



ISSEA
SECRETARÍA DE
SALUD DEL ESTADO
DE AGUASCALIENTES

HOSPITAL DE LA MUJER DE AGUASCALIENTES

CENTRO DE CIENCIAS DE LA SALUD

**RESPUESTA A PROTEINAS MAL CONFORMADAS EN
PLACENTAS DE PACIENTES CON PREECLAMPSIA**

TESIS

PRESENTADA POR

Felipe Alonso De la Torre Rodríguez

**PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN GINECOLOGIA Y
OBSTETRICIA**

ASESOR (ES)

**Dr Leopoldo César Serrano Díaz.
Dra. Martha Hernández Muñoz.
Dra. Sugela Susana Blancas Zugarazo.**

Aguascalientes, Ags., febrero de 2018

Dra. Martha Hernández Muñoz
Jefe de Departamento de Enseñanza e Investigación
Hospital de la Mujer Aguascalientes

Asunto: Autorización para la impresión de tesis

Por medio de este conducto le enviamos un cordial saludo y hacemos de su conocimiento que el doctor Felipe Alonso de la Torre Rodríguez, médico residente en el último año de especialidad de ginecología y obstetricia ha entregado de manera satisfactoria su documento de tesis titulado

**“RESPUESTE A PROTEINAS MAL CONFORMADAS EN PLACENTAS DE PACIENTES
CON PREECLAMPSIA”**

Por lo que damos nuestra aprobación para su impresión y la continuación de sus trámites para presentar el examen de grado reglamentario.




ATENTAMENTE

Dra. Martha Hernández Muñoz
Asesor Clínico de Tesis



Dr. Leopoldo Cesar Serrano Díaz
Asesor Clínico de Tesis



Dra. Sugela Susana Blancas Zugarazo
Asesor Metodológico



ISSEA

SECRETARÍA DE SALUD DEL ESTADO

DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA,
CAPACITACION E INVESTIGACION

Aguascalientes, Aguascalientes. 04 de Enero del 2018

DR. JORGE PRIETO MACIAS
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS DE LA SALUD
PRESENTE

Por medio de este conducto le envío un cordial saludo y le hago de su conocimiento que el Dr. **FELIPE ALONSO DE LA TORRE RODRIGUEZ**, médico residente en el último año de la especialidad de ginecología y obstetricia ha entregado de manera satisfactoria su documento de tesis titulado:

“RESPUESTA A PROTEINAS MAL CONFORMADAS EN PLACENTAS DE PACIENTES CON PREECLAMPSIA”

Por lo que doy mi aprobación para su impresión y la continuación de sus trámites para presentar el examen de grado reglamentario.

ATENTAMENTE

Dra. Martha Hernández Muñoz
Jefa del Departamento de Enseñanza, Capacitación e Investigación
del Hospital de la Mujer Aguascalientes





**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES**

**FELIPE ALONSO DE LA TORRE RODRÍGUEZ
ESPECIALIDAD EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA
P R E S E N T E**

Por medio de la presente se le informa que en cumplimiento de lo establecido en el Reglamento General de Docencia en el Capítulo XVI y una vez que su trabajo de tesis titulado:

“RESPUESTA A PROTEÍNAS MAL CONFORMADAS EN PLACENTAS DE PACIENTES CON PREECLAMPSIA”

Ha sido revisado y aprobado por su tutor y consejo académico, se autoriza continuar con los trámites de titulación para obtener el grado de:
Especialista en Ginecología y Obstetricia

Sin otro particular por el momento me despido enviando a usted un cordial saludo.

**A T E N T A M E N T E
“SÉ LUMEN PROFERRE”**

Aguascalientes, Ags. a 11 de Enero de 2018.

**DR. JORGE PRIETO MACÍAS
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS DE LA SALUD**

c.c.p. M. en C. E. A. Imelda Jiménez García / Jefa de Departamento de Control Escolar
c.c.p. Archivo



ISSEA

SECRETARÍA DE SALUD DEL ESTADO

COMITÉ LOCAL DE INVESTIGACIÓN

AGUASCALIENTES, AGS. 04 DE ENERO DEL 2018

A QUIEN CORRESPONDA:

EL COMITÉ ESTATAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD, BASADO EN LOS ESTATUTOS CONTENIDOS EN EL MANUAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD, HA TENIDO A BIEN REVISAR EL PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN INTITULADO.

“RESPUESTA A PROTEÍNAS MAL CONFORMADAS EN PLACENTAS DE PACIENTES CON PREECLAMPSIA”

OTORGANDO EL DICTAMEN DE “**ACEPTADO**” NÚMERO DE REGISTRO: 006 ISSEA-006/18

INVESTIGADOR (S) DE PROYECTO:

Felipe Alonso De la Torre Rodríguez

LUGAR DE DESARROLLO DE LA INVESTIGACIÓN:

Hospital de la Mujer de Aguascalientes

TIPO DE INVESTIGACIÓN:

Investigación para Obtención de Grado de Gineco Obstetricia

ASESOR (S) DE INVESTIGACIÓN:

Dr. Leopoldo Cesar Serrano Díaz

Dra. Martha Hernández Muñoz

Dra. Sugela Susana Blancas Zugarazo

ESPERANDO QUE ESTE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN REDUNDE EN BENEFICIO A NUESTRA POBLACIÓN, QUEDAMOS A SUS ÓRDENES.

ATENTAMENTE:


DR. FRANCISCO JAVIER SERNA VELA
SECRETARIO TÉCNICO
C.C.P.- ARCHIVO



**UNIDAD
DE INVESTIGACIÓN
EN SALUD**

DEDICATORIA:

Primero a Dios, porque a pesar de tenerlo olvidado, el nunca se olvida de mi y me ha mantenido firme en mis objetivos y mis convicciones.

A mis abuelos, por haber tenido la dicha de conocerlos a todos y ser pilares fundamentales en mi vida, y la de mis hermanos.

A mis padres: Juan Manuel y Gloria Maria, por el regalo de la vida, por mi educación y por el apoyo en toda indole. Porque desde pequeño en mi la visión de no rendirme y continuar adelante, sobre toco con ustedes estoy en deuda de por vida.

A mis hermanos: Oswaldo, Blanca, Julio, Gloria, Ileana, Estefania y Angel, por su apoyo de una u otra manera, cada uno estuvo presente durante todos estos años y a pesar de alguna diferencia permanecemos unidos.

A mis sobrinos: Celeste, América, Gael, Galilea, Barbara, Alexa, Leonel, Isabella, Dario, porque me han regalado muchos momentos de gran alegría y al verlos me ha reconfortado y me inyectan las ganas de seguir adelante y tengan en mi un ejemplo a seguir.

A mis tios, tias y todos mis primos por siempre estar presente en los mejores y peores momentos. En general tengo mucho apego por la familia y me toco la mejor, me siento bendecido por ello.

A mis maestros: Dr. Leopoldo Serrano por sus enseñanzas teoricas y consejos quirurgicos invaluables. A la doctora Hilda Vazquez por su paciencia, que por momentos se colmaba, aun asi me ha mostrado su aprecio. A la doctora Martha Hernandez por la disciplina que me inculco como habito. Al doctor Jaime Reyna por su interes para que aprendiera a hacer mejor las cosas en beneficio de las pacientes, al Doctor Julio Macias y la doctora Martha Sandoval por todo su apoyo y afecto en las guardias, a la doctora Paty Negrete por su confianza. Al doctor Luis Chavez Barba por todo su entusiasmo. A la doctora Paty Guzman por su amistad y apoyo. Es dificil escribir en algunas lineas lo invaluable que ha sido para mi el apoyo de cada uno de ustedes y de todos los que no mencione que no son menos importantes.

A mis compañeros residentes: Alejandra, Antonio, Laura, Mariel y Michelle, por su amistad y su tolerancia aun en los peores momentos.

Muchas gracias a todos.

INDICE:

RESUMEN..... 3

ABSTRACT..... 4

RESPUESTA A PROTEINAS MAL CONFORMADAS EN LA PLACENTA, ASOCIADAS A PREECLAMPSIA. 5

 MARCO HISTÓRICO..... 5

 MARCO TEÓRICO: 8

 ANTECEDENTES: 17

JUSTIFICACION Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA..... 26

 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN..... 26

 OBJETIVOS..... 26

 Objetivo general..... 26

 Objetivos específicos 26

 HIPÓTESIS..... 26

MATERIAL, PACIENTES Y METODOS 26

 TIPOS Y DISEÑO DEL ESTUDIO:..... 26

 POBLACIÓN DEL ESTUDIO: 26

 MUESTREO:..... 27

 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES 27

 CRITERIOS DE SELECCIÓN 28

 Criterios de inclusión:..... 28

 Criterios de no inclusión:..... 28

 Criterios de eliminación:..... 28

 RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN..... 28

 Instrumentos. 28

 Logística. 28

 Consideraciones éticas..... 29

 Recursos humanos. 29

 Recursos materiales..... 29

 Recursos financieros..... 30

DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA. 30

RESULTADOS 32
 Características antropométricas y gineco-obstétricas de las pacientes..... 32
DISCUSIÓN..... 42
CONCLUSIONES: 43
BIBLIOGRAFIA..... 44
ANEXOS..... 45



RESUMEN

Introducción: Los trastornos hipertensivos del embarazo representan la complicación más común en el embarazo, afectando aproximadamente el 15% de los embarazos y representan casi el 18% de todas las muertes maternas en el mundo. La preeclampsia temprana ha sido más frecuentemente asociada a severidad y restricción del crecimiento intrauterino y se asocia más comúnmente a patología placentaria que materna.

Objetivo: Evaluar si existen cambios en la respuesta a proteínas mal conformadas en placentas de pacientes con preeclampsia en el Hospital de la Mujer de Aguascalientes.

Material y métodos: Estudio prospectivo, observacional, transversal analítico. Se estudiaron placentas de pacientes con embarazo normoevolutivo a término, pretérmino no asociado a trastorno hipertensivo del embarazo, y/o con diagnóstico de preeclampsia temprana y tardía atendidas en el Hospital de la Mujer de Aguascalientes.

Resultados: Se observa una disminución de BiP, el regulador de las tres vías de la respuesta a proteínas mal conformadas. No se observan cambios en la activación de IRE en las diferentes condiciones analizadas. ATF6 muestra una disminución de sus niveles asociado a preeclampsia temprana.

Conclusiones: Según los resultados obtenidos, se observa una asociación de respuesta a proteínas mal conformadas al estrés celular en el retículo endoplasmático de las células de la placenta de preeclampsia temprana, situación no encontrada en las otras condiciones estudiadas, lo que corrobora la hipótesis del estudio.

Palabras clave: preeclampsia temprana, respuesta a proteínas mal conformadas.

ABSTRACT

Introduction: Hypertensive disorders of pregnancy represent the most common complication in pregnancy, affect 15% of pregnancies and represent almost 18% of all maternal deaths in the world. Early onset pre-eclampsia has been more frequent associated with severity and intrauterine growth restriction and is more commonly associated with placental than maternal pathology.

Objective: To evaluate if there are changes in the unfolded protein response in placentas of patients with preeclampsia in the Hospital de la Mujer de Aguascalientes.

Material and methods: Prospective, observational, transversal analytical study. Placentas of patients with normoevolutive pregnancy at term, preterm not associated with hypertensive disorder of pregnancy, and / or with diagnosis of early and late preeclampsia attended at the Women's Hospital of Aguascalientes were studied.

Results: A decrease in BiP, the regulator of the three pathways of the unfolded protein response, is observed. No changes were observed in the activation of IRE in the different conditions analyzed. ATF6 shows a decrease in its levels associated with early preeclampsia.

Conclusions: According to the obtained results, an association of response to proteins poorly conformed to cell stress in the endoplasmic reticulum of the cells of the placenta of early preeclampsia is observed, a situation not found in the other conditions studied, which corroborates the hypothesis of the study

Key Words: early onset pre-eclampsia, unfolded protein response.

RESPUESTA A PROTEINAS MAL CONFORMADAS EN LA PLACENTA, ASOCIADAS A PREECLAMPSIA.

MARCO HISTÓRICO.

Las convulsiones presentes en el puerperio han sido reconocidas por milenios. Se han mencionado en antiguos tratados de las culturas: China, India y Griega; algunos de los cuales provienen de hace 4,000 años aproximadamente. El termino deriva del griego y significa relámpago, quizás relacionado al hecho de que la convulsión aparece repentina e inesperadamente.¹

En la antigua Grecia, entre el siglo V y IV antes de Cristo, Hipócrates definió la teoría de los 4 humores para describir la causa de las enfermedades. Él y sus seguidores creían que el cuerpo humano estaba hecho de 4 humores (fluidos) que incluían: sangre, flema, bilis amarilla y bilis negra. La salud dependía del equilibrio de estos 4 fluidos, y cualquier desequilibrio de estos por lo tanto recaía en la enfermedad. Las teorías húmeda y seca se utilizaron para explicar la vulnerabilidad de la fisiología femenina a la enfermedad. Las mujeres eran consideradas húmedas y los hombres secos. Se consideraba “la carne” de la mujer porosa y suave, por lo cual estaba en riesgo de atraer más humedad, lo cual resultaba en abundancia de fluidos (humores) y subsecuentemente en algún trastorno. Más específicamente varias de las dolencias femeninas se atribuyeron a su vientre errante, el cual viajaba en el cuerpo de la mujer en busca de humedad. Mientras Hipócrates proponía lo anterior, Platón veía al útero como un animal errante porque estaba insatisfecho sexualmente y deseaba alojar un producto. Independientemente del motivo por el cual el útero vagaba por el organismo de la mujer, era capaz de causar estragos en el hígado, estomago, bazo, pulmones, y cabeza, lo que finalmente provocaba la enfermedad. Como la enfermedad se producía por un desequilibrio de los humores el tratamiento se basaba en el equilibrar a estos, por lo cual se creía que la mujer tenía que estar embarazada,

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

lactando o con presencia de menstruación regular, mecanismos por los cuales se eliminaba el exceso de fluidos. En el embarazo, el flujo extra de sangre se utilizaba para nutrir al producto; durante la lactancia, el flujo extra se eliminaba al convertirse en leche materna. Durante la menstruación, el flujo se eliminaba en las pérdidas sanguíneas de cada periodo. Durante la edad media, el progreso médico y científico llegó a un punto muerto, y no se presentaron grandes avances. Entre los siglos III y VII de nuestra era, médicos como: Oribasio de Pérgamo, Aecio de Amida y Pablo de Egina se centraron en la recopilación y reescritura de las obras médicas de sus predecesores.²

En la edad media, entre los años 700 a 1,200 D.C. el imperio Bizantino se deterioró, la influencia de la iglesia católica comenzó a declinar y la de los árabes se incrementó. La primera escuela de medicina europea se abrió en Salerno, Italia y emergió nuevamente la teoría de los 4 humores ligeramente modificada, bajo esta nueva adaptación, se creía que uno de los humores predominaba sobre los otros para formar un equilibrio. Además el humor dominante determinaba las características físicas y emocionales de un individuo.²

Durante el renacimiento se aceleró el progreso de la medicina, resultado de la disminución en la influencia de la iglesia, la libertad de pensamiento, el reordenamiento del gobierno y la geografía, así como a la invención de la imprenta. En 1537 el papa Clemente VIII concedió permiso para la enseñanza de anatomía con la disección de cadáveres humanos. Con esta nueva libertad anatomistas y artistas como Jacopo Berengario Da Capri, Nicolás Massa, Leonardo Da Vinci, Andrés Vesalio y Falopio, fueron más claros y precisos en describir el aparato reproductor femenino: por ejemplo la primera descripción más precisa de las trompas y los ovarios fue realizada por Falopio. A él también se le atribuye el nombre de la placenta y refirió que esta solo se encuentra en el útero durante el embarazo.²

En el siglo XVII la medicina continuo avanzando y los hombres comenzaron a participar en el campo de la obstetricia, uno de ellos Frenchman Francois

Mariceau, nacido en 1637, fue uno de los promotores que ayudaron a establecerla obstetricia como especialidad, fue el primero en describir sistemáticamente la eclampsia y en notar que las primigestas tenían más riesgo de padecer esta que las multigestas. Mariceau atribuyó las convulsiones a 2 causas: anomalías en los loquios o a la muerte fetal intrauterina. En caso de ausencia de loquios, podían surgir dolor de cabeza, edema, convulsiones, sofoco y muerte. En el caso de muerte fetal intrauterina, un feto muerto retenido desprendía humores cadavéricos, predisponiendo a la mujer a convulsiones.²

Al final del renacimiento el estudio de las convulsiones progreso. Gabelchoverus distinguía entre 4 tipos de epilepsia en 1596, que incluían epilepsia resultante de la cabeza, del estómago, del útero grávido y de las extremidades enfriadas. En 1619 aparecía por primera vez la palabra Eclampsia en el tratado de ginecología de Varandaeus.²

En el siglo XVIII, Boissier de Sauvages distinguió la eclampsia de la epilepsia, junto con esta distinción en la clasificación de la enfermedad, ofreció su punto de vista sobre la causa de las convulsiones, las cuales atribuyo a la liberación del organismo de algún elemento mórbido. Las teorías sobre la causalidad de la enfermedad continuaron siendo propuestas y discutidas a fondo en los tratados de mediados del siglo XIX. En su obra titulada introducción a la práctica de la obstetricia, el doctor Thomas Denman, dirigió su atención en los trabajo de parto afectados por convulsiones. Denman atribuyó las convulsiones a los hábitos de las personas en las grandes ciudades y en los pueblos, aunque el mayor riesgo lo atribuyo al útero. Según Denman a medida que este se expandía, presionaba los vasos sanguíneos descendentes, tal aumento de la presión conducía a la regurgitación de la sangre en el cerebro lo cual se traducía en sobrecarga de los vasos cerebrales y por lo tanto desencadenaba convulsiones. En sus trabajos de 1849: "Parto y principios de la práctica de la obstetricia" El doctor William Tyler Smith desafió la teoría de la congestión cerebral y propuso que en el embarazo se presentaba una hipervolemia y dadas las contracciones uterinas en el segundo periodo de trabajo de parto interferían con la circulación sanguínea y por lo tanto

podían ocasionar convulsiones. En contraste atribuyo las convulsiones del puerperio a otras causas: 1.Estimulo mecánico o emocional, 2.Perdida sanguínea, 3.Variaciones en el viento, temperatura y otros cambios atmosféricos, 4.Irritacion del útero o canal intestinal, 5.Elementos tóxicos. Según esta última teoría, Smith creía que para preservar la salud durante el embarazo se tendrían que eliminar desechos (por ejemplo secreción de los intestinos) y “escombros” de los sistemas materno y fetal. El fracaso en lo anterior resultaba en toxemia en la cual los elementos mórbidos se acumulaban en sangre causando irritación al sistema nervioso central.²

Aunque las investigaciones en el siglo XX no pudieron descubrir con precisión la etiología de la preeclampsia, se avanzó mucho en la comprensión de los cambios fisiopatológicos asociados con su desarrollo. En los años sesenta varios grupos describieron diferencias importantes en la fisiología placentaria en embarazos afectados con preeclampsia respecto a los no afectados por este trastorno. Mediante la biopsia de la placenta se descubrió que las células trofoblasticas no invadían adecuadamente las arterias espirales maternas, las cuales las encontraron con la luz disminuida y distensibilidad disminuida, lo que resulta disminución en el flujo sanguíneo a la placenta y por lo tanto al producto.²

MARCO TEÓRICO:

Los trastornos hipertensivos del embarazo (HDP) representan la complicación más común en el embarazo, afectando aproximadamente el 15% de los embarazos y representan casi el 18% de todas las muertes maternas en el mundo, con un estimado de 62 000 a 77 000 muertes por cada año.³

Tanto la morbilidad y la mortalidad materna se incrementa en paciente con embarazo complicado por preeclampsia y posee implicaciones económicas significativas para la familia de la paciente afectada por la enfermedad y para los servicios de salud.³

La preeclampsia es un trastorno multisistémico cuyos criterios clínicos no han cambiado en la última década: edad gestacional mayor de 20 semanas, presión

arterial mayor de 140/90 mmHg, tira reactiva con 1+ o muestra aislada de orina con 30mg de proteínas en dos muestras de 4 a 6 h. En ausencia de proteinuria, el diagnóstico de preeclampsia podría establecerse cuando la hipertensión gestacional es asociada con síntomas cerebrales persistentes, epigastralgia o dolor en cuadrante superior derecho con náusea o vómito o bien trombocitopenia con alteraciones en las concentraciones de enzimas hepáticas. En todo el mundo causa 10 a 15% de las muertes maternas, algunas fuentes epidemiológicas reportan hipótesis causales inmunológicas, trombóticas, genéticas, mala adaptación placentaria y estrés oxidativo.³

Los desórdenes hipertensivos en el embarazo pueden ser clasificados como:

- a) Hipertensión Preexistente con condiciones comorbidas con evidencia de preeclampsia.
- b) Hipertensión gestacional Con condición comorbida con evidencia de preeclampsia.
- c) Preeclampsia.
- d) Otras formas hipertensivas: hipertensión transitoria, hipertensión de bata blanca
- e) Hipertensión enmascarada.

En la actualidad el Colegio Americano de Ginecólogos y Obstetras (ACOG) integra a la preeclampsia con y sin características de severidad, lo que anteriormente se conocía como preeclampsia leve y severa (American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Task Force on Hypertension in Pregnancy, 2013), y es recomendable que en la mujer con embarazo y trastorno hipertensivo, sea clasificada la presencia o ausencia de características de severidad de acuerdo a los criterios establecidos por el Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos.³

El espectro clínico de la preeclampsia varía desde una forma leve a severa. En la mayoría de las mujeres, la progresión a través de este espectro es lenta, y el

diagnóstico de preeclampsia sin datos de severidad debe ser interpretado como una fase de la enfermedad. En otros, la enfermedad progresa más rápidamente, cambiando de a una forma con datos de severidad en días o semanas. En los casos más graves, la progresión puede ser fulminante, con evolución a eclampsia en cuestión de días o incluso horas. Por lo tanto, el objetivo más importante es la prevención de la morbilidad materna y perinatal.³

Por cada mujer que muere, se estima que otras 20 pacientes pueden sufrir morbilidad severa o discapacidad (un incremento en el riesgo enfermedad cardiovascular y diabetes tipo 2. La proporción de las mujeres que sobreviven a complicaciones maternas graves por preeclampsia (también llamados casos “casi”) ha sido propuesto como un indicador útil para la evaluación de la calidad de la atención y su salud materna determinantes. Esta enfermedad puede amenazar la vida e incrementar la morbilidad y mortalidad materna y fetal, con riesgo a siete años de hipertensión y microalbuminuria de 20%.³

El manejo de la preeclampsia y sus complicaciones hace necesario un abordaje sistematizado desde el período preconcepcional, las etapas tempranas del embarazo y cuando la enfermedad se manifiesta de forma clínica, para disminuir la morbilidad y mortalidad tanto materna como fetal.³

1. Preeclampsia: Es el estado que se caracteriza por la presencia de hipertensión y proteinuria significativa, lo que ocurre por primera vez después de la semana 20 del embarazo, durante el parto o en el puerperio. También es preeclampsia cuando existe hipertensión en el embarazo y un criterio de severidad aun cuando no haya proteinuria demostrada en un primer momento. (Hernández-Pacheco JA, 2013) Preeclampsia severa o preeclampsia con criterios de severidad: Es la preeclampsia con uno o más de los siguientes criterios: Síntomas maternos: cefalea persistente o de *novo*; alteraciones visuales ó cerebrales; epigastralgia o dolor en hipocondrio derecho; dolor torácico o disnea, signos de disfunción orgánica, y en caso de hipertensión severa (sistólica ≥ 160 y/ó diastólica ≥ 110 mm Hg); edema agudo pulmonar o sospecha de desprendimiento placentario.

Alteraciones de laboratorio: Elevación de creatinina sérica (> 1.1 mg/dL), incremento de AST o ALT (> 70 IU/L) o deshidrogenasa láctica; disminución de plaquetas $< 100,000$ /milímetro cubico.³

2. Síndrome HELLP: Denominación en inglés (Hemólisis, Enzimas hepáticas elevadas y Plaquetas bajas) es una presentación particular de la preeclampsia severa.³

3. Hipertensión arterial crónica en el embarazo: es la hipertensión que está presente antes del embarazo o que es diagnosticada antes de las 20 semanas de gestación. De acuerdo la etiología puede ser primaria o secundaria. Cuando se diagnostica hipertensión arterial secundaria durante el embarazo deberá determinarse la etiología (enfermedad renovascular, enfermedad de Cushing, etc.) en la medida de lo posible.³

4. Hipertensión gestacional: hipertensión que se presenta por primera vez posterior a las 20 semanas de gestación con ausencia proteinuria demostrada por recolección de orina de 24 horas o por cociente proteínas/creatinina urinaria en una muestra al azar.³

La respuesta a proteínas mal conformadas es una vía de señalización intracelular que se activa por la acumulación de proteínas mal conformadas en el retículo endoplásmico. La respuesta a proteínas mal conformadas dispara una extensa respuesta de transcripción, la cual ajusta la capacidad del retículo endoplásmico para conformar proteínas de acuerdo a las necesidades. Como tal la respuesta a proteínas mal conformadas constituye un paradigma de un mecanismo de control intracelular que ajusta la disposición de organelas en respuesta al ambiente. La activación de esta vía involucra la activación de sensores de proteínas mal conformadas del retículo endoplásmico que operan en circuitos paralelos para transmitir la información a través de la membrana del retículo endoplásmico, activando un conjunto de factores de transmisión en cascada, por mecanismos que son inusuales y hasta rudimentarios presentes aun en células eucariotas. Resultados recientes se enfocan en los mecanismos en los cuales las señales de

proteínas mal conformadas son retransmitidas e integradas a restablecer la homeostasis en la capacidad de plegamiento de la célula, y si esta no se recupera, programarla para la apoptosis.⁴

Todas las nuevas proteínas sintetizadas, necesitan plegarse apropiadamente y localizar su apropiado compartimento dentro de la célula. En las células eucariotas las proteínas de la membrana plasmática primero entran a la vía secretora por translocación al retículo endoplásmico. Las proteínas de dominio transmembrana entran al retículo endoplásmico a través de translocación como cadenas de polipéptidos los cuales son plegados en la luz de esta organela. El plegamiento de las proteínas en el retículo endoplásmico es facilitado por los residentes chaperones del retículo endoplásmico, los cuales impiden que las nuevas proteínas se agreguen y en su lugar las conduzcan a realizar su adecuado plegamiento. Los restos de carbohidratos unidos a asparagina se añaden a muchas proteínas que ingresan al retículo endoplásmico, y el procesamiento selectivo del carbohidrato sirve como una señal del estado del plegamiento de la proteína. En relación con el citosol, el retículo endoplásmico tiene un ambiente oxidante, que facilita la formación de enlaces disulfuro en las proteínas maduras, lo cual le da una estabilidad adicional a la proteínas maduras. Para que las proteínas secretadas y transmembrana puedan transitar a través de la vía secretora, primero tienen que completar un adecuado plegamiento en el retículo endoplásmico. Este constituye por lo tanto una fábrica de plegado de proteínas que impone un estricto control de calidad a sus productos, garantizando que solo las proteínas funcionales se entreguen a sus destinos finales. Debido a que muchas proteínas de la superficie de la célula transmiten señales importantes que determinan el destino de la célula, (es decir si es: diferenciarse, dividirse, emigrar o morir) es fácil apreciar porque la fidelidad a los mecanismos de estos componentes es vital para la salud de un organismo.⁴

La carga de proteínas depositadas en el retículo endoplásmico varía entre los diferentes tipos de células y durante la vida de esta. Los procesos de desarrollo, la progresión del ciclo celular y cambios en el ambiente pueden afectar la cantidad y

los tipos de proteínas que necesitan ser plegadas en el retículo endoplásmico. Así, durante su vida, las células frecuentemente enfrentan situaciones que ocasionan aumento en la demanda de la capacidad del retículo endoplásmico para plegar proteínas, lo cual se traduce en estrés para esta organela. El estrés del retículo endoplásmico puede surgir transitoriamente como una expresión génica de la célula en respuesta a cambios en las señales extracelulares, o puede ser permanente en células portadores de mutaciones que interfieren con la maduración apropiada de proteínas secretoras de la membrana.⁴

En algunos trastornos genéticos humanos, las mutaciones en algunos de sus genes codifican para reducir los niveles de proteínas de secretoras y de membrana; ya que el plegamiento inadecuado en el retículo endoplásmico previene su salida de este compartimento. Por ejemplo, la variante Z de alfa 1 antitripsina es una proteína mutante plegada que se retiene en el retículo endoplásmico del hepatocito, reduciendo sus niveles en el pulmón, donde normalmente realiza sus funciones. El estrés en el retículo endoplásmico puede ser ocasionado por factores ambientales, entre los cuales se incluyen: ausencia de nutrientes para la célula; anoxia e isquemia; infección por virus; y el calor que desnaturaliza proteínas. En todos estos casos, la capacidad de plegamiento de las proteínas de la organela es alterada, y la célula entera necesita adaptarse a su nueva condición.⁴

Para hacer frente y adaptarse al estrés del retículo endoplásmico, una vía intracelular de transducción de señal que va del retículo endoplásmico al núcleo celular, evoluciono para adaptar dinámicamente la capacidad de plegado de proteína del retículo endoplásmico. Esta vía denominada: respuesta a proteínas mal conformadas, aumenta los componentes del retículo endoplásmico como los chaperones y enzimas modificadoras de proteínas necesarios para plegar adecuadamente las proteínas. La respuesta a proteínas mal conformadas también disminuye la traducción y la carga de proteínas en el retículo endoplásmico y mejora la orientación de las proteínas mal conformadas para su degradación. Para este fin, los polipéptidos mal conformados no recuperables, son regresados al

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

citosol para ser degradados. Si la homeostasis no se restablece aun después de activarse la respuesta a proteínas mal conformadas y esta permanece activa por un tiempo prolongado, la célula se dirige a la apoptosis. Así, las células con riesgo de proteínas funcionando inadecuadamente en su superficie son eliminadas activamente de un organismo.⁴

Los componentes de señalización que median la respuesta a proteínas mal conformadas se descubrieron por primera vez en la levadura *Saccharomyces cerevisiae* hace más de una década. Los dos principales componentes de la vía son: un sensor de proteínas mal conformadas en la membrana del retículo endoplásmico (la proteína transmembrana Ire1) y un efector activador de la transcripción Hac1. La transcripción del Hac1 disminuye el estrés del retículo endoplásmico al expandir este último y aumentando la capacidad de para el plegamiento de las proteínas. La comprensión inicial de la respuesta a proteínas mal conformadas fue la de una vía de retroalimentación simple: aumento de proteínas mal conformadas → activación de Ire1 → producción de Hac1 → activación de los genes blanco de respuesta a proteínas mal conformadas → disminución de proteínas mal conformadas. Posteriormente, como la respuesta a proteínas mal conformadas se encontró en las levaduras, se confirmó su presencia en los metazoarios, lo que deja claro que esta respuesta en células eucariotas más desarrolladas contiene circuitos paralelos y cruzados, sugiriendo que la respuesta a proteínas mal conformadas es una red de señalización que integra información transmitida a través de sensores de estas proteínas y sus efectores en cascada.⁴

La respuesta a proteínas mal conformadas opera como un circuito de control homeostático que regula el plegamiento de las proteínas y la capacidad de secreción de la célula de acuerdo a las necesidades. En el núcleo, este circuito tiene una colección de mecanismos que tienen como objetivo aumentar el tamaño y la capacidad de todo el aparato secretor de la célula. El control de la transcripción de la respuesta a proteínas mal conformadas es ejercido por la

acción combinada de un conjunto de factores de transcripción cuya composición cualitativa y concentración son controladas por las condiciones del retículo endoplásmico.⁴

Actualmente, tres ramas primarias de la respuesta a proteínas mal conformadas han sido descritas, cada una constituye una vía única de factores de transcripción para la ejecución de una respuesta.⁴

Figura 1.

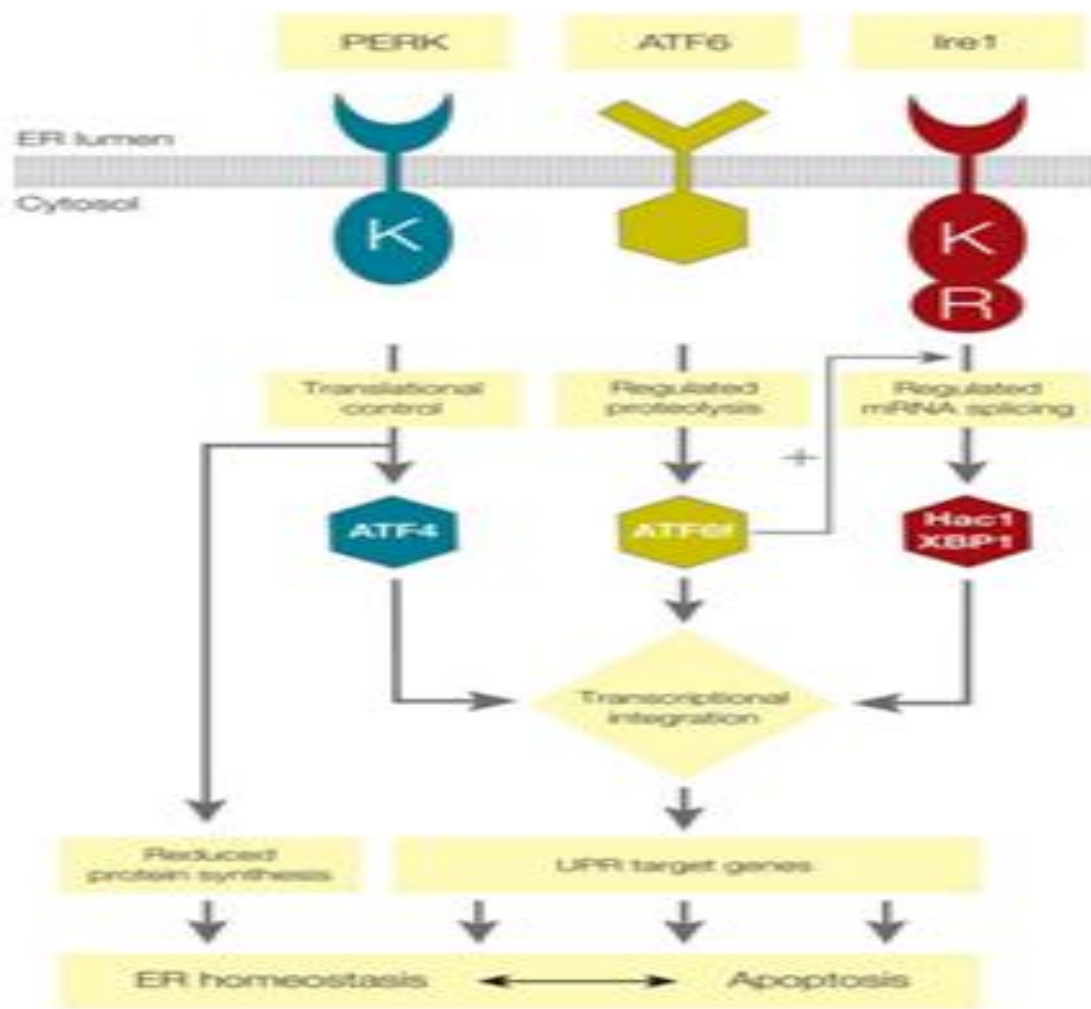


Figura 1. Las tres ramas de la respuesta a proteínas mal conformadas en metazoarios. Son los tres tipos de transductores de estrés del retículo

endoplasmico: PERK, ATF6, e Ire1 detectan los niveles de proteínas mal conformadas en el lumen del retículo endoplasmico y comunican esta información a través de la membrana para activar el factor de transcripción bZip, regulando proteólisis, y regulando ARNm, si las proteínas no pueden ser conformadas adecuadamente someten a las células a la apoptosis.⁴

Se ha establecido que el factor de crecimiento placentario sérico (PIGF) disminuye, y la tirosin-cinasa soluble similar a fms (sFlt-1) aumenta en mujeres con preeclampsia. Tanto las mujeres con preeclampsia temprana como aquellas con preeclampsia tardía mostraron una disminución del PIGF y un aumento de los niveles de sFlt-1 en comparación con los controles en pacientes normotensas a las 28 y 37 semanas. Sin embargo, aquellas con preeclampsia de inicio temprano tuvieron una incidencia más alta de PIGF bajo, y un alto sFlt-1, que aquellas con inicio tardío. Antes del inicio de la preeclampsia, la tasa de incidencia de PIGF bajo en las mujeres con preeclampsia de inicio temprano estuvo presente el 100% de los casos, mientras que en las mujeres con preeclampsia de inicio tardío era del 0%. Por lo tanto, las alteraciones en los niveles de PIGF tanto antes como después del inicio de la preeclampsia pueden ser más pronunciadas en las mujeres con inicio temprano que aquellas con preeclampsia severa de inicio tardío.⁵

En la preeclampsia de inicio precoz, la concentración placentaria media de 8-iso-prostaglandina (PG) -F2alfa fue mayor y la relación PAI-1 a PAI-2 mayor que en los controles tempranos. Estos valores no difirieron entre mujeres con preeclampsia tardía y sus controles correspondientes. Las concentraciones séricas de 8-iso-PGF2alfa y las vitaminas C y E no difirieron entre los casos y los controles. La preeclampsia temprana se asocia con un aumento del estrés oxidativo placentario y un aumento de la relación PAI-1 a PAI-2, lo cual no es el caso de la preeclampsia tardía.⁶

Las tasas de arteriopatía decidual, infarto central de la placenta e hipermadurez de vellosidades son mayores cuando se produce el nacimiento a una menor edad gestacional en pacientes con diagnóstico de preeclampsia.⁷

Las placentas de mujeres con preeclampsia antes de las 34 semanas de gestación fueron significativamente diferentes de las que presentaban preeclampsia a término. El primer grupo demostró hallazgos placentarios predominantemente consistentes con insuficiencia debido a anomalías vasculares. Dichos hallazgos placentarios diferentes respaldan la hipótesis de que la preeclampsia es una enfermedad diferente, según la edad gestacional en el momento del diagnóstico.⁸

Las placentas de preeclampsia de comienzo temprano y tardío mostraron claras diferencias histopatológicas, mientras que la preeclampsia de inicio tardío y las placentas normales a término difirieron menos. Estos hallazgos apoyan el argumento de que la preeclampsia de inicio temprano y tardío son diferentes subclases de la enfermedad.⁹

ANTECEDENTES:

Basado en la edad gestacional al diagnóstico o en el parto, la preeclampsia es comúnmente dividida en preeclampsia temprana y tardía antes y después de las 34 semanas. Recientemente se ha propuesto la diferenciación entre causas placentarias y maternas de este padecimiento, siendo más frecuentemente asociadas las causas placentarias con preeclampsia temprana y con restricción del crecimiento intrauterino. Se observó en un estudio realizado en Reino Unido, la activación de proteínas mal conformadas tales como: P-IRE1a, ATF6, XBP-1, GRP78, GRP94, P-p38 y HSP70, las cuales estuvieron significativamente más elevadas en placentas de pacientes con preeclampsia temprana que en las placentas de pacientes con preeclampsia tardía y en las placentas de pacientes con embarazo normoevolutivo, con una clara diferencia en la semana 34. Las

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

pacientes de los últimos 2 grupos (preeclampsia tardía y embarazo normoevolutivo), no presentaron ninguna diferencia. Los niveles de proteínas mal conformadas fueron similares entre los grupos control del segundo trimestre y a término, pero fueron significativamente más elevadas en controles pretermino con partos vaginales en pacientes con diagnóstico de coriamnionitis y otras condiciones. Estos hallazgos proveen evidencia de que el estrés placentario puede contribuir a la fisiopatología de la preeclampsia temprana, mientras que es poco probable que sea la causa de la forma tardía de este síndrome.¹⁰

La preeclampsia está asociada con el desarrollo de novo de hipertensión, proteinuria, disfunción hepática y otras alteraciones; presentándose después de la semana 20 de gestación. La etiología del síndrome sigue siendo difícil de determinar aunque es extensamente reconocido que la placenta es una causa necesaria y suficiente. Sin embargo, la presencia de diferencias en la presentación clínica indica heterogeneidad en la fisiopatología. Por lo tanto se han realizado intentos para clasificar el síndrome en distintos subgrupos. Se han propuesto varios esquemas y uno de los más comunes es dividir los casos en inicio temprano y tardío, de acuerdo con la edad gestacional en el momento del diagnóstico. La mayoría de los casos (75%) se presenta tardíamente, usualmente utilizando como punto de corte aquellos que se presentan después de la semana 34 de la gestación. De estas 2 formas, la temprana es a menudo considerada la más severa, y está asociada a una mayor tasa de restricción del crecimiento intrauterino (RCIU) y riesgo de complicaciones cardiovasculares maternas después del nacimiento. Además, existe una mayor prevalencia de lesiones placentarias que indican malperfusión materna, lo cual se confirmó por un estudio realizado con resonancia magnética.¹⁰

En vista de estas diferencias, se ha propuesto que la preeclampsia puede ser clasificada según la base de la fisiopatología en causas placentarias y maternas. En el primero de los casos, se postula que la malperfusión produce estrés placentario y la liberación de citoquinas y reguladores angiogénicos que causan la

activación de las células endoteliales maternas. En el segundo, se cree que se alcanza la misma etapa final debido a una sensibilidad endotelial materna exagerada predisponente a factores que emanan de una placenta relativamente normal o excesivamente grande.¹⁰

Un principio importante en el que se basa esta última clasificación es que el embarazo normal es un estado proinflamatorio, con la activación de las células inmunes circulantes y el estrés oxidativo sistémico aumentando a medida que la gestación avanza. Por lo tanto, la preeclampsia "materna" puede ser simplemente el resultado de una respuesta materna excesiva hacia la inflamación existente. Este argumento es respaldado por la acumulación de evidencia de que las mujeres que sufren de inflamación sistémica crónica, debido a enfermedades tales como enfermedad renal, enfermedades autoinmunes o síndrome metabólico, tienen un mayor riesgo de desarrollar preeclampsia a término. Además, hay poca evidencia de perfusión uterina anormal o patología placentaria en los casos que se presentan hacia el término. Por el contrario, en la preeclampsia "placentaria" se acepta ampliamente que existe una remodelación deficiente de las arterias espirales maternas, como lo indican las formas de onda Doppler de la arteria uterina anormales. Se predice que la remodelación deficiente dará como resultado flujo sanguíneo materno intermitente a alta velocidad dentro del espacio intervelloso, que puede inducir estrés oxidativo placentario a través de altas tasas de cizallamiento y un tipo de lesión por isquemia-hipoxia-reperfusión. El estrés oxidativo de la placenta causa la liberación de factores anti-angiogénicos en la circulación materna y los niveles de factores anti-angiogénicos, como sFlt1, en la circulación materna durante el segundo trimestre del embarazo están fuertemente correlacionados positivamente con el momento del inicio del síndrome.¹⁰

La isquemia-hipoxia-reperfusión es un fuerte inductor del estrés oxidativo y también activa el estrés del retículo endoplásmico (RE). El retículo endoplásmico es el sitio de la biosíntesis de hormonas polipeptídicas, factores de crecimiento y proteínas de la membrana plasmática y su modificación postraducciona. La

manipulación genética del estrés del retículo endoplásmico causa insuficiencia placentaria, que a su vez restringe el desarrollo y crecimiento del feto. La acumulación de proteínas mal conformadas activa las vías de respuesta al estrés retículo endoplásmico. La respuesta a proteínas mal conformadas comprende tres vías de señalización altamente conservadas: la primera es la vía PERK-eIF2 α , que atenúa la síntesis de proteínas no esenciales; la segunda es: las rutas ATF6 e IRE1-XBP1, que aumentan la capacidad de plegamiento mediante la regulación positiva de los chaperones: ER GRP78 y GRP94; y la tercera es la biosíntesis de fosfolípidos. Además, la vía de degradación de la proteína asociada al retículo endoplásmico (ERAD) facilita la degradación de las proteínas. Recientemente se ha demostrado la activación de las vías de estrés del retículo endoplásmico en placentas a partir de casos de restricción del crecimiento intrauterino, con una mayor activación en aquellos complicados con preeclampsia.¹⁰

Existe evidencia de que las respuestas de estrés placentario apoyan el concepto de que la causalidad de la preeclampsia de inicio temprano está relacionada con la patología placentaria, mientras que la preeclampsia de inicio tardío está predominantemente asociada a otros factores, como los síndromes metabólicos maternos o sensibilidad endotelial. De acuerdo a los hallazgos previos de estrés oxidativo en el retículo endoplásmico de las placentas de pacientes con restricción del crecimiento intrauterino y preeclampsia, se examinaron los niveles de activación de las rutas de respuesta a proteínas mal conformadas y otras vías de señalización de estrés comunes, incluidas las vías de señalización de estrés AMPK α , p38-JNK y proteínas de choque térmico citosólico (HSP) en placentas de pacientes con eclampsia a edades gestacionales de 24-39 semanas. Para determinar el estímulo requerido para generar cambios equivalentes in vitro, se expusieron células de coriocarcinoma humano a diferentes grados de hipoxia-reoxigenación o tratamiento con citoquinas proinflamatorias.¹⁰

En un estudio realizado en la Universidad de Cambridge, Reino Unido, se utilizaron veinticuatro muestras placentarias de embarazos con preeclampsia de edad gestacional en el rango de 24-39 semanas en el momento del parto, ocho

controles de pacientes normotensas a término y siete placentas de embarazo pretérmino con otras condiciones obstétricas.¹⁰

Tabla 1. ¹⁰ Parámetros clínicos registrados para las 24 muestras de placentas de pacientes con preeclampsia, 8 placentas de pacientes normotensas a término y siete muestras placentarias de "control" pretérmino utilizadas en el estudio.

Tabla 1.

	<34 weeks PE (n = 15)	>34 weeks PE (n = 9)	Term control (n = 8)	*Pre-term control (n = 7)	p (<0.05)
Parameter	1	2	3	4	
Gestational age (weeks)	31.9 ± 3.1	37.2 ± 1.7	39 ± 0.8	29 ± 2.9	1 vs 2; 1 vs 3; 2 vs 4; 3 vs 4;
Maternal age (years)	31.1 ± 4.4	32.6 ± 5.3	32.8 ± 6.2	29.1 ± 6	n.s.
BMI	27.3 ± 5.1	26.1 ± 7.3	24.5 ± 4.7	20.5 ± 8	1 vs 4
BP systolic	164.6 ± 16.2	146 ± 11.8	118.3 ± 8.4	112.9 ± 11	1 vs 3; 1 vs 4
BP diastolic	99.6 ± 6.6	95.9 ± 11.6	73.6 ± 11.4	72.3 ± 11.4	1 vs 3; 1 vs 4; 2 vs 3; 2 vs 4
Fetal weight (g)	992 ± 345	2828 ± 741	3960 ± 651	1430 ± 670	1 vs 2; 1 vs 3; 3 vs 4
Placental weight (g)	260 ± 119	605 ± 331	679 ± 69	257 ± 66	1 vs 2; 1 vs 3; 2 vs 4; 3 vs 4

En el estudio previamente mencionado se demostró un alto grado de estrés en el retículo endoplásmico en las placentas con restricción del crecimiento intrauterino, y esto fue más pronunciado en los casos que la restricción del crecimiento se asoció con preeclampsia. La severidad del estrés del retículo endoplásmico se puede aducir directamente a partir de alteraciones en las vías de respuesta de proteínas mal conformadas, incluidos los cambios en la fosforilación, aumentos en la abundancia de proteína chaperona del retículo endoplásmico y escisión de

proteínas y ARNm. Por lo tanto, se investigó la fosforilación de eIF2 α e IRE1 α , la escisión de ATF6 [ATF6 (p50)] y los niveles de GRP78, GRP94 y XBP-1. La comparación de estos marcadores reveló un aumento significativo de la activación de las vías de respuesta de proteínas mal conformadas en las placentas con preeclampsia temprana, con ATF6 elevado (p50), P-IRE1 α , XBP-1, GRP78 y GRP94 en comparación con la preeclampsia tardía y el control con placentas de pacientes normotensas. No se observó ninguna diferencia en la activación de las vías entre las placentas de pacientes con preeclampsia tardía y los controles de término de pacientes normotensas. El análisis ultraestructural reveló la dilatación de las cisternas del retículo endoplásmico en los casos de preeclampsia temprana, pero no en la tardía, o en las pacientes con embarazo normoevolutivo lo que indica pérdida de la homeostasis del retículo endoplásmico solo en el primer caso.¹⁰

Existen informes contradictorios con respecto a la activación de otras vías de señalización de estrés placentario en preeclampsia. Sin embargo, estos estudios solo han comparado muestras de preeclampsia de inicio temprano o tardío con embarazos de pacientes normotensas. En el estudio realizado en Cambridge examinaron los cambios en estas vías de estrés en relación con la edad gestacional en el momento del parto. Se realizó un análisis de conglomerados utilizando todos los datos, se agruparon en dos ramas principales, una que contiene todas las muestras de placentas con preeclampsia temprana y dos casos de preeclampsia tardía (35 y 37 semanas), mientras que la otra contiene todas las muestras de placentas con preeclampsia tardía y todas las muestras de placentas con embarazo normoevolutivo. Estos resultados demuestran claramente que las placentas de preeclampsia temprana sufren un alto grado de estrés fisiológico y celular, mientras que, en contraste, estas vías de estrés no se activan en las placentas de preeclampsia tardía, las cuales son indistinguibles de las placentas con embarazo normoevolutivo.¹⁰

Figura 1.

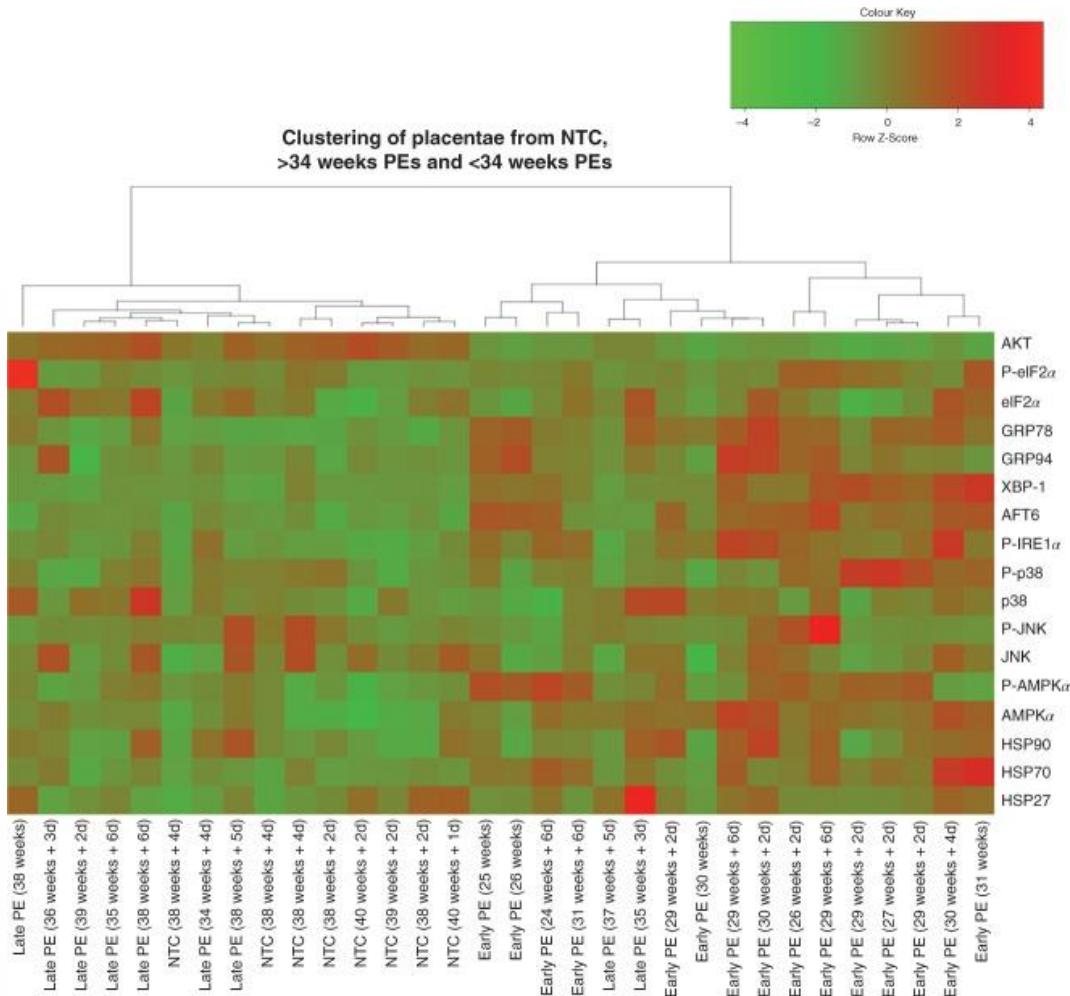


Figura 1. Placentas del grupo de preeclampsia temprana, separadas de los otros grupos (preeclampsia tardía y pacientes normotensas). Basado en los niveles de respuesta al estrés de las proteínas. Análisis de grupo con Western- Blot.¹⁰

En cuanto a la activación de las rutas de respuesta a proteínas mal conformadas entre las placentas del segundo trimestre y placentas de embarazos a término normoevolutivo, no se observaron diferencias. Por el contrario, P-eIF2 α , eIF2 α , XBP-1 y GRP78 aumentaron significativamente en placentas nacimiento pretermino sin preeclampsia, mientras que GRP94 disminuyó. Estos resultados indican que es improbable que los niveles de estrés del retículo endoplásmico se alteren sustancialmente durante el desarrollo normal de la placenta, mientras que

las placentas de nacimientos prematuros patológicas si sufren de estrés del retículo endoplásmico.¹⁰

Figura 2.

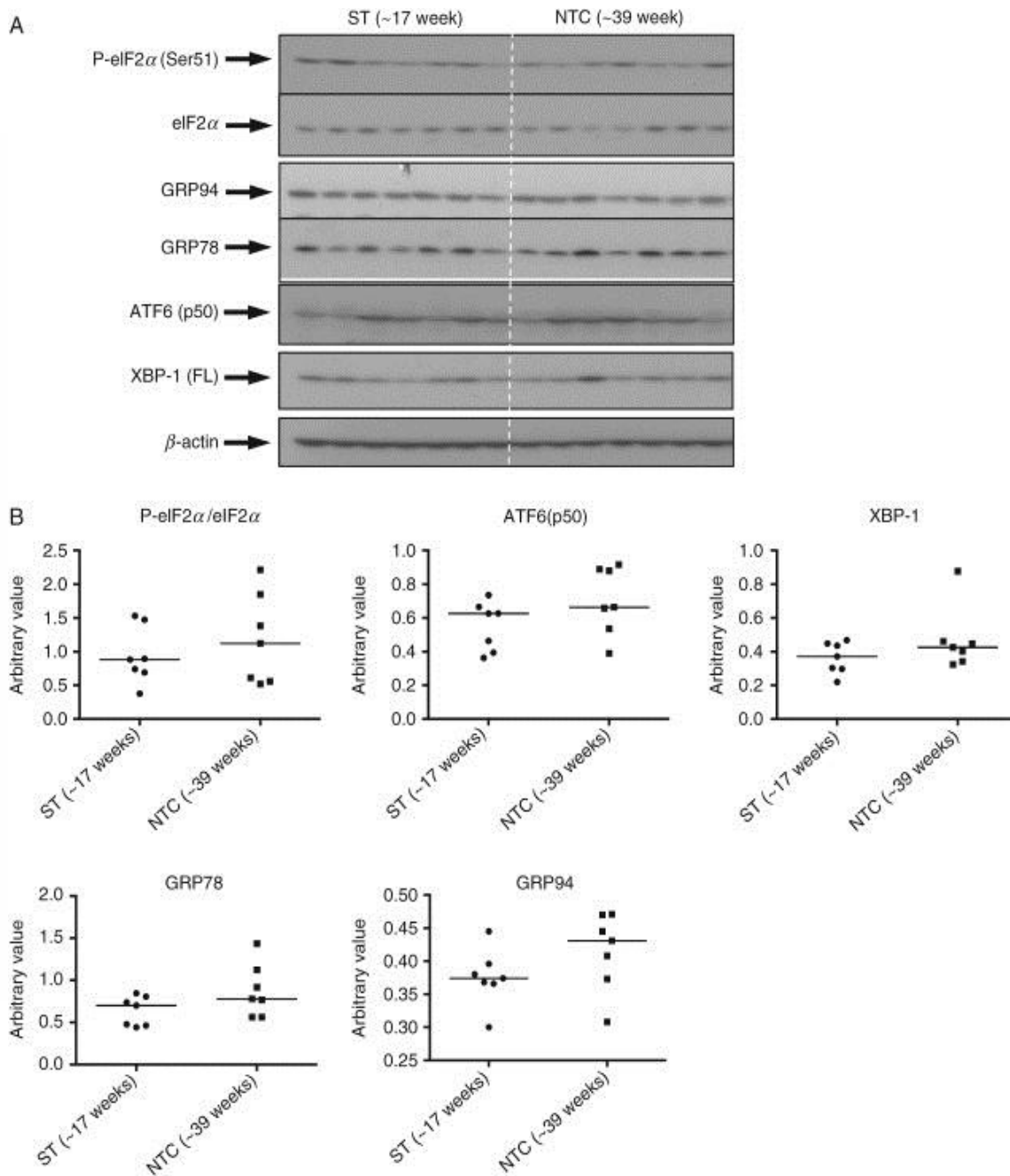
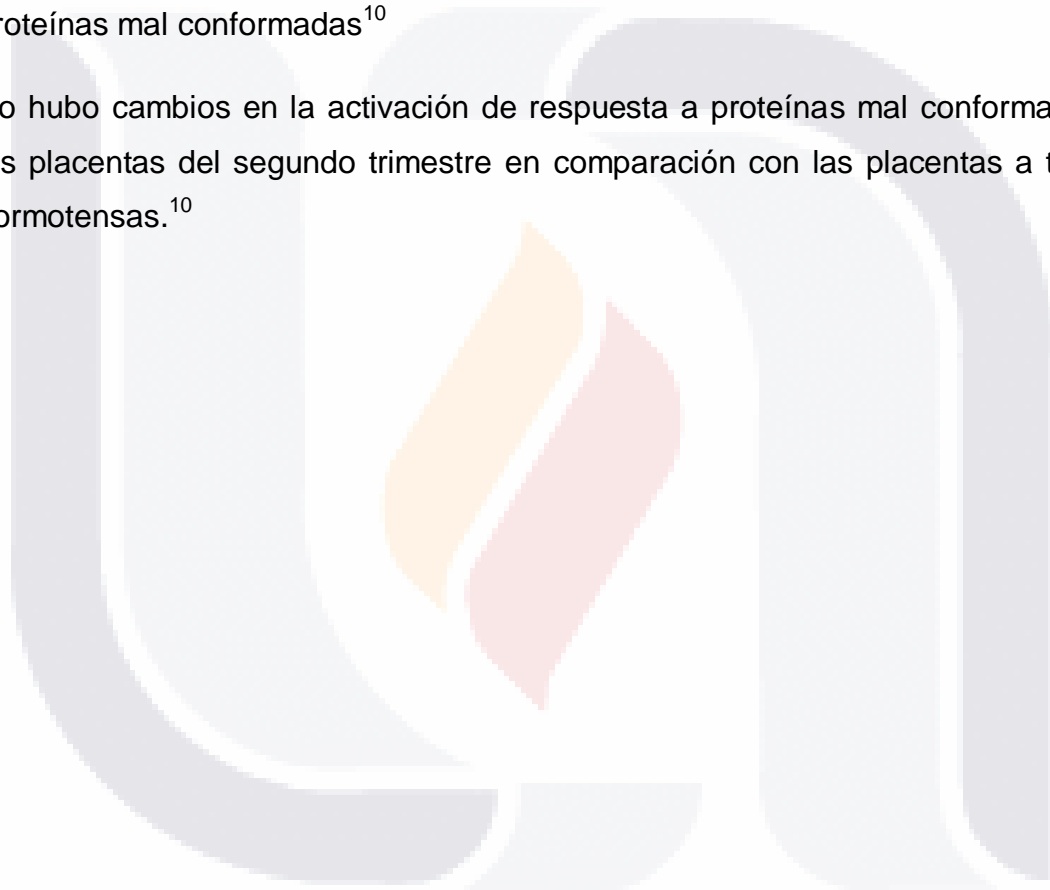


Figura 2. Sin cambios en la activación de la respuesta a proteínas mal conformadas en el segundo trimestre comparado con las placentas de pacientes

normotensas a término. (A) Lisado de tejidos de siete placentas del segundo trimestre y siete placentas de pacientes normotensas a término que se probaron con anticuerpos contra marcadores de estrés del retículo endoplásmico. (B) la intensidad de las bandas se cuantifico y normalizo con beta-actina; el estado de fosforilación es presentado como la proporción entre proteínas fosforiladas y totales, los datos son la mediana para los grupos de siete placentas; no se observaron cambios significativos en la vía de señalización de la respuesta a proteínas mal conformadas¹⁰

No hubo cambios en la activación de respuesta a proteínas mal conformadas en las placentas del segundo trimestre en comparación con las placentas a término normotensas.¹⁰



JUSTIFICACION Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Hay cambios en la respuesta a proteínas mal conformadas en placentas de pacientes con preeclampsia?

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar si existen cambios en la respuesta a proteínas mal conformadas en placentas de pacientes con preeclampsia.

Objetivos específicos

1. Detectar pacientes con embarazo normoevolutivo, y pacientes con preeclampsia que cumpla con criterios de inclusión.
2. Evaluar la expresión de GRP78 en placentas de mujeres con embarazo normoevolutivo, preeclampsia temprana y preeclampsia tardía.
3. Evaluar la activación de ATF6 en placentas de mujeres con embarazo normoevolutivo, preeclampsia temprana y preeclampsia tardía.

HIPÓTESIS

En la placenta de mujeres con preeclampsia existen cambios en la respuesta a proteínas mal conformadas.

MATERIAL, PACIENTES Y METODOS

TIPOS Y DISEÑO DEL ESTUDIO:

- Prospectivo, observacional, transversal analítico.

POBLACIÓN DEL ESTUDIO:

Placentas de pacientes con embarazo normoevolutivo a término, pretérmino no asociado a trastorno hipertensivo del embarazo, y/o con diagnóstico de

preeclampsia temprana y tardía atendidas en el Hospital de la Mujer de Aguascalientes.

MUESTREO:

20 placentas en total:

- 5 placentas de embarazo normoevolutivo a término.
- 5 placentas de embarazo con nacimiento pretermino.
- 5 placentas de pacientes con preeclampsia temprana.
- 5 placentas de paciente con preeclampsia tardía.

Solución que se utilizó para el estudio de las placentas: Formaldehido.

Sitio de toma: cotiledones periumbilicales.

OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Dependiente: Expresión de GRP78 y ATF6

Independiente: Preeclampsia temprana, preeclampsia tardía.

Otras variables:

- **Antropométricas:** Peso, talla, edad.
- **Obstétricas:** Edad gestacional, numero de gesta, partos, aborto, antecedente de óbito, antecedente de preeclampsia.
- **Signos:** tensión arterial sistólica al ingreso, tensión arterial diastólica al ingreso, tensión arterial sistólica al momento del diagnóstico, tensión arterial diastólica al momento del diagnóstico, edema, reflejos osteotendinosos.
- **Síntomas:** cefalea, acufenos, fosfenos, epigastralgia.

- **Laboratorio:** hemoglobina, plaquetas, creatinina, ácido úrico, albumina, deshidrogenasa láctica, aspartato aminotransferasa, alanino aminotransferasa, bilirrubina directa, bilirrubina indirecta, bilirrubina total, proteinuria tira, proteinuria de 24 horas.
- **Severidad de la preeclampsia:** leve, severa.
- **Complicaciones de la preeclampsia:** eclampsia, síndrome de HELLP.
- **Muerte materna y causa de muerte.**

CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de inclusión:

- Pacientes con diagnóstico de preeclampsia temprana, preeclampsia tardía y con embarazo normoevolutivo a término y pretermino.
- Pacientes que acepten donar un cotiledón placenta y participar en el estudio mediante firma de carta consentimiento bajo información.

Criterios de no inclusión:

- Pacientes con antecedente personal de diabetes mellitus, hipertensión, nefropatía, tabaquismo, enfermedades autoinmunes, infección por VIH.

Criterios de eliminación:

- Pacientes con muestra de placenta insuficiente o inadecuada.
- Casos en que se degrade el RNA genómico o se pierda la muestra durante el procesamiento o los experimentos.

RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

Instrumentos. No aplica.

Logística.

1. Se identificaron pacientes con embarazo normoevolutivo a término, con embarazo pretermino no asociado a trastorno hipertensivo del embarazo, con diagnóstico de preeclampsia temprana (antes de las 34 semanas de gestación) o

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

tardía (después de las 34 semanas de gestación), que fueron ingresadas a tococirugía del Hospital de la Mujer de Aguascalientes para la resolución del embarazo.

2. Se invitó a la paciente o a su familiar responsable a participar en el estudio, explicando las ventajas, riesgos y beneficios.

3. De quienes aceptaron participar se solicitó información clínica y tras el alumbramiento se obtuvo un cotiledón periumbilical para el análisis de la respuesta a proteínas mal conformadas.

4. Un cotiledón fue colocado en formalina neutra al 10% para realizar un análisis de expresión de proteínas por inmunofluorescencia.

6. Finalmente, se realizó el análisis de la información y se presentan los resultados de la tesis.

Consideraciones éticas.

Este estudio se adapta a los principios científicos y éticos que justifican la investigación médica, en especial al que si se refiere a una posible contribución para solución de problemas de salud y/o desarrollo de la ciencia médica; de acuerdo al título quinto referente a Investigación para la Salud, establecido en el artículo 100 de la Ley General de Salud, respetando la confidencialidad de las pacientes, resguardo de datos por ley, sin exposición a daños innecesarios.

Recursos humanos.

Médico residente que elabora el proyecto, asesor temático, asesor metodológico, investigadores clínicos y de laboratorio.

Recursos materiales.

- Formaldehído al 10%.

- Medio Tissue-Tek.
- Suero bovino al 10%.
- Tritón X-100 al 0.5%.
- Anticuerpos contra GRP78.
- Anticuerpos contra pIRE1.
- Anticuerpos contra ATF6.
- Anticuerpo dirigido a IgG de conejo.
- Medio para fluorescencia que contiene DAPI.
- Microscopio de epifluorescencia.

Recursos financieros.

Se utilizaron recursos asignados al proyecto PIBB17-9, de la Universidad Autónoma de Aguascalientes.

DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA.

Obtención del material biológico.

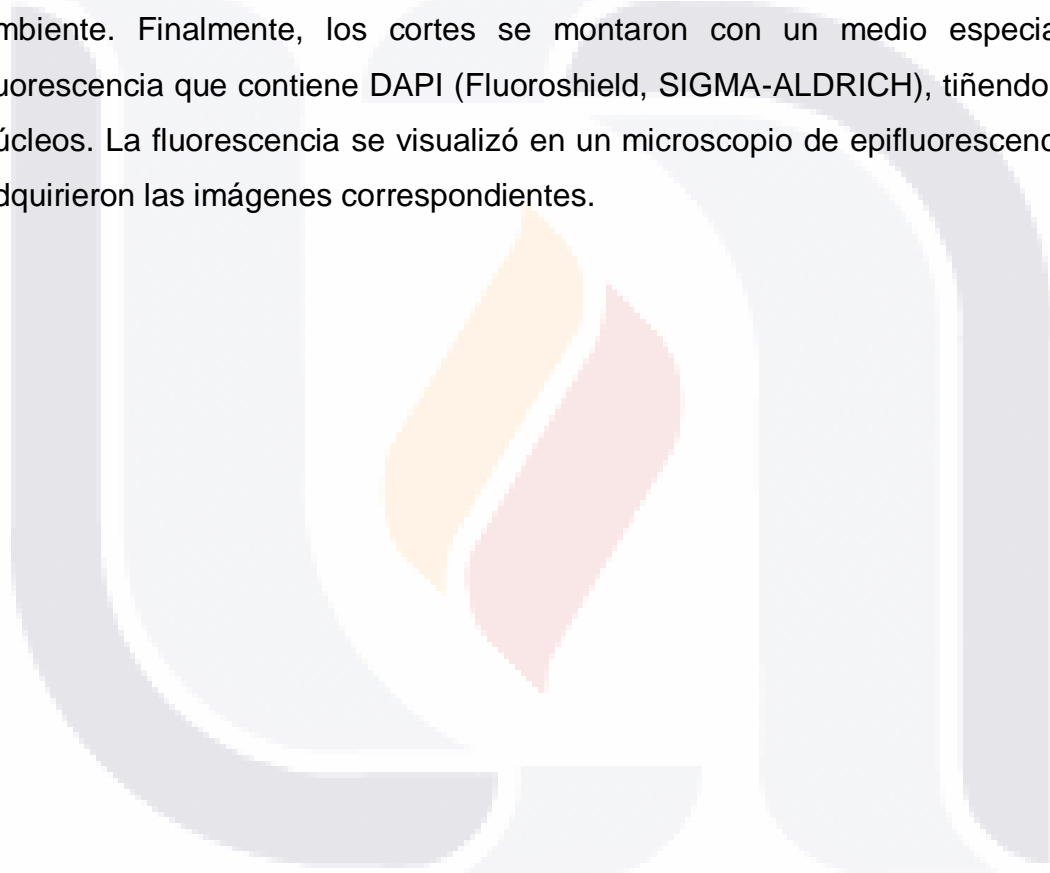
Se obtuvo un cotiledón periumbilical con técnica estéril, con cara materna y cara fetal. Tras ser obtenido fue lavado en solución salina 0.9% para eliminar el exceso de sangre y fue colocado en un frasco con formaldehído al 10% y almacenado a 25°C hasta su procesamiento en el Laboratorio de Ciencias Morfológicas de la Universidad Autónoma de Aguascalientes

Inmunofluorescencia.

El cotiledón obtenido de las placentas se fijó toda la noche con paraformaldehído al 10% a 4°C, se crioprotegieron pasándolos por un gradiente (de menor a mayor concentración) de sacarosa (15 y 30%) en PBS, y se congelaron embebidas en el medio Tissue-Tek (Sakura Finetek U.S.A., Inc.). Se obtuvieron cortes sagitales de placenta de 14 μ m de grosor que se almacenaron a -20°C hasta su utilización para inmunofluorescencia.

Posteriormente, los cortes se bloquearon y permeabilizaron con suero normal bovino 10% y Tritón X-100 0.5% en PBS por una hora a temperatura ambiente, seguido por la incubación con el anticuerpo primario de interés toda la noche a 4°C. Se utilizaron anticuerpos comerciales dirigidos contra GRP78 (ABCAM, dilución 1:100); pIRE1 (ABCAM, dilución 1:100) y ATF6 (ABCAM, dilución 1:100).

Los cortes se incubaron con anticuerpos acoplados a un fluorocromo y dirigido a IgG de conejo (Alexa Fluor 488, ABCAM dilución 1:200), por 1h a temperatura ambiente. Finalmente, los cortes se montaron con un medio especial para fluorescencia que contiene DAPI (Fluoroshield, SIGMA-ALDRICH), tiñendo así los núcleos. La fluorescencia se visualizó en un microscopio de epifluorescencia y se adquirieron las imágenes correspondientes.



RESULTADOS

Características antropométricas y gineco-obstétricas de las pacientes

Se incluyeron en el presente estudio un total de 20 placentas de pacientes que tuvieron su resolución de embarazo. De estas 20 placentas fueron:

- 5 placentas eran de embarazos normoevolutivo a término.
- 5 de embarazos pretérmino no asociado a trastorno hipertensivo del embarazo.
- 5 placentas obtenidas de pacientes con diagnóstico de preeclampsia temprana.
- 5 placentas obtenidas de pacientes con diagnóstico de preeclampsia tardía.

Las pacientes con preeclampsia temprana y tardía presentaron significativamente mayor peso e índice de masa corporal que las pacientes sin preeclampsia (Tabla 1). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en la duración del último periodo intergenésico, ni en el promedio de gestas, partos, cesáreas y abortos previos.

Tabla 2. Comparación de las características antropométricas y ginecoobstétricas de las pacientes N=20

Variable	Grupo NPT ^{&}	Grupo NT ^{&}	Grupo PETE ^{&}	Grupo PETA ^{&}	Valor p*
Edad materna (años)	17 (16-18)	23.7 (18-28)	32.8 (22-41)	26.5 (17-38)	0.072
Peso (Kg)	61 (58-62)	64.5 (55-71)	87.9 (78-105)	96 (72-113)	0.009
Talla	157 (154-164)	155 (146-167)	159.4 (155-165)	159.2 (155-164)	0.678
IMC (Kg/m ²)	24.33 (23.1-25.4)	26.67 (24.7-30.3)	34.8 (28.7-42.1)	37.8 (28.8-44.5)	0.016
Edad gestacional	27.8 (22-31)	39.1 (38.0-40.1)	32.7 (31.2-33.5)	39.2 (36.3-42)	0.005
Duración último periodo intergenésico (meses)	0*	37.5 (31.0-44.0)	101.2 (42-144)	67 (26-108)	0.346
Numero de gestas	1.0 (1-1)	2.0 (1-3)	2.0 (1-3)	1.75 (1-3)	0.337
Número de partos		0.5 (0-1)	0.6 (0-2)	0.5 (0-2)	0.634
Número de cesáreas	0.6 (0-1)	1.5 (0-3)	1.2 (1-2)	1 (0-2)	0.816
Número de abortos	0.3 (0-1)	0.0 (0-0)	0.2 (0-1)	0.25 (0-1)	0.715

* Todas las pacientes eran primigestas; [&] valores expresados en media (rango)

Antecedente de preeclampsia

El 50% de las pacientes con preeclampsia temprana y tardía habían tenido preeclampsia en un embarazo anterior, pero ninguna de las pacientes con embarazo normoevolutivo había tenido preeclampsia en un embarazo previo. Todas las pacientes normotensas con parto pretérmino eran primigestas (Figura 4).

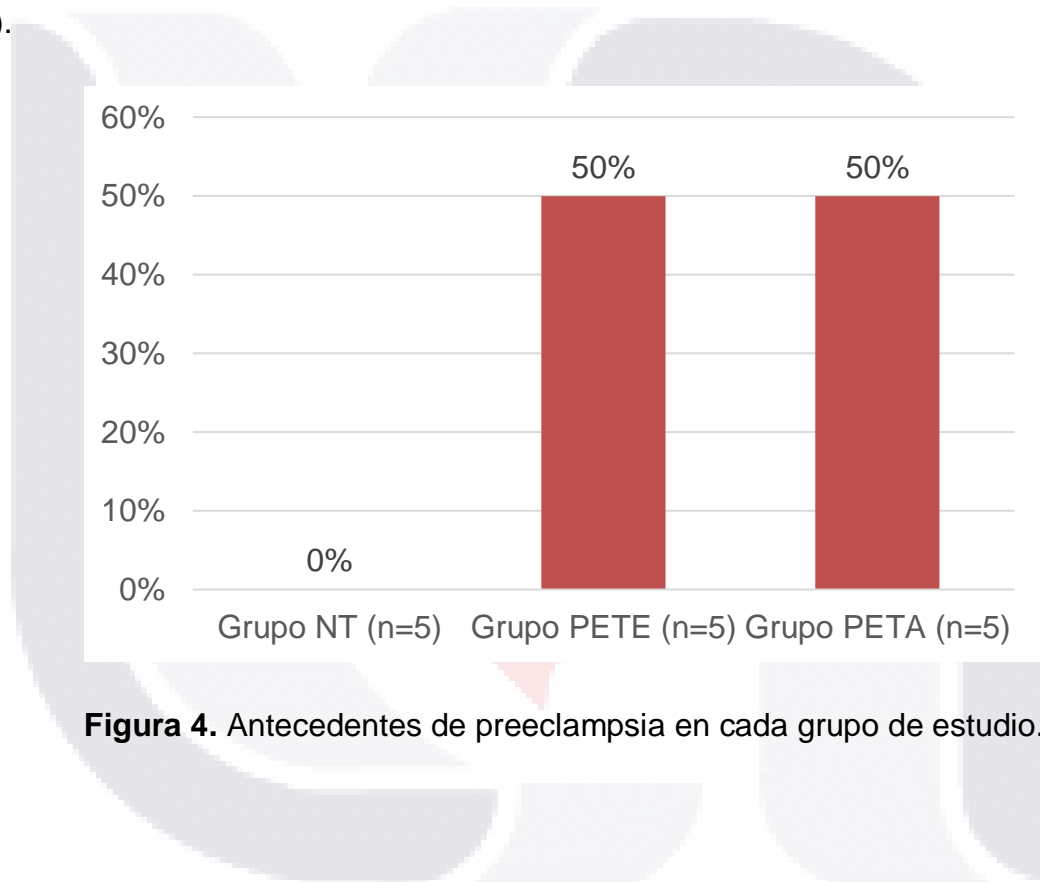


Figura 4. Antecedentes de preeclampsia en cada grupo de estudio.

Manifestaciones clínicas de las pacientes

En el grupo de 20 pacientes estudiadas se buscaron intencionadamente signos y síntomas característicos de preeclampsia, encontrando correlación clínica significativa en el caso de preeclampsia temprana con cefalea y reflejos osteotendinosos aumentados lo cual es esperado en este grupo de pacientes. (Tabla 2).

Tabla 3. Comparación de la frecuencia de manifestaciones clínicas entre grupos. N=20

Signo o síntoma	Grupo NT (n=5)	Grupo NPT (n=5)	Grupo PETE (n=5)	Grupo PETA (n=5)	Valor p*
Cefalea, n(%)	0(0)	0(0)	3(60)	0(0)	0.034
Acufenos, n(%)	0(0)	0(0)	2(40)	0(0)	0.208
Fosfenos, n(%)	0(0)	0(0)	1(20)	0(0)	1.000
Epigastralgia, n(%)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	-
Edema					0.068
+	4(80)	3(60)	0(0)	1(20)	
++	0(0)	0(0)	2(40)	1(20)	
+++	0(0)	0(0)	2(40)	2(40)	
++++	0(0)	0(0)	1(20)	0(0)	
Reflejos osteotendinosos					0.024
Normales	5(100)	5(100)	0(0)	3(60)	
Levemente aumentados	0(0)	0(0)	3(60)	2(40)	
Muy aumentados	0(0)	0(0)	2(40)	0(0)	
					0.337

* Prueba exacta de Fisher

Presión arterial de las participantes y parámetros bioquímicos

En cuanto a las cifras tensionales se relaciona directamente según los grupos estudiados ya que fue una búsqueda intencionada para cada uno de ellos. Los parámetros bioquímicos también se buscaron intencionadamente para valorar la severidad de la preeclampsia, se observó mayor prevalencia de criterios de severidad en caso de la preeclampsia temprana. (Tabla 3).

Tabla 4. Comparación de parámetros bioquímicos y presión arterial entre grupos. N=20					
Parámetro	Grupo NT (n=5) &	Grupo NPT (n=5) &	Grupo PETE (n=5) &	Grupo PETA (n=5) &	Valor p*
Sistólica 1 al diagnóstico	100 (90-120)	96.6 (90-100)	171 (160-184)	149.7 (144-160)	0.004
Sistólica 2 al diagnóstico	102.5 (90-120)	93.3 (90-100)	147 (130-170)	161.7 (147-190)	0.008
Diastólica 1 al diagnóstico	60 (50-70)	56.6 (50-60)	112 (100-121)	101.0 (94-110)	0.005
Diastólica 2 al diagnóstico	60 (50-70)	63.3 (60-70)	86 (77-90)	102.5 (90-120)	0.005
Hemoglobina	13.2 (12.5-13.6)	11.0 (10.8-11.3)	14.1 (13.2-15.7)	21.4 (13.4-42.3)	0.051
Plaquetas	254 (175-375)	311.5 (225-398)	244 (158-318)	159.4 (40.8-288)	0.407
Creatinina	0.57 (0.5-0.7)	0.5 (0.4-0.7)	0.78 (0.6-1.0)	0.575 (0.5-0.6)	0.097
Ácido úrico	5.0 (3.9-6.4)	3.7 (3.0-4.4)	6.8 (5.2-8.4)	5.175 (4.8-5.4)	0.056
Albumina	3.1 (2.8-3.5)	3.2 (3.2-3.2)	3.3 (3.1-3.6)	3.150 (2.7-3.6)	0.702
Deshidrogenasa láctica	382.5 (321-487)	360.8 (326.5-395.2)	607 (405-823)	346.5 (253.2-403.0)	0.034
TGO	19.1 (6.6-38)	12.0 (11.0-13.0)	35.0 (15.8-75)	14.2 (12.4-17.1)	0.084
TGP	8.4 (6.6-10.2)	10.4 (8.5-12.3)	39.4 (12.3-134)	10.4 (7.2-14.8)	0.050
Bilirrubina total	0.29 (0.17-0.48)	0.4 (0.3-0.5)	0.3 (0.23-0.50)	0.1750 (0.14-0.20)	0.042
Bilirrubina directa	0.14 (0.08-0.2)	0.175 (0.17-0.18)	0.15 (0.09-0.3)	0.10 (0.09-0.14)	0.334
Bilirrubina indirecta	0.14 (0.09-0.25)	0.275 (0.20-0.35)	0.15 (0.11-0.2)	0.07 (0.05-0.10)	0.025
Proteinuria 24 h	.	.	3340 (2,500-3,000)	425.0 (350-500)	0.053

& valores expresados en media (rango)

Severidad de la preeclampsia

Entre las pacientes con preeclampsia temprana, el 100% tuvieron preeclampsia severa. Mientras que tuvieron preeclampsia severa el 50% de aquellas con una presentación tardía (p=0.167; Figura 5).

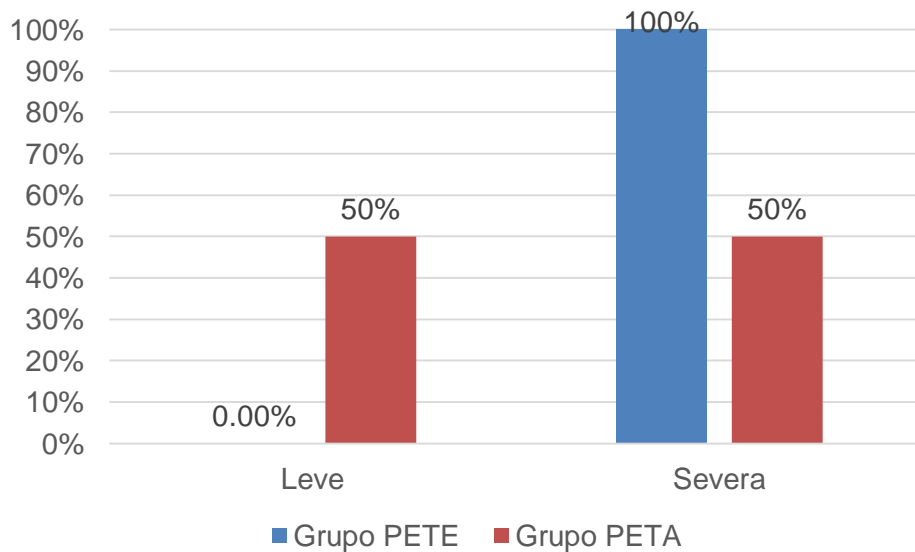


Figura 5. Comparación de la severidad entre pacientes con preeclampsia temprana y tardía.

Complicaciones/comorbilidades de las pacientes

Ninguna de las pacientes con preeclampsia temprana y preeclampsia tardía tuvo síndrome de HELLP, ni eclampsia ni fallecieron.

Localización *in situ* de las moléculas reguladoras de la respuesta a proteínas mal conformadas en placentas de pacientes con preeclampsia

Se realizaron ensayos de inmunofluorescencia para determinar la presencia de las moléculas reguladoras de la respuesta a proteínas mal conformadas en placentas de pacientes con preeclampsia para observar cambios de expresión de estas moléculas bajo las condiciones de estudio. Se analizaron las proteínas BiP, ATF6 y la forma activa (fosforilada) de IRE (p-IRE). Se observa la presencia basal de BiP en placentas de paciente con embarazo de término, normoevolutivo, y mientras en partos pretermino se observa un incremento en la expresión *in situ* de BiP, en las placentas obtenidas de los nacimientos de madres con preeclampsia se observa un comportamiento bifásico (Fig. 1). En las placentas de madres con preeclampsia tardía se observan niveles similares a los encontrados en partos normoevolutivos pero en preeclampsia temprana se encuentran reducidos los niveles de BiP, comparado con los casos normoevolutivos (Fig. 1).

Por su parte, el regulador de ATF6 muestra una expresión basal en placentas obtenidas de embarazo a término normoevolutivo (Fig. 2). Mientras que en el tejido de partos pretermino no relacionados a preeclampsia se observan niveles *in situ* de ATF6 similares a las placentas obtenidas de embarazo a término normoevolutivo, en las placentas de los partos de madres con preeclampsia se encuentran reducidos los niveles de ATF6 comparado con el tejido de embarazo normoevolutivo, lo anterior se observa similar tanto en preeclampsia tardía como temprana (Fig. 2).

También se detectaron los niveles endógenos de la forma activa de IRE (p-IRE). Esta proteína muestra una expresión apenas detectable en placentas con embarazo normoevolutivo a término. (Fig. 3) y no se observan cambios en los niveles *in situ* de p-IRE en ninguno de las otras condiciones analizadas (Fig. 3).

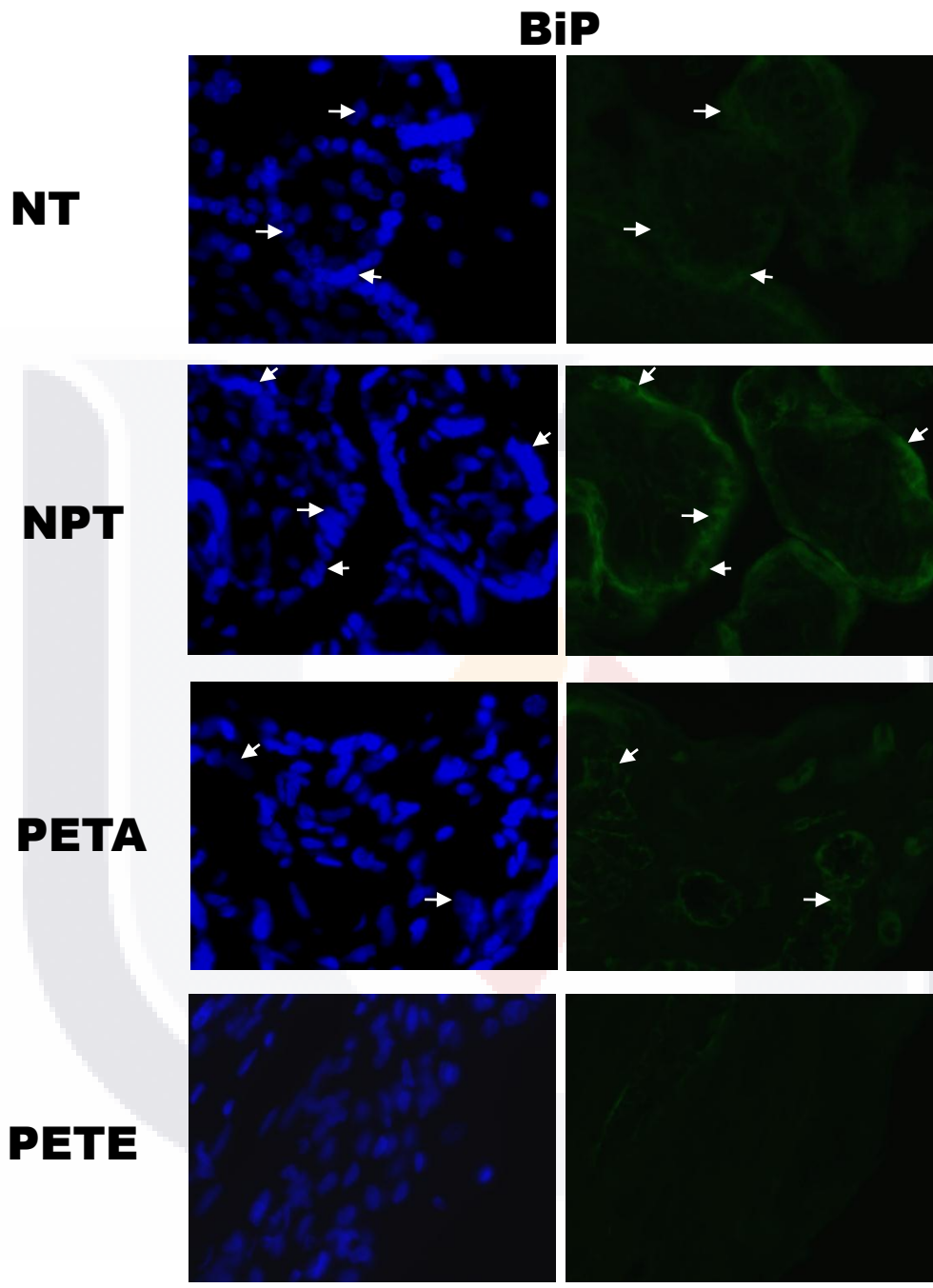


Figura 6: Expresión *in situ* de BiP en placentas de pacientes con embarazo con termino normal (NT), con embarazo pretermino (NPT), con embarazo con preeclampsia tardía (PETA) y con embarazo con preeclampsia temprana (PE TE). En azul se observan los núcleos celulares marcados con DAPI y en verde se observa la tinción específica para BiP. Las flechas indican las células positivas a la tinción con el anticuerpo.

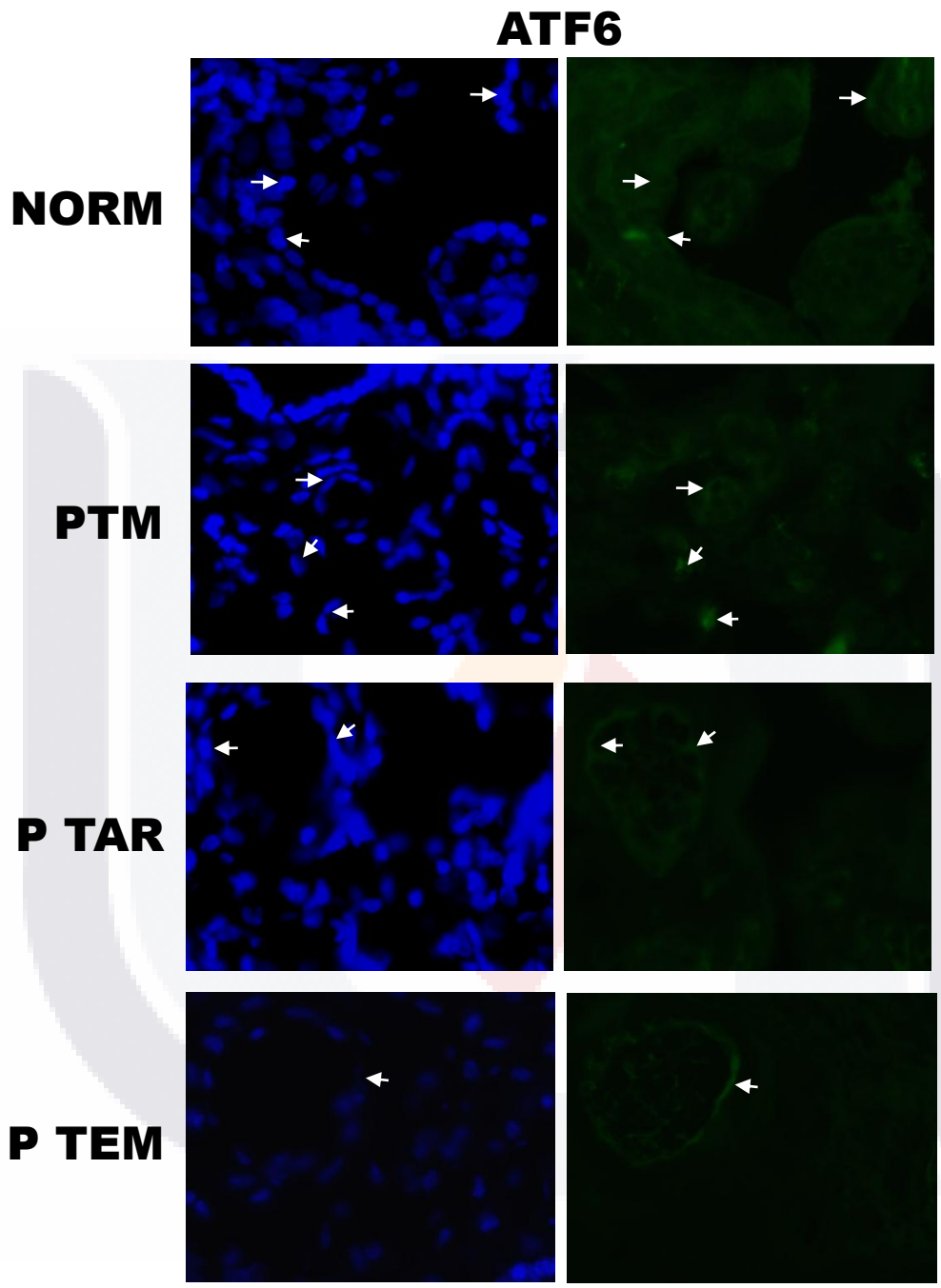


Figura 7: Expresión *in situ* de AIF6 en placentas de pacientes con embarazo de termino normoevolutivo (NT), con embarazo pretermino (NPT), con embarazo con preeclampsia tardía (PETA) y con embarazo con preeclampsia temprana (PE TE). En azul se observan los núcleos celulares marcados con DAPI y en verde se observa la tinción específica para ATF6. Las flechas indican las células positivas a la tinción con el anticuerpo.

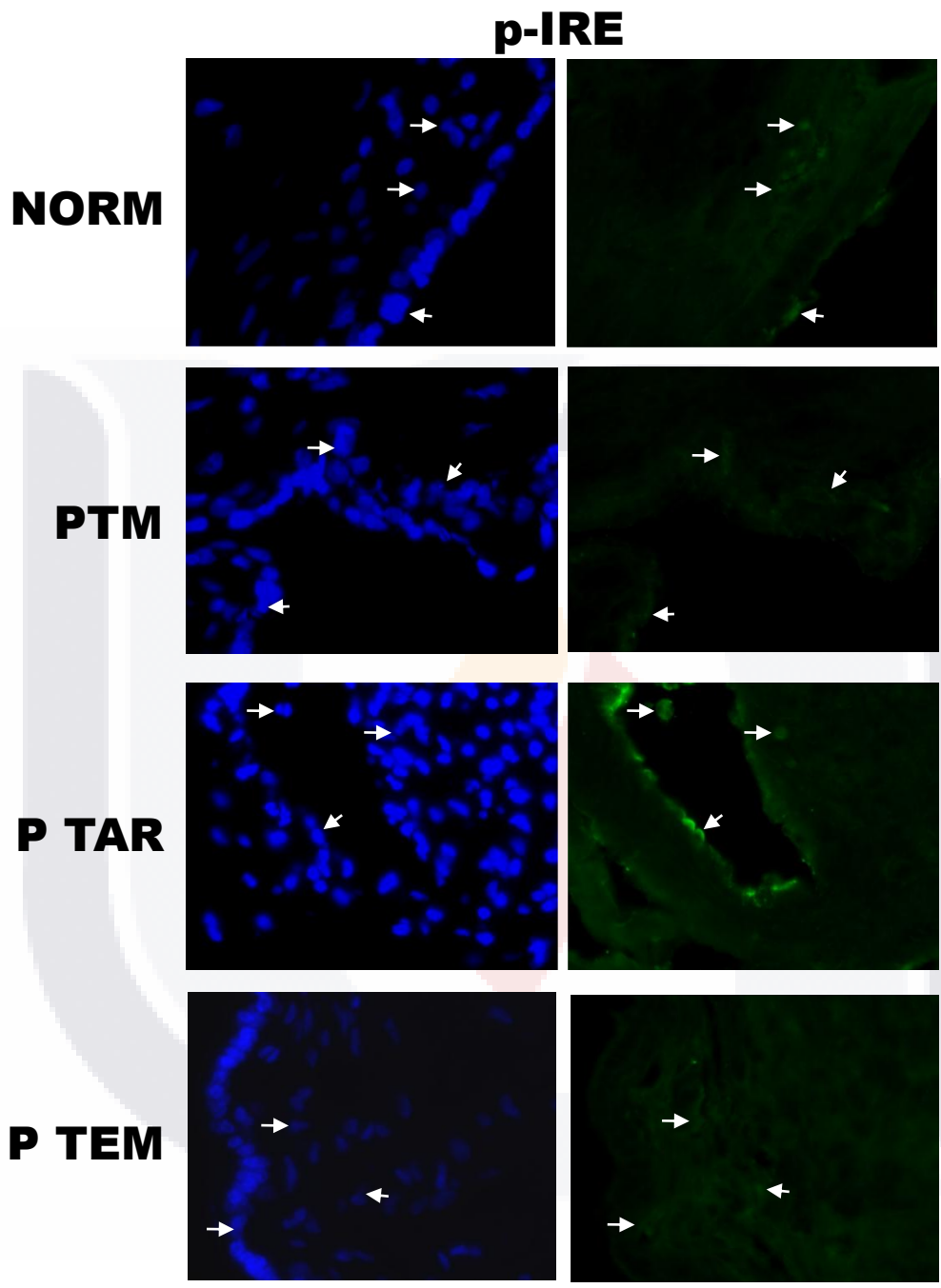


Figura 8: Expresión *in situ* de la forma activa (fosforilada) de IRE (p-IRE) en placentas de pacientes con embarazo de término normoevolutivo (NT), con embarazo pretermino (NPT), con embarazo con preeclampsia tardía (P ETA) y con embarazo con preeclampsia temprana (PETE). En azul se observan los núcleos celulares marcados con DAPI y en verde se observa la tinción específica para p-IRE. Las flechas indican las células positivas a la tinción con el anticuerpo.

DISCUSIÓN

Los resultados anteriormente descritos, indican que existe una expresión diferencial de las proteínas reguladoras de la respuesta a proteínas mal conformadas analizadas en este estudio, lo que indica una alteración en la regulación de las vías asociadas al estrés del retículo endoplásmico asociado a la preeclampsia. Se observa una disminución de BiP, el regulador de las tres vías de la respuesta a proteínas mal conformadas (ATF6, IRE y PERK), asociada a la preeclampsia temprana (Fig. 1). Lo que indica un posible incremento en la activación de la respuesta a proteínas mal conformadas. Por su parte, no se observan cambios en la activación de IRE en las diferentes condiciones analizadas (Fig. 3). Lo que sugiere que específicamente la vía dependiente de IRE no se encuentra involucrada en la activación de la respuesta a proteínas mal conformadas asociada a preeclampsia. Por otro lado, ATF6 muestra una disminución de sus niveles asociado a preeclampsia temprana (Fig. 2), lo que sugiere un posible incremento en los niveles de estrés celular asociado a la acumulación de proteínas mal plegadas en el retículo endoplasmático de las células de la placenta obtenida en preeclampsia temprana, situación no encontrada en el caso de las pacientes con preeclampsia tardía, por lo tanto entre más temprana sea la edad gestacional en el momento del diagnóstico de preeclampsia mayores son los niveles de estrés, de hecho en placentas de pacientes con preeclampsia en las cuales el diagnóstico se realizó posterior a las 34 semanas, no se han encontrado diferencias comparadas a las placentas de embarazos normo-evolutivos.⁸ Es importante determinar la posible participación de PERK en la respuesta a proteínas mal conformadas asociada a preeclampsia para tener un panorama más amplio de la regulación del estrés al retículo endoplasmático asociado a esta, ya que cada una de las tres clases de sensores de la respuesta a proteínas mal conformadas, traduce la señal de forma independiente a través de la membrana celular, y PERK es la principal señal en las células eucariotas⁴

CONCLUSIONES:

- Las pacientes con preeclampsia temprana y tardía presentaron significativamente mayor peso e índice de masa corporal que las pacientes sin preeclampsia.
- En el grupo de 20 pacientes estudiadas se buscaron intencionadamente signos y síntomas característicos de preeclampsia, encontrando correlación clínica significativa en el caso de preeclampsia temprana con cefalea y reflejos osteotendinosos aumentados lo cual es esperado en este grupo de pacientes.
- El 50% de las pacientes con preeclampsia temprana y tardía habían tenido preeclampsia en un embarazo anterior, pero ninguna de las pacientes con embarazo normoevolutivo había tenido preeclampsia en un embarazo previo.
- Se observa una disminución de BiP, el regulador de las tres vías de la respuesta a proteínas mal conformadas.
- No se observan cambios en la activación de IRE en las diferentes condiciones analizadas.
- ATF6 muestra una disminución de sus niveles asociado a preeclampsia temprana.
- Se sugiere un posible incremento en los niveles de estrés celular asociado a la acumulación de proteínas mal plegadas en el retículo endoplasmático de las células de la placenta obtenida en preeclampsia temprana.
- Es importante determinar la posible participación de PERK en la respuesta a proteínas mal conformadas asociada a preeclampsia temprana para tener un panorama más amplio de la regulación del estrés al retículo endoplasmático asociado a esta.

BIBLIOGRAFIA

1. Historical perspectiva: the history of preeclampsia and eclampsia as seen by a nephrologist. Marshal D Lindheimer MD, FACP University of Chicago).
2. A historical overview of preeclampsia-eclampsia, Mandy J. Bell BSN, national institute of nursing research.
3. GUIA PRACTICA CLINICA, CENETEC, preeclampsia 2017.
4. Intracellular signaling by the unfolded protein response. Sebastian Bernales University of California, San Francisco, California.
5. Alterations in placental growth factor levels before and after the onset of preeclampsia are more pronounced in women with early onset severe preeclampsia. Ohkuchi A¹, Hirashima C, Matsubara S, Suzuki H, Takahashi K, Arai F, Watanabe T, Kario K, Suzuki M
6. 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. Wikström AK¹, Nash P, Eriksson UJ, Olovsson MH
7. The frequency and severity of placental findings in women with preeclampsia are gestational age dependent. Moldenhauer JS¹, Stanek J, Warshak C, Khoury J, Sibai B.
8. Nelson DB, Ziadie MS, McIntire DD, et al. Placental pathology suggesting that preeclampsia is more than one disease. Am J Obstet Gynecol 2014.
9. Are early and late preeclampsia distinct subclasses of the disease – what does the placenta reveal. van der Merwe JL, Hall DR, Wright C, et al.
10. Differential activation of placental unfolded protein response pathways implies heterogeneity in causation of early-and late-onset pre-eclampsia. Hong Wa Yung, Daniel Atkinson, Centre for trophoblast research, University of Cambridge.

ANEXOS

Anexo A. Cronograma de actividades.

Se calendarizaron las actividades en orden secuencial, de acuerdo a plan de trabajo programado. El siguiente cuadro muestra planeación y evaluación, comparando lo programado con lo realizado conforme a la planeación.

ACTIVIDAD	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero
Definir tema de protocolo y objetivos.						
Recabar información para marco teórico.						
Definir Variables y realizar cedula de recolección de datos.						
Recabar placentas para el estudio						
Obtención de resultados y realización de gráficas.						
Conclusiones, sugerencias e integración de documento de tesis.						

Anexo B. Cedula de recolección de datos.



**CEDULA DE RECOLECCION DE DATOS
RESPUESTA A PROTEINAS MAL CONFORMADAS**

NOMBRE APELLIDO PATERNO APELLIDO MATERNO EDAD MATERNA
TELEFONO

PESO KG	TALLA M			
EDAD GESTACIONAL SEMANAS	GESTA #	PARTOS #	ABORTOS #	OBITO ANTECEDENTE (SI O NO)
PREECLAMPSIA EN EMBARAZO PREVIO (SI/NO) SEVERIDAD:	SISTOLICA AL INGRESO MMHG	DIASTOLICA AL INGRESO MMHG	SISTOLICA AL DIAGNOSTICO MMHG	DIASTOLICA AL DIAGNOSTICO MMHG
CEFALEA (SI/NO)	ACUFENOS (SI/NO)	FOSFENOS (SI/NO)		
EPIGASTRALGIA (SI/NO)				
EDEMA (++++/++++)	REFLEJOS OSTEOTENDINOSOS (+++/++++)			
HEMOGLOBINA	PLAQUETAS			
CREATININA	ACIDO URICO	ALBUMINA	DESHIDROGENESA LACTICA	TGO
TGP	BILIRRUBINA DIRECTA	BILIRRUBINA INDIRECTA	BILIRRUBINA TOTAL	
PROTEINURIA TIRA 1 (EGO)	PROTEINURIA TIRA 2 (EGO)	PROTEINURIA DE 4 HRS.	PROTEINURIA DE 24 HRS.	HELLP
PREECLAMPSIA LEVE	PREECLAMPSIA SEVERA	ECLAMPSIA	MUERTE MATERNA	CAUSA DE MUERTE