clínicos	Controles (n= 27)		Preeclámpticas (n=27)		P
	Media	IC 95%	Media	IC 95%	
Gravedad Específica	1.015	1.013-1.017	1.016	1.012-1.020	0.415
pH	5.8	5.5-6.1	6.2	5.8-6.7	0.309
Leucocitos (+)	18/27	---	17/27	---	0.224
Nitritos (+)	6/27	---	7/27	---	1.000
Proteínas (+)	7/27	---	19/27	---	0.010*
Glucosa (+)	2/27	---	4/27	---	0.984
Cuerpos Cetónicos (+)	4/27	---	5/27	---	0.899
Urobilinógeno (+)	1/27	---	4/27	---	0.016*
Bilirrubina (+)	0/27	---	19/27	---	0.010*
Eritrocitos (+)	5/27	---	16/27	---	0.031*

Parámetros Clínicos	Controles (n= 27)		Preeclámpticas (n=27)		P
	Media	IC 95%	Media	IC 95%	
Creatinina (mg/dL)	0.6	0.5-0.7	0.7	0.6-0.8	0.030*
Colesterol (mg/dL)	246	226-267	223	190-256	0.149
Triglicéridos (mg/dL)	250	220-281	253	210-296	0.915
Glucosa (mg/dL)	61	58-65	96	44-148	0.842
Insulina (μUI/mL)	19.1	13.5-24.6	25.1	17.1-33.2	0.377
HOMA	2.8	2.1-3.6	4.3	2.8-5.8	0.299
Hemoglobina Glicosilada A1c	5.65	5.57-5.73	5.86	5.57-6.14	0.305
AGEs derivados de glucosa (μU/mL)	97	72-122	2207	798-3616	<0.001*
AGEs Esperados por edad biológica (μU/mL)	247	240-255	247	237-257	0.521
Relación AGEs medidos /AGEs esperados (%)	40	29-50	917	317-1518	<0.001*

8.4. Tabla 4. Características metabólicas de las embarazadas estudiadas.

8.5. Tabla 5. Tabla de contingencia, cálculo de sensibilidad y especificidad de la medición de AGEs para el tamizaje de embarazadas preeclámpticas.

		PE	NT
AGES	+	23	5
($\geq 122 \mu\text{U/mL}$)	-	4	22
Total		27	27

Donde:

PE: Embarazada Preeclámptica

NT: Embarazada Normotensa Control

- % de Sensibilidad = $[\text{VP}/(\text{VP}+\text{FN})]*100$
- % de Especificidad = $[\text{VN}/(\text{VN}+\text{FP})]*100$

Donde:

VP = Verdadero Positivo (PE con $[\text{AGEs}] \geq 122 \mu\text{U/mL}$)

FP = Falso Positivo (NT con $[\text{AGEs}] \geq 122 \mu\text{U/mL}$)

VN = Verdadero Negativo (NT con $[\text{AGEs}] < 122 \mu\text{U/mL}$)

FN = Falso Negativo (PE con $[\text{AGEs}] < 122 \mu\text{U/mL}$)

- % de Sensibilidad = $[\text{23}/(\text{23}+\text{4})]*100 = [\text{23}/\text{27}]*100 = 85.2\%$
- % de Especificidad = $[\text{22}/(\text{22}+\text{5})]*100 = [\text{22}/\text{27}]*100 = 81.5\%$