



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE HIDALGO

UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD

AREA ACADEMICA DE MEDICINA

SECRETARIA DE SALUD DEL ESTADO DE HIDALGO

HOSPITAL GENERAL PACHUCA



PROYECTO TERMINAL

MICRONÚCLEOS EN CÉLULAS EPITELIALES COMO BIOMARCADOR
DE PREECLAMPSIA-ECLAMPSIA DE MADRES HOSPITALIZADAS EN
EL HOSPITAL GENERAL DE PACHUCA

QUE PRESENTA EL MÉDICO CIRUJANO

M.C. SHAMAYRA GABRIELA SAUZ HERNÁNDEZ

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALISTA EN GINECOLOGIA Y
OBSTETRICIA

M.C. ESP. GUILLERMO LARA BLANCO
ASESOR CLÍNICO DE PROYECTO TERMINAL

DRA. EN C. MARÍA DEL CARMEN ALEJANDRA HERNÁNDEZ CERUELOS
ASESORA METODOLOGICA UNIVERSITARIA

DR. EN C. LUILLI LÓPEZ CONTRERAS
ASESOR METODOLOGICO UNIVERSITARIO

DR. EN C. SERGIO MUÑOZ JUÁREZ
ASESOR EN TESIS

PACHUCA DE SOTO HIDALGO, NOVIEMBRE DEL 2018

De acuerdo con el artículo 77 del Reglamento General de Estudios de Posgrado vigente, el jurado de examen recepcional designado, autoriza para su impresión el Proyecto Terminal titulado

"MICRONÚCLEOS EN CÉLULAS EPITELIALES COMO BIOMARCADOR DE PREECLAMPSIA-ECLAMPSIA DE MADRES HOSPITALIZADAS EN EL HOSPITAL GENERAL DE PACHUCA"

QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE "GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA", QUE SUSTENTA LA MEDICO CIRUJANO:

SHAMAYRA GABRIELA SAUZ HERNÁNDEZ

PACHUCA DE SOTO HIDALGO, 30 DE OCTUBRE DEL 2018

POR LA UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

M.C. ESP. ADRIÁN MOYA ESCALERA
DIRECTOR DEL INSTITUTO DE CIENCIAS
DE LA SALUD

M.C. ESP. LUIS CARLOS ROMERO QUEZADA
JEFE DEL ÁREA ACADÉMICA DE MEDICINA

M.C. ESP. MARÍA TERESA SOSA LOZADA,
COORDINADORA DE ESPECIALIDADES MÉDICAS

DR. EN C. LUILLI LÓPEZ CONTRERAS
ASESOR METODOLÓGICO UNIVERSITARIO

DRA. EN C. MARÍA DEL CARMEN ALEJANDRA HERNÁNDEZ CERUELOS
ASESORA METODOLÓGICA UNIVERSITARIA

POR EL HOSPITAL GENERAL DE PACHUCA DE LA SECRETARÍA DE SALUD DE HIDALGO

M.C. ESP. FRANCISCO JAVIER CHONG BARREIRO
DIRECTOR DE UNIDADES MÉDICAS ESPECIALIZADAS
Y DIRECTOR DEL HOSPITAL GENERAL PACHUCA

M.C. ESP. SERGIO LÓPEZ DE NAVA Y VILLASANA
DIRECTOR DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN

M.C. ESP. GUILLERMO BARRAGÁN RAMÍREZ
PROFESOR TITULAR DE LA ESPECIALIDAD
DE GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

M.C. ESP. GUILLERMO LARA BLANCO
MÉDICO ESPECIALISTA DE GINECOLOGÍA
Y OBSTETRICIA
ASESOR CLÍNICO DE PROYECTO TERMINAL

DR. EN C. SERGIO MUÑOZ JUÁREZ
ASESOR EN TESIS



UAEH
BIBLIOTECA

Handwritten signatures and lines for each official, including the signature of Sergio Muñoz Juárez at the bottom.



Secretaría de
Salud
Hidalgo crece



"#Date una mano, el Cáncer de Mama es curable si se detecta a tiempo"

Dependencia: Secretaría de Salud
U. Administrativa: Hospital General Pachuca
Área Generadora: Departamento de Investigación
No. De Oficio: 382/2018

Pachuca., Hgo, 30 de octubre de 2018

MC SHAMAYRA GABRIELA SAUZ HERNÁNDEZ
ESPECIALIDAD EN GINECOLOGIA
P R E S E N T E

Me es grato comunicarle que se ha analizado el informe final del estudio: MICRONÚCLEOS EN CÉLULAS EPITELIALES COMO BIOMARCADOR DE PREECLAMPSIA-ECLAMPSIA DE MADRES HOSPITALIZADAS EN EL HOSPITAL GENERAL DE PACHUCA cumple con los requisitos establecidos por el Comité de Ética en Investigación, por lo que se autoriza la **Impresión de proyecto terminal**.

Al mismo tiempo le informo que deberá dejar una copia del documento impreso en la Dirección de Enseñanza e Investigación, la cual será enviada a la Biblioteca.

Sin otro particular reciba un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

DR. SERGIO MUÑOZ JUÁREZ
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN
DEL HOSPITAL GENERAL DE PACHUCA



Dr. Guillermo Barragán Ramírez. Profesor Titular de la Especialidad de Ginecología y Obstetricia
Dra. Ma. Del Carmen Alejandra Hernández Ceruelos Asesor de Tesis.

SMJ/EARI

Pachuca - Tulancingo 101, Col. Ciudad de los Niños,
Pachuca de Soto, Hgo., C. P. 42070
Tel.: 01 (771) 713 4649
www.hidalgo.gob.mx Carr

INDICE

Relación de cuadros y gráficas

	Página
Resumen	1
I Marco teórico	3
II Antecedentes	6
III Justificación	12
IV Planteamiento del problema	13
IV.1 Pregunta de investigación	13
IV.2 Objetivos	14
IV.3 Hipótesis	14
V Material y métodos	15
V.1 Diseño de investigación	15
V.2 Análisis de la información	15
V.3 Ubicación espacio-temporal	15
V.3.1 Lugar	15
V.3.2 Tiempo	15
V.3.3 Persona	15
V.4. Selección de la población de estudio	16
V.4.1 Criterios de inclusión	16
V.4.2 Criterios de exclusión	16
V.4.3 Criterios de eliminación	16
V.5 Determinación del tamaño de muestra y muestreo	16
V.5.1 Tamaño de la muestra	17
V.5.2 Muestreo	17
V.6 Definición operacional de variables	17
V.7 Descripción general del estudio	23
V.8 Análisis de información	24
VI Aspectos éticos	26
VII Recursos humanos, físicos y financieros	26
VIII Resultados	27
IX Discusión	37
X Conclusiones	41
XI Recomendaciones	44
XII Bibliografía	45
XIII Anexos	49

RELACIÓN DE TABLAS

Tabla 1. Tamaño de muestra de pacientes embarazadas de estudio realizado en el Hospital General de Pachuca Enero a Junio de 2016	26
Tabla 2. Edad de pacientes embarazadas incluidas en el estudio realizado en el Hospital General de Pachuca Enero a Junio de 2016	26
Tabla 3 Somatometría de mujeres embarazadas que se incluyeron en estudio realizado en Hospital General de Pachuca en los meses Enero-Junio del 2016	30
Tabla 4 Comparación de peso entre grupos de pacientes caso y control de estudio realizado en el Hospital General de Pachuca en los meses Enero-Junio del 2016	30
Tabla 5 Comparación de talla entre grupos de pacientes caso y control de estudio realizado en el Hospital General de Pachuca en los meses Enero-Junio del 2016	30
Tabla 6 Comparación de IMC entre grupos de pacientes caso y control de estudio realizado en el Hospital General de Pachuca en los meses Enero-Junio del 2016	30
Tabla 7 Comparación de edad gestacional entre grupos de pacientes caso y control de estudio realizado en el Hospital General de Pachuca en los meses Enero-Junio del 2016.....	32
Tabla 8 Cifras tensionales en pacientes embarazadas incluidas en el estudio realizado en el Hospital General de Pachuca realizado en Enero-Julio 2016	32
Tabla 9 Comparación de cifras tensionales sistólicas entre grupos de pacientes caso y control de estudio realizado en el Hospital General de Pachuca en los meses Enero-Junio del 2016....	32
Tabla 10 Comparación de cifras tensionales diastólicas entre grupos de pacientes caso y control de estudio realizado en el Hospital General de Pachuca en los meses Enero-Junio del 2016.....	33
Tabla 11 Presencia de apoptosis en muestras recolectadas en pacientes control y pacientes caso incluidas en estudio realizado en Hospital General de Pachuca durante el periodo Enero-Junio 2016....	34
Tabla 12 Presencia de anormalidades nucleares en muestras recolectadas en pacientes control-pacientes caso en estudio realizado en Hospital General de Pachuca durante el periodo Enero-Junio 2016.....	35
Tabla 13 Proporción de presencia de anormalidades nucleares, razón de momios ajustada de acuerdo con las variables de estudio realizado en Hospital General de Pachuca durante el periodo Enero-Junio 2016....	35

RELACIÓN DE GRÁFICAS

Gráfica 1 Estado civil de pacientes embarazadas incluidas en estudio de Enero a Junio de 2016 en Hospital General de Pachuca	27
Gráfica 2 Escolaridad de pacientes embarazadas, incluidas en estudio de Enero a Junio de 2016 realizado en Hospital General de Pachuca	27
Gráfica 3 Número de gestaciones en pacientes de estudio realizado en Hospital General de Pachuca Enero- Junio 2016	28
Gráfica 4 Pacientes embarazadas, de las cuales se presentan los antecedentes de gestaciones previas las cuales se resolvieron por parto, las cuales se incluyeron en el estudio realizado en el Hospital General de Pachuca durante Enero-Junio 2016	28
Gráfica 5 Pacientes embarazadas, de las cuales se presentan los antecedentes de gestaciones previas las cuales se resolvieron vía cesárea, las cuales se incluyeron en el estudio realizado en el Hospital General de Pachuca durante Enero-Junio 2016.....	29
Gráfica 6 Pacientes embarazadas, de las cuales se presentan los antecedentes de gestaciones previas las cuales contaban con antecedente de aborto previo, las cuales se incluyeron en el estudio realizado en el Hospital General de Pachuca durante Enero-Junio 2016.....	29
Gráfica 7 Pacientes embarazadas que presentaron estados hipertensivos, así como pacientes control sin alteraciones hipertensivas que se incluyeron en estudio realizado en Hospital General de Pachuca durante Enero-Junio 2016	31
Gráfica 8 Presencia de proteinuria en orina con tira reactiva (1 + en tira reactiva= 30 mg/dl) en pacientes embarazadas que se incluyeron en estudio realizado en Hospital General de Pachuca de Enero-Junio 2016	33

RESUMEN

Objetivo: El propósito de este estudio es identificar la asociación entre preeclampsia-eclampsia y la presencia de micronúcleos como un biomarcador de daño cromosómico en las mujeres con este padecimiento.

Materiales y métodos: Se trata de un estudio a base de casos y controles, con una población en total de 106 pacientes, entre casos y controles, quienes se encuentran embarazadas que llegaron para su atención de parto al Hospital General de Pachuca en el periodo de Enero a Junio del 2016. Se revisaron las historias clínicas y los datos se anotaron en una ficha de recolección de datos. Se toma muestra de células epiteliales mediante raspado en carrillos internos y posterior extendido celular sobre una laminilla, se prepararon 2 muestras de cada carrillo. Se fijaron las laminillas en solución de Carnoy y se realizó la tinción de Feulgen. Posteriormente se realiza lectura al microscopio. Se utilizó para el análisis estadístico el programa STATA versión 12.0

Resultados: Del total de las pacientes se presentaron los siguientes estados hipertensivos: 28% hipertensión gestacional, preeclampsia 10%, preeclampsia con criterios de severidad 52%, síndrome de HELLP 8% y eclampsia 2%. Se obtuvieron valores de células apoptóticas $p < 0.05$ considerándose estadísticamente significativos y con presencia de células apoptóticas en pacientes con presencia de estados hipertensivos, en específico en preeclampsia con criterios de severidad.

Dentro de las anormalidades nucleares que se observaron fueron células binucleadas, con valores estadísticamente significativos.

Conclusiones: No se encontró asociación entre la hipertensión gestacional, la preeclampsia y la eclampsia con el incremento de la frecuencia de células micronucleadas como un biomarcador de daño genotóxico. Se concluye que con el modelo de citoma fue posible la evaluación de daño cromosómico, no únicamente como hallazgo de micronúcleos, sino con células binucleadas, como anormalidades nucleares.

Palabras claves: Preeclampsia, anormalidades nucleares, micronúcleos

Abstract

Objectives: The aim of this study is identify the association between preeclampsia-eclampsia and the presence of micronuclei as DNA damage biomarker in women with this condition.

Methods: This is a case-control study, with a total population of 106 patients, between cases and controls, pregnant women, who arrived for delivery at the Pachuca's General Hospital from January to June 2016. Clinical records were reviewed and the data were recorded in a data collection form. A sample of epithelial cells was taken by scraping the inner cheeks and then extending the cell on a slide, and 2 samples were prepared from each cheek. The slide was fixed in Carnoy's solution and the Feulgen stain was performed. Subsequently, reading is performed under a microscope. The STATA version 12.0 program was used for the statistical analysis

Results: In total of patients this are the following hypertensive states were present: 28% gestational hypertension, 10% preeclampsia, preeclampsia with severity criteria 52%, HELLP syndrome 8% and eclampsia 2%. Apoptotic cell values were obtained $p < 0.05$, considered statistically significant and with the presence of apoptotic cells in patients with presence of hypertensive states, specifically in preeclampsia with severity criteria. Among the nuclear abnormalities that were observed were binucleated cells, with statistically significant values.

Conclusions: No association was found between gestational hypertension, preeclampsia and eclampsia with the increase in the frequency of micronuclei as a biomarker of genotoxic damage. It is concluded that with the cytome model it was possible the evaluation of chromosomal damage, not only as a finding of micronuclei, but with binucleated cells, as nuclear abnormalities.

Key words: Preeclampsia, nuclear abnormalities, micronuclei

I. MARCO TEORICO

La preeclampsia afecta entre el 3 y 5% de las embarazadas. El 10% de los embarazos se complica con algún estado hipertensivo. La incidencia de preeclampsia es del 3-7% de pacientes nulíparas y del 1-3% en pacientes multíparas. El riesgo de desarrollar preeclampsia en el primer embarazo es de 4.1%, así mismo el riesgo se incrementa hasta en un 14.7% en el segundo embarazo y hasta el 31.9% en el tercer embarazo. La incidencia en países Europeos y Estados Unidos es de 2-3 por cada 10,000 nacimientos, y se incrementa hasta 13 por cada 1000 nacimientos en países en vías de desarrollo, por lo que los trastornos hipertensivos en el embarazo en nuestro país, es cada vez más frecuente en cada embarazo. (Yakasai, 2013)

De acuerdo con la Dirección General de Epidemiología, dependiente de la Secretaría de Salud, del Gobierno de México, durante el 2017 se reportaron un total de 722 muertes maternas, siendo las enfermedades hipertensivas, edema y proteinuria en el embarazo, parto y puerperio la segunda causa de muerte con 158 casos (21.9%). La razón de muerte materna calculada es de 32 defunciones por cada 100 000 nacimientos. (SINAVE/DGE/Salud/Sistema de Notificación Inmediata de MM 2016 y 2017)

La preeclampsia es un trastorno multisistémico cuyos criterios clínicos no han cambiado en la última década: edad gestacional mayor a 20 semanas, presión arterial mayor a 140/90 mmHg, tira reactiva con 1+ o muestra aislada de orina con 30mg de proteínas en dos muestras de 4 a 6 h. En ausencia de proteinuria, el diagnóstico de preeclampsia podría establecerse cuando la hipertensión gestacional es asociada con síntomas de vasoespasmo persistentes, epigastralgia o dolor en cuadrante superior derecho con náusea o vómito o bien trombocitopenia con alteraciones en las concentraciones de enzimas hepáticas. (Secretaría de Salud Guía de practica IMSS-020-08 2017).

Preeclampsia también se puede presentar durante el puerperio con presencia de hipertensión y proteinuria significativa. También es preeclampsia cuando existe hipertensión en el embarazo y un criterio de severidad aun cuando no haya proteinuria demostrada en un primer momento. (Hernández-Pacheco JA, 2013)

De acuerdo a Guía de Práctica Clínica en su actualización 2017, los estados hipertensivos se clasifican como:

- Preeclampsia severa o preeclampsia con criterios de severidad: Es la preeclampsia con uno o más de los siguientes criterios: Síntomas maternos: cefalea persistente o de novo; alteraciones visuales o cerebrales; epigastralgia o dolor en hipocondrio derecho; dolor torácico o disnea, signos de disfunción orgánica, y en caso de hipertensión severa (sistólica ≥ 160 y/o diastólica ≥ 110 mm Hg); edema agudo pulmonar o sospecha de desprendimiento placentario. (Hernández-Pacheco JA, 2013)
- Alteraciones de laboratorio: Presencia de alguno de los siguientes criterios; elevación de creatinina sérica (> 1.1 mg/dL), incremento de AST o ALT (> 70 IU/L) o deshidrogenasa láctica; disminución de plaquetas $< 100,000/ \text{mm}^3$ (Hernández-Pacheco JA, 2013)
- Síndrome HELLP: Denominación en inglés (Hemólisis, Enzimas hepáticas elevadas y Plaquetas bajas) es una presentación particular de la preeclampsia severa. (Hernández-Pacheco JA, 2013)
- Hipertensión arterial crónica en el embarazo: es la hipertensión que está presente antes del embarazo o que es diagnosticada antes de las 20 semanas de gestación.
- Hipertensión gestacional: hipertensión que se presenta por primera vez posterior a las 20 semanas de gestación con ausencia de proteinuria demostrada por recolección de orina de 24 horas o por cociente proteínas/creatinina urinaria en una muestra al azar. (Hernández-Pacheco JA, 2013)

Una vez que la preeclampsia es diagnosticada, el tratamiento principal se concentra en el control de la presión arterial y el adelanto del parto normalmente por vía cesárea, valorando el riesgo-beneficio de la situación en un manejo conservador sobre las consecuencias para el producto prematuro (Goldenberg et al., 2011).

Al considerarse la preeclampsia un síndrome multifactorial, aún no se tiene una fisiopatología que permita explicar el desarrollo de dicha patología; sin embargo se han desarrollado algunas teorías: una implantación anormal con el resultado de hipoxia placentaria y la hipoxia de reperfusión, lo cual resulta en daño al sincitiotrofoblasto y

restricción del crecimiento fetal. Dentro de la implantación anormal influyen mecanismos secundarios que incluyen un desbalance entre factores proangiogénicos (factor de crecimiento vascular endotelial VEGF, factor de crecimiento placentario PlGF) y antiangiogénicos (factor tipo tirosin cinasa -sFlt-1, endoglina soluble sEng, y endotelina-1), estrés oxidativo materno y disfunción endotelial. (Carbajal, 2014)

Se ha encontrado una concentración incrementada de muchos marcadores de estrés oxidativo en la preeclampsia, como los peroxinitritos. La concentración de peroxinitritos en el endotelio vascular es mucho más elevada en mujeres con preeclampsia que en aquellas con embarazos normales, lo que produce alteraciones a nivel endotelial con aumento en vasoconstricción y disminución de riego sanguíneo; lo que condiciona la hipoxia placentaria. Al presentar un aumento de estrés oxidativo a nivel de retículo endoplásmico en mujeres con preeclampsia, se activa un sistema homeostático; sin embargo si este sistema falla, se activan las vías apoptóticas que alteran la función placentaria, como consecuencia de estos procesos durante el segundo y el tercer trimestre de embarazo puede condicionar la restricción del crecimiento intrauterino. (Carbajal, 2014)

II. ANTECEDENTES

La preeclampsia constituye una de las complicaciones más frecuentes y a la vez más serias de la gestación y contribuye de manera significativa a la mortalidad materna y perinatal. No obstante, los avances en el estudio de la preeclampsia, aún no está del todo esclarecido su mecanismo fisiopatológico.

Estudios previos han demostrado asociaciones significativas entre preeclampsia y variantes del DNA en la cadena alfa 1 del colágeno (COL1A1), interleuquina-1 alfa (IL1A) (12), mutación del factor V Leiden, mutaciones de la sintetasa del óxido nítrico endotelial, antígeno leucocitario humano y de la enzima convertidora de angiotensina (Ward, 2009).

Se postula que la preeclampsia, sobre todo la de inicio temprano en el embarazo, se desarrolla en dos estadios. El primer estadio (antes de las 20 semanas) involucra una pobre invasión placentaria en el miometrio y la vasculatura uterina; es este estadio no hay manifestaciones clínicas. El segundo estadio se manifiesta por las consecuencias de la pobre placentación, provocado por la relativa hipoxia placentaria y la hipoxia de reperfusión, lo cual resulta en daño al sincitiotrofoblasto y restricción del crecimiento fetal. El eslabón entre la hipoxia placentaria relativa y el síndrome clínico materno incluye una cascada de mecanismos secundarios incluyendo el desbalance entre factores pro-angiogénicos y anti-angiogénicos, estrés oxidativo materno, y disfunción endotelial e inmunológica (LaMarca, 2008).

El daño al endotelio vascular es uno de los eventos patológicos primarios en la preeclampsia. Este daño está mediado por un incremento en el estrés oxidativo por la proliferación de radicales libres de oxígeno (ROS) y la disminución de sustancias antioxidantes; los ROS son particularmente dañinos para el material genético en donde el daño al DNA, lo que se asocia con varias condiciones patológicas como cáncer, enfermedades cardíacas y neurodegenerativas, inflamación y envejecimiento (Hilali, et al., 2013).

La estructura química de las sustancias oxígeno reactivas (ROS), se caracterizan por tener 1 ó más electrones libres, por lo que son altamente inestables, de esta manera

interactúan con fosfolípidos de membrana y ácidos grasos, formando así los lipoperóxidos, que son los encargados de generar el daño tisular. (Rodríguez, et al 2012)

En la preeclampsia, se observa un incremento en la proliferación y fusión del sincitiotrofoblasto, lo que produce que el proceso de degradación celular se encuentre saturada, así se produce una mayor flujo de material celular, lo que provoca que no se lleve a cabo de manera eficiente la apoptosis celular de este material. Este material necrótico se vierte al torrente sanguíneo, con componentes intracelulares parcialmente degradados, sin contar con una cubierta de membrana, a esto se le conoce como microfragmentos de sincitiotrofoblasto (STBM). Al proceso de desprendimiento necrótico de estos fragmentos se le conoce como aponecrosis. Los estados de hipoxia placentaria se asocian con aumento de la apoptosis a nivel del trofoblasto vellositario, con una mayor concentración plasmática de STBM, en comparación con pacientes con embarazo normal. En estudios in vitro se ha demostrado que estos STBM son capaces de alterar el comportamiento de macrófagos, y al aumentar su concentración se produce activación de neutrófilos, disrupción de células endoteliales y disminución de la relajación endotelial. De esta manera se pueden explicar tanto el daño placentario local, endotelial y las manifestaciones clínicas de la preeclampsia. (Rodríguez, et al 2012)

Algunos factores que intervienen en la preeclampsia incluyen obesidad, resistencia a la insulina, trombosis, hiperhomocisteinemia, abuso de sustancias, todos estos factores también se asocian con un incremento en el daño al DNA durante el embarazo, al impedir la capacidad replicativa de los trofoblastos, y por lo tanto desacoplan la implantación de la decidua y las arterias uterinas (Furness et al., 2010).

Las consecuencias de las interacciones entre los mutágenos o condiciones adversas en un organismo como ocurre con el estrés oxidativo, que pueden reaccionar con el DNA provocando la formación de aductos, sitios álcali lábiles, rupturas de cadena, provocando ya sea cambios en la secuencia de los nucleótidos como aberraciones tanto numéricas como estructurales. El destino final de la célula está determinado por la variedad de las lesiones, y la capacidad de ser reparadas o eliminadas por apoptosis (Decodier et al., 2007).

Con propósitos de biomonitorio se tienen varias técnicas establecidas para medir daño a nivel mutacional y cromosómico tales como determinación de aberraciones cromosómicas, ensayo cometa, determinación de aductos, ensayo de micronúcleos en células binucleadas así como el ensayo de micronúcleos en células tanto de epitelio urinario como de epitelio oral. Los micronúcleos en células de exfoliadas de cavidad oral son un marcador útil y mínimamente invasivo utilizado para el monitoreo de daño genotóxico en humanos. El daño genómico es probablemente la causa principal en el desarrollo de enfermedades degenerativas. Este daño puede ser provocado por la exposición a agentes genotóxicos, procedimientos médicos como radiación y uso de fármacos, deficiencia dietética como la de folato, estilo de vida poco saludable por consumir tabaco alcohol o drogas, así como a factores genéticos y defectos en el metabolismo. En ensayo de micronúcleos es utilizado como un biomarcador (Holland et al., 2008).

Los micronúcleos se pueden medir en linfocitos, células mucosa oral, nasal, esofágica, bronquial, de vejiga urinaria y cérvix uterino. Los micronúcleos en células de exfoliación emergen durante la mitosis de las capas basales del epitelio como DNA extracromosómico provocado por la acción de clastógenos es decir agentes que causen rupturas cromosómicas o bien aneunógenos, los cuales alteran el uso acromático provocando pérdida de cromosomas completos.

No hay diferencia en la frecuencia de micronúcleos cuando los individuos se exponen a los agentes mutagénicos en un periodo de años o por un corto tiempo (Majer et al., 2001).

Un estudio utilizando el modelo de micronúcleos en cultivo de linfocitos demostró un incremento de ellos en mujeres con preeclampsia al compararse con mujeres cuyos embarazos fueron normales (Furness et al., 2010).

La técnica para el estudio de daño genético de ADN en células exfoliadas provenientes de la cavidad bucal se ha convertido en un método muy prometedor por ser mínimamente invasivo. Las células bucales constituyen el primer punto de contacto para la inhalación o la vía de ingestión, y son capaces de metabolizar los carcinógenos de productos reactivos; así mismo en la mucosa bucal, se ha descrito que se observan micronúcleos

en la capa basal de los tejidos epiteliales, y su presencia puede reflejar el daño genotóxico que ocurrió hasta 14 días antes de la recolección de la muestra. Otro punto a favor que se ha demostrado en las células bucales es que tienen una capacidad de reparación del ADN limitada en comparación con las de linfocitos periféricos, por lo que pueden reflejar con mayor precisión la inestabilidad genómica. (Hovhannisyán et al., 2018)

El daño cromosómico a nivel epitelial también conduce a la célula a desarrollar anomalías nucleares además de los micronúcleos, tales como cariorrhexis: se identifica por la presencia de muchos corpúsculos Feulgen positivos, que muestran la aparición de fragmentación nuclear; cariólisis: son células diferenciadas terminalmente que parecen carecer de un núcleo, sus núcleos se han agotado completamente del ADN y, por lo tanto, aparecen como imágenes fantasma negativas a Feulgen; picnocitosis: se identifican como condensación de cromatina extrema, asociada con una reducción sustancial del tamaño del núcleo cromatina condensada; células binucleadas y puentes internucleares. Todas estas alteraciones se asocian con fenómenos relacionados a la citotoxicidad como necrosis y queratinización, o genotoxicidad evidenciada por apoptosis (García et al., 2012).

Alteraciones en los mecanismos de reparación del DNA, inestabilidad genética y por lo tanto un incremento en el riesgo de complicaciones como el cáncer. La reducción en la defensa antioxidante puede ser un factor importante en esta asociación. La presencia de los micronúcleos es un reflejo de aberraciones cromosómicas tanto numéricas como estructurales derivadas de la mitosis; y que resultan un biomarcador para la determinación de genotoxicidad o alteraciones en la reparación del material genético (Shaik et al., 2010).

El daño clastogénico al DNA se puede evaluar por varios modelos, uno de ellos es la prueba de micronúcleos en células exfoliadas de la cavidad oral, el cual es un biomarcador de daño cromosómico, ya que determina la ruptura de los mismos, o bien la migración anómala durante la anafase celular, por otra parte permite dimensionar la muerte celular programada o apoptosis, también como un marcador de daño patológico (Lazalde-Ramos, 2012).

Esta técnica citogenética se puede aplicar para establecer el impacto nutricional y del estilo de vida en el daño al DNA, así como la tasa de proliferación y muerte celular, que se determina como presencia de anomalías nucleares en lo que se denomina citoma, que permite establecer el estadio en el que se encuentra una célula en proceso apoptótico, así como si se tiene la formación de células binucleadas o con puentes cromosómicos, que también son indicativos de la viabilidad de las células en el tejido epitelial. (Fenech, 2013).

En 1976, Conutryman y Heddle, propusieron el uso de la técnica de recuento de Micronúcleos como medida de daño cromosómico en cultivo de linfocitos humanos. Posteriormente en 1985, Fenech y Morley, mejoraron dicho ensayo al frenar el proceso de división celular cuando la célula hubiese sufrido una división mitótica, esto mediante el bloqueo de citocinesis (CMBN: cytokinesis block micronucleus), utilizando un agente químico llamado citocalasina B que inhibe la polimerización de actina, impidiendo la citocinesis al imposibilitar la creación del anillo contráctil, constituido por microfilamentos de actina y miosina, necesario para la división celular en telofase mitótica. El uso de la citocalasina B no afecta a las fibras del huso ni a la división nuclear, por lo que se origina células binucleadas y que han sufrido una sola división celular. (Fenech 2013).

El año 1999 la técnica de micronúcleos fue validada a nivel mundial y considerada como un biomarcador efectivo de daño en el ADN. Creándose un programa internacional de micronúcleos humanos (HUMN: HUMAN MicroNucleus Project), diseñado por Michael Fenech y Stefano Bonassi con la finalidad de recopilar las frecuencias basales de Micronúcleos en diferentes laboratorios y poblaciones del mundo; su objetivo principal consistió en identificar las fuentes y niveles de variabilidad que son capaces de influir en la frecuencia basal de Micronúcleos en linfocitos humanos; y así definir un protocolo estándar e intentar establecer una asociación en la frecuencia de micronúcleos y distintas enfermedades como el cáncer (Zalacain, 2005).

Entre 1980 y 1989, algunos laboratorios iniciaron con la información sobre el daño citogenético en humanos a través de células exfoliadas epiteliales. Las células epiteliales tiene un alto potencial como herramienta para monitorización de población expuesta a

agentes genotóxicos. Las características del epitelio de la mucosa oral, favorecen su utilización para pruebas que permiten evaluar agentes genotóxicos o citotóxicos, ya que es el punto de contacto dichos agentes; representa una barrera protectora, que se encuentran en contacto directo con agentes genotóxicos una vez que son ingeridos o inhalados; específicamente el riñón y la vejiga se encuentran en contacto directo con los metabolitos de los químicos al momento de su excreción (Zalacain, 2005). Estas muestras son fáciles de obtener de la boca, nariz y vejiga mediante métodos no invasivos. Aproximadamente el 60% del total de la superficie de revestimiento oral es epitelio no queratinizado; esto favorece la absorción de colorantes y facilita a la vez la observación e identificación de características morfológicas del núcleo y membrana celular a través del microscopio. Este epitelio, cuenta con una capacidad especial proliferativa, permitiendo que la población celular se mantenga constante, volviéndose más vulnerable a lesiones producidas en el ADN. (Torres-Bugarín 2013)

III. JUSTIFICACIÓN

En virtud de los resultados poco concluyentes en cuanto a la correlación entre daño cromosómico y el padecer preeclampsia o eclampsia, es de interés el realizar un estudio para determinar si existe una relación entre el incremento en la frecuencia de micronúcleos de las células epiteliales cuando la preeclampsia-eclampsia afectan a la mujer embarazada, así como determinar si este biomarcador se puede utilizar para predecir la severidad del cuadro patológico.

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los trastornos hipertensivos del embarazo comprenden un abanico de posibilidades que van desde la preeclampsia hasta la eclampsia, caracterizada por la presentación de hipertensión arterial, proteinuria, y agregando crisis convulsivas en la eclampsia, estas enfermedades pueden aparecer desde la semana 20 de gestación hasta el puerperio inmediato, puede llegar a complicar hasta el 10% de las primigestas.

Esto representa un problema de salud pública, debido a la morbilidad materna y perinatal, originando restricción del crecimiento fetal, parto prematuro y/o asfixia perinatal; asimismo, la madre está expuesta a complicaciones como el abrupcio placentae, convulsiones, hemorragia intracerebral y daño hepático o renal.

Hay pocos estudios donde se muestra el daño al DNA en las mujeres con preeclampsia y los resultados aún son controvertidos. Asimismo, hay una mayor extensión del daño al DNA por un estado oxidativo en las mujeres con preeclampsia si se compara con grupos de mujeres sanas, sin que esto hasta el momento se haya demostrado fehacientemente.

IV.1 PREGUNTA DE INVESTIGACION

¿Existe una correlación entre la inducción del daño cromosómico evaluable mediante el modelo de micronúcleos y el padecer preeclampsia-eclampsia?

IV.2 OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Identificar la asociación entre preeclampsia-eclampsia y la presencia de micronúcleos como un biomarcador de daño cromosómico en las mujeres con este padecimiento.

OBJETIVOS PARTICULARES

- 1.- Determinar si la preeclampsia-eclampsia se relaciona con el incremento de la frecuencia basal de micronúcleos en células del epitelio oral.
- 2.-Establecer la relación que existe entre la preeclampsia leve, severa y eclampsia con el número de micronúcleos como biomarcador de severidad en las mujeres con estas patologías.
- 3.-Determinar la influencia de la preeclampsia-eclampsia en la muerte de células epiteliales de las madres afectadas.

IV. 3 HIPÓTESIS

Si los procesos fisiopatológicos de la preeclampsia y la eclampsia incrementan el estrés oxidativo en las células, entonces pueden incrementar la frecuencia basal de micronúcleos, anormalidades nucleares y la apoptosis en células epiteliales de la cavidad oral.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

V.1 Diseño del estudio.

El diseño realizado fue a base de casos y controles, en este estudio los casos se consideraron mujeres con preeclampsia y eclampsia, los controles se conformaron de aquellas mujeres sin la presencia de estas enfermedades. Los estudios de casos y controles se basan en la identificación de los casos en una determinada población durante un periodo de observación definido, se tiene el propósito de estimar la proporción de individuos expuestos y no expuestos identificados de la población base.

V.2 Análisis de la información

En los estudios de casos y controles es posible estimar las medidas de asociación llamados momios, indican la frecuencia relativa de la exposición o condición en estudio entre los casos y los controles, se estima dividiendo los casos expuestos sobre los no expuestos; de manera similar, los momios de exposición en los controles se estiman dividiendo los controles expuestos entre los no expuestos, el cociente de esta operación se conoce como la razón de momios.

V.3.- Ubicación espacio-temporal:

3.1 Lugar: Hospital General de Pachuca, hospital de 2° nivel dependiente de la Secretaría de Salud de Hidalgo, en el servicio de Ginecología y Obstetricia en turno mixto.

3.2 Tiempo: para la recolección de las muestras de Enero-Junio del 2016.

3.3 Persona: El grupo expuesto se conformó de mujeres embarazadas que llegaron al servicio de ginecología y obstetricia con cuadro clínico de preeclampsia o eclampsia en cualquiera de los turnos.

El grupo de control se conformó de mujeres embarazadas sanas, usuarias de este servicio que recibieron atención durante el proceso del parto.

V.4 Selección de la población de estudio

La población a estudiar fueron mujeres embarazadas que llegaron para su atención de parto al Hospital General de Pachuca en el periodo de Enero a Junio del 2016 con los siguientes criterios:

Criterios de inclusión

Mujeres embarazadas con preeclampsia o eclampsia para el grupo expuesto.

Mujeres embarazadas clínicamente sanas para el grupo control.

Que aceptaron participar en el estudio.

De las que se pudieron obtener todos los datos solicitados en el expediente clínico completos.

Criterios de exclusión

Mujeres que presentaron otras complicaciones ginecológicas al momento del parto

Mujeres hipertensas en estado no grávido

Mujeres de las cuales no se pudieron recabar datos de su expediente clínico por estar incompleto

Criterios de eliminación

Mujeres cuyas laminillas se perdieron, se rompieron o se liso la muestra.

V.5 Tamaño de la muestra

5.1 Determinación del tamaño de muestra

Para el presente estudio se utilizó la siguiente fórmula:

$$n = \frac{\left[z_{1-\alpha/2} \sqrt{2p(1-p)} + z_{1-\beta} \sqrt{p_1(1-p_1) + p_2(1-p_2)} \right]^2}{(p_1 - p_2)^2}$$

Dónde: $P_1= 0.12$; $P_2=0.38$ (Morgan, 2010) $Z=95\%$ de confianza en tablas de $z=1.96$

Lo que nos dio un tamaño de muestra de 42 casos y 42 controles

5.2 Tipo de muestreo

Se eligió un muestreo no probabilístico de cuotas, hasta que se completó el número de participantes calculado en el tamaño de la muestra.

V 6.- DEFINICIÓN OPERACIONAL DE VARIABLES

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Escala de medición	Fuente
Edad	Tiempo en años desde el nacimiento de una persona presente	Periodo transcurrido desde el nacimiento hasta el momento de su participación en el estudio	Cuantitativa continua Edad en años	Expediente clínico
Estado civil	Situación legal de unión entre dos sujetos	Relación que mantiene la participante con su pareja en términos legales	Cualitativa categórica 1.Soltera 2.Casada 3.Viuda 4.Divorciada 5.Unión libre	Expediente clínico
Escolaridad	Periodo de tiempo que una persona asiste a la escuela para estudiar, aprender y obtener un grado.	Grados de estudio alcanzados por el individuo en base a los años de estudio realizados.	Cualitativa categórica 1. Analfabeta 2. Primaria incompleta 3.primara completa 4. Secundaria incompleta 5.secundaria completa 6. Bachillerato incompleto 7. Bachillerato completo 8. carrera técnica 9. Licenciatura incompleta 10. Licenciatura 11. posgrado	Expediente clínico
Antecedentes ginecológicos	Historial reproductivo de la mujer	Historial del número de embarazos, partos, abortos y cesarías.	Cuantitativas discretas 1. No. De gestas 2. No. Partos 3. No. 4. Cesarías 5. No. Abortos	Expediente clínico
Peso	El peso corporal es la fuerza que genera la gravedad sobre el cuerpo humano.	Cantidad de kilogramos medidos en la báscula de consulta externa	Cuantitativa continua Kilogramos de peso	Expediente clínico

Talla	Estatura de un individuo expresada en metros	Cantidad de metros medidos en el estadímetro de la consulta externa	Cuantitativa continua Metros de estatura	Expediente clínico
Índice de masa corporal	Es el criterio diagnóstico que se obtiene dividiendo el peso corporal (kg) entre la talla (cm) elevada al cuadrado y se expresa como kg/m ² .	Razón entre el peso medido en kilogramos y la talla al cuadrado.	Cuantitativa continua Kg de peso/ m ² de estatura	Expediente clínico
Embarazo	Es el periodo comprendido desde la fecundación del óvulo (evidenciada por cualquier signo o síntoma presuntivo de embarazo, como suspensión de menstruación o prueba positiva del embarazo médicamente aceptada) hasta la expulsión o extracción del feto y sus anexos.	Estado grávido de la mujer medido en semanas	Cuantitativa continua Tiempo expresado en semanas	Expediente clínico
Tensión arterial	Es la fuerza hidrostática de la sangre sobre las paredes arteriales, que resulta de la función de bombeo del corazón, volumen sanguíneo, resistencia de las arterias al flujo y diámetro del lecho arterial.	La última medición de la tensión arterial registrada en el expediente para corroborar el cuadro clínico de preeclampsia-eclampsia	Cuantitativa Discreta mm/Hg	Expediente clínico
Hipertensión gestacional	Presencia de hipertensión arterial mayor o igual de 140/90 mm Hg después de la semana 20 de gestación en ausencia de proteinuria. En muchas ocasiones es un diagnóstico retrospectivo y se	Elevación sostenida de la presión arterial. Presión sistólica \geq de 140 mm Hg., presión diastólica \geq de 90 mm Hg., por lo menos en dos registros con un mínimo de 6 horas entre uno y otro; o bien, una elevación de 30 mm Hg o más en la presión sistólica y 15 mm Hg o	Cualitativa dicotómica 1.si 2.no	Expediente clínico

	considera hipertensión transitoria del embarazo si no se desarrolla preeclampsia y los valores regresan a la normalidad.	más en la presión diastólica, sobre las cifras previas existentes en el primer trimestre del embarazo.		
Crisis hipertensiva	Estado súbito de la elevación de la tensión arterial	Elevación severa de la presión arterial y se divide en: 1. Emergencia hipertensiva: elevación severa de la tensión arterial con evidencia de daño a órgano blanco. 2. Urgencia hipertensiva: elevación severa de la tensión arterial sin evidencia de daño a órgano blanco	Cualitativa categórica 1.si 2.no	Expediente clínico
Proteinuria	Excreción de proteínas en el filtrado glomerular detectables en orina.	Excreción mayor o igual a 300 mg de proteínas en una colección de orina de 24 hr. Esta cantidad usualmente se correlaciona con la presencia de ≥ 30 mg/dl. (30 mg/dl = 1+ en tira reactiva) en una muestra de orina al azar sin evidencia de infección urinaria.	Cualitativa Dicotómica (30 mg/dl=1 en tira reactiva) 1.si 2.no	Expediente clínico
Proteinuria en orina de 24 horas	Cuantificación de proteínas durante la recolección del volumen urinario.	Excreción mayor o igual a 300 mg de proteínas en una colección de orina de 24 hr.	Cuantitativa continua mg de proteínas excretados en 24 h	Expediente clínico
Crisis convulsiva	Alteración súbita en la actividad eléctrica cortical, que se manifiesta clínicamente por una alteración en la conciencia o por la aparición de sintomatología motora, sensitiva o conductual	Presencia de movimientos tónico-clónicos.	Cualitativa dicotómica 1.si 2.no	Expediente clínico
Edema de miembros inferiores	Incremento en el volumen de líquido intersticial que puede aumentar en varios litros antes de que el proceso sea	Atrapamiento de líquido en tejido intersticial, e identificado por medio de la palpación profunda de miembros inferiores, en donde se presenta un	Cualitativa dicotómica 1.si 2.no	Expediente clínico

	evidente clínicamente. Es frecuente que antes de su aparición se produzca un incremento de peso.	hundimiento en el sitio de la palpación.		
Hiperreflexia	Incremento de los reflejos osteotendinosos	Aumento de los reflejos tendinosos	Cualitativa dicotómica	Expediente clínico
Preeclampsia	Síndrome multisistémico de severidad variable, específica del embarazo, caracterizada por una reducción de la perfusión sistémica generada por vasoespasmo y activación de los sistemas de coagulación. Se presenta después de la semana 20 de la gestación, durante el parto o en las primeras 6 semanas después de éste.	Determinación del grado de afectación dependiendo de las características clínicas de la paciente. El cuadro clínico se caracteriza por hipertensión arterial $\geq 140/90$ mm Hg acompañada de proteinuria, es frecuente que además se presente cefalea, acúfenos, fosfenos, edema, dolor abdominal y/o alteraciones de laboratorio.	Cualitativa categórica 1. Normal 2. Preeclampsia leve 3. Preeclampsia severa	Expediente clínico
Eclampsia	Presencia de convulsiones o estado de coma en pacientes con preeclampsia después de la semana 20 de gestación, parto o en las primeras 6 semanas después de éste, en ausencia de otras causas de convulsiones	Cuadro clínico convulsivo o estado de coma en pacientes con previo padecimiento de preeclampsia.	Cualitativa dicotómica 1. Normal 2. eclampsia	Expediente clínico
Hipertensión previa al embarazo	Presión excesivamente alta de la sangre sobre la pared de las arterias, de carácter crónico	La hipertensión sistólica aislada se define como una presión sistólica ≥ 140 mm de Hg y una presión diastólica <90 mm de Hg,	Cualitativa dicotómica 1.si 2.no	Expediente clínico
Embarazo múltiple	Presencia de más de un producto en un solo embarazo	Identificación del desarrollo simultáneo en el útero de dos o más fetos.	Cualitativa dicotómica 1.si 2.no	Expediente clínico
Antecedente de preeclampsia-eclampsia en	Padecimiento previo de la patología en un embarazo previo	Haber presentado las características clínicas del síndrome en algún embarazo anterior	Cualitativa dicotómica 1.si 2.no	Expediente clínico

embarazos previos	al que se está atendiendo			
Diabetes mellitus tipo 2	Enfermedad sistémica, crónico-degenerativa, de carácter heterogéneo, con grados variables de predisposición hereditaria y con participación de diversos factores ambientales, y que se caracteriza por hiperglucemia crónica debido a la deficiencia en la producción o acción de la insulina, lo que afecta al metabolismo intermedio de los hidratos de carbono, proteínas y grasas.	Caracterizada por insulino-resistencia y deficiencia (no absoluta) de insulina, glucemia plasmática en ayuno 126 mg/dl; una glucemia plasmática casual 200 mg/dl; o bien una glucemia 200 mg/dl a las dos horas después de una carga oral de 75 g de glucosa anhidra disuelta en agua.	Cualitativa dicotómica 1.si 2.no	Expediente clínico
Micronúcleos	Fragmento intracitoplasmático de cromatina producido a partir de la ruptura de un fragmento acéntrico de un cromosoma por una sustancia clastogénica, o un cromosoma completo que por error en la migración durante la anafase mitótica queda atrapado en el citoplasma sin integrarse al núcleo principal.	Observación microscópica de un corpúsculo redondo, no refringente, mayor a 1 micra de diámetro y teñido del mismo color que el núcleo principal.	Cuantitativa discreta Frecuencia de células epiteliales diferenciadas que presente un micronúcleo en 1000 células	Muestra de células epiteliales de carrillo
Anormalidades nucleares	Son fenómenos que podrían ocurrir en procesos normales de diferenciación celular y son indicadores de daño al ADN, citotoxicidad y muerte celular	Células binucleadas: con presencia de dos núcleos dentro de la célula. Probablemente no involucra una interacción directa con el ADN, son producidas a causa de procesos de interferencia que ocurren tarde en la división celular (no se	Cuantitativa discreta Frecuencia de células diferenciadas con bulto nuclear y células binucleadas en 1000 células	Muestra de células epiteliales de carrillo

		<p>conoce bien su origen, ni su efecto en la célula).</p> <p>- Células con bulto nuclear: donde el núcleo aparece con una protuberancia de tamaño variable. Su origen y significado aún se desconoce.</p>		
Apoptosis	<p>Muerte celular programada provocada por el propio organismo, con el fin de autocontrolar su desarrollo y crecimiento, está desencadenada por señales celulares controladas genéticamente. La apoptosis tiene una función muy importante en los organismos, pues hace posible la destrucción de las células dañadas, evitando la aparición de enfermedades. es un proceso ordenado, que generalmente confiere ventajas al conjunto del organismo durante su ciclo normal de vida</p>	<p>Muerte celular programada que se presenta en estadios identificables por la morfología del núcleo celular.</p>	<p>Cuantitativa discreta</p> <p>Cuantificar en 1000 células la frecuencia de células clasificadas de acuerdo a la morfología nuclear en:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Célula basal 2. Célula diferenciada normal 3. Célula apoptótica con picnocitosis (núcleo altamente condensado e hipercromático) 4. Célula apoptótica con condensación de cromatina (núcleo con patrón de tinción rayado) 5. Célula apoptótica con cariorrhexis (núcleo vacuolizado) 6. Célula con cariolisis (sin núcleo). 	<p>Muestra de células epiteliales de carrillo</p>

V7. Descripción general del estudio

Se invitó a participar a las pacientes y controles de manera verbal y al momento de aceptar se les hizo firmar un consentimiento informado, indicando que los datos obtenidos se mantuvieron en el anonimato y solo son con fines de la investigación.

Una vez obtenido el consentimiento, se realizó la obtención de información a partir del expediente clínico, de donde se extrajeron los datos clínicos, variables antropométricas y socioeconómicas.

Se procedió a tomar la muestra de células epiteliales siguiendo el siguiente procedimiento:

Se indicó al sujeto que se enjuagara la boca con 50 ml de solución salina fisiológica (SSF) tibia.

Se solicitó que abriera la boca y raspo con un abatelenguas estéril de madera previamente humedecido en SSF, raspando gentilmente, pero con firmeza sobre el carrillo interno, tomando suficiente cantidad de células.

Inmediatamente se realizó el extendido celular sobre la laminilla que contiene 2 gotas de SSF y se dejó secar al aire.

Se prepararon 2 muestras de cada carrillo.

Se fijaron las laminillas en solución de Carnoy por 30 min y se dejaron secar al aire por al menos 24 horas.

Se realizó la tinción de Feulgen.

Conteo de micronúcleos

Una vez teñida la laminilla, las células epiteliales se distinguen con el núcleo teñido de color magenta y el citoplasma de color verde. Los micronúcleos se distinguen como corpúsculos intracitoplasmáticos de mínimo una micra de diámetro, redondos no refringentes y del mismo color que se presenta en el núcleo, ya que es materia genético residual producido a partir de rupturas o pérdida de cromosomas completos.

Se clasificaron las células epiteliales por la morfología del núcleo de acuerdo a lo mencionado a continuación:

Lectura microscópica de 1000 células epiteliales diferenciadas por individuo para determinación de la frecuencia de micronúcleos y anomalías nucleares, células binucleadas y con núcleo protuberante y 1000 células para que, de acuerdo a la morfología nuclear, se determine si son normales o bien apoptóticas.

0. Célula basal
1. Célula diferenciada normal
2. Célula apoptótica con picnociosis (núcleo altamente condensado e hiperromático)
3. Célula apoptótica con condensación de cromatina (núcleo con patrón de tinción rayado)
4. Célula apoptótica con cariorrhexis (núcleo vacuolizado)
5. Célula con cariólisis (sin núcleo).

Se cuantifico en 1000 células epiteliales diferenciadas la frecuencia de células con micronúcleos, binucleadas y con núcleo protuberante, con el fin de determinar el efecto de la preeclampsia-eclampsia en el material genético.

Se cuantifico en 1000 células epiteliales el número de células normales y en alguna etapa del proceso de la apoptosis para determinar si el estado patológico induce la muerte celular si se comparan las frecuencias con las de mujeres sanas.

V.8.- ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

Se utilizó para el análisis estadístico el programa STATA versión 12.0

A las variables cuantitativas se les calcularon media, desviación estándar y varianza, y posteriormente se comparó el grupo caso contra el grupo control mediante una prueba de t de Student con un valor de $P < 0.05$.

A las variables cualitativas de ambos grupos se les comparó utilizando la prueba de Ji-cuadrada con un nivel de confianza del 95%.

Después del análisis bi-variado se procedió a realizar medidas de asociación como la determinación de razón de momios, y razón de momios ajustada.

De acuerdo al cruce de las variables de exposición y no exposición entre los casos y los controles, se conformó una tabla cuadrangular donde se calcularon los siguientes estadísticos:

	Casos	Controles	
Exposición	a	b	n1
No exposición	c	d	n0
	m1	m0	

Prevalencia de exposición en los casos: $a/n1$

Prevalencia de exposición en los controles: $c/n0$

Momios de exposición en los casos: a/b

Momios de exposición en los controles: c/d

Razón de momios: $(a*d)/(c*b)$

V.9.- INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

El instrumento para la recolección de las variables clínicas, antropométricas y socioeconómicas se incluye en el anexo 1.

VI. ASPECTOS ÉTICOS

Basados en los siguientes artículos de la Ley General de Salud en Materia de Investigación, clasifica al tipo de estudio como de riesgo mínimo ya que la mayoría de los datos se obtendrán directamente del expediente clínico y para la obtención de muestras de células epiteliales, el raspado de células de descamación con un abatelenguas estéril no representa riesgo para la salud de la paciente.

Para realizar investigaciones en mujeres embarazadas, durante el trabajo de parto, puerperio y lactancia; en nacimientos vivos o muertos; de utilización de embriones, óbitos o fetos; y para la fertilización asistida, se requiere obtener la carta de consentimiento informado de la mujer y de su cónyuge o concubinario, lo que se detalla en el Anexo 3.

VII.- RECURSOS HUMANOS, FÍSICOS Y FINANCIEROS

El residente de 2° año de la especialidad de Gineco-Obstetricia, M.C. Shamayra Gabriela Sauz Hernández se hizo cargo de la reproducción del formato de recolección de información y consentimiento informado.

El material y reactivos necesarios para la toma de muestra, tinción y lectura de laminillas fue soportada por la directora de tesis.

El co-director se mantuvo al pendiente del recabado de los datos clínicos en los formatos correspondientes.

Los asesores auxiliaron al residente en la organización de la información, análisis de datos y revisión del documento final.

El procesamiento y lectura de las muestras se realizó en las instalaciones del laboratorio de inmunología de la 4° etapa del ICSa, laboratorio perteneciente al Área Académica de Medicina con la colaboración de la alumna de la licenciatura de Médico Cirujano, Mónica Olgún García para la tinción y lectura de las muestras.

VIII. RESULTADOS

Con el fin de lograr los objetivos planteados al inicio de la tesis, se vació la información obtenida mediante las encuestas en el programa estadístico STATA versión 12.0, para su análisis e interpretación. Además, se realizaron gráficas y tablas en programa Word para mejor comprensión de resultados.

Se presentan resultados con las variables de las encuestas y posteriormente con los resultados obtenidos de la toma de muestras. La tabla uno muestra la distribución de las pacientes con respecto a los casos y controles quedando 54 como caso, 52 como control siendo un total de 106 pacientes las incluidas en el estudio

Tabla #1

Tamaño de muestra de pacientes embarazadas de estudio realizado en el Hospital General de Pachuca
Enero a Junio de 2016

Pacientes	Total	Porcentajes
Caso	54	50.94%
Control	52	49.06%
Total	106	100%

FUENTE: ENCUESTAS

Las variables sociodemográficas se presentan continuación:

Con respecto a la edad el valor promedio de toda la población fue de 25.5 años sin que se tuvieran diferencias significativas entre los dos grupos de estudio como se muestra en la tabla 2.

Tabla #2

Edad de pacientes embarazadas incluidas en el estudio realizado en el Hospital General de Pachuca
Enero a Junio de 2016

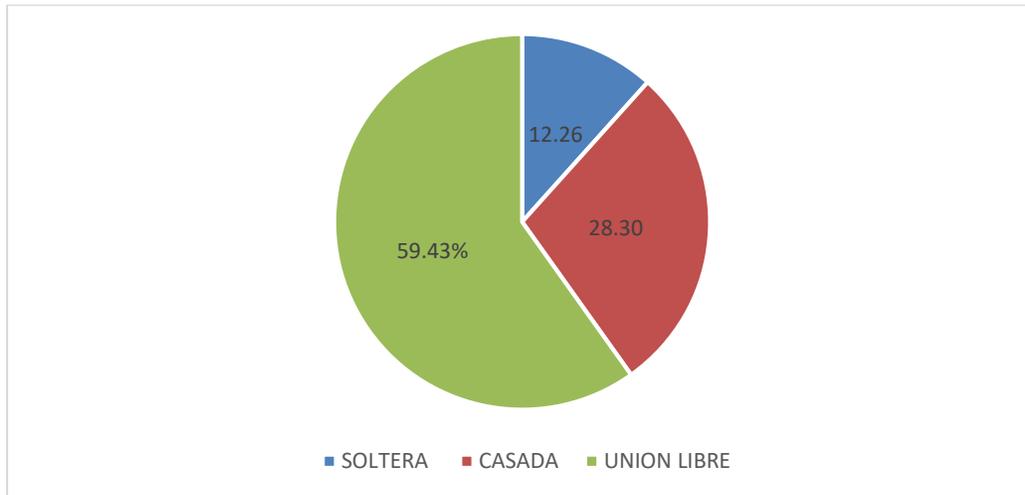
Edad	Media	Valor mínimo	Valor máximo	Desviación Estándar
Caso	25.40	23.70	27.11	6.25
Control	25.61	23.86	27.36	6.30
Total	25.50	24.30	26.71	6.24

FUENTE: ENCUESTA

La gráfica 1 muestra el estado civil de las participantes siendo el más frecuente la unión libre y el menos el ser soltera. Por otra parte la gráfica 2 muestra la escolaridad de las

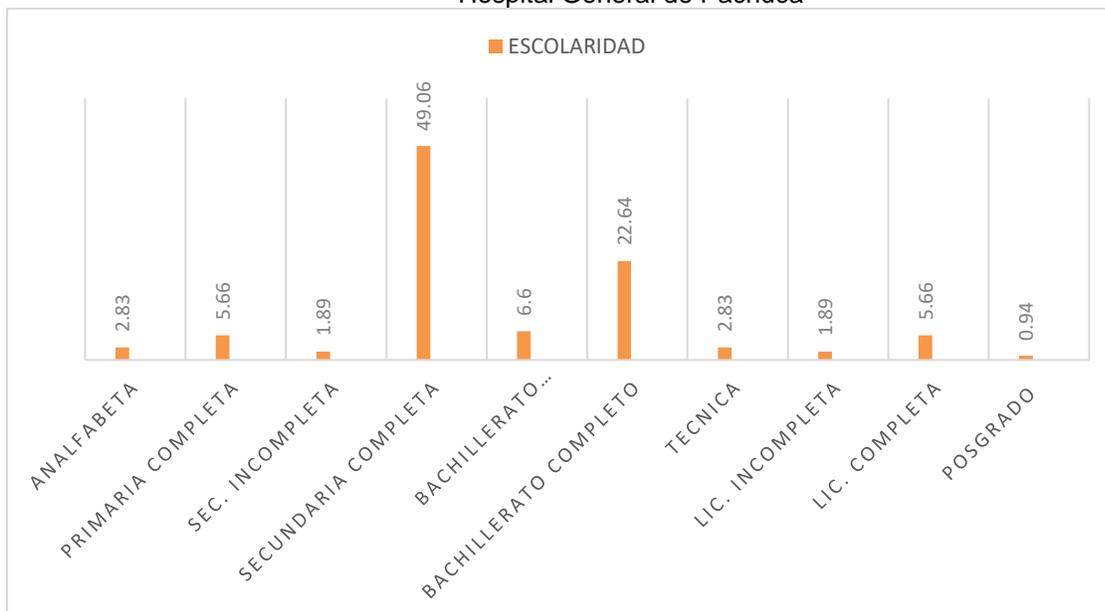
pacientes en donde el 49.06% tenía secundaria completa 22.64 % bachillerato completo, siendo el menos frecuente el poseer un posgrado con apenas el 0.94%.

Gráfica #1
Estado civil de pacientes embarazadas incluidas en estudio de Enero a Junio de 2016 en Hospital General de Pachuca



FUENTE: EXPEDIENTE CLINICO

Gráfica #2
Escolaridad de pacientes embarazadas, incluidas en estudio de Enero a Junio de 2016 realizado en Hospital General de Pachuca

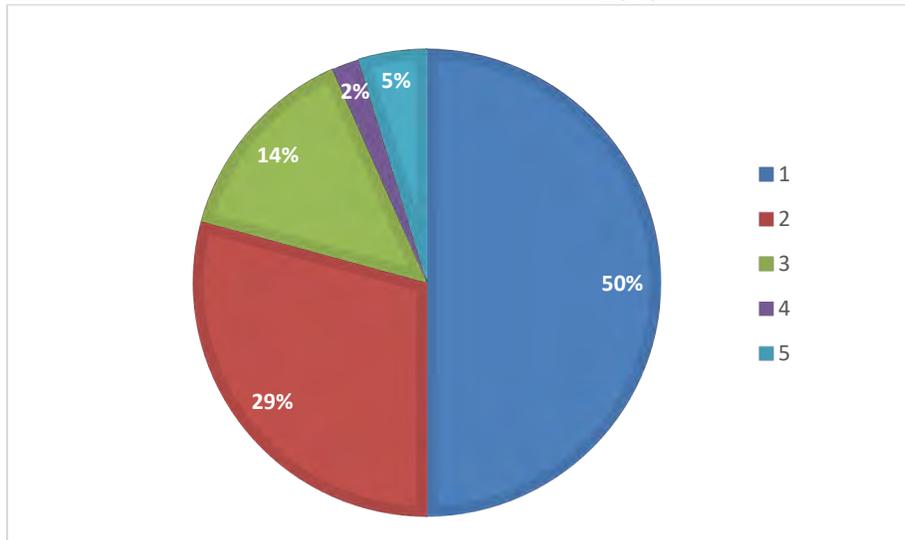


FUENTE: EXPEDIENTE CLINICO

Los antecedentes ginecológicos se presentan en las gráficas 3 a 6. Como se puede apreciar, el 50% eran primigestas, 50% multigestas (29% secundigestas, 14% tercera

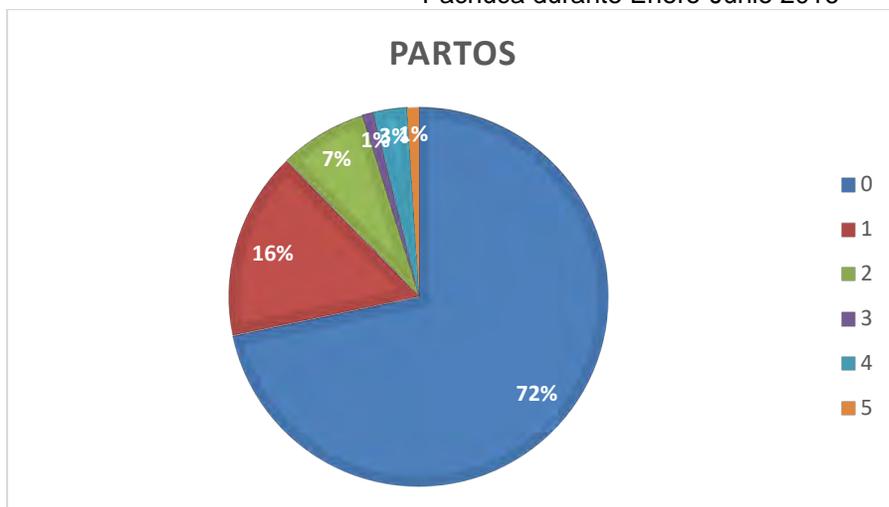
gesta, 2% cuarta gesta y 5% quinta gesta). (Gráfica 3). La mayor parte de las participantes había resuelto sus embarazos previos vía parto vaginal y solo el 8 % de las participantes tenían antecedente de aborto.

Gráfica #3
 Número de gestaciones en pacientes de estudio realizado en Hospital General de Pachuca Enero- Junio 2016



FUENTE: EXPEDIENTE CLINICO

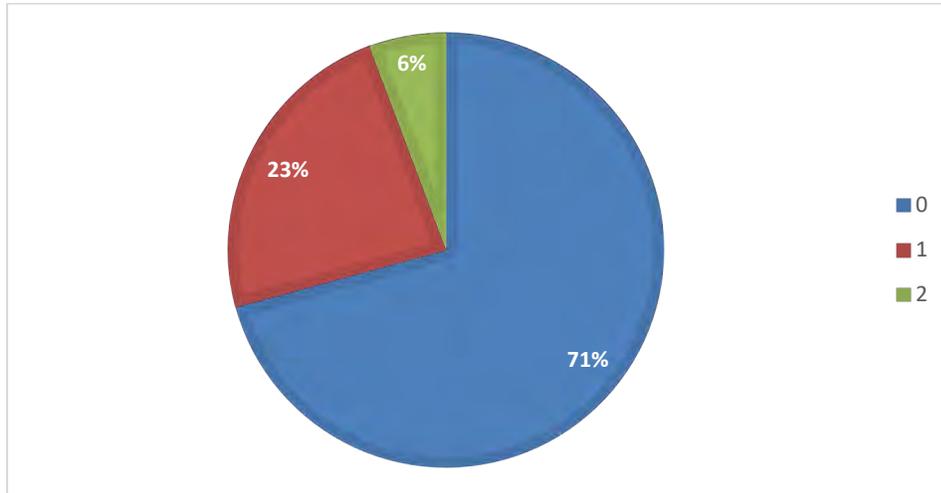
Gráfica #4
 Pacientes embarazadas, de las cuales se presentan los antecedentes de gestaciones previas las cuales se resolvieron por parto, las cuales se incluyeron en el estudio realizado en el Hospital General de Pachuca durante Enero-Junio 2016



FUENTE: ENCUESTA

Gráfica #5

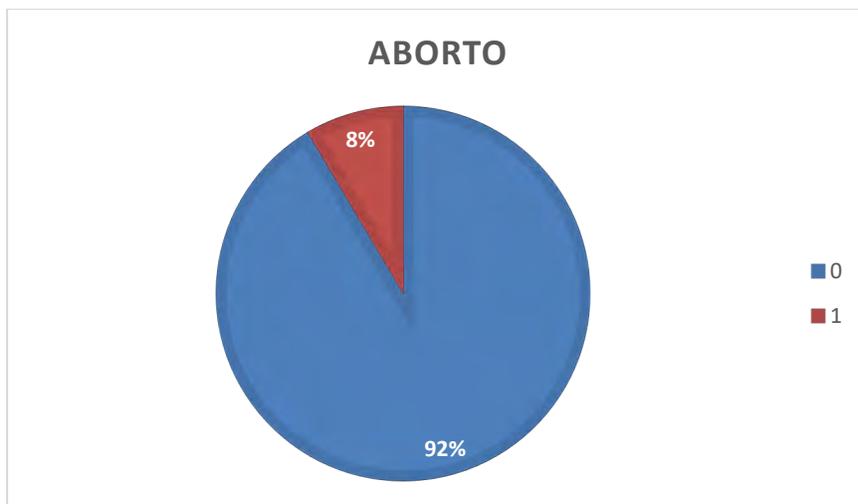
Pacientes embarazadas, de las cuales se presentan los antecedentes de gestaciones previas las cuales se resolvieron vía cesárea, las cuales se incluyeron en el estudio realizado en el Hospital General de Pachuca durante Enero-Junio 2016



FUENTE: ENCUESTA

Gráfica #6

Pacientes embarazadas, de las cuales se presentan los antecedentes de gestaciones previas las cuales contaban con antecedente de aborto previo, las cuales se incluyeron en el estudio realizado en el Hospital General de Pachuca durante Enero-Junio 2016



FUENTE: ENCUESTA

Las variables antropométricas de la población se presentan en las tablas 3 a la 6. Al comparar los grupos de casos contra los controles no se encontraron diferencias significativas entre ellos en ninguno de estos parámetros, aunque en el caso de IMC presentado en la tabla 6 el grupo de los casos está ligeramente más alto con un valor de

28.45 en comparación con el 27.40 observado en el grupo control en ambos casos se considera a la población en el rango de sobrepeso.

Tabla #3

Somatometría de mujeres embarazadas que se incluyeron en estudio realizado en Hospital General de Pachuca en los meses Enero-Junio del 2016

	Media	Valor Mínimo	Valor Máximo	Desviación Estándar
Peso (Kg)	70.78 Kg	58	108	7.015296
Talla (M)	1.59 M	1.42	1.68	0.037294
IMC	27.94 Kg/m ²	22.7	40.6	2.786288

FUENTE: EXPEDIENTE CLINICO

Tabla #4

Comparación de peso entre grupos de pacientes caso y control de estudio realizado en el Hospital General de Pachuca en los meses Enero-Junio del 2016

Grupo	Media	Valor mínimo	Valor máximo	Desviación Estándar
Casos	71.29 Kg	69.06	73.52	8.16
Controles	70.25 Kg	68.68	71.81	5.61
Total	70.78 Kg	69.43	72.13	7.015

FUENTE: ENCUESTA

Tabla #5

Comparación de talla entre grupos de pacientes caso y control de estudio realizado en el Hospital General de Pachuca en los meses Enero-Junio del 2016

Grupo	Media	Valor mínimo	Valor máximo	Desviación estándar
Casos	1.58 M	1.57	1.59	0.03
Controles	1.60 M	1.59	1.60	0.01
Total	1.59 M	1.58	1.60	0.03

FUENTE: EXPEDIENTE CLINICO

Tabla #6

Comparación de IMC entre grupos de pacientes caso y control de estudio realizado en el Hospital General de Pachuca en los meses Enero-Junio del 2016

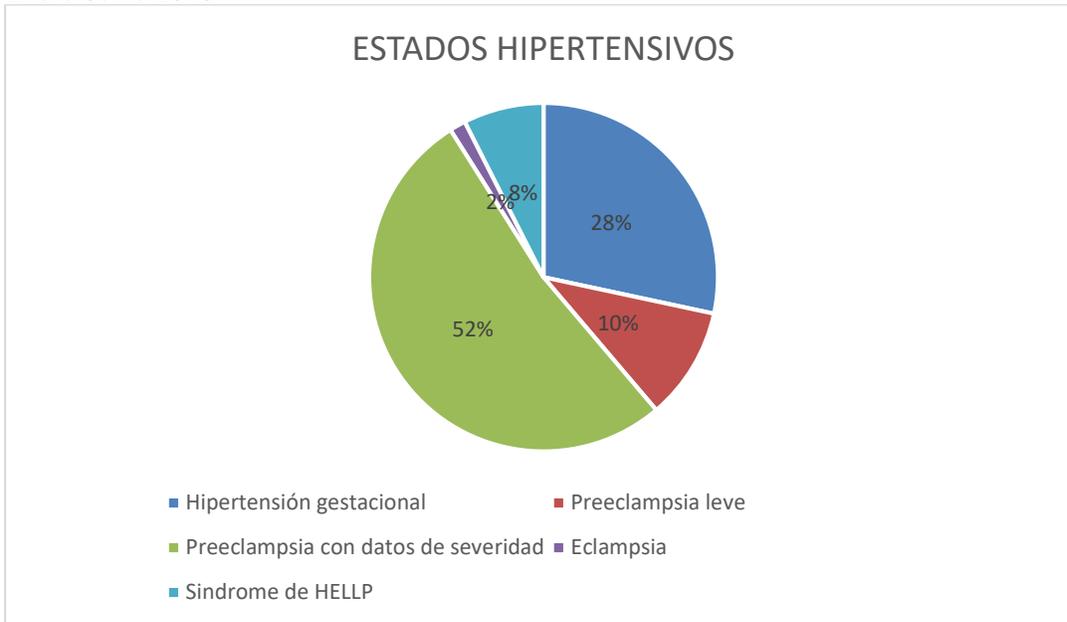
Grupo	Media	Valor mínimo	Valor máximo	Desviación estándar
Casos	28.45 Kg/m ²	27.57	29.34	3.23
Controles	27.40 Kg/m ²	26.81	27.99	2.13
Total	27.94 Kg/m ²	27.40	28.47	2.78

FUENTE: EXPEDIENTE CLINICO

Dentro de las pacientes caso, presentaron los siguientes estados hipertensivos: hipertensión gestacional 28%, preeclampsia 10%, preeclampsia con criterios de severidad 52%, síndrome de HELLP 8% y eclampsia 2%. (Gráfica 7)

Gráfica #7

Pacientes embarazadas que presentaron estados hipertensivos, así como pacientes control sin alteraciones hipertensivas que se incluyeron en estudio realizado en Hospital General de Pachuca durante Enero-Junio 2016



FUENTE: EXPEDIENTE CLINICO

De las pacientes incluidas en el estudio se presentaron las siguientes comorbilidades: 1 paciente que cursaba con un embarazo gemelar, 1 paciente con antecedente de preeclampsia en embarazo anterior y 2 pacientes con diagnóstico previo al embarazo de diabetes mellitus, sin embargo ninguno de estas comorbilidades presentaron significancia estadística, de importancia, para considerarse un factor de riesgo para desarrollo de algún estado hipertensivo en el embarazo.

De acuerdo a la edad gestacional promedio de las pacientes incluidas en el estudio se encontró una media de 36.01 ± 3.49 semanas de gestación para pacientes casos; y una media de 35.32 ± 6.24 semanas de gestación para pacientes control, con valor de ($p=0.4872$), sin ser estadísticamente significativa. Sin embargo llama la atención que, si bien se encuentran embarazos pretérmino, la mayoría de ellos desarrollan preeclampsia durante el tercer trimestre de embarazo. (Tabla 7)

Tabla #7

Comparación de edad gestacional entre grupos de pacientes caso y control de estudio realizado en el Hospital General de Pachuca en los meses Enero-Junio del 2016

Grupo	Media	Valor mínimo	Valor máximo	Desviación estándar
Casos	36.01	35.05	36.96	3.49
Controles	35.32	33.58	37.06	6.24
Total	35.67	34.70	36.64	5.02

FUENTE: EXPEDIENTE CLINICO

Dentro de las características clínicas, al momento de la exploración física las cifras tensionales encontradas en las pacientes caso fueron: media de sistólica de 123.70 ± 23.51 y media de diastólica de 80.47 ± 17.60 (Tabla 8). De acuerdo a cifras tensionales sistólicas se reportaron valores para media de pacientes control de 110.11 mmHg y pacientes caso 136.79 mmHg, con valor de $p=0.0000$, lo cual se encuentra diferencias significativas entre población de riesgo. (Tabla 9)

Se encontraron características clínicas como edema e hiperreflexia en el 26.41% y 20.75% de las pacientes, respectivamente.

Tabla #8

Cifras tensionales en pacientes embarazadas incluidas en el estudio realizado en el Hospital General de Pachuca realizado en Enero-Julio 2016

	Media	Valor mínimo	Valor máximo	Desviación estándar
Sistólica	123.70 mmHg	90	243	23.5125
Diastólica	80.47 mmHg	60	174	17.60531

FUENTE: EXPEDIENTE CLINICO

Tabla #9

Comparación de cifras tensionales sistólicas entre grupos de pacientes caso y control de estudio realizado en el Hospital General de Pachuca en los meses Enero-Junio del 2016

Grupo	Media	Valor mínimo	Valor máximo	Desviación estándar
Casos	136.79 mmHg	130.00	143.59	24.89
Controles	110.11mmHg	107.01	113.22	11.15
Total	123.70 mmHg	119.17	128.23	23.51

FUENTE: EXPEDIENTE CLINICO

Tabla #10

Comparación de cifras tensionales diastólicas entre grupos de pacientes caso y control de estudio realizado en el Hospital General de Pachuca en los meses Enero-Junio del 2016

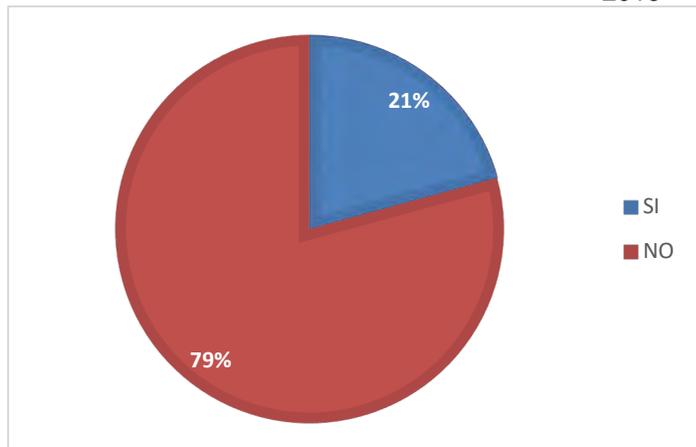
Grupo	Media	Valor mínimo	Valor máximo	Desviación estándar
Casos	89.5	84.21	94.78	19.35
Controles	71.09	68.71	73.47	8.54
Total	80.47	77.08	83.86	17.60

FUENTE: EXPEDIENTE CLINICO

Para apoyo de diagnóstico clínico, bioquímicamente se contó con el recurso de presencia de proteinuria en orina medible con tira reactiva de los cuales únicamente el 21% del total de las pacientes presentaron proteinuria (30 mg/dl). (Gráfica 8)

Gráfica #8

Presencia de proteinuria en orina con tira reactiva (1 + en tira reactiva= 30 mg/dl) en pacientes embarazadas que se incluyeron en estudio realizado en Hospital General de Pachuca de Enero-Junio 2016



FUENTE: EXPEDIENTE CLINICO

Otro criterio diagnóstico de preeclampsia con criterios de severidad, es la proteinuria en orina de 24 horas, estudio que no se realiza de manera cotidiana en el Hospital General de Pachuca, de manera que únicamente las pacientes que cuenten con los recursos económicos para realizarla de manera particular pueden realizarla, por lo que solamente 14 pacientes cuentan con resultados de dicha prueba con resultados de una media de 477.73 ± 142.54 , considerando valores normales por debajo de 150 mg/dl, corroborando así el diagnóstico de dicho estado hipertensivo.

Se obtuvieron posterior a la lectura de laminillas con la prueba estadística Chi², los resultados de apoptosis y de anomalías nucleares, comparando las poblaciones de

casos y controles. Dentro de los cambios celulares compatibles con apoptosis se encontraron: picnosis, células fantasmas, kario y células condensadas. Se obtuvieron valores de células con presencia de cariorrexis, picnosis con valores de $p=0.0177$ y $p=0.0234$ respectivamente, con valores estadísticamente significativos. Así mismo del total de células apoptóticas se obtuvo un valor de $p<0.05$ considerándose estadísticamente significativos en pacientes con presencia de estados hipertensivos, en específico en preeclampsia con criterios de severidad. (Tabla 11)

Tabla #11

Presencia de apoptosis en muestras recolectadas en pacientes control y pacientes caso incluidas en estudio realizado en Hospital General de Pachuca durante el periodo Enero-Junio 2016

	Normal		Condensados		Cariorrexis		Picnóticos		Fantasmas		Apoptosis	
	Control	Caso	Control	Caso	Control	Caso	Control	Caso	Control	Caso	Control	Caso
Media	316.47	302.25	91.97	141.03	571.718	106.62	34.76	74.65	73.41	398.41 1	198.26	249.40
Valor mínimo	248.11	246.75	61.67	113.61	504.264	64.20	27.25	39.43	50.46	338.51 8	160.58	204.44
Valor máximo	384.82	357.74	122.26	168.44	639.172	149.04	42.27	109.87	96.36	458.30 4	235.94	294.36
Desv. Estándar	195.89	153.92	86.82	76.03	187.092	20.79	3.689	17.27	11.28	171.65 3	107.99	124.69
P	0.7451		0.0792		0.0177*		0.0234*		0.158		0.0002*	

*Diferencia estadísticamente significativa con la prueba de Chi2 al comparar casos y controles

Dentro de las anomalías nucleares que se observaron en las muestras con la prueba estadística Chi2, comparando casos y controles; fueron células binucleadas, con valor de $p=0.49$ estadísticamente significativo, contrarios a lo inicialmente propuesto, la presencia de micronúcleos; de los cuales su valor de $P=0.754$, con valores que no resultan estadísticamente significativos. Así mismo el total de anomalías nucleares en conjunto obtenidos de las muestras de las pacientes, se obtiene una $P=0.049$ con valor estadísticamente significativo. (Tabla 12)

Tabla #12

Presencia de anomalías nucleares en muestras recolectadas en pacientes control y pacientes caso incluidas en estudio realizado en Hospital General de Pachuca durante el periodo Enero-Junio 2016

	Micronúcleos		Puente		Bulki		Binúcleos		Anormalidades nucleares	
	Control	Caso	Control	Caso	Control	Caso	Control	Caso	Control	Caso
Media	1.5	1.718	0.117	0.156	0.888	0.375	4.058	7.625	5.764	9.875
Valor mínimo	0.359	0.898	0.025	0.005	0.043	0.048	1.787	4.719	2.989	8.540
Valor máximo	2.640	2.539	0.260	0.317	0.220	0.701	6.329	10.530	8.540	13.193
Desviación estándar	3.268	2.275	0.409	0.447	0.378	0.906	6.508	8.059	7.954	9.202
P	0.754		0.715		0.095		0.049*		0.049*	

*Diferencia estadísticamente significativa con la prueba de Chi2 al comparar casos y controles

FUENTE: EXPEDIENTE CLINICO

Para estudiar la probabilidad o riesgo de presentar preeclampsia, se realizó un análisis de regresión logística, tomando como referencia la razón de momios ajustada, con un intervalo de confianza del 95%. Este análisis se realizó en la población de estudio. Se encontraron como factor protector la primiparidad, conociendo que a mayor número de gestas, mayor riesgo de desarrollar preeclampsia en embarazos posteriores. Las variables como edad, incluso el sobrepeso se encuentran como factor de riesgo para desarrollo de preeclampsia, con una razón de momios de 1 y 1.2 respectivamente. (Tabla

13)

Tabla #13

Proporción de presencia de anomalías nucleares, razón de momios ajustada de acuerdo con las variables de estudio realizado en Hospital General de Pachuca durante el periodo Enero-Junio 2016

Variable	Total de pacientes	Razón de momios ajustada	IC de confianza (95%)
Edad		1	0.855- 1.065
15-25	60		
26-35	38		
36-45	8		
Gestas		0.50	0.199- 1.020
1	54		
2	30		
3	15		
4	2		
5	5		
IMC		1.2	0.906 - 1.544
Normal	12		
Sobrepeso	76		
Obesidad Grado I	16		
Obesidad Grado II	1		
Obesidad Grado III	1		
Anormalidades nucleares		1.1	0.980-1.116
Casos	32		
Control	34		

FUENTE: EXPEDIENTE CLINICO

IX.- Discusión

El daño cromosómico puede ser medible de acuerdo con Fenech a base del modelo de Micronúcleos, puede utilizarse la técnica de bloqueo durante el proceso de citocinesis que utiliza citocalasina-B, que inhibe la polimerización de actina; permitiendo que dichas células fueran reconocidas por su apariencia binucleada, permitiendo realizar pruebas de genotoxicidad in vitro y corroborar alteraciones celulares, así como pacientes control no expuestos. Estas muestras celulares provenientes de células epiteliales bucales, nasales y uroteliales de individuos sanos; que posteriormente fueron expuestas a genotóxicos y como resultado contienen un gran número de células degeneradas. Esto es medible en dos poblaciones: la primera considerándose sana, y la segunda expuesta a algún factor genotóxico, en esta tesis las pacientes caso se consideran pacientes con algún estado hipertensivo en el embarazo, de distintos grados de severidad. Se consideran estos factores estrés oxidativo. (Fenech et al, 2013)

De acuerdo con la revisión realizada por Toljic, presenta una asociación entre el estrés oxidativo, que es causado por una alteración en la regulación de aumento en la producción y una disminución de eliminación de las especies reactivas del oxígeno, que representan un papel importante en la fisiopatología de la hiperglucemia y la hipertensión. La hiperglucemia aumenta el estrés oxidativo a través de varios mecanismos moleculares, como la autooxidación y la betaoxidación de la glucosa, con el aumento de la producción de especies reactivas de oxígeno en las mitocondrias. La hipertensión arterial también se asocia con una mayor generación de especies reactivas de oxígeno. (Toljic et al 2017)

El estrés oxidativo induce daño a los lípidos de las membranas celulares, proteínas y ADN. Distintos marcadores de inflamación se conocen en la patogenia de la preeclampsia: malondialdehído (MDA), prostaglandinas F2alfa, factor de necrosis tumoral alfa e interleucina 6 IL-6. El MDA se forma por la peroxidación lipídica de ácidos grasos insaturados y es un marcador de la degradación oxidativa de la membrana celular, inducidas por radicales libres, por lo que ha sido ampliamente utilizado como biomarcador del estrés oxidativo. Varios estudios han demostrado que el MDA está elevadas en

pacientes con diabetes mellitus e hipertensión arterial. El estrés oxidativo, causa bien conocida de daño en el ADN e inestabilidad del genoma, puede conducir a reordenamientos cromosómicos.

De acuerdo a los resultados obtenidos en relación a micronúcleos, en ambas poblaciones se determinó que no existen diferencias significativas entre ambos grupos, esto puede ser consecuencia: que el tejido epitelial o cantidad de muestra no es suficiente para el análisis; o que no existe daño del tejido por no cursar con la patología hipertensiva (pacientes control).

La presencia de células binucleadas comúnmente se encuentran en especies animales desde nematodos, hasta mamíferos, encontrándose con mayor frecuencia en epitelio trofoectodérmico placentario. En los humanos se han encontrado células binucleadas en el hígado, glándulas salivales y en el endometrio, sin embargo su función aún no está completamente estudiada. Recientemente se ha asociado la presencia de células binucleadas en el hígado que participan en su crecimiento. Grizzi (2006), durante su revisión de presencia de células binucleadas en el hígado, concluyó que la concentración de hepatocitos binucleados aumenta en los estados de inflamación (Hepatitis B), así mismo se observó un aumento en la cantidad de hepatocitos binucleados en procesos crónicos como cirrosis; lo cual confirma los resultados obtenidos en este estudio, que a mayor exposición celular a procesos inflamatorios u oxidativos se genera un daño celular lo que se representa con células binucleadas. (Grizzi 2006)

Dentro de los resultados obtenidos en la realización de este estudio, se encuentra relación de anormalidades nucleares, específicamente células binucleadas encontradas en aumento en pacientes con presencia de datos hipertensivos, así mismo se encontró en todas las pacientes con estados hipertensivos de severidad aumento en apoptosis celular, lo que concuerda con Toljic (2017) que asocia el aumento de estrés oxidativo con la muerte celular y daño cromosómico de ADN, propiamente considerado el estado hipertensivo como estrés, desencadenando los mecanismos propios que inducen a liberación de sustancias inflamatorias. La presencia de células binucleadas, podrían ser

un marcador importante de falla en la citoquinesis causada por una frecuencia anormalmente elevada de aneuploidia.

El hallazgo de células apoptóticas en pacientes caso, con diagnóstico de preeclampsia con criterios de severidad, dentro de los resultados; se confirma con los hallazgos propuestos por Rodríguez et, al 2012, en donde se expone de manera detallada la presencia de unas sustancias llamadas microfragmentos de sinciotrofoblasto (STBM), las cuales alteran el comportamiento de los macrófagos y condicionan un estado proinflamatorio por activación de neutrófilos y alterar el funcionamiento de células endoteliales, todo esto secundario a la hipoxia placentaria, que caracteriza a este estado hipertensivo; generando así un mayor número de células apoptóticas, superando el mecanismo de degradación de estas células, por lo que aumenta su concentración tanto sérica como en distintos tejidos.

Podría considerarse un factor de riesgo la presencia de estas células para desarrollar complicaciones en el feto, ya que la asociación con apoptosis celular en preeclampsia con criterios de severidad se ha asociado con alto riesgo de restricción de crecimiento intrauterino (Sharp et al. 2014); incluso se podría considerar la presencia de estas alteraciones nucleares como factor predictor para desarrollo de preeclampsia o de complicaciones fetales, sin embargo se necesita continuar con estudios para corroborarlo.

De acuerdo a Jasovic-Siveska (2011) notificaron que hasta el 85 % de los casos de preeclampsia se presentan en pacientes nulíparas, siendo de 6 a 8 veces más susceptibles que las multíparas. No se ha descrito el mecanismo por el cual ocurre, sin embargo se presume que durante el primer embarazo se inicia una reacción inmunológica aberrante en la primera exposición a antígenos paternos y fetales extraños a la placenta, que contribuye al desarrollo de preeclampsia.

La unidad fetoplacentaria contiene antígenos paternos que son extraños para la madre huésped, y dichos antígenos serían los responsables de desencadenar todo el proceso inmunológico que provocaría el daño vascular, lo que provocaría el desarrollo de la

enfermedad. Durante el primer embarazo se pondría en marcha todo este mecanismo inmunológico y surgiría la preeclampsia; sin embargo con gestaciones posterior puede desarrollarse el fenómeno de tolerancia inmunológica, que evitará que la enfermedad, siempre que se mantenga el mismo compañero sexual. De modo contrario el efecto protector de la multiparidad se pierde si existe un nuevo compañero sexual. El fenómeno de tolerancia inmunológica disminuye con el tiempo y aproximadamente 10 años después de una primera gestación, la mujer ha perdido la protección que le confiere esta. (Cruz Hernández, et al 2007)

Con los resultados obtenidos en el análisis estadístico se corrobora que la multiparidad es un factor protector contra el desarrollo de preeclampsia coincidiendo con lo reportado en la literatura, comparado con las pacientes nulíparas.

X.-Conclusiones

No se encontró asociación entre la hipertensión gestacional, la preeclampsia y la eclampsia con el incremento de la frecuencia de células micronucleadas como un biomarcador de daño genotóxico.

El estado hipertensivo, preeclampsia con criterios de severidad, es un estado inflamatorio, que por aumento de radicales libres secundario al estrés oxidativo y otros mediadores de inflamación propician el daño cromosómico; considerando el principal hallazgo el incremento en la frecuencia de células binucleadas como biomarcador de daño a nivel de citocinesis, lo que se corrobora con los resultados de este estudio.

Los micronúcleos y las células binucleadas, reflejan el daño al ADN y el efecto genotóxico ocurrido en las células de la capa basal del tejido de las mucosas, los cuales migran hacia la capa epitelial y son detectados en las células exfoliadas en el transcurso de las siguientes tres semanas. El estudio de citoma uno de los ensayos genéticos más utilizado como un indicador de genotoxicidad in vivo, no invasivo y con resultados fehacientes. (Gómez Mireles, et al 2015)

Podemos concluir que con los resultados de este estudio se contesta de manera afirmativa la pregunta de investigación, con el modelo de citoma fue posible la evaluación de daño cromosómico, no se encontraron micronúcleos como anomalías nucleares, sino células binucleadas como biomarcador de daño genotóxico. De acuerdo con las revisiones realizadas, podemos concluir que las células binucleadas se encuentran como consecuencia de exposición a procesos crónicos de inflamación, así como a exposición de metabolitos secundarios a la producción de radicales libres durante la fisiopatología de la preeclampsia.

Se confirma el incremento apoptosis celular en pacientes con mayor gravedad de estado hipertensivo, es decir, preeclampsia con criterios de severidad, lo cual se explica de modo que a mayor estrés oxidativo, mayor liberación de radicales libres que es sometida una paciente; mayor será el daño celular que presente, pudiéndose considerar el hallazgo de

estas células un factor predictor en pacientes embarazadas que aún no desarrollan sintomatología hipertensiva, o se encuentran en espera de resultados bioquímicos para clasificación de estado hipertensivo; asimismo, en pacientes con factores de riesgo para desarrollar enfermedad hipertensiva (Diabetes mellitus, preeclampsia en embarazo previo, obesidad, edad materna avanzada).

Se corrobora la obesidad como factor de riesgo para desarrollo de preeclampsia, ya que con el resultado del valor de la media se encuentran las pacientes de acuerdo a IMC dentro del grupo de sobrepeso, dicho estado condiciona un estado de mayor liberación de radicales libres por la peroxidación lipídica de ácidos grasos insaturados, propiciando así mayor estado de estrés oxidativo aumentando el riesgo de desarrollo de enfermedad hipertensiva en el embarazo. En el estudio realizado se reporta la multiparidad como factor protector.

XI.- Recomendaciones

Una vez concluido este estudio se hacen las siguientes recomendaciones, con el fin de la mejora continua y a su vez para obtener mejores resultados:

- Capacitar a personal para adecuada toma de muestras, para evitar muestras con poco material y a su vez con poca celularidad.
- Aumentar tamaño de la muestra, respecto a población de casos; específicamente pacientes con diagnóstico de eclampsia y síndrome de HELLP, para corroborar presencia de células binucleadas como marcador de daño cromosómico.
- Dentro del aumento de tamaño de muestra, incluir mayor número dentro de población en este caso: eclampsia y síndrome de HELLP para valorar si a mayor grado de severidad se presenta alteraciones cromosómicas, que demuestren daño genotóxico; células binucleadas y así se reporten datos fehacientes.
- Continuar con estudio de citoma de micronúcleos, pudiendo utilizar células epiteliales de orina, con la finalidad de considerar el hallazgo de estas células un factor predictor de desarrollo de preeclampsia en pacientes que presenten algún factor de riesgo.
- Iniciar el estudio de citoma de micronúcleos desde el primer trimestre en pacientes con factores de riesgo para desarrollo de preeclampsia, así mismo de manera seriada nuevas tomas durante el segundo y tercer trimestre de embarazo, aún sin la presencia de sintomatología o sin realizar el diagnóstico, para valorar la presencia de anormalidades nucleares como factores predictores de preeclampsia.

XII. – Bibliografía

- 1.- Jido T A, Yakasai I A. Preeclampsia: A review of the evidence. *Ann Afr Med* [Internet] [Consultado Febrero 2016] 2013; 12:75-85 Disponible en: <http://www.annalsfrmed.org/article.asp?issn=1596-3519;year=2013;volume=12;issue=2;spage=75;epage=85;aui=Jido>
- 2.- Bolognesi C., Knasmuller S., Nersesyanyan A., Thomas P., Fenech M. (2013) The HUMN scoring criteria for different cell types and nuclear anomalies in the buccal micronucleus cytome assay- An update and expanded photogallery. *Mutation Research* 753:100-113.
- 3.- Decordier I., De Bont K., De Bock K., Mateuca R., Roelants M., Ciardelli R., Haumont D., Knudsen L., Kirsch-Volders M. (2007) Genetic susceptibility of newborn daughters to oxidative stress. *Toxicology Letters* 172:68-84.
- 4.- Fenech M., Kirsh-Volders M., Rossnerova A., Sram R., Romm H., Bolognesi C., Ramakumar A., Soussaline F., Schunck C., Elhajouji A., Anwar W., Bonassi S. (2013) HUMN project initiative and review of validation, quality control and prospectes for further development of automated micronucleus assays using image citometry systems. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 216:541-552.
- 5.- Furness D., Dekker G., Hauge W., Khong T., Fenech M. (2010) Increased lymphocyte micronucleus frequency in early pregnancy is associated prospectively with pre-eclampsia and or intrauterine growth restriction. *Mutagenesis* 25(5): 489-498.
- 6.- Garcia P., Linhares D., Amaral A., Rodrigues A. (2012) Exposure of thermoelectric power-plant workers to volatile organic compounds from fuel oil: Genotoxic and cytotoxic effects in buccal epithelial cells. *Mutation Research* 747:197-201.
- 7.- Goldenberg R., McClure M., Macguire E. (2011) Lessons for low-income regions following the reduction in hypertension-related maternal mortality in high-income countries. *International Journal of Gynaecology Obstetrics* 113(2): 91–95.
- 8.- Hilali N., Kycyigit A., Demir M., Gamuzcuoglu A., Incebiyik A., Camuzcuoglu H., Vural M., Taskin A.(2013) DNA damage and oxidative stress in patients with mild preeclampsia and offspring. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 170:337-380.
- 9.- Holland N., Bolognesi C., Kirsh-Volders M., Bonassi S., Zeiger E., Knasmuller S., Fenech M. (2008) The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: The HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. *Mutation Research* 659:93-108.

- 10.- Lazalde- Ramos B., Zamora-Pérez A., Sosa-Macias M., Guerrero-Velázquez C., Zúñiga-González M. (2012) DNA and oxidative damages decrease after ingestion of folic acid in patients with Type 2 Diabetes. *Archives of Medical Research* 43 (6): 476-481.
- 11.- Majer V., Lahy B., Knasmulles S., Kassie F. (2001) Use of the micronucleus assay with exfoliated epithelial cells as a biomarker for monitoring individuals at elevated risk of genetic damage and in chemoprevention trials. *Mutation Research* 489:147-172.
- 12.- Mol B., Roberts C., Thagaratinam S., Magee L., Groot C., Hofneyr. (2015) Preeclampsia. The Robinson Research Institute, School of Pediatrics and Reproductive Health, University of Adelaide, Australia. Publication on line: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)00070-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00070-7).
13. - Secretaría de Salud (2008). Atención integral de la preeclampsia en el segundo y tercer nivel de atención. Editorial Secretaría de Salud. Ciudad de México, México.
14. - Secretaría de Salud (2007). Prevención, diagnóstico y manejo y manejo de la preeclampsia- eclampsia lineamiento técnico. 4° Edición. Editorial Secretaría de Salud. Ciudad de México, México. pp 9-59.
- 15.- Secretaria de Salud (2008) Prevención, diagnóstico y tratamiento de la preeclampsia en segundo y tercer nivel de atención Evidencias y Recomendaciones Catálogo Maestro de Guías de Práctica Clínica: IMSS-020-08. Actualización 2017
- 16.- Hernández J., Espino S., Estrada A., Nares-Torices M., Ortega V., Mendoza-Calderón S., Ramírez C. Instrumentos de la Guía de Práctica Clínica. Diagnóstico y Tratamiento de la preeclampsia y eclampsia en el embarazo, parto y puerperio. *Perinatol Reprod Hum [Internet]* 2013 [Consultado Enero 2016] 27 (4): 262-280. Disponible en <http://www.medigraphic.com/pdfs/inper/ip-2013/ip134i.pdf>
- 17.- Shaik N., Shaik J., Ali S., Imran A., Rao D. (2010) Increased frequency of micronuclei in diabetes mellitus patients using pioglitazone and glimepiride in combination. *Food and Chemical Toxicology* 48: 3432-3435.
- 18.- Zalacain, L. Sierrasesúmaga, L. Patiño A. El ensayo de micronúcleos como medida de inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos. *An. Sist. Sanit. Navar.* 2005; 28 (2): 227-236
- 19.- Toljic, A. Amira Egic, B. Jelena Munjas, D. Karadzov, O. Zagorka, M., Radenkovic, A. Vuceljic, C. Increased oxidative stress and cytokinesis-block micronucleus cytome assay parameters in pregnant women with gestational diabetes mellitus and gestational arterial hypertension. *Reproductive Toxicology* 71 (2017) 55–62.

- 20.- Sharp, A., Heazell, A. Baczyk, D. Dunk, C. Lacey, H. Jones, C. Perkins, J. Kingdom, J. Preeclampsia Is Associated with Alterations in the p53-Pathway in Villous Trophoblast. PLOS ONE 9(1): e87621. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087621>
- 21.- Valdés Yong, M. Hernández Núñez, J. Factores de riesgo para preeclampsia. Revista Cubana de Medicina Militar, 2014 43(3), 307-316. Recuperado en 24 de Junio de 2018, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572014000300005&lng=es&tlng=es.
- 22.- Secretaria de Salud. Informes Semanales para la Vigilancia Epidemiológica de Muertes Maternas 2017 - Sem. Epidemiológica 52 <https://www.gob.mx/salud/documentos/informes-semanales-para-la-vigilancia-epidemiologica-de-muertes-maternas-2017-sem-epidemiologica-52>
- 23.- Rodríguez, M. Egaña, G. Márquez, R. Bachmann, M. Soto, A. Preeclampsia: mediadores moleculares del daño placentario REV CHIL OBSTET GINECOL 2012; 77(1): 72 – 78
- 24.- Grizzi, F. Chiriva-Internati, M. Human binucleate hepatocytes: Are they a defence during chronic liver diseases? Medical Hypotheses (2007) 69 258–261
- 25.- Gómez Carbajal, L. Actualización en la fisiopatología de la preeclampsia. Rev Peruana Ginecología 60 no.4 323-331
- 27.- Cardoso, K. Alves da Silva, C. Kristine de Oliveira, V. Marlei, J. Assessment of genetic damage of mouthwashes by buccal micronucleus cytome assay: a preliminary study. R. Eletr. Cient. Uergs, Porto Alegre, v.2, n.3, p.267–275 : <https://www.researchgate.net/publication/314153398>
- 28.- Mihua, D. Razvan, C. Malutan, A. Mihaela, C. Evaluation of maternal systemic inflammatory response in preeclampsia. 2015, Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology 54 (2015) 160-166.
- 29.- Cruz Hernández, J. Hernández García, P. Yanes Quesada, M. Isla Valdés, A. Factores de riesgo de preeclampsia: enfoque inmunoendocrino. 2007 Parte I. *Revista Cubana de Medicina General Integral*, 23(4) Recuperado en 25 de Julio de 2018, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252007000400012&lng=es&tlng=es.
- 30.- Vakifahmetoglu H, Olsson M, Zhivotovsky B. Death through a tragedy: mitotic catastrophe. Cell Death and Differentiation. 2008 Jul 11;15(7):1153–62.

31.- Holland N, Bolognesi C, Kirsch-Volders M. The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: the HUMAN project perspective on current status and knowledge gaps. *Mutant Res.* 2008; 659: 93-108

32.- Torres-Bugarín, O. Ramos-Ibarra, M. Utilidad de la prueba de micronúcleos y anormalidades nucleares en células exfoliadas de mucosa oral en la evaluación de daño genotóxico y citotóxico. *Int. J. Morphol.* (2013) 31(2):650-657.

XIII.- ANEXOS

Hospital General de Pachuca
 Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo
 Especialidad de Gineco-obstetricia
 Anexo # 1

Nombre _____ No. de Expediente _____ Folio _____

Variable	Escala de medición	Respuesta
Edad	Edad en años	
Estado civil	1.Soltera 2.Casada 3.Viuda 4.Divorciada 5.Unión libre	
Escolaridad	Cualitativa categórica 1. Analfabeta 2. Primaria incompleta 3.primara completa 4. Secundaria incompleta 5.secundaria completa 6. Bachillerato incompleto 7. Bachillerato completo 8. Carrera técnica 9. Licenciatura incompleta 10. Licenciatura 11. Posgrado	
Antecedentes ginecológicos	1. No. De gestas	
	2. No. Partos	
	3. No. de Cesariás	
	4. No. Abortos	
Peso	Kg	
Talla	Metros	
Índice de masa corporal	Kg de peso/ m ² de estatura	
Tiempo de embarazo	Tiempo expresado en semanas	
Tensión arterial	mm/Hg	
Hipertensión gestacional	1.Si 2.No	
Crisis hipertensiva	1.Si 2.No	
Proteinuria	(30 mg/dl=1 en tira reactiva) 1.Si 2.No	
Proteinuria en orina de 24 horas	mg de proteínas excretados en 24 h	
Crisis convulsiva	1.Si 2.No	
Edema de miembros inferiores	1.Si 2.No	
Hiperreflexia	1. Si 2. No	
Preeclampsia	Cualitativa categórica 1. Normal 2. Preeclampsia leve 3. Preeclampsia severa	
Eclampsia	1.Si 2.No	
Hipertensión previa al embarazo	1.Si 2.No	
Embarazo múltiple	1.Si 2.No	
Antecedente de preeclampsia-eclampsia en embarazos previos	1.Si 2.No	
Diabetes mellitus tipo 2	1.Si 2.No	

Para la lectura de las muestras de células epiteliales se usará:

Anexo # 2

Micronúcleos	Frecuencia de células epiteliales diferenciadas que presente un micronúcleo en 1000 células	
Anormalidades nucleares	Frecuencia de células diferenciadas con bulto nuclear y células binucleadas en 1000 células	
Apoptosis	Cuantificar en 1000 células la frecuencia de células clasificadas de acuerdo a la morfología nuclear en: 1. Célula basal 2. Célula diferenciada normal 3. Célula apoptótica con picnocitosis (núcleo altamente condensado e hipercromático) 4. Célula apoptótica con condensación de cromatina (núcleo con patrón de tinción rayado) 5. Célula apoptótica con cariorrhexis (núcleo vacuolizado) 6. Célula con cariólisis (sin núcleo).	

Anexo # 3

Carta de Consentimiento Informado

Nombre del Proyecto: Micronúcleos en células epiteliales como biomarcador de preeclampsia-eclampsia de madres hospitalizadas en el Hospital General Pachuca.

Consentimiento Informado

La Dra. Shamayra Sauz Hernández, la cual me está leyendo esta hoja, me está dando a conocer que se va a realizar una investigación aquí en el Hospital General de Pachuca, me explica que la pre-eclampsia y la eclampsia son enfermedades que se presentan en el embarazo y se caracterizan por tener presión alta, siendo de alto riesgo para la madre y el bebé.

Propósito

El propósito de este estudio es conocer si esta enfermedad se relaciona con el incremento de daño en el DNA de las células, en donde se pretende determinar si la preeclampsia leve, severa y la eclampsia influyen en el daño observable en las células epiteliales de la boca.

Beneficios

Me explica la Dra. Shamayra Sauz Hernández, que no tendré un beneficio directo con mi participación en el estudio, sin embargo, con los datos obtenidos, y que serán usados para la generación del conocimiento científico. Me queda claro que yo de manera directa no tendré ningún beneficio al participar en esta investigación.

Procedimiento

Para poder participar en el estudio, permitiré el acceso a mi expediente clínico del cual se obtendrán datos clínicos, así como la toma de muestra de células de la cavidad oral, que es una técnica indolora que no necesita de punción y se reduce a un raspado con abatelenguas estéril de la cara interior de la mejilla, para su posterior tinción análisis.

Riesgos o molestias

Me han explicado que los riesgos son mínimos, lo máximo que puede pasarme es una muy leve escoriación en donde se me realice el raspado, me han mencionado que no me tomarán ningún estudio de laboratorio, no me realizarán estudios de rayos X, ni me pedirán que realice algún tipo de ejercicio, me explican que con un abatelenguas realizarán un raspado dentro de la boca en la parte interior de la mejilla, este raspado es superficial, por lo que no produce sangrado ni lesiones iniciales o posteriores a la muestra.

Confidencialidad

Me han explicado que, de aceptar participar en el estudio, los documentos que se llenen sí aparecerá mi nombre, pero que, sin embargo, en el análisis sólo se utilizará una clave de identificación, mi nombre no será usado en ningún reporte de publicación al obtener los resultados de este estudio.

Mis derechos como participante

Si Durante el curso de este estudio tengo dudas con respecto a la investigación yo puedo contactar a la Dra. Ma. del Carmen Alejandra Hernández Ceruelos a los teléfonos 5539281779 ó 7172000 Ext. 4308.

Participación voluntaria

Mi participación en este estudio es totalmente voluntaria, nadie me está obligando o ejerciendo alguna presión para que entre en el estudio y si ya hubiera aceptado participar, pero de último momento me arrepiento, se lo haré a dar a conocer a los investigadores responsables del estudio para que no tomen la información que yo les he dado, y que la atención que me brindan en el Hospital General de Pachuca seguirá siendo con la misma calidad y atención que me merezco.

Consentimiento voluntario

Me han leído cuidadosamente en qué consiste el estudio y me queda claro mi participación, todas las dudas que tengo ahora han sido aclaradas por la Dra. Shamayra Sauz Hernández y por la Dra. Ma. Del Carmen Alejandra Hernández Ceruelos, asimismo si en el futuro tengo más dudas, los investigadores aclararan todas mis posibles dudas o preguntas. Me ha quedado claro que soy libre de abandonar el estudio en cualquier momento, sin problema alguno en la atención en el Hospital General de Pachuca.

Yo el Sr. (Sra.) _____ acepto participar libre y voluntariamente en este estudio.

Firma _____ Fecha _____

Testigo 1

Testigo 2

Nombre _____

Nombre _____

Firma _____

Firma _____

Investigadores

Dra. Ma. del Carmen Alejandra Hernández

Ceruelos

Área Académica de Medicina

Instituto de Ciencias de la Salud

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Cubículo E 5ª Etapa del ICSa

Ex hacienda la Concepción s/n Camino a

Tilcuautla.San Agustín Tlaxiaca, Hgo. C.P.

42160

XXX

Residente de Especialidad en Ginecología y

Obstetricia Dra. Shamayra Sauz Hernández