



HOSPITAL DE LA MUJER  
CENTRO DE CIENCIAS DE LA SALUD

**NIVELES SÉRICOS DE OSTEOCALCINA EN  
PACIENTES CON Y SIN PREECLAMPSIA Y SU  
ASOCIACIÓN CON CRITERIOS DE SEVERIDAD**

TESIS

PRESENTADA POR

**César Arturo Sánchez Calderón**

PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN GINECOLOGÍA Y  
OBSTETRICIA

ASESOR (ES)

**Dr. José Rafael Villafán Bernal  
Dr. Leopoldo César Serrano Díaz  
Dr. Raigam Jafet Martínez Portilla**

**Aguascalientes, Ags. enero 2019**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE AGUASCALIENTES

**CÉSAR ARTURO SÁNCHEZ CALDERÓN**  
**ESPECIALIDAD EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA**  
**PRESENTE**

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:

**"NIVELES SÉRICOS DE OSTEOCALCINA EN PACIENTES CON Y SIN PREECLAMPSIA Y SU ASOCIACIÓN CON CRITERIOS DE SEVERIDAD"**

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**  
**"SE LUMEN PROFERRE"**

**Aguascalientes, Ags., 7 de Diciembre 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 del Departamento de Control Escolar  
c.c.p. Archivo



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

7 de enero de 2019

PRESENTE  
Estimada Dra. Martha Hernández

En respuesta a la petición hecha al médico residente César Arturo Sánchez Calderón, en relación a presentar una carta de aceptación de su trabajo titulado

**NIVELES SÉRICOS DE OSTEOCALCINA EN PACIENTES CON Y SIN PREECLAMPSIA Y SU ASOCIACIÓN CON CRITERIOS DE SEVERIDAD**

Nos permitimos informarle que, una vez leído y corregido el documento, consideramos que llena los requisitos para ser aceptado e impreso como trabajo final

Sin más por el momento aprovechamos la oportunidad para hacerle llegar un cordial saludo

ATENTAMENTE

  
Dr. José Rafael Villafán Bernal  
Investigador de la Universidad Autónoma de Aguascalientes  
Asesor Metodológico

C.C.P Jefatura de Enseñanza e Investigación. Hospital de la Mujer Aguascalientes  
C.C.P Archivo

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

7 de enero de 2019

PRESENTE  
Estimada Dra. Martha Hernández

En respuesta a la petición hecha al médico residente César Arturo Sánchez Calderón, en relación a presentar una carta de aceptación de su trabajo titulado

**NIVELES SÉRICOS DE OSTEOCALCINA EN PACIENTES CON Y SIN  
PREECLAMPSIA Y SU ASOCIACIÓN CON CRITERIOS DE SEVERIDAD**

Nos permitimos informarle que, una vez leído y corregido el documento, consideramos que llena los requisitos para ser aceptado e impreso como trabajo final

Sin más por el momento aprovechamos la oportunidad para hacerle llegar un cordial saludo

ATENTAMENTE



Dr. Leopoldo César Serrano Díaz  
Director del Hospital de la Mujer Aguascalientes

C.C.P Jefatura de Enseñanza e Investigación. Hospital de la Mujer Aguascalientes  
C.C.P Archivo




UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE AGUASCALIENTES




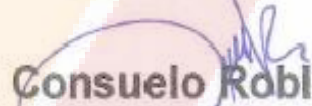
ISSEA

SECRETARÍA DE  
SALUD DEL ESTADO  
DE AGUASCALIENTES

"NIVELES SÉRICOS DE OSTEOCALCINA EN PACIENTES CON  
Y SIN PREECLAMPSIA Y SU ASOCIACIÓN CON CRITERIOS DE  
SEVERIDAD"

  
Dr. Leopoldo César Serrano Díaz  
Director General de Hospital de la Mujer de Aguascalientes

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

  
Dra. María Del Consuelo Robles Martínez  
Profesora Titular de Enseñanza e Investigación

  
Dr. Leopoldo César Serrano Díaz  
Asesor Clínico

  
Dr. José Villafán Bernal  
Asesor Metodológico



**ISSEA**

SECRETARÍA DE SALUD DEL ESTADO

COMITÉ LOCAL DE INVESTIGACIÓN

AGUASCALIENTES, AGS. 19 DE DICIEMBRE 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.

**"NIVELES SERICOS DE OSTEOCALCINA EN PACIENTES CON Y SIN PREECLAMPSIA Y SU ASOCIACION CON CRITERIOS DE SEVERIDAD"**

OTORGANDO EL DICTAMEN DE "ACEPTADO" NÚMERO DE REGISTRO: 037 ISSEA-037/18

**INVESTIGADOR (S) DE PROYECTO:**

César Arturo Sánchez Calderón

**LUGAR DE DESARROLLO DE LA INVESTIGACIÓN:**

Hospital de la Mujer de Aguascalientes

**TIPO DE INVESTIGACIÓN:**

Investigación para obtención de Grado de Especialidad en Ginecología y Obstetricia

**ASESOR DE TESIS:**

Dr. José Rafael Villafán Bernal  
Dr. Leopoldo César Serrano Díaz  
Dr. Raigam Jafet Martínez Portilla

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

ATENTAMENTE:

  
DR. JAVIER GONGORA ORTEGA, MCM  
SECRETARIO TÉCNICO  
C.C.P.- ARCHIVO



UNIDAD  
DE INVESTIGACION  
EN SALUD

## INDICE GENERAL

<b>INDICE GENERAL</b> .....	I
<b>INDICE DE TABLAS</b> .....	III
<b>INDICE DE FIGURAS</b> .....	III
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	V
<b>RESUMEN</b> .....	VII
<b>ABSTRACT</b> .....	VIII
<b>MARCO TEORICO</b> .....	1
<b>Definición y epidemiología de preeclampsia</b> .....	1
<b>Clasificación de la Preeclampsia</b> .....	2
<b>Fisiopatología de la preeclampsia</b> .....	4
<b>Desarrollo anormal de la placenta</b> .....	7
<b>Hipoperfusión, hipoxia, isquemia</b> .....	10
<b>Factores genéticos</b> .....	11
<b>La Aterosclerosis en la Preeclampsia</b> .....	12
<b>Efecto Vascular de la osteocalcina (Asociación con calcificación y Aterosclerosis)</b> .....	15
<b>ANTECEDENTES CIENTÍFICOS</b> .....	19
<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	21
<b>Magnitud e impacto</b> .....	21
<b>Trascendencia</b> .....	21
<b>Aplicabilidad</b> .....	21
<b>Factibilidad</b> .....	21
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	21
<b>Pregunta de investigación</b> .....	23
<b>HIPÓTESIS</b> .....	23
<b>Hipótesis de trabajo o alterna (H1)</b> .....	23
<b>Hipótesis nula (H0)</b> .....	24

**OBJETIVOS..... 24**

    Objetivo general ..... 24

    Objetivos particulares ..... 24

**MATERIAL, PACIENTES Y METODOS..... 25**

**I. TIPO, DISEÑO Y CARACTERÍSTICAS DEL ESTUDIO ..... 25**

**II. POBLACIÓN DE ESTUDIO ..... 25**

**III. OPERACIONALIZACIÓN Y DESCRIPCIÓN DE VARIABLES..... 26**

**SELECCIÓN DE LA MUESTRA..... 30**

    a) Tipo de muestreo ..... 30

    b) Tamaño de muestra ..... 30

    c) Criterios de selección ..... 31

**RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN ..... 32**

    a) Instrumento..... 32

    b) Logística ..... 34

**ANÁLISIS ESTADÍSTICO ..... 35**

**CONSIDERACIONES ÉTICAS..... 36**

**RECURSOS PARA EL ESTUDIO ..... 36**

    Recursos Humanos..... 36

    Recursos Materiales..... 36

**CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES ..... 37**

**RESULTADOS ..... 38**

**DISCUSIÓN ..... 50**

**CONCLUSIÓN ..... 54**

**BIBLIOGRAFÍA ..... 55**



**INDICE DE TABLAS**

Tabla 1. Características clínicas y bioquímicas para el diagnóstico de Preeclampsia sin criterios de severidad..... 3

Tabla 2. Preeclampsia con criterios de severidad 1 criterio o más para clasificarse en este grupo ..... 3

Tabla 3. Comparación de características demográficas y antropométricas de ambos grupos ..... 38

Tabla 4. Comparación de perfil clínico y toxémico en pacientes preeclámplicas leves y con criterios de severidad ..... 43

Tabla 5. Coeficientes de correlación de Pearson de osteocalcina con cifras tensionales y perfil toxémico ..... 46

**INDICE DE FIGURAS**

Figura 1. Acoplamiento del Linfocito NK (Natural Killer) materno mediante su receptor KIR al Receptor paterno del Complejo Mayor de Histocompatibilidad HLA-G del sincitiotrofoblasto..... 5

Figura 2. Implantación del Sinciotrofoblasto hacia la capa muscular miometrial materna guiada por su componente inmunológico. .... 6

Figura 3. Desarrollo de la circulación Materno-Fetal..... 8

Figura 4. Morfología de la Vasculatura en paciente no embarazadas, en una con preeclampsia y en un embarazo normal. .... 9

Figura 5. Antecedentes personales patológicos de las pacientes de ambos grupos ..... 39

Figura 6. Signos y síntomas de presentación de la preeclampsia ..... 40

Figura 7. Comparación de las cifras de PAS entre pacientes con y sin preeclampsia (\*p<0.001)..... 41

Figura 8. Comparación de las cifras de PAD entre pacientes con y sin preeclamsia (\*p<0.001)..... 42

Figura 9. Comparación de las concentraciones séricas de osteocalcina entre pacientes con y sin preeclamsia (\*p<0.001)..... 44

Figura 10. Comparación de las concentraciones séricas de osteocalcina entre preeclámpticas con y sin criterios de severidad (p=0.737). ..... 45

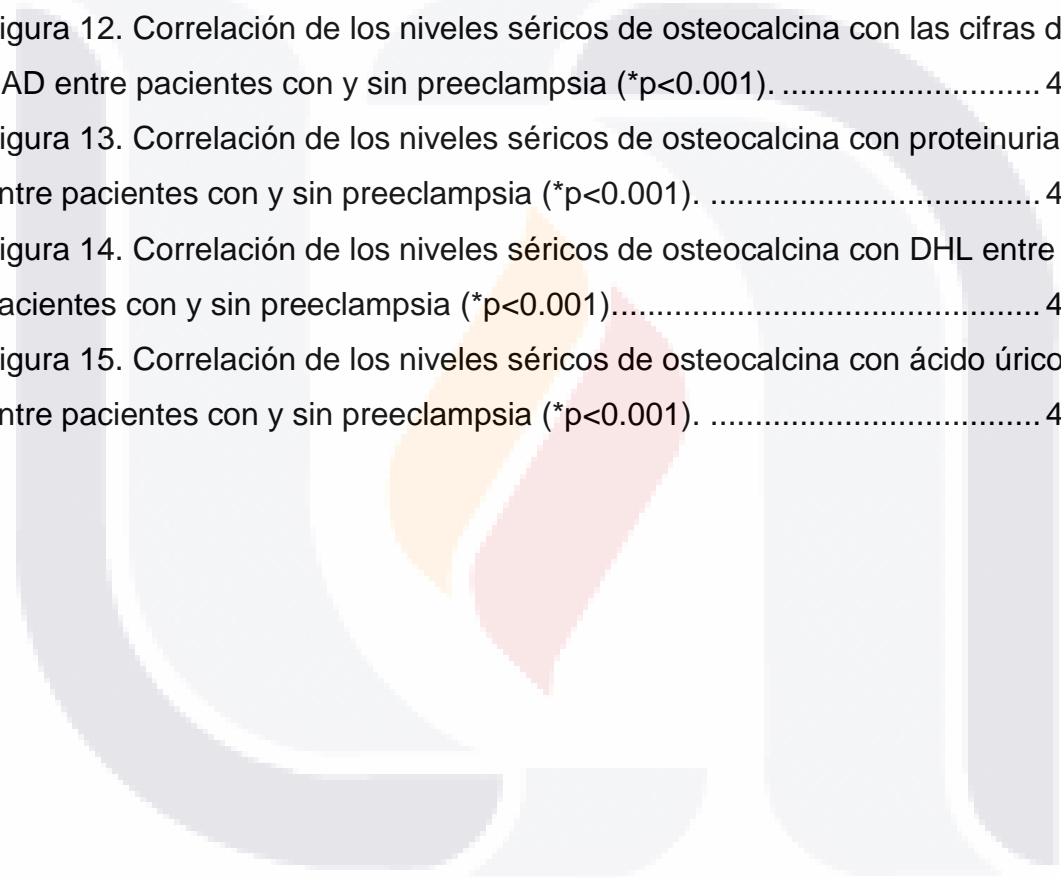
Figura 11. Correlación de los niveles séricos de osteocalcina con las cifras de PAS entre pacientes con y sin preeclampsia (\*p<0.001). ..... 47

Figura 12. Correlación de los niveles séricos de osteocalcina con las cifras de PAD entre pacientes con y sin preeclampsia (\*p<0.001). ..... 47

Figura 13. Correlación de los niveles séricos de osteocalcina con proteinuria entre pacientes con y sin preeclampsia (\*p<0.001). ..... 48

Figura 14. Correlación de los niveles séricos de osteocalcina con DHL entre pacientes con y sin preeclampsia (\*p<0.001)..... 48

Figura 15. Correlación de los niveles séricos de osteocalcina con ácido úrico entre pacientes con y sin preeclampsia (\*p<0.001). ..... 49



## AGRADECIMIENTOS

Me encuentro eternamente agradecido por cada uno de los personajes que han formado parte de esta formación académica para mi hasta el día de hoy ha sido un logro que no hubiera podido haber sido realizado sin ayuda de mis seres queridos

El amor recibido, la dedicación y la paciencia con la que cada día se preocupaban mis padres César Sánchez Benítez y Laura Elena Calderón, por mi avance como médico es simplemente único y se refleja en la vida de un hijo.

Gracias a mi madre por ser la principal promotora de mis sueños, gracias por cada día confiar y creer en mí y en mis expectativas, por estar dispuesta a acompañarme en cada momento de mi formación académica profesional, desde el primer momento en que pisé la universidad donde hice mi carrera de Medicina General hasta este momento, no queda más que decir que ha sido mi modelo a seguir y uno de los motores de mi formación. De igual forma a cada uno de los integrantes de mi familia que han sido importantes en esta preparación a lo largo de estos 29 años, mis abuelos Enriqueta Villarreal y Juan Calderón que han sido ejemplo de vida y mis segundos padres, a mis tías Maricela y María Luisa que desde niño siempre han estado ahí para apoyarnos como familia, faltan más por mencionar no menos importantes, pero si doy Gracias a Dios por esta hermosa familia donde me toco crecer.

Agradezco a mi pareja sentimental Leticia Verónica Moreno Franco, persona que ha estado en cada momento de esta residencia médica, en momentos felices y en los no tanto, en donde ha creído en mi como médico y persona y que hasta el momento ha sido mi acompañante en estos cuatro años donde me dio fortaleza y grandes consejos para salir delante de este proceso académico, sin duda una maravillosa persona con la que Dios me ha bendecido,

Es de especial mención hacer referencia a cada uno de mis maestros que hacen hasta lo posible por formar excelentes ginecólogos, y quisiera empezar

por mi maestro y amigo el Dr. Leopoldo César Serrano Diaz que ha sido mi tutor académico, pero también un gran amigo pues siempre me ha apoyado como su alumno y amigo, a la Dra. Claudia Patricia Negrete Bernal profesora titular del primer año de residencia, a la Dra. Hilda Vázquez Delfín titular del segundo año de residencia, al Dr. Ezequiel Sotelo Félix y Dr. Antonio Cruz Rodríguez profesores titulares del área de Oncología ginecológica, a la Dra. Martha Hernández y Dra. Consuelo Robles profesoras titulares del tercer año de Residencia, al Dr. Ely Bravo y Dr. Arturo Colon por sus sabios consejos y apoyo académico. Agradezco a cada uno de los integrantes profesores de este Hospital de la Mujer de Aguascalientes.

En este último año de la residencia y en este estudio de protocolo de tesis me permitió conocer grandes personalidades donde cabe mencionar al Dr. José Villafán Bernal excelente investigador y médico, pero excelente persona comprometida con la educación y el progreso de la Universidad Autónoma de Aguascalientes la cual esta última ha sido mi casa de estudios durante este proceso de especialidad misma que me complace agradecer su apoyo en este trabajo de tesis.

## RESUMEN

**Antecedentes.** La osteocalcina molécula producida por el hueso que favorece control glucémico y recientemente asociado a patologías del embarazo con correlación con las cifras de presión arterial. **Objetivo.** Comparar los niveles séricos de osteocalcina en pacientes con y sin preeclampsia y su asociación con criterios de severidad. **Material y métodos.** Se realizó un estudio observacional, tipo casos y controles, prospectivo en pacientes femeninos mayores de 18 años con preeclampsia (casos) y embarazo normoevolutivo (controles). En ambos grupos se cuantificaron los niveles séricos de osteocalcina previo al evento obstétrico. Se realizó un análisis estadístico en SPSS v. 22 consistente en estadística descriptiva e inferencial, con la finalidad de determinar si existían diferencias significativas entre grupos en los niveles séricos de osteocalcina, perfil toxémico y características clínicas. Se consideró significativa una  $p < 0.05$ . **Resultados.** Se incluyeron 32 pacientes con preeclampsia y 37 sin preeclampsia. Las cifras promedio de presión arterial sistólica y diastólica (PAS y PAD) fueron mayores en las pacientes con preeclampsia que sin preeclampsia ( $p < 0.001$ ). Las concentraciones séricas de OC en las pacientes con y sin preeclampsia fueron  $10.2 \pm 3.3$  ng/mL y  $2.6 \pm 1.3$  ng/mL, respectivamente ( $p < 0.001$ ), aunque no hubo diferencias significativas según la severidad de la enfermedad. Se encontró una correlación positiva de OC con PAS ( $r = 0.357$ ), PAD ( $r = 0.391$ ), proteinuria ( $r = 0.414$ ), DHL ( $r = 0.359$ ) y con ácido úrico ( $r = 0.307$ ). **Conclusiones.** Los niveles séricos de osteocalcina son inferiores en pacientes con preeclampsia en comparación aquellas que tuvieron embarazo normoevolutivo y correlacionan con marcadores de disfunción orgánica y endotelial.

**Palabras clave.** Preeclampsia, osteocalcina, severidad.

## ABSTRACT

**Background.** The osteocalcin molecule produced by the bone that favors glycemic control and recently associated with pregnancy pathologies correlated with blood pressure figures. **Objective.** To compare the serum levels of osteocalcin in patients with and without preeclampsia and its association with criteria of severity. **Material and methods.** An observational, case-control, prospective study was conducted in female patients over 18 years of age with preeclampsia (cases) and normoevolutive pregnancy (controls). In both groups the serum levels of osteocalcin prior to the obstetric event were quantified. A statistical analysis was performed in SPSS v. 22 consisting of descriptive and inferential statistics, in order to determine if there were significant differences between groups in the serum levels of osteocalcin, toxoid profile and clinical characteristics. A  $p < 0.05$  was considered significant. **Results** We included 32 patients with preeclampsia and 37 without preeclampsia. The mean values of systolic and diastolic blood pressure (SBP and DBP) were higher in patients with preeclampsia than without preeclampsia ( $p < 0.001$ ). The serum concentrations of OC in patients with and without preeclampsia were 10.23.3 ng / mL and 2.6.11.3 ng / mL, respectively ( $p < 0.001$ ), although there were no significant differences according to the severity of the disease. A positive correlation of OC was found with SBP ( $r = 0.357$ ), DBP ( $r = 0.391$ ), proteinuria ( $r = 0.414$ ), DHL ( $r = 0.359$ ) and with uric acid ( $r = 0.307$ ). **Conclusions** Serum levels of osteocalcin are lower in patients with preeclampsia compared to those who had normoevolutionary pregnancy and correlate with markers of organic and endothelial dysfunction.

**Keywords.** Preeclampsia, osteocalcin, severity.

## MARCO TEORICO

### Definición y epidemiología de preeclampsia

La preeclampsia es el estado que se caracteriza por la presencia de la hipertensión y proteinuria significativa, lo que ocurra por primera vez después de la semana 20 del embarazo durante el parto y 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.<sup>1</sup>

Preeclampsia es un síndrome caracterizado por el inicio de la hipertensión y la proteinuria o la disfunción de órganos después de 20 semanas de gestación. Otros signos y síntomas que pueden ocurrir incluyen trastornos visuales, dolor de cabeza, dolor epigástrico, trombocitopenia y función hepática anormal. Estas manifestaciones clínicas se originan a partir de una microangiopatía leve a grave de los órganos diana, incluyendo el cerebro, el hígado, el riñón y la placenta.

Los trastornos hipertensivos del embarazo representan la complicación más común durante la gestación, afectando aproximadamente al 15% de las mujeres y representando cerca del 18% de todas las muertes maternas en el mundo. Su estimado es de 62 mil a 77 mil muertes cada año. Así 199 de cada 100 mil mujeres embarazadas de 20 a 24 años egresan por hipertensión gestacional y 197 por preeclampsia<sup>2</sup>. Es por esto que, la preeclampsia es una de las causas más importantes de morbilidad materna y perinatal. En un análisis de 35,000 muertes maternas, los trastornos hipertensivos fueron la segunda causa más importante. En países en vías de desarrollo como en América Latina y el Caribe, constituye la principal causa de defunción, siendo responsable de más de 25% de las muertes<sup>2</sup> seguido de la hemorragia obstétrica.<sup>3</sup>

El Instituto Nacional de Estadística y Geografía en su edición del 2017, dentro del apartado de tasa de morbilidad hospitalaria de las mujeres embarazadas de 12 años y más; de acuerdo a causas obstétricas, por cada 100 mil mujeres en el grupo de edad de 20-24 años, 197,29 se ven afectadas por preeclampsia<sup>4</sup>. Cabe denotar que, aunque existe una menor incidencia de embarazos en mujeres jóvenes (<20 años de edad), las complicaciones relacionadas a la gestación, sobre todo trastornos hipertensivos, es aún más prevalente.

### **Clasificación de la Preeclampsia**

Según las guías actuales sobre preeclampsia, el diagnóstico de se debe realizar en una mujer previamente normotensa, que debuta con hipertensión y proteinuria posterior a la semana 20 de gestación. La proteinuria puede estar ausente si se llega a presentar algún signo o síntoma que sea propio de disfunción orgánica<sup>5</sup>. Un punto importante de lo último citado es que, en la última actualización del Colegio Americano de Ginecología y Obstetricia (ACOG), esta enfermedad se divide en preeclampsia con o sin criterios de severidad. Estos mismos criterios han sido traspolados a las guías clínicas actuales de México. A continuación, describimos los criterios antes mencionados.

Los criterios diagnósticos de preeclampsia sin y con criterios de severidad se presentan en las siguientes Tablas.



**Tabla 1. Características clínicas y bioquímicas para el diagnóstico de Preeclampsia sin criterios de severidad<sup>1</sup>**

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Edad gestacional mayor a 20 semanas de gestación</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Presión arterial mayor de 140/90 mmHg en una mujer previamente normotensa, donde son necesarias dos tomas con diferencia de seis horas entre cada una, pero en un lapso no mayor de siete días.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Proteinuria en una tira reactiva con 1+ o mayor a 30 mg/dl en dos muestras de orina tomadas al azar, con diferencia de seis horas entre cada una, pero en un lapso no mayor de siete días, o bien proteinuria mayor a 300 mg en una recolección de orina de 24 hrs</li> </ul>

**Tabla 2. Preeclampsia con criterios de severidad 1 criterio o más para clasificarse en este grupo<sup>6</sup>**

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Presión arterial sistólica <math>\geq 160</math> mmHg o presión arterial diastólica <math>\geq 110</math> mmHg y proteinuria (con o sin signos y síntomas de disfunción significativa del órgano diana).</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Presión arterial sistólica <math>\geq 140</math> mmHg o presión arterial diastólica <math>\geq 90</math> mmHg (con o sin proteinuria) y uno o más de los siguientes signos y síntomas de disfunción significativa de órgano diana, tales como:             <ul style="list-style-type: none"> <li>• Alteración cerebral o visual de nuevo inicio, como:                 <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Fotopsia y / o escotomas.</li> <li>○ Cefalea Intensa que persiste y progresa a pesar de la terapia analgésica.</li> <li>○ Estado mental alterado.</li> </ul> </li> <li>• Dolor epigástrico severo y persistente en el cuadrante superior derecho que no responde a la medicación y no se explica por un diagnóstico alternativo o una concentración de transaminasas en suero <math>\geq 2</math> veces el límite superior de la normalidad para un laboratorio específico, o ambos.</li> <li>• Deshidrogenasa Láctica mayor a 600 U/L</li> <li>• <math>&lt; 100,000</math> plaquetas / microl.</li> <li>• Insuficiencia renal progresiva (creatinina sérica <math>&gt; 1.1</math> mg / dL [97.3 micromol/L]; algunas pautas también incluyen la duplicación de la concentración de creatinina sérica en ausencia de otra enfermedad renal<sup>5</sup>)</li> <li>• Edema Pulmonar</li> </ul> </li> </ul>

La preeclampsia es considerada como un síndrome pernicioso para la madre y el feto, la preeclampsia es impredecible en su inicio y progresión, y el único tratamiento curativo o definitivo es la interrupción del embarazo, extrayendo la placenta<sup>7</sup>. Se puede presentar antes de las 20 semanas de gestación vinculada a mola hidatiforme o hidrops fetal<sup>8</sup>.

Dentro de las posibles secuelas maternas incluyen edema pulmonar, hemorragia cerebral, insuficiencia hepática, insuficiencia renal y muerte. Las secuelas fetales / neonatales de la enfermedad es el resultado de la hipoperfusión placentaria y la necesidad frecuente de parto prematuro

### **Fisiopatología de la preeclampsia**

La fisiopatología de la preeclampsia es compleja, en esta se involucran múltiples factores que desencadenan un mismo insulto vascular y por ello la sintomatología típica de la enfermedad. Al inicio del embarazo y por acción de la progesterona sobre el endometrio, se lleva a cabo el proceso de decidualización.

Las células de trofoblasto extravelosas (EVT) expresan una combinación inusual de antígenos HLA de clase I: HLA-C, HLA-E y HLA-G; las células Natural Killer (NK) que expresan una variedad de receptores (CD94, KIR e ILT) que reconocen las moléculas de clase I, se infiltran en la decidua materna y se mantienen en estrecho contacto con las células EVT. Se ha planteado la hipótesis de que la interacción entre células NK y células EVT controla la implantación placentaria<sup>9</sup>.

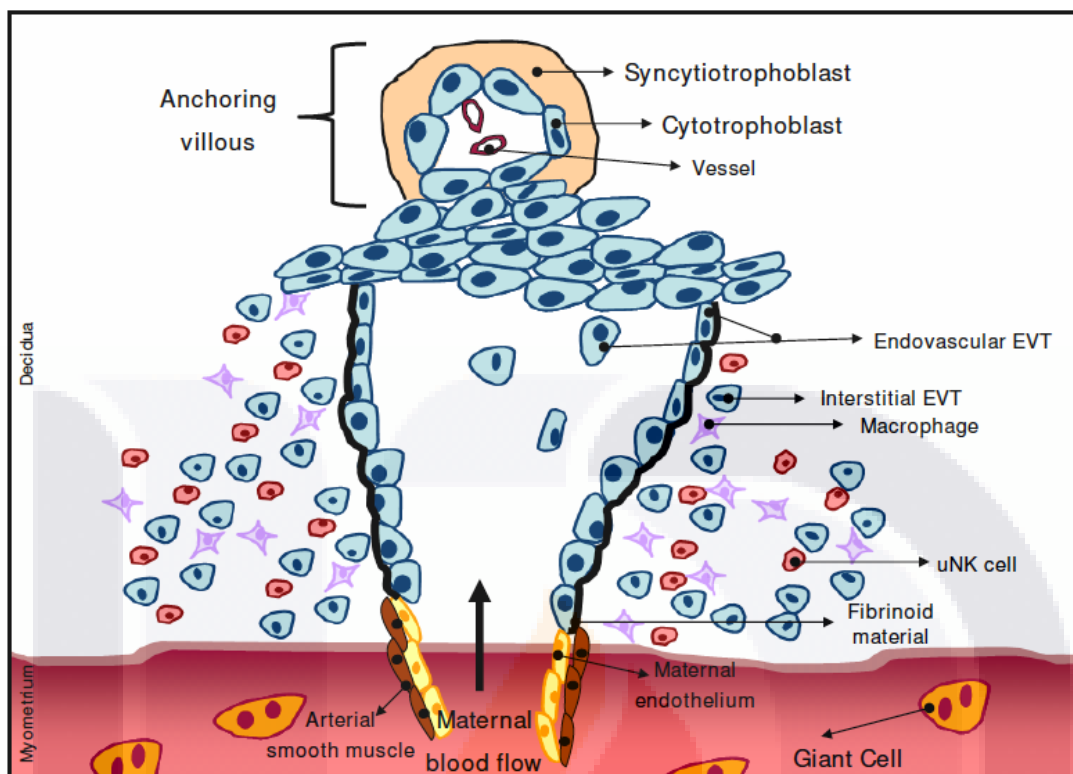
Es así como este endometrio decidualizado dará paso a una adecuada recepción de la mórula. La clave de la decidualización es la inactivación de los Linfocitos NK, que, de ser normalmente citotóxicos, se vuelven inactivos en un 95% de las ocasiones. A pesar de ser muchas las células involucradas en este

proceso, los linfocitos NK son los encargados del acoplamiento entre la madre y el sincitiotrofoblasto. Estos Linfocitos NK expresan un receptor llamado KIR. El receptor KIR tienen la función de acoplarse y reconocer al complejo mayor de histocompatibilidad (HLA) G y C que proviene del sincitiotrofoblasto<sup>10</sup> (Figura 1). Este HLA G y C son en su mayoría expresión genética paterna. Es en este punto donde existe la interacción inmunológica entre la madre (mediante los receptores KIR de las células NK) y el padre (HLA G y C).



**Figura 1. Acoplamiento del Linfocito NK (Natural Killer) materno mediante su receptor KIR al Receptor paterno del Complejo Mayor de Histocompatibilidad HLA-G del sincitiotrofoblasto.**

La importancia de esta interacción inmunológica proviene de la función posterior de las células NK. Posterior al acoplamiento inmunológico, las células NK guían al sincitiotrofoblasto hacia las arterias espirales, donde, mediante mensajeros inmunológicos, permiten la destrucción de la capa muscular de estas arterias por parte del sincitiotrofoblasto y con ello la remodelación de las mismas<sup>11</sup> (Figura 2). Es en este punto donde se determina el pronóstico de la disfunción placentaria que sucederá durante el embarazo. Un inadecuado acoplamiento inmunológico llevará a una mala remodelación arterial, y con el aumento de la demanda del flujo sanguíneo en el segundo y tercer trimestre, vendrá igualmente la imposibilidad de la placenta de mantener las demandas de oxígeno<sup>12</sup>.



**Figura 2. Implantación del Sinciotrofoblasto hacia la capa muscular miometrial materna guiada por su componente inmunológico. (tomada de John Apaza Valencia 2008)**

Esta placenta que no logra mantener un adecuado flujo de sangre y oxígeno, presentará isquemia, esta isquemia placentaria incrementará la producción de factores antiangiogénicos (sFLT1) y la disminución de factores proangiogénicos (VEGF). El desbalance entre estos dos factores es el responsable del daño al endotelio materno, que, al ser un endotelio dañado, disminuirá la producción de óxido nítrico por las células endoteliales, esto llevará a la vaso-constricción generalizada en el árbol vascular materno, endoteliosis glomerular en el riñón y con ello filtrado de las proteínas, mientras que el incremento en la cantidad de tromboxanos A2 circulantes llevará a mayor trombosis placentaria<sup>12</sup>.

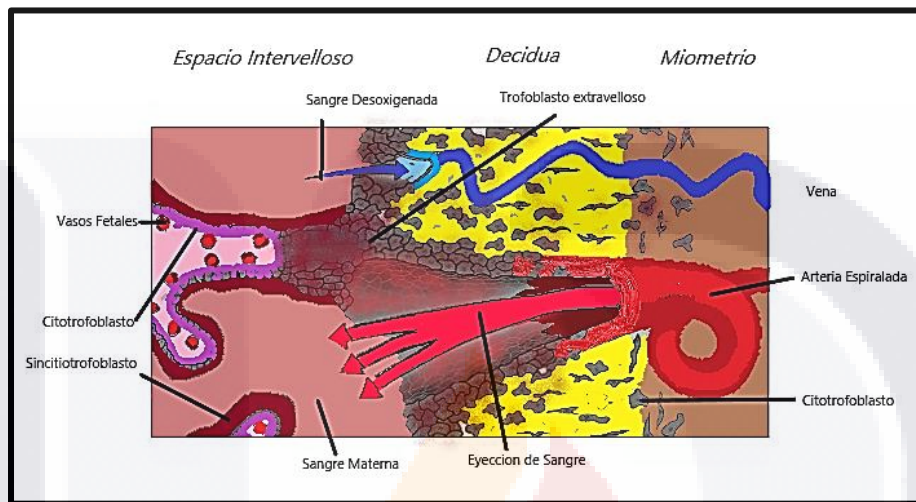
Estos cambios de insuficiencia placentaria podemos documentarlos desde el inicio del embarazo. Del lado materno podemos ver la resistencia del flujo

mediante Doppler de las arterias uterinas. Sabemos que, el aumento de la resistencia, medido por índice de pulsatilidad, o la presencia de una depresión proto-diafólica en la onda de flujo de las arterias, está relacionado con un incremento del 16% en la probabilidad de presentar preeclampsia durante el embarazo. Mientras que, del lado fetal, al existir disminución del oxígeno, el feto le da mayor importancia a la supervivencia sobre el crecimiento, lo que lleva a un crecimiento disminuido en un 30 a 50% de las ocasiones<sup>14</sup>. Es por esto que, aquellas mujeres jóvenes, nulíparas, aquellas que conciben por reproducción asistida (especialmente donación de gametos), o que cambian de pareja, tienen más riesgo de presentar preeclampsia durante su embarazo, explicado por el contacto con un nuevo HLA paterno al que su sistema inmune aún no reconoce.

### **Desarrollo anormal de la placenta**

El tejido placentario es necesario para el desarrollo de la enfermedad, el feto no tiene participación<sup>15</sup>. La preeclampsia se resuelve posterior al parto en cuestión de días, se ha estudiado la placenta en varias etapas de la gestación tanto en embarazo normales como en las pacientes con la presencia de la enfermedad, llegando a la comprensión hasta el momento sobre morfología placentaria normal y de los cambios patológicos en la circulación uteroplacentaria que son probablemente relevantes para la preeclampsia. Es evidente que los defectos en la remodelación de la arteria espiral y la invasión de trofoblasto, dos procesos relacionados pero separados, son características de los trastornos hipertensivos del embarazo y la restricción del crecimiento fetal. Estos procesos dan como resultado un placentamiento deteriorado e isquemia placentaria, que se cree que son los eventos primarios que conducen a la liberación placentaria de factores solubles que causan disfunción endotelial sistémica que resulta en el fenotipo relacionado a la preeclampsia

Las células citotrofoblásticas de la placenta en desarrollo migran a través de la decidua y parte del miometrio para invadir tanto el endotelio como la túnica media de la arteria espiral materna, ramas terminales de la arteria uterina que suministran sangre al feto y placenta en desarrollo. (Figura3)

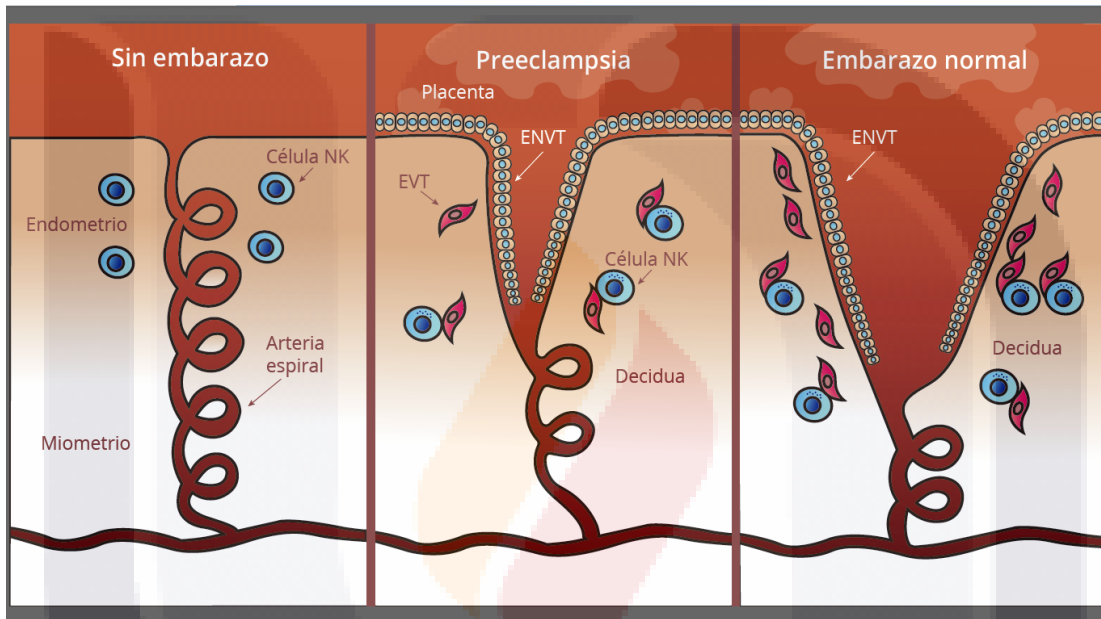


**Figura 3. Desarrollo de la circulación materno-fetal.**

Como resultado, estos vasos experimentan la transformación de pequeñas arteriolas musculares a grandes vasos de capacitancia de baja resistencia, lo que facilita enormemente el flujo sanguíneo a la placenta en comparación con otras áreas del útero<sup>16</sup>. La remodelación de las arterias espirales probablemente comienza a finales del primer trimestre y se completa a las 18 a 20 semanas de gestación, aunque la edad gestacional exacta a la que cesa la invasión de trofoblasto de estas arterias no está clara. En comparación con la preeclampsia, el citotrofoblasto invade en la parte decidua de las arterias espirales, pero no penetran en el segmento miometrial adecuadamente<sup>17</sup>.

Las arterias espirales no se desarrollan en grandes y tortuosos canales vasculares reemplazando la pared musculoelástica con material fibrinoide; en cambio, los vasos permanecen estrechos, lo que resulta en hipoperfusión placentaria (Figura 4). Este defecto en la placentación profunda se ha asociado con el desarrollo de múltiples resultados adversos del embarazo, incluyendo

la muerte fetal en el segundo trimestre, los infartos placentarios, el abrupcio placentae, la preeclampsia con o sin restricción de crecimiento intrauterino, la restricción del crecimiento intrauterino sin hipertensión materna, ruptura prematura de membranas y trabajo de parto pretérmino. No se sabe por qué la secuencia normal de acontecimientos en el desarrollo de la circulación uteroplacentaria no ocurre en algunos embarazos. Los factores vasculares, ambientales, inmunológicos y genéticos parecen desempeñar un papel.



**Figura 4. Morfología de la Vasculatura en paciente no embarazadas, en una con preeclampsia y en un embarazo normal. (Tomada del autor B. Wang. MS de la revista Core Em en su artículo Preeclampsia Eclampsia)**

La Diferenciación defectuosa de trofoblasto es un posible mecanismo responsable de la invasión de trofoblasto defectuoso de las arterias espirales<sup>18</sup>. La diferenciación de trofoblasto durante la invasión endotelial implica la alteración en la expresión de un número de diferentes clases de moléculas, incluyendo citoquinas, moléculas de adhesión, moléculas de matriz extracelular, metaloproteinasas y el complejo mayor de histocompatibilidad HLA-G y C<sup>19</sup>. Durante la diferenciación normal, los trofoblastos invasores alteran la expresión de su molécula de adhesión de aquellos que son característicos de las células epiteliales, a los de las células endoteliales a este

proceso se le llama pseudo-vasculogénesis<sup>16</sup>. Los trofoblastos obtenidos de mujeres con preeclampsia no muestran expresión de molécula de adhesión regulada o pseudo-vasculogénesis.

### **Hipoperfusión, hipoxia, isquemia**

La hipoperfusión parece ser una causa y una consecuencia del desarrollo placentario anormal. Una relación causal entre la mala perfusión placentaria, el desarrollo placentario anormal y la preeclampsia se apoya en los siguientes ejemplos:

- Los modelos animales que han reproducido con éxito al menos algunos de los hallazgos de la preeclampsia han implicado la reducción mecánica del flujo sanguíneo uteroplacentario aumentan el riesgo de placenta anormal y preeclampsia<sup>20</sup>.
- Condiciones obstétricas que aumentan la masa placentaria sin aumentar el flujo sanguíneo placentario (Mola Hidatidiforme, hidrops fetal, diabetes mellitus, gestación gemelar) resultan en isquemia relativa y se asocian con preeclampsia
- La preeclampsia es más común en mujeres que viven en altitudes altas (> 3100 metros).

La hipoperfusión es el resultado de un desarrollo placentario anormal. La hipoperfusión se acentúa a medida que progresa el embarazo ya que la vasculatura uterina anormal es incapaz de soportar el aumento normal del flujo sanguíneo al feto y placenta con el aumento de la edad gestacional.

Los cambios tardíos de la placenta consistentes con la isquemia incluyen: aterosclerosis (células cargadas de lípidos en la pared de la arteriola), necrosis fibrinoide, trombosis, estrechamiento esclerótico de arteriolas e infarto placentario. La hipoperfusión, la hipoxia y la isquemia son un componente crítico en la patogénesis de la preeclampsia debido a que la placenta hipoperfundida elabora una variedad de factores en el torrente sanguíneo materno que alteran la función de las células endoteliales maternas y



conducen a los signos y síntomas sistémicos característicos de la preeclampsia.

### **Factores genéticos**

Aunque la mayoría de los casos de preeclampsia son esporádicos, factores genéticos se cree que juegan un papel en la susceptibilidad a la enfermedad. Una predisposición genética a la preeclampsia es sugerida por las siguientes observaciones:

- Las mujeres primíparas con antecedentes familiares de preeclampsia (por ejemplo, la madre o la hermana afectada) tienen un riesgo dos a cinco veces mayor de la enfermedad que las mujeres en su primer embarazo sin historia. La contribución materna al desarrollo de la preeclampsia puede ser parcialmente explicada por los genes impresos. El riesgo de preeclampsia se incrementa más de siete veces en las mujeres que han tenido preeclampsia en un embarazo previo.
- Las cónyuges de hombres que fueron producto de un embarazo complicado por la preeclampsia son más propensas a desarrollar preeclampsia que las cónyuges de los hombres sin esta historia.
- Mujer embarazada por un hombre cuya pareja previa tenía preeclampsia corre un mayor riesgo de desarrollar el trastorno que si el embarazo con la pareja anterior era normotensivo. Aunque un estudio de la preeclampsia en gemelos no logró encontrar un vínculo genético, la mayor parte de los datos sugieren que las contribuciones tanto materna y paterna a los genes fetales pueden tener un papel en la placentación defectuosa y posterior preeclampsia.

Las manifestaciones clínicas de la preeclampsia pueden aparecer en cualquier momento desde finales del segundo trimestre hasta las primeras semanas posparto; Sin embargo, el origen de la enfermedad se establece en el embarazo temprano y se caracteriza por remodelación anormal de las arterias espirales maternas en el sitio placentario.

## **La Aterosis en la Preeclampsia**

La vasculopatía decidual se asocia comúnmente con preeclampsia materna e hipertensión. La vasculopatía decidual se caracteriza por la transformación vascular dentro de la decidua. Hay tres tipos morfológicos de vasculopatía decidual, a saber, aterosis aguda, necrosis medial fibrinoide e hipertrofia arterial mural<sup>21</sup>. Se hará énfasis en la primera.

La vasculopatía decidual fue descrita por primera vez en detalle en 1945 por Arthur Hertig como "arteriolitis degenerativa aguda", y se basó en tres fases de los cambios morfológicos. La primera fase se describió como "colección de leucocitos o fagocitos mononucleares cargados de grasa espumosa" debajo de la íntima de la arteria espiral seguida de la "degeneración fibrinoide" de la media, que está sustituida por la "proliferación fibroblástica" de la íntima y da como resultado una completa "obliteración" de la luz vascular. Estas lesiones vasculares también fueron estudiadas en detalle por otros, incluyendo Marais en 1962<sup>22</sup>.

Estas lesiones vasculares se asemejan a las etapas tempranas de la aterosclerosis y se denominan "aterosis aguda" y se cree que tienen regresión después del parto. Los mecanismos que contribuyen a la aterosis aguda en la preeclampsia son en gran parte desconocidos, pero están relacionados con la remodelación vascular deteriorada de las arterias espirales en la primera mitad del embarazo. Una característica sorprendente es que el desarrollo de estas lesiones "similares a la aterosclerosis" requiere unos pocos meses de embarazo y puede estar parcialmente vinculado a la invasión de trofoblastos.

La aterosis aguda es una lesión específica para los vasos uteroplacentarios y fue descrita originalmente por Hertig en 1945. La Aterosis puede aparecer en embarazos normotensos, pero aparece en tasas más altas en embarazos complicados por preeclampsia, las prevalencias informadas varían

considerablemente entre el 0,4% y 11% en controles normotensos y tan alto como 50% en mujeres con preeclampsia<sup>23</sup>. Las características histológicas tradicionales se describieron como presencia de células de espuma subendotelial, necrosis fibrinoide de los medios arteriales e infiltrado de linfocitos perivasculares, similar al aterosclerótico temprano lesiones<sup>24</sup>.

Se han propuesto varios agentes posibles, que podrían mediar directa o indirectamente la disfunción endotelial y la inflamación subsiguientes, incluidos los productos de peroxidación lipídica, leucocitos activados, nanopartículas de micropartículas de trofoblastos placentarios, y "factores antiangiogénicos", como la tirosina quinasa y endoglina solubles de tipo fms solubles, así como los autoanticuerpos activados contra el receptor tipo 1 de angiotensina II<sup>25</sup>.

El riesgo de enfermedad cardiovascular aumenta en mujeres con antecedentes de un trastorno hipertensivo del embarazo de inicio reciente, en particular, preeclampsia. En consecuencia, en 2010 la *American Heart Association* incluyó un historial de trastorno hipertensivo del embarazo como un factor de riesgo importante para la enfermedad cardiovascular que debe incluirse al evaluar a las mujeres para detectar el riesgo de esta misma<sup>26</sup>. El riesgo de preeclampsia también se asocia con factores de riesgo cardiovascular establecidos, tales como niveles más altos lípidos séricos previo al embarazo, presión arterial más alta antes del embarazo y el índice de masa corporal por arriba de lo normal, así como feto con antecedente de restricción del crecimiento la cual se encuentra vinculada a la disfunción placentaria grave, todo esto ya mencionado nos lleva a un aumento en el riesgo de enfermedad cardiovascular<sup>27</sup>

Las mujeres que desarrollan preeclampsia tienen un mayor riesgo de enfermedad coronaria, accidente cerebrovascular y enfermedad cardiovascular en general. No todas las mujeres que desarrollan preeclampsia desarrollan posteriormente una enfermedad cardiovascular, pero se ha informado que el riesgo relativo de futuros eventos cardiovasculares después

de un embarazo complicado por preeclampsia varía de 1.3 a 3.3, con un rango de 2.7 a 8.1 en la preeclampsia más grave<sup>28</sup>. El desarrollo normal de la hiperlipidemia materna del embarazo es exagerado en la preeclampsia, en el embarazo normal, durante el último trimestre del embarazo hay un aumento de 3 veces de los triglicéridos circulantes y un aumento del 50% en el colesterol total, que se presenta principalmente como LDL, así como un pequeño aumento de los fosfolípidos. Sin embargo, los niveles de colesterol total y LDL en la preeclampsia no se modifican en comparación con el embarazo normotenso<sup>29</sup>.

La preeclampsia se ha asociado con anomalías lipídicas, tanto sistémicas como locales. Debido al parecido con las etapas tempranas de las lesiones ateroscleróticas, como se menciona en párrafos anteriores estas lesiones en la preeclampsia se denominan “aterosis aguda”, donde “agudo” se refería al hecho de que esta lesión se desarrolla durante un período de tiempo relativamente corto (durante el embarazo), en contraste con lesión de aterosclerosis clásica se ha sugerido que desempeñan un papel compatible con la preeclampsia que representa una respuesta inflamatoria materna excesiva al embarazo.

En las lesiones ateroscleróticas los mecanismos implicados en la captación restringida de LDL oxidadas de la pared de la arteria subendotelial de los vasos coronarios en enfermedades cardiovasculares probablemente se reflejan en el desarrollo de la formación de células espumosas, en la aterosis aguda de arterias espirales se refleja el mismo mecanismo. Además, tanto la preeclampsia como la aterosclerosis se consideran enfermedades inflamatorias, y ambas afecciones se caracterizan por concentraciones circulantes aumentadas de citocinas proinflamatorias, como la interleucina 6 y el factor de necrosis tumoral, así como marcadores de activación de leucocitos, los niveles elevados de PCR (Proteína C Reactiva) se han asociado con un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular, la PCR no es solo una

marcador de inflamación, pues también puede tener un papel patógeno en la aterosclerosis y las enfermedades cardiovasculares. En la preeclampsia las células espumosas contienen además factor de necrosis tumoral que se han identificado como macrófagos inmunopositivos CD68, una citoquina proinflamatoria, que vincula la presencia de aterosclerosis aguda con el estado hiperinflamatorio de la preeclampsia. Los procesos inflamatorios locales deciduales posiblemente podrían desempeñar un papel en el proceso de aterosclerosis aguda en el embarazo, tanto en embarazos sin complicaciones como patológicos<sup>30</sup>.

### **Efecto Vascular de la osteocalcina (Asociación con calcificación y Aterosclerosis)**

La osteocalcina es una hormona peptídica lineal formada de 49 aminoácidos y producida por los osteoblastos encontrándose en abundancia en la matriz mineralizada del hueso y expandiendo la función endocrina del esqueleto, sin embargo existe también una línea que acerca la relación entre la osteocalcina y la calcificación vascular y ha surgido debido a la relación entre calcificación vascular y la mineralización ósea pues su comportamiento es similar así como también su relación con la aterosclerosis<sup>31</sup>.

La calcificación vascular es un factor de riesgo importante conocido para la mortalidad y la morbilidad y es un factor de riesgo independiente para la enfermedad cardiovascular. La calcificación vascular, que durante mucho tiempo se cree que es una parte pasiva del envejecimiento y el "desgaste", ahora se considera un proceso activo, mediado por células, que está regulado, pero aún no se comprende por completo. La osteocalcina (también conocida como proteína ósea del ácido glutámico) es una hormona intrigante producida por los osteoblastos en el hueso que se ha relacionado recientemente con un número creciente de funciones y efectos biológicos extraóseos. La Osteocalcina no solo se produce en el hueso, sino que también se expresa en

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

las células del músculo liso vascular (VSMC) que muestran un fenotipo similar a los osteoblastos<sup>32</sup>.

Entre el 60 y el 90% de la Osteocalcina carboxilado (cOC) se deposita en la matriz ósea; sin embargo, también puede ser liberado en la circulación. La osteocalcina puede estar subcarboxilada (ucOC) debido a la descarboxilación, baja actividad de la enzima carboxilasa dependiente de vitamina K o deficiencia de vitamina K. ucOC tiene menos afinidad con la hidroxiapatita y se libera más fácilmente en la circulación que el cOC<sup>33</sup>. Se plantea la hipótesis de que el ucOC puede ser la forma activa de OC involucrada en la calcificación vascular, pero esto aún no se ha investigado.

Algunos estudios mostraron que la osteocalcina estimula la mineralización y la diferenciación de las VSMC, en particular a través de la activación de HIF-1 $\alpha$  (subunidad alfa del factor 1 inducible por hipoxia), suponiendo que la osteocalcina aumenta la utilización de la glucosa en las VSMC y promueve la diferenciación osteocondrogénica que produce calcificación<sup>34</sup>.

La cardiopatía isquémica, o aterosclerosis, es la causa más frecuente de muerte relacionada con la enfermedad cardiovascular<sup>35</sup>. El desarrollo de la aterosclerosis se caracteriza por distintas fases, que incluyen disfunción endotelial, engrosamiento de la íntima, desarrollo de placa y, en la etapa crónica, calcificación vascular<sup>36</sup>. Numerosos factores de riesgo son responsables del desarrollo de la aterosclerosis, incluida la diabetes, el envejecimiento, el tabaquismo, los bajos niveles de actividad física, la mala alimentación y los antecedentes familiares. La diabetes, que se caracteriza por la hiperglucemia y la resistencia a la insulina, es un factor de riesgo importante para el desarrollo de la aterosclerosis. La señalización anormal de la insulina, los productos finales de la glucosilación avanzada y el estrés oxidativo causado por la hiperglucemia y la resistencia a la insulina pueden promover la interacción patológica entre la diabetes y la aterosclerosis. Recientemente, el

esqueleto se ha establecido como un órgano endocrino que participa en varios procesos metabólicos, incluido el mantenimiento de la glucemia circulante y los niveles de lípidos. Se cree que esta "participación cruzada" ósea / endocrina está regulada, al menos en parte, a través de la osteocalcina, una proteína derivada de osteoblastos dependiente de la vitamina K<sup>37</sup>. La osteocalcina total incluye tanto osteocalcina subcarboxilada (ucOC) como osteocalcina carboxilada (cOC). UcOC se caracteriza por la presencia de 0-2 grupos gamma-carboxilo en los residuos de ácido glutámico y se libera predominantemente en la circulación. La presencia de 3 residuos de ácido gamma-carboxiglutámico produce osteocalcina carboxilada (COC), que tiene una alta afinidad por la hidroxiapatita y se localiza predominantemente en la matriz ósea. La vitamina K es esencial para la carboxilación y, como tal, los niveles circulantes de osteocalcina se utilizan como un marcador del estado de la vitamina K. En general, el ucOC representa entre el 40 y el 60% de la osteocalcina circulante total<sup>37</sup>.

Se ha demostrado que varios factores osteogénicos, incluido el factor de transcripción "master regulator" osteoblástico Runx2, se expresan en las células musculares lisas ubicadas en el sitio de las placas vasculares calcificadas<sup>38</sup>. La expresión de tales factores puede desempeñar un papel en el potencial osteogénico de estas células musculares lisas. Además, la osteocalcina, que se ha utilizado clínicamente como marcador de formación ósea, también se ha encontrado en estos sitios<sup>39</sup>. Las placas ateroscleróticas avanzadas se caracterizan por rigidez arterial, lo que resulta en una reducción en el cumplimiento de los vasos; esto ocurre como consecuencia de la calcificación vascular. Las placas ateroscleróticas avanzadas se caracterizan por rigidez arterial, lo que resulta en una reducción en el cumplimiento de los vasos; esto ocurre como consecuencia de la calcificación vascular. En general, la expresión de osteocalcina aumenta en las lesiones calcificadas a lo largo de las capas íntima y medial de la pared vascular. Si bien el aumento de la

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

osteocalcina a menudo se asocia con el desarrollo de un fenotipo osteogénico, también se asocia con los lípidos.

La evidencia creciente indica que se ha identificado una conexión entre el hueso y la vasculatura, y la médula ósea y las células osteogénicas circulantes mediante tinción para el marcador osteoblástico, la osteocalcina. Las células progenitoras endoteliales contribuyen a la reparación vascular, pero la reparación de la lesión vascular puede producir calcificación<sup>40</sup>.

Un mayor porcentaje de células osteogénicas progenitoras expresa Osteocalcina en pacientes con aterosclerosis coronaria en comparación con sujetos con función endotelial normal y sin enfermedad estructural de la arteria coronaria. Estos hallazgos tienen implicaciones potenciales para los mecanismos de calcificación vascular y para el desarrollo de nuevos marcadores para la aterosclerosis coronaria<sup>40</sup>.

Cada vez hay más evidencia de un vínculo entre el metabolismo óseo y la vasculatura. Por lo tanto, las mujeres de edad avanzada con osteoporosis o con un alto recambio óseo tienen una mayor mortalidad cardiovascular<sup>41</sup>. Así como, aquellas que cuentan con antecedente de preeclampsia.



## ANTECEDENTES CIENTÍFICOS

Pocos estudios han medido y comparado las concentraciones séricas de osteocalcina en pacientes con preeclampsia y su asociación con la severidad de la preeclampsia.

En un estudio publicado en el 2001 realizado por la Dra. Mieczyslaw Gorzelak donde se midieron las concentraciones séricas de osteocalcina y colágeno tipo I telopéptidos C-terminales en mujeres embarazadas con preeclampsia, se encontró que las concentraciones de osteocalcina y productos de degradación del colágeno tipo I fueron significativamente mayores ( $p < 0.005$ ) en comparación con mujeres embarazadas sanas<sup>42</sup>.

En el ensayo publicado en el 2001 por el Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism se encontró que, en mujeres con preeclampsia, las concentraciones de IGF-I fueron 74% mayores en el tercer trimestre en comparación con el primer trimestre, mientras que hubo un pequeño cambio en las concentraciones de osteocalcina en el tercer trimestre. En contraste, las mujeres normotensas tuvieron un aumento promedio de 43% en las concentraciones de IGF-I acompañadas por una disminución de 63% en las concentraciones de osteocalcina. En mujeres con preeclampsia, las concentraciones de IGF-I y osteocalcina se correlacionaron significativamente ( $r = 0.48$  y  $0.43$ ) en el primer y el tercer trimestre, pero solo en el tercer trimestre entre las mujeres normotensas ( $r = 0.27$ ). Los autores concluyeron que las mujeres con preeclampsia parecen tener una capacidad de respuesta al IGF-I exagerada en comparación con las mujeres que son normotensas; sin embargo, la fuerte correlación entre el IGF-I y la osteocalcina en mujeres con preeclampsia sugiere que el IGF-I puede conservar su papel como regulador local de la remodelación ósea, como lo indican las concentraciones de osteocalcina<sup>43</sup>.

En un protocolo de 32 pacientes con preeclampsia y 35 con embarazos normotensos sanos. Se midieron las concentraciones séricas de osteocalcina

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

para evaluar la formación ósea y se midió la desoxipiridinolina (DPD) urinaria para evaluar la reabsorción ósea. Sólo se incluyeron en el grupo de embarazos normotensos productos únicos y sin enfermedad sistémica. Se tomaron muestras de sangre venosa y orina en ayuno para analizar la osteocalcina sérica y la DPD urinaria, respectivamente. La concentración sérica de osteocalcina fue mayor en las pacientes con preeclampsia que en embarazos normales, Además, se encontró que la concentración de DPD en la orina estaba elevada en la preeclampsia en comparación con el embarazo normal. Las correlaciones entre la DPD urinaria y la osteocalcina sérica fueron significativas en pacientes con la enfermedad ( $r= 0.57$ ,  $p = 0.01$ ) y en embarazos normotensos ( $r= 0.56$ ,  $p = 0.001$ ). Los autores llegaron a la conclusión de que el aumento del recambio óseo que se observa en la preeclampsia es la causa de la disminución del calcio sérico y la hipocalciuria en la preeclampsia<sup>44</sup>.

Aunque, los estudios previos explican las diferencias en las concentraciones séricas de osteocalcina en pacientes con preeclampsia, a alteraciones en el recambio óseo que ocurren en la preeclampsia, evidencias recientes sugieren una relación de las concentraciones séricas de osteocalcina con la presión arterial y parámetros cardiovasculares como se describe a continuación.

Sánchez, Villafán y cols. en un estudio realizado en el 2017 encontraron una correlación positiva entre las cifras de presión arterial sistólica (PAS) y las concentraciones de osteocalcina no carboxilada (ucOC;  $r=0.277$ ,  $p<0.05$ ) en individuos sanos y entre la presión arterial diastólica y la ucOC y la presión arterial diastólica (PAD;  $r=0.450$ ,  $p=0.003$ ) en pacientes con diabetes mellitus<sup>45</sup>.

Por su parte, Xu y cols. publicaron recientemente un estudio en el cual encontraron menores concentraciones de osteocalcina entre las concentraciones séricas de osteocalcina total en pacientes masculinos hipertensos que en no hipertensos [16.37 (13.34-20.11) ng/mL versus 17.01 (14.23-20.79) ng/mL,  $p=0.039$ ]. Sin embargo, no hubo diferencias en las

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

mujeres. Encontraron además una relación inversa en entre osteocalcina sérica y presión arterial sistólica<sup>46</sup>.

## JUSTIFICACIÓN

### **Magnitud e impacto**

La preeclampsia complica el 10% de todos los embarazos, ponen en peligro el bienestar materno-fetal y se asocia con alta mortalidad.

### **Trascendencia**

Conocer marcadores bioquímicos de la Preeclampsia permitirá identificar a las pacientes en riesgo e implementar medidas de prevención de Preeclampsia y un monitoreo estrecho de la paciente en riesgo.

### **Aplicabilidad**

Los resultados del presente estudio podrían apoyar el uso de medición de Osteocalcina como factores predictores de Preeclampsia.

### **Factibilidad**

Este trabajo es factible porque se cuenta con pacientes en volumen suficiente para llevarlo a cabo, se tiene el apoyo del HMA, la UAA, así como los recursos materiales y la capacidad técnica para realizarse

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el HMA se atendieron en el 2017 un total de 9545 eventos obstétricos, de los cuales el 10% correspondieron a pacientes con preeclampsia.

Se ha observado que un alto porcentaje de los casos de preeclampsia son detectadas cuando se presenta la paciente para resolución del evento obstétrico y no fueron detectadas a tiempo. Lo que, expone a mayor riesgo de complicaciones al feto y a la madre.

La búsqueda de marcadores bioquímicos representa una oportunidad para la identificación temprana de pacientes con riesgo de preeclampsia y su asociación con la severidad.

En el presente estudio, se plantea evaluar si los niveles de osteocalcina se asocian con el riesgo y la severidad de la preeclampsia. Esto con base en que, dentro de la fisiopatología de la preeclampsia, existe una aterosclerosis vascular vinculada la cual se ha visto que existe una relación con este parámetro bioquímico. Por lo tanto, las variantes en los niveles séricos podrían tener implicaciones funcionales y moduladoras de la angiogénesis durante el desarrollo placentario.

En la revista *European Journal of Obstetrics and Gynecology reproductive Biology* se publicó un estudio en el 2001 donde se investigó las concentraciones de osteocalcina y colágeno tipo I telopéptidos C-terminales en mujeres embarazadas con preeclampsia, se encontró que, en pacientes con preeclampsia, las concentraciones de osteocalcina y productos de degradación del colágeno tipo I fueron significativamente mayores ( $P < 0.005$ ) en comparación con mujeres embarazadas sanas.

En otro estudio que lleva por nombre IGF-I, osteocalcina y cambio óseo en embarazadas normotensas y con preeclampsia publicado en el 2001 por *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* Se llega a la conclusión de que las mujeres con preeclampsia parecen tener una capacidad de respuesta al IGF-I exagerada en comparación con las mujeres que son normotensas; sin embargo, la fuerte correlación entre el IGF-I y la osteocalcina en mujeres con preeclampsia sugiere que el IGF-I puede conservar su papel como regulador

local de la remodelación ósea, como lo indican las concentraciones de osteocalcina

En el protocolo de investigación titulado “Bone turnover in preeclamptic and normotensive Pregnancy” publicada por International Journal of Gynecology and Obstetrics. Se encontró que la concentración sérica de osteocalcina fue mayor en pacientes con preeclampsia que en embarazos normales, Además, se encontró que la concentración de DPD en la orina estaba elevada en la preeclampsia en comparación con el embarazo normal. Las correlaciones entre la DPD urinaria y la osteocalcina sérica fueron significativas en la preeclampsia ( $r = 0.57$ ,  $p = 0.01$ ) y el embarazo normotenso ( $r = 0.56$ ,  $p = 0.001$ ).

Por lo que, el objetivo de este estudio es analizar la asociación de los niveles séricos de osteocalcina con el riesgo y la severidad de la preeclampsia en población mestiza de Aguascalientes.

### **Pregunta de investigación**

¿Existen diferencias significativas en los niveles séricos de osteocalcina en pacientes con y sin preeclampsia, y se asocian estos con la severidad y momento de aparición de la enfermedad?

## **HIPÓTESIS**

### **Hipótesis de trabajo o alterna (H1)**

Los niveles séricos de osteocalcina son significativamente mayores en las pacientes con preeclampsia que sin preeclampsia, y se asocian con los criterios de severidad y momento de aparición de la enfermedad.

**Hipótesis nula (H0)**

Los niveles séricos de osteocalcina no son significativamente mayores en las pacientes con preeclampsia que sin preeclampsia, ni se asocian con los criterios de severidad y momento de aparición de la enfermedad.

**OBJETIVOS****Objetivo general**

Comparar los niveles séricos de osteocalcina en pacientes con y sin preeclampsia y su asociación con criterios de severidad y el momento de aparición de la misma.

**Objetivos particulares**

1. Describir las características demográficas, antropométricas y antecedentes patológicos de importancia de las pacientes de ambos grupos.
2. Conocer los antecedentes ginecoobstétricos de las pacientes de ambos grupos.
3. Identificar las características clínicas de presentación de la preeclampsia en el grupo de casos.
4. Comparar las cifras tensionales y el perfil toxémico entre grupos.
5. Comparar los niveles séricos de osteocalcina entre grupos.
6. Comparar en pacientes con preeclampsia con y sin criterios de severidad los niveles séricos de osteocalcina.

7. Comparar los niveles séricos de osteocalcina en pacientes con preeclampsia temprana y tardía.

8. Evaluar la correlación de los niveles séricos de osteocalcina con cifras tensionales y perfil toxémico de las pacientes

## **MATERIAL, PACIENTES Y METODOS**

### **I. TIPO, DISEÑO Y CARACTERÍSTICAS DEL ESTUDIO**

Observacional, casos y controles, prospectivo.

### **II. POBLACIÓN DE ESTUDIO**

Pacientes obstétricas atendidas en el Hospital de la Mujer de Aguascalientes sanas o con preeclampsia, en el periodo enero de 2018 a septiembre de 2018.

### III. OPERACIONALIZACIÓN Y DESCRIPCIÓN DE VARIABLES

A continuación, se operacionalizan y describen las variables de estudio.

Variable	Definición operacional	Tipo y Escala de características de medición de la variable	Unidades de medición
<b>Variable independiente</b>			
<b>Osteocalcina</b>	Concentraciones séricas de osteocalcina medidas por electroquimio-luminiscencia. En una muestra obtenida al ingreso al hospital para la resolución del evento obstétrico	Cuantitativa	Continua ng/mL
<b>Variables dependientes</b>			
<b>Preeclampsia</b>	Elevación de las cifras tensionales >140/90 y presencia de proteinuria >30mg/dL.	Cualitativa	Nominal Si No
<b>Severidad de la preeclampsia</b>	Gravedad de la preeclampsia de acuerdo a los siguientes criterios. No severa: <2 g proteinuria Severa: >2 g proteinuria, o creatinina >1.1 mg/dL	Cualitativa	Ordinal Con criterios de severidad Sin criterios de severidad
<b>HELLP</b>	Es una complicación	Cualitativa	Nominal Si



		multisistémica del embarazo que se caracteriza por hemólisis, elevación de enzimas hepáticas y trombocitopenia.			No
<b>Eclampsia</b>		Preeclampsia más alteraciones en el estado de alerta o presencia de crisis convulsivas en ausencia de otras causas, posterior a semana 20 o 6 semanas postparto.	Cualitativa	Nominal	Si No
<b>Preeclampsia temprana</b>		Elevación de las cifras tensionales >140/90 y presencia de proteinuria >30mg/dL. que aparece antes de la semana 34 de gestación.	Cualitativa	Nominal	Si No
<b>Preeclampsia temprana</b>		Elevación de las cifras tensionales >140/90 y presencia de proteinuria >30mg/dL. que aparece a partir de la semana 34 de gestación.	Cualitativa	Nominal	Si No
<b>Variables de confusión</b>					

<b>Edad materna</b>	Tiempo cronológico de vida cumplido.	Cuantitativa discreta	Discreta	Años
<b>Índice de masa corporal</b>	Relación entre el peso y la altura utilizado para clasificar el peso.	Cuantitativa	Continua	Kg/m <sup>2</sup>
<b>Estado nutricional</b>	Clasificación de las pacientes según el IMC	Cualitativa	Ordinal	Bajo peso: <18.5 Kg/m <sup>2</sup> Peso normal: 18.5–24.9 Kg/m <sup>2</sup>
<b>Edad gestacional</b>	Semanas de vida intrauterina cumplidas al momento del parto.	Cuantitativa	Continua	Semanas
<b>Tensión Arterial</b>	Cantidad de presión que se ejerce en las paredes de las arterias al desplazarse la sangre por ellas	Cuantitativa	Discreta	mm/Hg

<b>Periodo intergenésico</b>	Periodo comprendido desde el nacimiento de un producto a la fecha de ultima menstruación	Cuantitativa	Discreta	Meses
<b>Tabaquismo activo</b>	Inhalación voluntaria de humo de tabaco	Cualitativa	Nominal	Si No
<b>Índice tabáquico</b>	Total, de cigarrillos por día x número de años/20 años	Cuantitativa	Continua	Número/paquetes/Año
<b>Gestas</b>	Número de embarazos que ha tenido la paciente.	Cuantitativa	Discreta	Eventos
<b>Preeclampsia previa</b>	Antecedente personal de preeclampsia	Cualitativa	Nominal	Si No
<b>Diabetes gestacional</b>	Antecedente personal de diabetes gestacional	Cualitativa	Nominal	Si No

## SELECCIÓN DE LA MUESTRA

### a) Tipo de muestreo

Se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia, de pacientes que fueron atendidas por preeclampsia o para resolución de embarazo en el Hospital de la Mujer de Aguascalientes durante el periodo de estudio.

### b) Tamaño de muestra

El cálculo del tamaño de muestra se realizó con la fórmula de diferencia de medias, esperando una diferencia promedio en las concentraciones de osteocalcina de 9.55 ng/mL entre pacientes con y sin preeclampsia, de acuerdo al estudio de Gorzelak y cols. con un intervalo de confianza de 95%, un poder de 80% y una varianza de 106.6 ng/mL.

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 * 2 * \sigma^2}{d^2}$$

Donde,

$Z_{\alpha/2}$  es el valor crítico de una distribución normal a  $\alpha/2$  (por ejemplo, para un intervalo de confianza de 95%,  $\alpha$  es 0.05 y el valor crítico es 1.96). =1.96

$Z_{\beta}$  es el valor crítico de una distribución normal a  $\beta$  (por ejemplo, para un poder de 80%)

$d$ = es la diferencia esperada de medias en las concentraciones de osteocalcina 9.55 ng/mL

$\sigma^2$ = es la varianza esperada de las concentraciones de osteocalcina en los individuos estudiados= 106.6 ng/mL

***n=19 pacientes por grupo como mínimo; n=38 pacientes totales***

**c) Criterios de selección**

A continuación, se describen los criterios de selección.

***i) Criterios de inclusión***

- Pacientes femeninos mayores de 18 años.
- Embarazadas con preeclampsia y sin preeclampsia (controles, de acuerdo a los criterios establecidos en la guía de práctica clínica.
- Cuyo evento obstétrico fue atendido en el Hospital de la Mujer de Aguascalientes.

***ii) Criterios de exclusión***

- Pacientes que no firmaron carta de consentimiento bajo información.
- Pacientes con hipertensión inducida por embarazo, hipertensión crónica o en tratamiento antihipertensivo durante el embarazo.
- Pacientes que desarrollen preeclampsia en el periodo postnatal.

***iii) Criterios de eliminación***

- Pacientes con información incompleta al final del estudio
- Pacientes con muestra de sangre insuficiente

## RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

### a) Instrumento



**ISSEA**  
SECRETARÍA DE  
SALUD DEL ESTADO  
DE AGUASCALIENTES

**HOSPITAL DE LA MUJER DE AGUASCALIENTES  
INSTITUTO DE SERVICIOS DE SALUD DEL ESTADO  
DE AGUASCALIENTES**

### “NIVELES SÉRICOS DE OSTEOCALCINA EN PACIENTES CON Y SIN PREECLAMPSIA Y SU ASOCIACIÓN CON CRITERIOS DE SEVERIDAD”

Nombre: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_ No. expediente: \_\_\_\_\_  
Estado de Origen: \_\_\_\_\_ Teléfono: \_\_\_\_\_ Pertenece alguna etnia: \_\_\_\_\_

	<b>GRUPO</b>	<b>CONTROL</b>	<b>CASO</b>
<i>Antropométricos</i>			
	Peso		Kg
	Talla		Cms
<i>Obstétricos y Personales Patológicos</i>			
	Semanas de Gestación		
	Periodo Inter-genésico		
	Fumadora durante el embarazo		
	No de Cigarros por día		
	Madre con Antecedente de Preeclampsia		
	Gestas		
	Paras		
	Cesáreas		
	Abortos		
	Óbito		
	Preeclampsia en embarazo previo		
	Diabetes Gestacional en embarazo previo		
	Edad gestacional del diagnóstico de preeclampsia		
	Diabetes Mellitus tipo 1		
	Diabetes Mellitus tipo 2		
	Diabetes Mellitus Gestacional Actual		

	Trombofilias	
	Nefropatía	
	Enfermedades Autoinmunes	
	Otros	
<i>Características Clínicas y Bioquímicas de Pacientes con Preeclampsia</i>		
	Tensión Sistólica precarga	
	Tensión Diastólica precarga	
	Tensión Sistólica Poscarga	
	Tensión Sistólica Precarga	
	Cefalea	
	Acúfenos	
	Fosfenos	
	Epigastralgia	
	Edema	
	Reflejos osteotendinosos aumentados	
	Hemoglobina	
	Plaquetas	
	Creatinina	
	Acido Úrico	
	Albumina	
	Deshidrogenasa Láctica	
	Transaminasa Glutámico Oxalacética	
	Transaminasa Glutámico Pirúvica	
	Bilirrubina Directa	
	Bilirrubina Indirecta	
	Proteinuria	
	Complicaciones de la preeclampsia	

## **b) Logística**

Se realizó a participar en el estudio a las pacientes con preeclampsia que acudieron a atención al Hospital de la Mujer de Aguascalientes y cuya resolución de embarazo ocurrió en este hospital.

Se invitó también a pacientes que acudieron a resolución de evento obstétrico con embarazo normoevolutivo y que tuvieran cifras normales de presión arterial y ausencia de clínica de preeclampsia.

A las participantes se les tomó una muestra de sangre antes de la cesárea o parto, con la finalidad de cuantificar concentraciones séricas de osteocalcina. Las muestras de sangre en tubo rojo fueron centrifugadas en los siguientes 30 minutos de haber sido tomadas y el suero alicuotado y congelado hasta completar el tamaño de muestra para cuantificar al mismo tiempo las concentraciones de la molécula de interés. Se utilizó el Kit Osteocalcin Immulite (SIEMENS) cuyo método de cuantificación se basa en quimioluminiscencia. El equipo que se utilizó fue el Immulite® 1000 Systems. El coeficiente de variación intra e inter-ensayo de este método es <5%.

Se obtuvo además información relevante de las pacientes incluyendo: datos demográficos, antecedentes gineco-obstétricos y patológicos en ambos grupos, presión arterial, así como perfil hipertensivo y datos clínicos de preeclampsia.

Finalmente se realizará el análisis estadístico como se describe en la sección correspondiente y se escribirán los resultados para presentarlos en forma de tesis.



## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El resultado primario será la presencia de preeclampsia. Las pacientes con preeclampsia se dividirán a su vez de acuerdo a su clasificación (con criterios de severidad y sin criterios de severidad). Se evaluará la normalidad de la distribución de las variables cuantitativas utilizando el test de Shapiro-Wilk: Las variables que se distribuyan de manera normal serán comparadas mediante el test t y se expresarán como media y desviación estándar (DE). Las variables que no se distribuyan de manera normal se compararán utilizando el test de U de Mann-Whitney y se expresarán como mediana y rango intercuartil (RIQ). Las variables cualitativas se compararán mediante el test de  $\chi^2$  o el test exacto de Fisher.

La relación entre las variables cuantitativas se realizará mediante el coeficiente de correlación de Pearson para las variables con distribución normal y el coeficiente de correlación de Spearman para variables con distribución libre. La asociación entre el resultado primario (preeclampsia) y secundario (severa o no severa, temprana o tardía) con las variables independientes, se realizará mediante regresión logística ajustada a posibles confusores. El desempeño de la predicción de la severidad de la preeclampsia se realizará mediante el análisis de la curva ROC (receiver operating characteristics). Las curvas ROC pareadas se compararán mediante el método de DeLong. Los datos se analizarán con el programa estadístico STATA para Mac, v.15.2 (College Station, Texas) y R v3.1.2 (The R Foundation for Statistical Computing). Se considerará una  $p < 0.005$  como significativa.

## CONSIDERACIONES ÉTICAS

Este estudio se apega a los principios científicos y éticos de la declaración de Helsinki de 1964 enmendada en Tokio en 1975 por la Asociación Mundial y a la Ley General de Salud en Materia de Investigación sin riesgo, según lo establecido en su artículo 100, respetando la confidencialidad de las pacientes con resguardo de datos y exposición a riesgos o daños innecesarios, mismos que justifican la investigación médica para una contribución o solución de problemas de salud. Así mismo, fue autorizado por el comité local de bioética e investigación

## RECURSOS PARA EL ESTUDIO

### **Recursos Humanos**

Médico residente, asesores clínicos y metodológicos, personal administrativo y de laboratorio clínico, técnicos de laboratorio.

### **Recursos Materiales**

Base de datos, expediente clínico.

### **Recursos Financieros**

Proporcionados por el Dr. José Rafael Villafán Bernal.

**CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES**

	Ene 18	Feb 18	Mar 18	Abr 18	May 18	Jun 18	Jul 18	Ago. 18	Sept 18	Oct 18	Nov 18
1.- Búsqueda de Información	Red	Red	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue
2.- Diseño del Protocolo	Light Blue	Red	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue
3.- Aprobación del Protocolo	Light Blue	Red	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue
4.- Ejecución del protocolo y recolección de datos	Light Blue	Light Blue	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red	Red
5.- Análisis de datos y elaboración de tesis	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Light Blue	Red	Red

## RESULTADOS

### Características demográficas, antropométricas y obstétricas de las pacientes

En el presente estudio se incluyeron un total de 32 pacientes con preeclampsia y 37 sin preeclampsia, que fueron atendidos en el Hospital de la Mujer de Aguascalientes durante el periodo de estudio.

No hubo diferencias significativas en edad, talla, gestas, paras y abortos entre pacientes con y sin preeclampsia. Sin embargo, los pacientes con preeclampsia tuvieron significativamente menor peso, menor IMC y mayor frecuencia de cesáreas que las pacientes controles (Tabla 3).

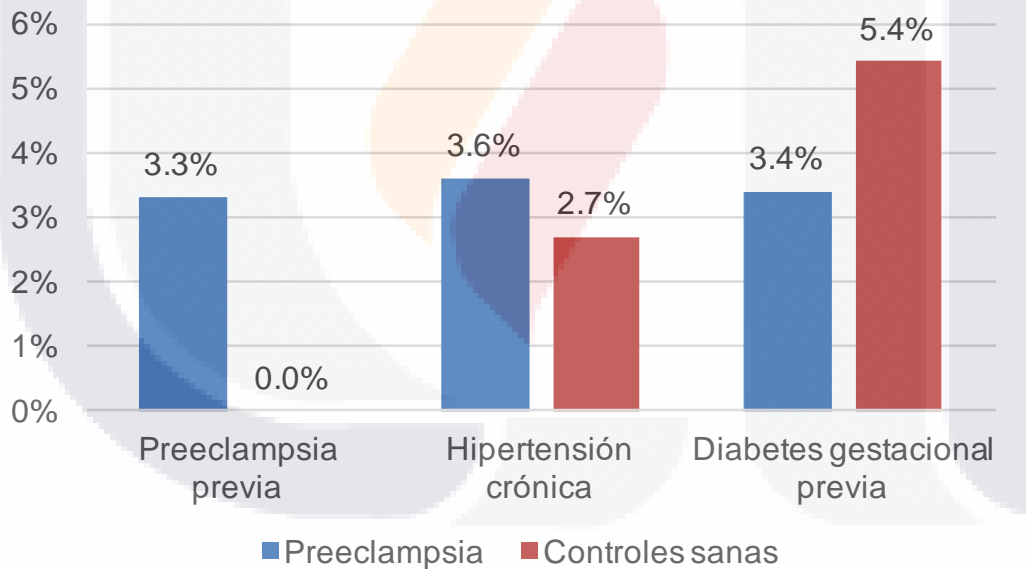
**Tabla 3. Comparación de características demográficas y antropométricas de ambos grupos**

<i>Característica</i>	<i>Preeclampsia (n=32)</i>	<i>Controles (sanas) (n=37)</i>	<i>Valor de p</i>
<b>Edad (años)</b>	24.4±6.8	26.7±7.2	0.187
<b>Peso (Kg)</b>	64.5±14.4	72.6±13.5	<b>0.020</b>
<b>Talla (m)</b>	1.57±0.07	1.56±0.07	0.821
<b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	26.3±6.1	29.8±5.7	<b>0.020</b>
<b>Gestas (eventos)</b>	2.3±1.4	2.2±1.6	0.968
<b>Paras (eventos)</b>	0.9±1.4	0.7±1.4	0.659
<b>Abortos (eventos)</b>	0.3±0.7	0.3±0.6	0.949
<b>Cesáreas (eventos)</b>	0.8±0.9	0.2±0.5	<b>0.003</b>

**Antecedentes personales patológicos de importancia de las pacientes de ambos grupos**

Entre las pacientes con preeclampsia el 3.3% (n=1) habían tenido antecedente de esta morbilidad en un embarazo previo, y de las pacientes controles sin preeclampsia 0% había tenido preeclampsia en embarazos previos (p=0.448, exacta de Fisher).

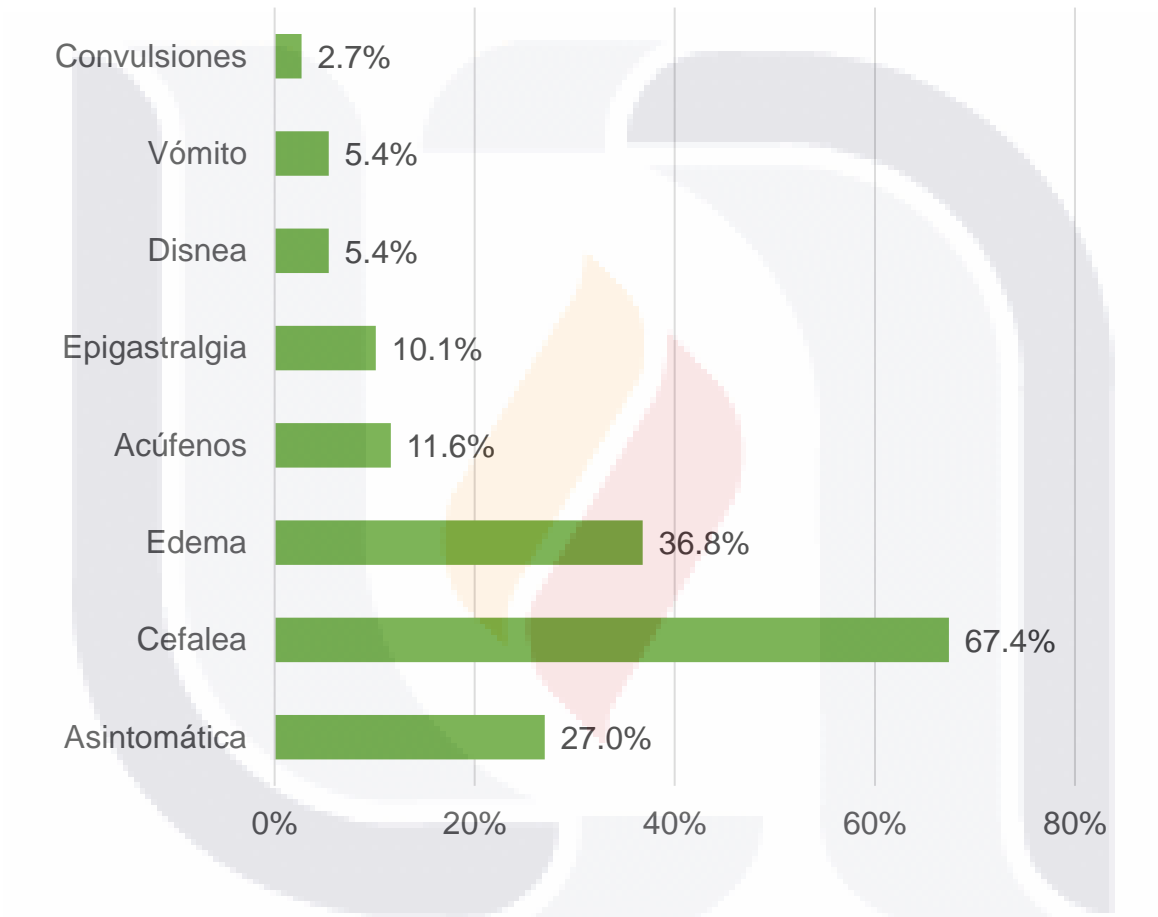
Una paciente en cada grupo tenía diagnóstico previo de hipertensión pregestacional, que representaron el 2.7% y el 3.6%, respectivamente. (p=1.000, Chi-cuadrada). Mientras que, una paciente en el grupo preeclampsia (3.4%) y dos pacientes controles (5.4%) habían tenido antecedente de diabetes gestacional (Figura 5).



**Figura 5. Antecedentes personales patológicos de las pacientes de ambos grupos**

**Características clínicas de presentación de la preeclampsia**

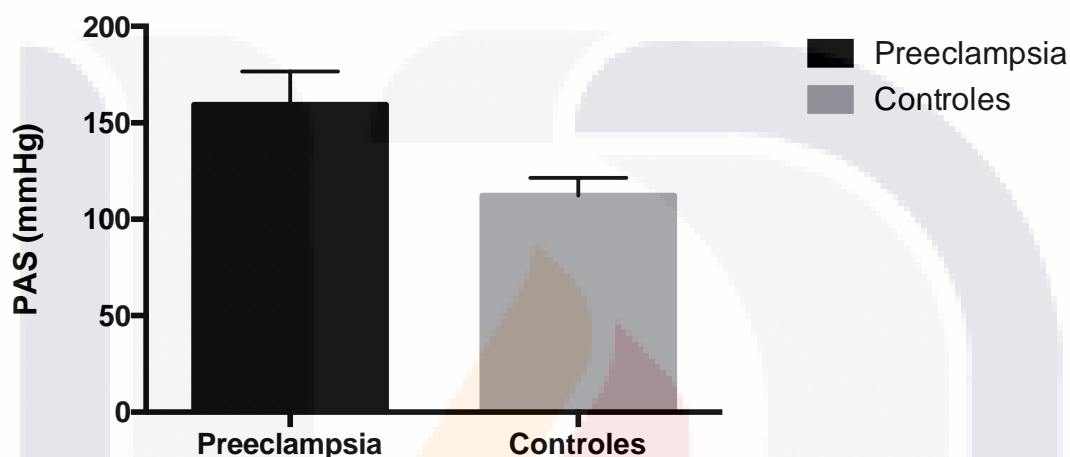
Al evaluar las características clínicas de presentación de la preeclampsia entre los casos, el 27% de las pacientes se encontraban asintomática. Mientras que, la cefalea fue el síntoma más frecuente (67.4%), seguido del edema; la frecuencia de estos y otros síntomas se presenta en la Figura 6.



**Figura 6. Signos y síntomas de presentación de la preeclampsia**

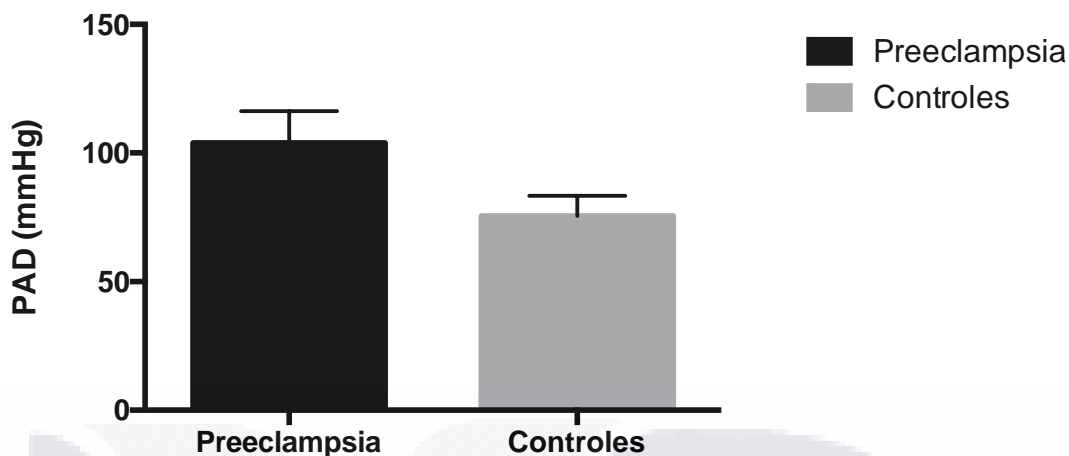
### Comparación de cifras tensionales entre grupos

Las cifras promedio de presión arterial sistólica (PAS) entre las pacientes con y sin preeclampsia fueron  $159.5 \pm 17.2$  mmHg y  $112.2 \pm 9.3$  mmHg, respectivamente ( $p < 0.001$ , t de muestras independientes; Figura 7).



**Figura 7. Comparación de las cifras de PAS entre pacientes con y sin preeclampsia (\* $p < 0.001$ ).**

De la misma manera los niveles de presión arterial diastólica fueron significativamente mayores entre las pacientes con preeclampsia que entre los controles (Figura 8).



**Figura 8. Comparación de las cifras de PAD entre pacientes con y sin preeclampsia (\* $p < 0.001$ ).**

#### **Comparación de perfil clínico y toxémico de las pacientes con preeclampsia leve y con criterios de severidad**

Posteriormente se comparó el perfil clínico y toxémico entre pacientes con el diagnóstico de preeclampsia con y sin criterios de severidad, encontrando cifras tensionales superiores y parámetros bioquímicos más alterados en las pacientes con preeclampsia con criterios de severidad que con preeclampsia leve (Tabla 4). No hubo diferencias estadísticamente significativas entre las pacientes con preeclampsia leve y con criterios de severidad en edad, peso, talla, IMC, plaquetas, proteinuria, bilirrubinas, enzimas hepáticas, creatinina y DHL. Aunque sí, se mostró una tendencia a mayor IMC, y creatinina en los pacientes con preeclampsia con criterios de severidad (Tabla 4). Las pacientes con preeclampsia con criterios de severidad tuvieron significativamente mayores cifras de PAS, PAD y ácido úrico que las pacientes sin preeclampsia (Tabla 4).

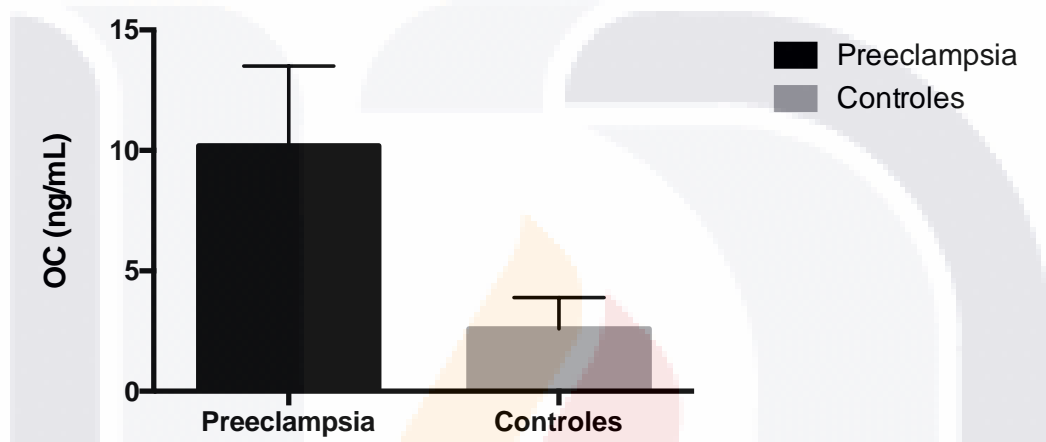


**Tabla 4. Comparación de perfil clínico y toxémico en pacientes con preeclampsia leves y con criterios de severidad**

<i>Característica</i>	<i>Preeclampsia leve (n=6)</i>	<i>Preeclampsia con criterios de severidad (n=24)</i>	<i>Valor de p</i>
<b>Edad (años)</b>	24.9±10.4	24.3±5.7	0.847
<b>Peso (Kg)</b>	59.3±13.6	65.7±14.6	0.338
<b>Talla (m)</b>	1.60±0.05	1.56±0.07	0.242
<b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	23.4±5.6	27.0±6.1	0.206
<b>PAS (mmHg)</b>	144.6±8.0	163.9±16.7	<b>0.007</b>
<b>PAD (mmHg)</b>	94.8±6.4	106.8±12.6	<b>0.024</b>
<b>Plaquetas (f/mL)</b>	156.7±62.8	166.5±102.0	0.814
<b>Proteinuria</b>	250.0±158.1	276.2±210.6	0.781
<b>BT (mg/dL)</b>	0.34±0.15	0.51±0.66	0.499
<b>BD directa (mg/dL)</b>	0.16±0.07	0.24±0.27	0.467
<b>BI (mg/dL)</b>	0.18±0.08	0.28±0.49	0.614
<b>TGO (UI/L)</b>	46.1±67.3	35.0±27.7	0.557
<b>TGP (UI/L)</b>	33.8±58.2	38.6±43.4	0.820
<b>Creatinina (UI/L)</b>	0.5±0.2	0.7±0.2	0.210
<b>DHL (UI/L)</b>	419.6±175.8	507.7±386.7	0.597
<b>Ácido úrico (mg/dL)</b>	5.1±1.4	7.2±2.5	<b>0.048</b>

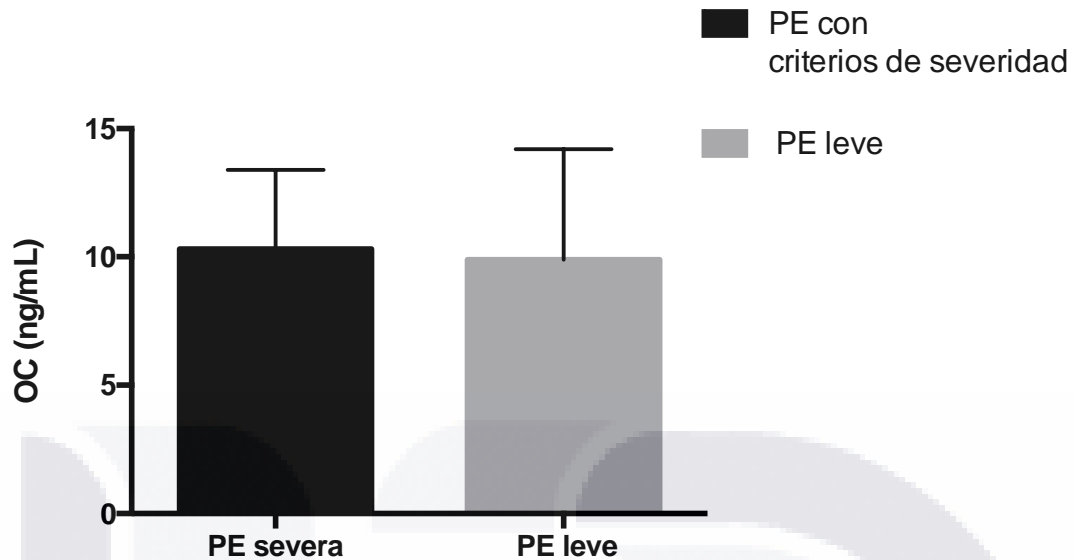
**Comparación de niveles séricos de osteocalcina entre pacientes con preeclampsia y sin preeclampsia**

Posteriormente se compararon las concentraciones séricas de OC en las pacientes con y sin preeclampsia, encontrando niveles promedio de  $10.2 \pm 3.3$  ng/mL en las pacientes con preeclampsia y de  $2.6 \pm 1.3$  ng/mL en las pacientes sin preeclampsia ( $p < 0.001$ , t de muestras independientes; Figura 9).



**Figura 9. Comparación de las concentraciones séricas de osteocalcina entre pacientes con y sin preeclampsia (\* $p < 0.001$ ).**

Posteriormente, se compararon los niveles séricos de osteocalcina en pacientes con preeclampsia con y sin criterios de severidad, no encontrando diferencias estadísticamente significativas según la severidad de la enfermedad (Figura 10).



**Figura 10. Comparación de las concentraciones séricas de osteocalcina entre pacientes con preeclampsia con y sin criterios de severidad ( $p=0.737$ ).**

### **Correlación de los niveles séricos de osteocalcina con cifras tensionales y perfil toxémico de las pacientes**

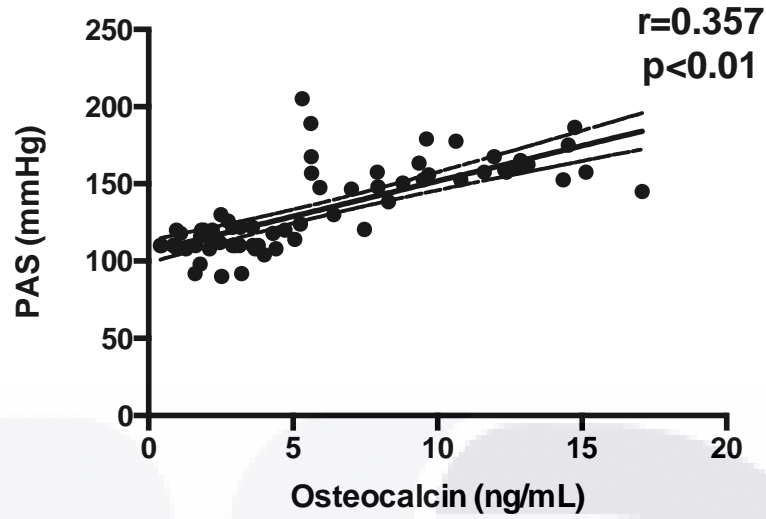
Posteriormente se evaluó la correlación de los niveles séricos de osteocalcina con los parámetros antropométricos, las cifras tensionales y el perfil toxémico de las pacientes, mediante el coeficiente de correlación de Pearson, encontrando que, se correlacionaron positivamente la osteocalcina con la PAS, PAD, proteinuria, DHL y ácido úrico.

La correlación de osteocalcina con PAS fue de  $r= 0.357$  (Figura 11), con PAD fue  $r=0.391$  (Figura 12), con proteinuria de  $0.414$  (Figura 13), con DHL fue  $0.359$  (Figura 14), y con ácido úrico fue de  $0.307$  (Figura 15).

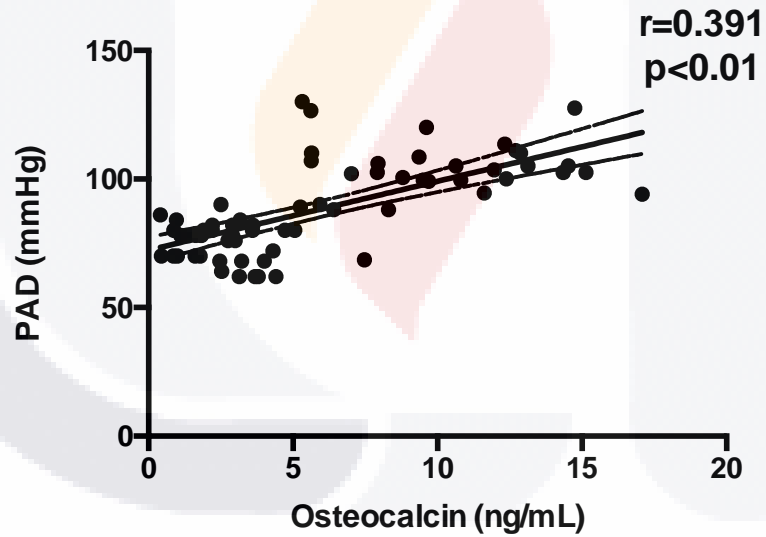
**Tabla 5. Coeficientes de correlación de Pearson de osteocalcina con cifras tensionales y perfil toxémico**

	OC	PAS	PAD
<b>Osteocalcina (OC)</b>	1	0.357**	0.391**
<b>PAS</b>	0.357**	1	0.943**
<b>PAD</b>	0.391**	0.943**	1
<b>Plaquetas</b>	-0.077	0.063	0.04
<b>Proteinuria</b>	0.414**	0.438**	0.425**
<b>Bilirrubinas totales</b>	-0.108	-0.114	-0.148
<b>Bilirrubina directa</b>	-0.003	-0.114	-0.164
<b>Bilirrubina indirecta</b>	-0.137	-0.075	-0.09
<b>TGO</b>	-0.132	-0.128	-0.088
<b>TGP</b>	-0.115	-0.126	-0.086
<b>Creatinina</b>	0.038	0.01	0.024
<b>DHL</b>	0.359**	0.342**	0.330**
<b>Ácido úrico</b>	0.307**	0.312*	0.283*

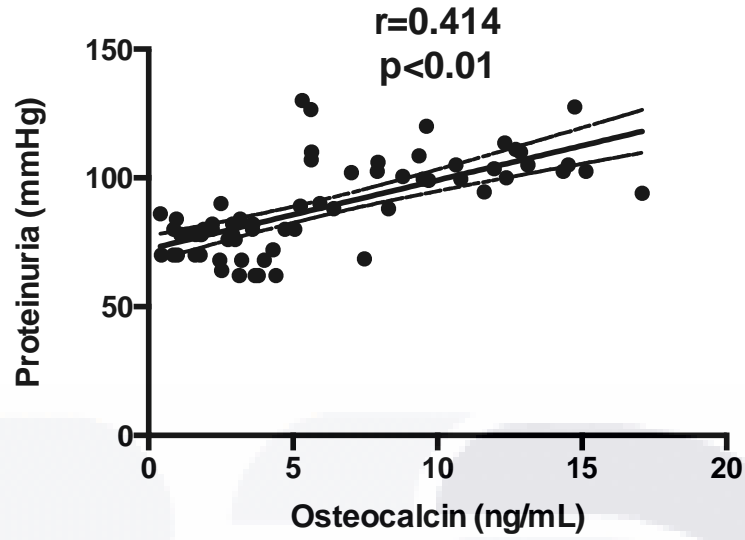
\*p<0.05; \*\* p<0.01



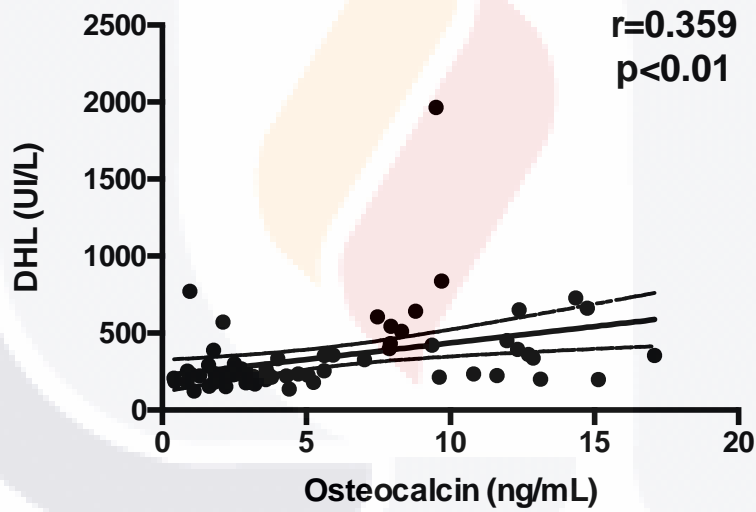
**Figura 11.** Correlación de los niveles séricos de osteocalcina con las cifras de PAS entre pacientes con y sin preeclampsia (\* $p < 0.001$ ).



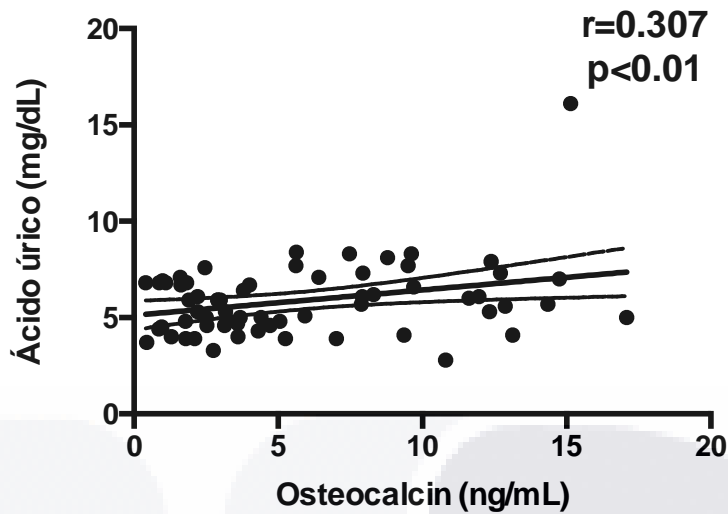
**Figura 12.** Correlación de los niveles séricos de osteocalcina con las cifras de PAD entre pacientes con y sin preeclampsia (\* $p < 0.001$ ).



**Figura 13. Correlación de los niveles séricos de osteocalcina con proteinuria entre pacientes con y sin preeclampsia (\* $p<0.001$ ).**



**Figura 14. Correlación de los niveles séricos de osteocalcina con DHL entre pacientes con y sin preeclampsia (\* $p<0.001$ ).**



**Figura 15. Correlación de los niveles séricos de osteocalcina con ácido úrico entre pacientes con y sin preeclampsia (\*p<0.001).**

## DISCUSIÓN

El estudio de la preeclampsia es una de las prioridades a nivel mundial. Investigaciones que lleven a la mejoría de la predicción, prevención o tratamiento de la misma, son sin duda de alta importancia debido a las consecuencias que esta enfermedad tiene en la madre. En nuestro estudio hemos encontrado importantes resultados que a continuación serán enumerados.

El principal hallazgo del presente estudio es que la osteocalcina sérica se encontró en mayor proporción en pacientes con preeclampsia que en las que se encontraban fuera de la enfermedad.

De acuerdo a la literatura publicada y mencionada en este estudio podemos encontrar que de acuerdo al ensayo realizado por la Dra. Mieczyslaw Gorzelak los resultados esperados para nuestro protocolo son semejantes a los arrojados pues en el grupo de las pacientes con preeclampsia, los niveles séricos reportados por la Dra. Gorzelak fueron de  $28.08 \pm 11.46$  ng/ml mientras que en nuestro grupo de pacientes con la enfermedad se encontró en  $10.2 \pm 3.3$  ng/mL, en cambio en el grupo de control fue de  $18.53 \pm 9.05$  ng/ml y en nuestro grupo de control  $2.6 \pm 1.3$  ng/ml, en ambos estudios concluimos que en las pacientes con preeclampsia se aumentan los niveles séricos de osteocalcina<sup>42</sup>.

Si esta elevación es causa o consecuencia de la preeclampsia, se ignora hasta el momento, ya que los estudios realizados hasta ahora sobre efectos de osteocalcina en placenta, y su función en el embarazo son escasos, más aún no se ha sugerido una potencial participación de esta molécula en la patogénesis de la preeclampsia; a pesar de que la osteocalcina, funciona como un marcador de resistencia a la insulina, y recientemente se ha



TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

postulado como un marcador de riesgo cardiovascular y con efectos potenciales a nivel vascular<sup>47</sup>.

Así mismo, en un estudio realizado por el nuestro grupo (Sánchez y Villafán) en el 2017, encontramos una correlación positiva entre las cifras de presión arterial sistólica, así como diastólica con las concentraciones séricas de osteocalcina no carboxilada, así como en nuestros resultados encontramos que la correlación de osteocalcina con presión arterial fue positiva pues se encontró una  $r= 0.357$  y con presión arterial diastólica una  $r=0.391$ .

En este estudio también se observó una correlación de la osteocalcina con los parámetros de ácido úrico y deshidrogenasa láctica con una  $r= 0.307$  y  $r=0.359$ , respectivamente. Aunque no existen teorías acerca del porqué de estas asociaciones, consideramos que ello podría estar relacionado a daño endotelial. Esta activación endotelial mediana por una disminución en la producción de óxido nítrico por las células, produciría incremento de la rigidez vascular y con ello un incremento de la presión arterial de la paciente. Así mismo, este daño endotelial que produce endoteliosis glomerular, está íntimamente ligado a la excreción de proteínas en orina por el glomérulo, mientras que, a nivel hepático, está relacionado con liberación de enzimas secundario al daño de este órgano. Es interesante pensar que, la osteocalcina podría funcionar como un marcador temprano de disfunción endotelial en preeclampsia, lo cual nos podría ayudar en el futuro a mejorar tanto la predicción, como el diagnóstico de esta importante enfermedad<sup>48</sup>.

Por otro lado, a pesar de las diferencias en las concentraciones de osteocalcina entre pacientes con y sin preeclampsia, no encontramos diferencia en los niveles séricos de osteocalcina entre pacientes con preeclampsia sin criterios de severidad y con criterios de severidad. Lo cual podría deberse al pequeño tamaño de muestra, y sugerimos continuar con el

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

estudio para incrementar el tamaño de muestra y determinar la posible asociación con la severidad de la preeclampsia debido a que, si asociaron los niveles de osteocalcina con subrogados de severidad de la preeclampsia como presión arterial sistólica, diastólica, proteinuria, DHL y niveles séricos de ácido úrico.

Por otro lado, las pacientes con preeclampsia tuvieron menor peso y por consecuente menor índice de masa corporal. Esto no puede ser explicado por estudios previos ya que se trata de un hallazgo incidental. Pese a ser esta una diferencia significativa, el peso de la madre dentro de límites menores a un IMC de 35, no se relaciona con el incremento o disminución de la probabilidad de desarrollar esta enfermedad<sup>49</sup>. Posiblemente por ello <5% de las pacientes tuvieron preeclampsia en un embarazo anterior.

Las características clínicas más prevalentes en pacientes diagnosticadas con preeclampsia fueron cefalea con un 67% y edema con un 37%, seguido de acúfenos, epigastralgia, disnea, vómito y convulsiones con un 35% en conjunto. Esto es similar a estudios previos donde se encuentra la misma prevalencia de los síntomas<sup>50</sup>. Cabe mencionar que el 27% de las mujeres no presentó sintomatología alguna, por lo que el diagnóstico se hizo mediante biomarcadores como lo son presión arterial y proteinuria.

Podemos remarcar algunas debilidades de nuestro estudio. Primeramente, el número reducido de pacientes diagnosticadas como preeclampsia sin criterios de severidad, ha dificultado el encontrar diferencias significativas en la mayoría de los biomarcadores maternos. Sin embargo, la tendencia ha sido clara al deterioro orgánico en pacientes que presentaban una enfermedad severa. Igualmente, el número reducido de variables maternas no nos permitió realizar análisis exhaustivos de los factores de riesgo maternos menos comunes como lo son la fertilización in vitro, donación de gametos u otros.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Pero, así como existen limitaciones, también tenemos fortalezas. La más importante es que el estudio se realizó de manera prospectiva, y que los controles se eligieron de la misma población que los casos. Esto es muy importante pues disminuye el riesgo de sesgo del estudio y permite fortalecer las hipótesis aquí obtenidas. Los hallazgos aquí encontrados pueden extrapolarse a otras poblaciones y, pese a no poder dar un sentido de causalidad a los hallazgos, el objetivo del estudio que era determinar las concentraciones de osteocalcina en mujeres con preeclampsia y sanas, se cumplió de manera adecuada.

Aunque los hallazgos del presente estudio son interesantes, el pequeño tamaño de muestra es una limitante para su generalización y habría que confirmarlos en un mayor tamaño de muestra, así como re-explorar su asociación con la severidad de la enfermedad, ya que solo se incluyeron 7 pacientes con preeclampsia sin criterios de severidad y la mayoría tenían criterios de severidad.

En el presente protocolo los hallazgos tienen resultados relevantes de forma positiva pues la relaciones encontradas y comparadas con estudios previos nos hablan de, una relación de la osteocalcina con la preeclampsia la cual puede formar parte de un parámetro de laboratorio que sustente el diagnóstico sobre todo en aquellas pacientes en donde el control prenatal fuere ineficaz y desarrollaran la enfermedad al final de la gestación.

## CONCLUSIÓN

Como es conocido los estados hipertensivos del embarazo como la preeclampsia, siguen siendo entidades de teorías, impredecibles su aparición, su evolución y su pronóstico; por lo tanto, el interés por buscar nuevos factores que ayuden a mejorar los resultados maternos y perinatales es de importancia. De ahí la intención de haber comparado los niveles de osteocalcina en mujeres que desarrollaron preeclampsia y aquellas con embarazo normoevolutivo.

En conclusión, los niveles séricos de osteocalcina se encuentran elevados en pacientes con preeclampsia al compararlos con pacientes sanas. No se encontraron diferencia en los niveles de osteocalcina de acuerdo a la severidad de la enfermedad. Los niveles séricos de osteocalcina se correlacionan con otros marcadores de disfunción orgánica y endotelial propios de la preeclampsia.

Este estudio servirá para guiar otros grupos en la investigación de la osteocalcina como un marcador subrogado de daño endotelial y un posible marcador temprano de diagnóstico de preeclampsia.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Instituto Mexicano del Seguro Social, Guía de Práctica Clínica: *Prevención, diagnóstico y tratamiento de la Preeclampsia en segundo y tercer nivel de atención*, Ciudad de México; 2017.
2. Romero Arauz JF, Tena Alavez G, Jiménez Solís GA. *Enfermedades Hipertensivas Del Embarazo-Preeclampsia*. Segunda Edición. México. McGraw Hill; 2014. pp 1.
3. Instituto Nacional de Estadísticas y Geografía *México- Estadísticas viales. Defunciones generales y fetales 2011*. INEGI Informa; Disponible en <http://www3.inegi.org.mx/rnm/index.php/catalog/57/datafile/F6/V300>
4. Instituto Nacional de Estadísticas y Geografía *Estadísticas a Propósito del Día de la Madre 10 de mayo*; INEGI Informa; 2017. Aguascalientes, Ags.
5. American College of Obstetricians and Gynecologist. *Task Force on Hypertension in Pregnancy. Hypertension in Pregnancy*. Obstet Gynecol: 2013. 122(5): 1122.
6. August P, Sibai B. *Preeclampsia: Clinical Features and diagnosis*. UpToDate Walters Kluwer; 2018.
7. Roberts JM, Redman CW. *Pre-eclampsia: more than pregnancy-induced hypertension*. Lancet; 1993. 341(8858):1447-51.
8. American Journal Obstetrics & Gynecologist. *Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy Report of the national high blood pressure*

*education program working group on high blood pressure in pregnancy.*  
Am J Obstet Gynecol; 2000. 183: S1-S22

9. Loke YW, Rey A. *Immunology of Implantation.* Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol; 2000. 14(5):827.
10. Saftlas AF, Beydoun H, Triche E. *Immunogenetic determinants of preeclampsia and related pregnancy disorders: a systematic review.* Obstet Gynecol; 2005.106(1):162.
11. Hiby SE, Walker JJ, O'shaughnessy KM, Redman CW, Carrington M, Trowsdale J, Moffett. *A Combinations of maternal KIR and fetal HLA-C genes influence the risk of preeclampsia and reproductive success.* J Exp Med; 2004. 200(8):957. Epub 2004
12. Robillard PY, Hulseley TC, Périainin J, Janky E, Miri EH, Papiernik E. *Association of pregnancy-induced hypertension with duration of sexual cohabitation before conception.* Lancet; 1994. 344(8928):973.
13. Zhou CC, Ahmad S, Mi T, Abbasi S, Xia L, Day MC, Ramin SM, Ahmed A, Kellems RE, Xia Y. *Autoantibody from women with preeclampsia induces soluble Fms-like tyrosine kinase-1 production via angiotensin type 1 receptor and calcineurin/nuclear factor of activated T-cells signaling.* Hypertension; 2008. 51(4):1010.
14. Resnik R., *Fetal growth restriction: Evaluation and management* UpToDate; 2018.
15. Ananth Karumanchi S., Lim K. H., August, P. *Preeclampsia: Pathogenesis.* UpToDate Walters Kluwer; 2018.

16. Zhou Y, Damsky CH, Fisher SJ. *Preeclampsia is associated with failure of human cytotrophoblasts to mimic a vascular adhesion phenotype. One cause of defective endovascular invasion in this syndrome?* J Clin Invest; 1997. 99(9):2152.
17. Meekins JW, Pijnenborg R, Hanssens M, McFadyen IR, van Asshe A. *A study of placental bed spiral arteries and trophoblast invasion in normal and severe pre-eclamptic pregnancies.* Br J Obstet Gynecol; 1994. 101(8):669.
18. Huppertz B *Placental origins of preeclampsia: challenging the current hypothesis.* Hypertension; 2008. 7;51(4):970.
19. Lim KH, Zhou Y, Janatpour M, McMaster M, Bass K, Chun SH, Fisher SJ. *Human cytotrophoblast differentiation/invasion is abnormal in preeclampsia.* Am J Pathol; 1997. 1809.
20. Casper FW, Seufert RJ. *Atrial natriuretic peptide (ANP) in preeclampsia-like syndrome in a rat model.* Exp Clin Endocrinol Diabetes; 1995. 292
21. Zhang P. *Decidual Vasculopathy in Preeclampsia and Spiral Artery Remodeling Revisited: Shallow Invasion versus Failure of Involution* Department of Pathology. Am J Perinatol Rep; 2018. e241–e246
22. Marais W. *Estudios de la arteria espiral decidual humana, parte I.* Int J Obstet Gynecol; 1962. 69 (02): 1–12.
23. Pijnenborg R, Vercruyse L, Hanssens M, Brosens I. *Endovascular trophoblast and preeclampsia: a reassessment.* Pregnancy Hypertens; 2011. 66–71

24. Zhang P. *CD56 expression of intravascular trophoblasts defines a class of vasculopathy in preeclampsia and other pregnancy complications*. Biorxiv; 2018.
25. Herse F, Staff AC, Hering L, Muller DN, Luft FC, Dechend R. *AT1- receptor autoantibodies and uteroplacental RAS in pregnancy and preeclampsia*. J Mol Med; 2008. 86:697–703.
26. Staff AC, Redman CW, Williams D, Leeson P, Moe K, Thilaganathan B, Magnus P, Steegers EA, Tsigas EZ, Ness RB, Myatt L, Poston L, Roberts JM; *Global Pregnancy Collaboration (CoLab)*. *Pregnancy and longterm maternal cardiovascular health: progress through harmonization of research cohorts and biobanks*. Hypertension; 2016. 67:251–260.
27. Mosca L, Benjamin EJ, Berra K, et al; *American Heart Association*. *Effectiveness-based guidelines for the prevention of cardiovascular disease in women—2011 update: a guideline from the American Heart Association*. J Am Coll Cardiol; 2011. 57:1404–1423.
28. Newstead J, von DP, Magee LA. *Preeclampsia and future cardiovascular risk*. Expert Rev Cardiovasc Ther; 2007. 283–294.
29. Potter JM, Nestel PJ. *The hyperlipidemia of pregnancy in normal and complicated pregnancies*. Am J Obstet Gynecol; 1979. 133:165–170.
30. Staff A.C., Dechend R, Pijnenborg R. *Learning from the Placenta Acute Atherosclerosis and Vascular Remodeling in Preeclampsia—Novel Aspects for Atherosclerosis and Future Cardiovascular Health*. American Heart Association; 2010.



31. Oury F, Khrimian L, Denny CA, Gardin A, Chamouni A, Goeden N, et al. *Maternal and offspring pools of osteocalcin influence brain development and functions*. Cell; 2013. 155(1):228–41.
32. Evrard S, Delanaye P, Kamel S, Cristol JP, Cavalier E. *Joined Working Group on Vascular Calcifications. Vascular calcification: from pathophysiology to biomarkers*. Clin Chim Acta; 2015. 438:401–14.
33. Cairns JR, Price PA. *Direct demonstration that the vitamin K-dependent bone Gla protein is incompletely gamma-carboxylated in humans*. J Bone Miner Res; 1994. 1989–97.
34. Millar S.A., Patel H., Anderson S.A., England T.J. and O’Sullivan S, E, *Osteocalcin, vascular calcification, and atherosclerosis: A Systematic Review and meta-analysis*. Front Endocrinol; 2017.
35. Sakakura, K.; Nakano, M.; Otsuka, F.; Ladich, E.; Kolodgie, F.D.; Virmani, R. *Pathophysiology of atherosclerosis plaque progression*. Heart Lung Circ; 2013. 399–411
36. Gimbrone, M.A., Jr.; Garcia-Cardena, G. *Endothelial cell dysfunction and the pathobiology of atherosclerosis*. Circ. Res; 2016. 620–636.
37. Tacey A. Qaradakh T., et al. *Potential Role for Osteocalcin in the Development Atherosclerosis and Blood Vessel Disease*. Australia: Institute for Health and Sport; 2018.
38. Byon, C.H.; Javed, A.; Dai, Q.; Kappes, J.C.; Clemens, T.L.; Darley-Usmar, V.M.; McDonald, J.M.; Chen, Y. *Oxidative stress induces vascular*

*calcification through modulation of the osteogenic transcription factor Runx2 AKT signaling.* J. Biol. Chem; 2008. 15319–15327.

39. Tyson, K.L.; Reynolds, J.L.; McNair, R.; Zhang, Q.; Weissberg, P.L.; Shanahan, C.M. *Osteo/chondrocytic transcription factors and their target genes exhibit distinct patterns of expression in human arterial calcification.* Arterioscler Thromb Vasc. Biol; 2003. 489–494.
40. Gössl M, Mödder UI, Atkinson EJ, Lerman A, Khosla S *Osteocalcin Expression by Circulating Endothelial Progenitor Cells in Patients with Coronary Atherosclerosis.* J Am Coll Cardiol; 2008. 1314-25.
41. Sambrook PN, Chen CJS, March LM, et al. *High bone turnover is an independent predictor of mortality in the frail elderly.* J Bone Miner Res; 2006. 549–55.
42. Gorzelak M, Darmochwal-Kolarz D, Jablonski M, Rolinski J, Leszczynska-Gorzelak B, Modrzewski K, Oleszczuk J. *The concentrations of osteocalcin and degradation products of type I collagen in pregnant women with pre-eclampsia* Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol; 2001. 23-27
43. Sowers M, Scholl T, Grewal J, Chen X, Jannausch M. *IGF-1 Osteocalcin, and Bone Change in Pregnant Normotensive and Pre-eclamptic Women* The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism; 2001. 86(12):5898–5903
44. Kumtepe Y, Aksoy H, Ingec M. *Bone turnover in preeclamptic and normotensive pregnancy.* Int J Gynaecol Obstet; 2005. 88(3):323-4

45. Sanchez-Enriquez S, Ballesteros-Gonzalez IT, Villafán-Bernal JR, Pascoe-Gonzalez S, Rivera-Leon EA, Bastidas-Ramirez BE, Rivas-Carrillo JD, Alcala-Zermeno JL, Armendariz-Borunda J, Llamas-Covarrubias IM, Zepeda-Moreno A. *Serum levels of undercarboxylated osteocalcin are related to cardiovascular risk factors in patients with type 2 diabetes mellitus and healthy subjects.* World J Diabetes; 2017. 8(1):11-17.
46. Xu Y, Ma X, Xiong Q, Hu X, Zhang X, Yuan Y, Bao Y. *Association between serum osteocalcin level and blood pressure in a Chinese population.* Blood Press; 2018. 27(2):106-111.
47. Briana DD, Boutsikou M, Boutsikou T and Malamitsi-Puchner A. Relationships between maternal novel adipocytokines and bone biomarkers in complicated by gestational hypertensive disorders and normal pregnancies. J Matern Fetal Neonatal Med; 2013. 26: 1219-1222.
48. Martinez-Orgado J, Gonzalez R, Alonso MJ and Salaices M. Impairment of fetal endothelium-dependent relaxation in a rat model of preeclampsia by chronic nitric oxide synthase inhibition. J Soc Gynecol Investig; 2004. 11: 82-88.
49. Walsh SW. Obesity: a risk factor for preeclampsia. Trends Endocrinol Metab; 2007. 18: 365-370.
50. Chesley LC. Diagnosis of preeclampsia. Obstet Gynecol; 1985. 65: 423-425