

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA PREVENTIVA Y SALUD PÚBLICA
(HISTORIA DE LA CIENCIA)



TESIS DOCTORAL

Efecto del ácido fólico sobre la incidencia de trastornos hipertensivos en el embarazo del Hospital Universitario de Monterrey, Nuevo León, México

PRESENTADA POR
Hilda Cristina Ochoa Bayona

Directores

María Elisa Calle Purón
Javier Valero de Bernabé

Madrid, 2015

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA PREVENTIVA Y SALUD PÚBLICA
(HISTORIA DE LA CIENCIA)



**EFFECTO DEL ACIDO FÓLICO SOBRE LA
INCIDENCIA DE TRASTORNOS HIPERTENSIVOS
EN EL EMBARAZO DEL HOSPITAL
UNIVERSITARIO DE MONTERREY, NUEVO
LEON, MÉXICO**

TESIS DOCTORAL

Hilda Cristina Ochoa Bayona

Dirección: María Elisa Calle Purón
Javier Valero de Bernabé

Madrid, 2015

AGRADECIMIENTOS

*a la Prof^a. **María Elisa Calle Purón**, Directora de esta Tesis, por su esfuerzo, perseverancia y paciencia y por el enorme interés mostrado en el desarrollo y revisión de este trabajo de investigación*

*al Dr. **Javier Valero De Bernabé**, codirector de esta Tesis, que ha hecho posible su realización*

*al Dr. Med **Santos Guzmán López**, Director de la Facultad de Medicina y Jefe del Departamento de Anatomía Humana de la Facultad de Medicina de la UANL, por facilitarme la realización del doctorado*

*al **Departamento de Ginecología y Obstetricia** del Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González de la UANL y, en especial a su jefe, Dr. **Donato Saldívar Rodríguez**, por apoyarme y permitir la conducción de este proyecto de investigación*

*a la Dra. **Laura Elia Martínez de Villarreal**, Jefa del Departamento de Genética del Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González de la UANL, por permitirme llevar a cabo todo el análisis de muestras y, sobre todo, por compartir su experiencia como Investigadora*

*a la Dra. Med **Graciela Irma Martínez Támez**, Jefa del Departamento de Medicina Preventiva de la Facultad de Medicina de la UANL, por su dedicación y experimentada enseñanza*

*al Dr. **Iván Hernández De León**, Profesor del Departamento de Ginecología y Obstetricia del Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González de la UANL, y al Dr. **Neri A. Álvarez Villalobos**, Coordinador de Apoyo en Estadística Médica, Subdirección de Investigación de la Facultad de Medicina de la UANL, por su apoyo en la redacción y análisis estadístico*

*a todos **mis compañeros**, con los cuales he compartido todas mis alegrías y mis penas desde el inicio de este proyecto de investigación*

DEDICATORIA:

*a mis padres, **José Luis y Magdalena**,
su manera de afrontar la vida me ha contagiado de optimismo y
pasión por vivirla. Gracias por siempre estar a mi lado*

*a mi esposo, **Abel**,
y a mis hijos, **Abel y Aldo**,
son la razón y la alegría de mi vida, lo que más quiero; ellos me han dado la
fuerza para llevar a cabo este proyecto de Investigación*

ÍNDICE

ABREVIATURAS	<i>viii</i>
INTRODUCCIÓN	1
ESTADOS HIPERTENSIVOS DEL EMBARAZO	2
<i>Historia</i>	2
<i>Epidemiología</i>	3
<i>Definiciones</i>	5
1. Hipertensión Crónica	6
2. Hipertensión Gestacional	6
3. Preeclampsia	7
<i>Factores de Riesgo</i>	7
FORMA APROPIADA DE TOMA DE PRESIÓN ARTERIAL	8
COMPLICACIONES A LARGO PLAZO DE LOS TRASTORNOS HIPERTENSIVOS DEL EMBARAZO	9
MARCADORES DIAGNÓSTICOS PARA PREECLAMPSIA	9
MEDIDAS PREVENTIVAS RELACIONADAS CON LA PREECLAMPSIA	10
FISIOPATOLOGÍA	12
1. <i>Placentación Atípica</i>	12
2. <i>Niveles de Homocisteína como Predictores</i>	17
3. <i>Ingesta de Folatos Durante el Embarazo</i>	21
JUSTIFICACIÓN	25
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	27
MATERIAL Y MÉTODOS	30
PACIENTES	31
<i>Distribución de las Pacientes</i>	31
MÉTODOS	31
<i>Diseño del Estudio</i>	31
<i>Control Prenatal</i>	31
Primera Consulta	31
Visitas Subsecuentes	32

Nacimiento	32
<i>Definición de Variables</i>	32
<i>Criterios de Inclusión</i>	34
<i>Criterios de No Inclusión</i>	34
<i>Criterios de Exclusión</i>	35
<i>Método Analítico</i>	35
Complemento de Ácido Fólico	35
Medición de Folatos, Homocisteína y Polimorfismo de la MTHFR	35
<i>Determinación del Tamaño de la Muestra</i>	40
<i>Consideraciones Éticas</i>	40
<i>Método Estadístico</i>	41
Análisis Descriptivo	41
Análisis Univariado Comparativo de Factores de Riesgo para Trastorno Hipertensivo del Embarazo entre los Grupos Divididos por Dosis de Ácido Fólico	41
Estudio de las Variables Independientes con cada una de las Variables Dependientes	41
ANEXO 1: HOJA DE REGISTRO DE ÁCIDO FÓLICO	44
ANEXO 2: PROTOCOLO ÁCIDO FÓLICO PREECLAMPSIA	45
ANEXO 3: CONSENTIMIENTO INFORMADO	49
RESULTADOS	52
ESTUDIO DESCRIPTIVO	53
<i>Características de la Población</i>	53
<i>Fin de la Gestación y Datos Perinatales</i>	62
ESTUDIO ANALÍTICO	62
<i>Análisis Univariado</i>	62
Análisis Univariado para Enfermedad Hipertensiva Gestacional	62
Análisis Univariado de la Variable Preeclampsia	71

DISCUSIÓN	77
<i>Ácido Fólico, Homocisteína y Vitamina B12 como Predictores</i>	79
<i>Papel del Ácido Fólico</i>	80
<i>Asociación de la Mutación de la MTHFR con el Desarrollo de Trastornos Hipertensivos del Embrazo</i>	82
<i>Limitaciones</i>	82
CONCLUSIONES	84
RESUMEN	87
SUMMARY	96
REFERENCIAS	105

ABREVIATURAS

ACOS:	Anticonceptivos hormonales
ADN:	Ácido desoxirribonucleico
ACOG:	Colegio Americano de Ginecología y Obstetricia
C677T:	Polimorfismo de la mutación de la enzima tetrahidrofolatorreductasa
DIU:	Dispositivo intrauterino
DOC:	Detección oportuna de cáncer cervicouterino
DTN:	Defectos del tubo neural
EDTA:	Ácido etilendiaminotetraacético agente quelante para el transporte de muestras
EHG:	Enfermedad hipertensiva gestacional
EUA:	Estados Unidos de América
FPIA:	Inmunoensayo de fluorescencia polarizada
HELLP:	Síndrome formado por hemólisis, enzimas hepáticas elevadas y conteo bajo de plaquetas.
IC:	Intervalo de confianza
IE:	Intraeritrocitario
IMC:	Índice de masa corporal
IMSS:	Instituto Mexicano del Seguro Social
ISSSTE:	Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado
IVSA:	Inicio de vida sexual activa
mmHg:	Milímetros de mercurio
MTFHR:	Metiltetrahidrofolatorreductasa
N:	Tamaño de muestra
PG:	Preeclampsia grave
P1GF:	Factor de crecimiento placentario
PCR:	Reacción en cadena de la polimerasa
Rh:	Factor Rhesus
RIA:	Radioinmunoanálisis

RFLP's:	Restricción de fragmentos de longitud polimórfica
RMM:	Razón de Mortalidad Materna
SP:	Seguro Popular
SPSS:	Programa estadístico para el análisis de datos
TA:	Tensión arterial
TSNT:	Técnica de solución de lisis triton-SDS
UANL:	Universidad Autónoma de Nuevo León
VEGF:	Factor de crecimiento vascular endotelial
VDRL:	Venereal disease reserch laboratory
VIH:	Virus de inmunodeficiencia humana
VPH:	Virus del papiloma humano

INTRODUCCIÓN

ESTADOS HIPERTENSIVOS DEL EMBARAZO

Historia

Los estados hipertensivos del embarazo datan desde hace más de 3000 años, cuando se reportaron pacientes con convulsiones, según los escritos del antiguo Egipto y China. Posteriormente, Hipócrates, en el siglo IV aC, describió las complicaciones de estas convulsiones. Siendo Celso en el siglo I de nuestra era, quien asoció convulsiones y muerte fetal. Permaneció durante siglos sin ser diferenciada de la epilepsia, tal como la describió Galeno, siendo François Mauriceau quien estableció esta distinción; en 1739 De Sauvage introdujo el término eclampsia.

El término griego *eclampsis* significa: brillantez, destello, fulgor o resplandor, para referirse al brusco comienzo de las convulsiones. Conforme pasaron los años, se fueron introduciendo nuevos hallazgos, así Lever, en 1843, reportó azoemia y proteinuria; Stahnkle, en 1922, refirió la relación entre trombocitopenia e hipertensión gestacional; en 1954 Pritchard y sus colaboradores describieron hemólisis intravascular, trombocitopenia y otras enfermedades relacionadas con la preeclampsia grave (PG). En 1982, Weinstein relacionó la elevación de las enzimas hepáticas con esta enfermedad y definió un padecimiento único en pacientes embarazadas hipertensas: el síndrome de HELLP.¹

Las muertes maternas constituyen un problema de salud importante, 600.000 muertes por año a nivel mundial, en su gran mayoría en los países en vías de desarrollo, donde el riesgo de morir por causas maternas es 1/48, frente a 1/1800 en los países desarrollados.

En México de acuerdo a las estadísticas de 2001, se reportaron 1.253 muertes relacionadas con complicaciones del embarazo y, de éstas, el 34.8% corresponde a edema, proteinuria y trastornos hipertensivos del embarazo.²

Las principales causas directas de defunciones maternas son hemorragia, infección y trastornos hipertensivos, estos últimos se consideran a nivel mundial como la causa del 12 al 25% del total de defunciones. Actualmente la preeclampsia/eclampsia se presenta en un 5 a 10% de los embarazos y es causa importante de muerte materna y neonatal, así como de prematuridad, restricción en el crecimiento intrauterino, muerte perinatal, desprendimiento de placenta y rotura prematura de membranas por vasculopatía materna,³ y de todas las complicaciones secundarias a la prematuridad, tales como la inmadurez pulmonar e inmunológica.⁴

Los estados hipertensivos del embarazo representan un riesgo aún más elevado en las mujeres adolescentes (menores de 20 años), grupo de edad donde las posibilidades aumentan hasta el triple.^{5,6}

Epidemiología

La información epidemiológica y la evidencia clínica apoyan la tesis de que el embarazo representa un desafío para aquellos individuos susceptibles de presentar desórdenes metabólicos.

En los países desarrollados las tasas de morbilidad y mortalidad materna asociadas a la enfermedad hipertensiva del embarazo (preeclampsia / eclampsia) han disminuido, no así en los países en vías de desarrollo, los cuales se encuentran más rezagados, con carencia de servicios de salud básicos y especializados, además de una alta deficiencia en el autocuidado de la salud de la población.

La preeclampsia es la complicación médica más frecuente del embarazo, encontrándose en un 5 a 12% de los embarazos.⁷ En Carolina del Norte, Ananth *et al.*⁸ publicaron una incidencia de preeclampsia del 3.6% y, en Suecia, Ostlund *et al.*⁹ la observaron en el 2.4% de los embarazos. En Sudamérica, se han descrito incidencias de desórdenes hipertensivos de leves a severos del 4.8%,¹⁰ 5.36%,¹¹ 6.6%¹² y 7.31%¹³

en gestantes que acuden a hospitales, y los registros de eclampsia son del 0.038%, 0.09%¹⁴ y 0.8%.¹⁵

La preeclampsia es una de las condiciones más dañinas para la mujer embarazada y el feto. La mortalidad materna debida a preeclampsia es alta,¹⁶ variando desde un 29%¹⁷ a un 44%, siendo las principales causas: hemorragia posparto, desprendimiento prematuro de placenta, coagulopatía, insuficiencia renal, encefalopatía hipertensiva, hemorragia intracerebral, síndrome de HELLP y rotura de hematoma hepático. Del mismo modo, la mortalidad perinatal también es elevada,¹⁸ oscila desde un 8.6 hasta un 27.8%¹⁹ y las principales causas son prematuridad, restricción de crecimiento intrauterino y peso bajo al nacer.²⁰ Rasmussen e Irgens²¹ refieren que el retardo de crecimiento intrauterino se presenta básicamente si el parto se da antes del término.

De otra parte, se ha publicado que en Sudamérica la hipertensión inducida por el embarazo se encuentra entre las tres causas más importantes de mortalidad materna. La mortalidad debida a preeclampsia representa el 15.8% de todas las muertes maternas, con una tasa de 237/10.000 recién nacidos. Pacheco²² informó una mortalidad materna del 18.9% cuando se acompañaba con eclampsia, siendo la preeclampsia la tercera causa de muerte. Las tasas de muerte fetal y muerte neonatal son el 22.2% y el 34.1%, respectivamente.

En nuestro país con datos preliminares del 2011, la Dirección General de Información en Salud de la Secretaría de Salud reportó 236 defunciones debidas a patología hipertensiva durante el embarazo, lo que corresponde al 24.4% del total de defunciones maternas. Este porcentaje varía para cada una de las entidades federativas, existiendo entidades en donde representa más de la mitad del total de sus defunciones, como sucede en Tlaxcala, Coahuila y Chihuahua, hasta entidades en donde representa el 10% o menos (Nayarit y Tabasco), o bien no se reportan defunciones por esta causa (Colima).²³

En 2011, la Razón de Mortalidad Materna (RMM) a nivel nacional por esta causa fue de 18, donde 13 Entidades Federativas presentaron una RMM superior a la nacional, destacándose Tlaxcala y Durango como los Estados con la RMM más elevada (34 y 33, respectivamente), y Nuevo León con la RMM más baja. En Tlaxcala y Durango el riesgo de fallecimiento por esta causa es 1.8 veces mayor que el reportado a nivel nacional, y 8 veces superior si se compara con Nuevo León.

Puebla, Chihuahua, Hidalgo y Guerrero presentaron una RMM superior a 25, es decir, en estas Entidades las embarazadas tuvieron un riesgo de morir cuatro veces superior al de las embarazadas de Nuevo León. En Yucatán, Campeche, Querétaro, Morelos, Oaxaca y Veracruz la RMM obtenida osciló entre 21 y 19 en orden decreciente, respectivamente.²⁴

Otras Entidades presentaron una RMM entre 18 y 15; dentro de este grupo se encuentra San Luis Potosí, Coahuila, Baja California, Distrito Federal y Tamaulipas, en estas Entidades las embarazadas tienen un riesgo de fallecer tres veces superior comparado con lo calculado para Nuevo León.

En México, actualmente la preeclampsia se presenta en un 5 a 10% de los embarazos y es causa importante de muerte materna y neonatal, así como de prematuridad, restricción en el crecimiento intrauterino, muerte perinatal y desde luego todas las complicaciones secundarias a la prematuridad, como la inmadurez pulmonar y neurológica. El Sistema Nacional de Salud de México durante el año 2005, reportó 1.242 defunciones maternas, de las cuales una tercera parte se debe a trastornos hipertensivos durante el embarazo, lo que representa casi el 34% del total de muertes maternas.²⁴

Definiciones

En la actualidad aún permanecen confusas para los clínicos las diferentes categorías y definiciones relacionadas con la preeclampsia, esto ha generado una

discrepancia en el diagnóstico y clasificación que ha llevado a fallos en el diagnóstico, tratamiento, prevención y asesoramiento; por ello, el Programa Nacional para la Educación de la Hipertensión de Estados Unidos ha consensuado las siguientes definiciones.²⁵

1. Hipertensión Crónica

El *National High Blood Pressure Education Program Working Group* define hipertensión crónica (HC) cuando existen niveles de presión sistólica de 140 o mayor, o presión diastólica mayor o igual a 90 mmHg, antes del embarazo o diagnosticada antes de la semana 20 de gestación, y no atribuible a enfermedad trofoblástica gestacional, o a aquella diagnosticada después de las 20 semanas de gestación y que persiste después de las 12 semanas posparto. Las pacientes con hipertensión crónica deben ser evaluadas antes del embarazo para determinar la severidad de la hipertensión y facilitar planear un embarazo mediante cambio de medicamentos, cambio de hábitos higiénico-dietéticos para evitar complicaciones.²⁶

2. Hipertensión Gestacional

El grupo de trabajo para el programa Nacional de la hipertensión ha recomendado el término de “Hipertension gestacional” en lugar de “hipertensión inducida por el embarazo” para cualquier aumento en la presión arterial en embarazos de más de 20 semanas, sin presencia de proteinuria y que regresa a la normalidad durante el puerperio.²⁶

Por otra parte, define hipertensión gestacional (HG) como la presencia de niveles de presión sistólica de 140 mmHg o mayor, o presión diastólica mayor de 90 mmHg, con mediciones separadas por un período de 6 horas, después de las 20 semanas de gestación en una mujer con valores previos de tensión arterial normales.²⁶

La enfermedad hipertensiva ocurre aproximadamente en el 12 al 22% de los embarazos y es directamente responsable del 17.6% de las muertes maternas en los Estados Unidos.^{27,28}

3. Preeclampsia

La preeclampsia es un síndrome que se define por la presencia de hipertensión con proteinuria asociada con otros síntomas, tales como edema, problemas visuales, cefalea y dolor epigástrico, además de anormalidades detectadas en el laboratorio, como aumento de las enzimas hepáticas, trombocitopenia y proteinuria. Esta última se establece por la presencia de 0.3 g de proteínas urinarias en una muestra de 24 horas.²⁶

Preeclampsia Leve. Esta se define por una presión sistólica igual o mayor a 140 mmHg, o una diastólica de 90mmHg, confirmadas en dos tomas separadas por un mínimo de 6 horas, además ha de existir proteinuria de 300 mg, o superior, en proteínas urinarias de 24 horas, o proteínas de +1 o +2 en tirilla de análisis urinario.

Preeclampsia Severa.²⁹ La preeclampsia severa es un síndrome definido por hipertensión con presiones sistólicas por encima de 160 mmHg y diastólicas de 110 mmHg, tomadas en dos ocasiones con un lapso de 6 horas entre las tomas, proteinuria de 5 g en orina de 24 horas, o de +3 con tirilla urinaria en 2 tomas al azar con una separación de al menos 4 horas entre las tomas, oliguria con un volumen de 500 ml en 24 horas, edema pulmonar o cianosis, alteraciones hepáticas, visuales o cognitivas, dolor en epigastrio o en cuadrante superior derecho, trombocitopenia y retraso en el crecimiento intrauterino.³⁰⁻³²

Factores de Riesgo

Este desorden se presenta principalmente en primíparas, pero existen otros factores de riesgo, como son embarazos múltiples, antecedente de preeclampsia en

embarazos previos, hipertensión crónica, diabetes pre-gestacional, enfermedades de tejido conectivo y vascular, nefropatías, síndrome antifosfolípidos, obesidad, edad igual o superior a 35 años y raza afro-americana.³³⁻³⁶ A estos factores se añaden además el sobrepeso, un inadecuado control prenatal y un periodo intergenésico corto o largo.³⁷

FORMA APROPIADA DE TOMA DE PRESIÓN ARTERIAL

La toma adecuada de la presión arterial es necesaria para la correcta interpretación y clasificación de los diferentes estados hipertensivos del embarazo; para tal efecto, se le pide a la paciente que permanezca sentada durante al menos 5 minutos con los pies en el suelo y el brazo a nivel cardiaco; se usará un esfigmomanómetro de tamaño adecuado, que abarque al menos el 50% de la circunferencia del brazo (Fig. 1).



Figura 1. Forma adecuada de toma de presión arterial en mujeres embarazadas.

Para asegurar la exactitud de la medición en la determinación manual, la presión arterial sistólica se estima por la obliteración del pulso radial, el manguito o globo del esfigmomanómetro debe inflarse 20 o 30 mmHg más del nivel de la determinación auscultatoria, el índice del desinflado del manguito para la medida auscultatoria debe ser de 2 mmHg por segundo. La presión arterial sistólica es el primero de dos o más sonidos de Korotkoff claros (inicio de la fase 1) y la

desaparición de los ruidos de Korotkoff se utiliza para definir la presión arterial diastólica (inicio de la fase V). La hipertensión debe comprobarse en dos o más tomas con un intervalo de al menos 6 horas.³⁸

COMPLICACIONES A LARGO PLAZO DE LOS TRASTORNOS HIPERTENSIVOS DEL EMBARAZO

Arnadottir *et al.*³⁹ realizaron un estudio con un grupo control y otro de 325 pacientes con hipertensión en el embarazo, durante el periodo de 1931 a 1947, para analizar las diferentes causas de muerte de origen cardiovascular, tales como infarto isquémico al corazón y accidentes cerebro-vasculares, además de cáncer. Los resultados mostraron que la causa de muerte más frecuente en el grupo con hipertensión en el embarazo fue la de infarto isquémico al corazón, con un 24.3% comparado con el 14.6% del grupo control (RR de 1.66; IC del 95% de 1.27-2.17). La enfermedad cerebro-vascular en el grupo con hipertensión en el embarazo representó el 9.5% de las causas de muerte, comparado con el 6.5% en el grupo control (RR de 1.46; IC 95% de 0.94-2.28). Concluyeron que los trastornos hipertensivos del embarazo incrementan el riesgo de muerte por enfermedad isquémica cardíaca.³⁹

Además, el desarrollo de diabetes tipo 2 se ha asociado tanto a las madres como a los hijos de madres con el antecedente de preeclampsia, de acuerdo a los resultados del estudio de Ostlund *et al.*⁹

MARCADORES DIAGNÓSTICOS PARA PREECLAMPSIA

Existen múltiples marcadores diagnósticos para la preeclampsia; sin embargo, muchos de estos se han dejado de usar por su bajo valor predictivo, tal es el caso de la presión arterial media durante el segundo trimestre, la prueba de ejercicio isométrico, niveles séricos de ácido úrico, calcio y magnesio, así como proteínas

totales o algunos otros de mayor costo, como es el caso de infusión intravenosa de angiotensina II.⁴⁰

Existen otros estudios donde han analizado el valor predictivo de la proteína plasmática 13 (PP13), así como el índice pulsátil doppler de la arteria uterina y el análisis de pulso de onda de 75 latidos por minuto, encontrando que la combinación de estos tres índices contribuye al diagnóstico temprano de la preeclampsia.⁴¹

De otra parte, se ha analizado el valor predictivo de la sintomatología y se ha observado que la combinación de tres síntomas o signos tienen un valor predictivo en el 60% de las pacientes que desarrollan preeclampsia, con una especificidad del 84%. Sin embargo, recordando que hasta un 29% de las pacientes cursan asintomáticas, los autores concluyen que la utilidad de la sintomatología es deficiente, por lo que es necesario continuar con el estudio de marcadores altamente sensibles y específicos para la preeclampsia.⁴²

Además, se han desarrollados algoritmos para el diagnóstico de los estados hipertensivos del embarazo a través de los síntomas, clasificándolos como tempranos, tardíos y propios de la hipertensión gestacional; sin embargo, los estudios de regresión logística han demostrado que los rangos de detección son del 37%, 28.9% y 20.7%, respectivamente. Todo ello induce a pensar que el análisis por separado de cada uno de estos síntomas elevaría el porcentaje de falsos positivos.⁴³

MEDIDAS PREVENTIVAS RELACIONADAS CON LA PREECLAMPSIA

Lo que sí está claro es la necesidad de contar con medidas preventivas para reducir el número de complicaciones, por lo tanto un adecuado control de calidad y una oportuna atención del nacimiento contribuirán a la reducción de las complicaciones de los trastornos hipertensivos del embarazo.¹¹

Una de las principales herramientas en el diagnóstico correcto de los diferentes trastornos hipertensivos del embarazo es el control prenatal, el cual debe de ser adecuado en cuanto a cantidad y calidad de las visitas; considerando adecuado aquel que al menos tiene 5 visitas. A partir de este concepto surge la propuesta de que es necesario establecer estrategias sociales que permitan a la población femenina contar con un adecuado control prenatal, asimismo es determinante considerar la educación como parte central del proceso.⁴⁴

Prevención primaria. La mejor manera de disminuir la incidencia de una enfermedad es conociendo su historia natural, incluyendo su etiología; sin embargo, esta enfermedad representa un reto dado que desconocemos la causa de la respuesta inflamatoria aguda exagerada, así como los problemas endovasculares de la invasión citotrofoblástica. Hasta el momento la única forma de prevención primaria de los diferentes trastornos hipertensivos del embarazo es la anticoncepción.

Prevención secundaria. Ésta se lleva a cabo conociendo los mecanismos fisiopatológicos, pero también a través de la disponibilidad de métodos tempranos diagnósticos, y de la corrección e intervención temprana de los cambios fisiopatológicos.

Durante muchos años se ha trabajado en pro de contar con un panel para el diagnóstico temprano de la preeclampsia; sin embargo, hasta el momento no se ha conseguido. Las diferentes pruebas para el diagnóstico incluyen tomar la presión arterial media durante el segundo trimestre, niveles de ácido úrico, proteinuria, concentraciones de alfa-feto proteína y su asociación con la B-hGC.

En los últimos 5 años la hiper-homocisteinemia se ha asociado con trastornos hipertensivos del embarazo, pero no existen datos bibliográficos que indiquen que su corrección disminuye la incidencia de los trastornos hipertensivos del embarazo.

Además, el estudio de otros marcadores, como el del estrés oxidativo y la activación endotelial, también se han llevado a cabo.¹¹

FISOPATOLOGÍA

La etiología de la preeclampsia sigue siendo un misterio, sin embargo existen múltiples estudios⁴ que reportan los siguientes mecanismos desencadenantes:

- Invasión trofoblástica anormal de los vasos uterinos.
- Intolerancia inmunitaria entre los tejidos maternos y fetoplacentarios.
- Mala adaptación de la madre a los cambios cardiovasculares o inflamatorios del embarazo.
- Deficiencias de la dieta.
- Influencia genética.

Sin embargo, se considera que la preeclampsia es un síndrome de placentación temprana, generando un desarrollo y diferenciación aberrantes de las vellosidades sincitiotrofoblásticas causando una inadecuada barrera placentaria.⁴⁵

1. Placentación Atípica

Existen varias teorías que podrían explicar cómo se origina la preeclampsia, una de ellas postula que el origen radica en una *placentación atípica* que genera una resistencia vascular periférica aumentada y, a su vez, ésta, una hipertensión arterial.⁴⁶ Este proceso es vulnerable por la respuesta inflamatoria, defensa antioxidante, división celular, síntesis de proteínas y de DNA,⁴⁷⁻⁵⁰ postulando que la deficiencia de folatos está asociada con un incremento de la apoptosis de las células trofoblásticas, ya que es un micronutriente para la adecuada síntesis de proteínas y de ADN.⁵¹⁻⁵³

Baksu *et al.*⁵⁴ agregaron a la dieta de sus pacientes aceite de pescado (ácido docohexaenoico) y ácido fólico para reducir la hiper-homocisteinemia producida por

la MTHFR; sin embargo, no encontraron ningún cambio en la proliferación ni apoptosis placentaria.⁵⁴

Durante la implantación normal alrededor del octavo día del desarrollo, el blastocisto está parcialmente incluido en el estroma endometrial, el trofoblasto se ha diferenciado en dos capas, el citotrofoblasto y el sincitiotrofoblasto. Al comienzo del segundo mes, el trofoblasto se caracteriza por abundantes vellosidades que le dan un aspecto radiado, la sangre materna es llevada a la placenta por las arteriolas espirales del útero y existe una erosión por una invasión endovascular de las células citotrofoblásticas; éstas invaden los extremos terminales de las arterias espirales donde reemplazan a las células endoteliales maternas, las células citotrofoblásticas experimentan una transición de epitelial a endotelial, transformando a estos vasos de pequeño diámetro y mayor resistencia en vasos de gran diámetro y menor resistencia que pueden proporcionar cantidades mayores de sangre materna al espacio veloso (Fig. 2).

El compromiso en la perfusión placentaria parece ser la base en la patogenia de la preeclampsia. La placenta humana recibe su aporte sanguíneo de numerosas arterias uteroplacentarias, que se desarrollan por la acción de la migración intersticial y endovascular del trofoblasto en las paredes de las arteriolas espirales. Esto transforma el lecho arterial uteroplacentario en un sistema de baja resistencia. Estos cambios vasculares inducidos por el trofoblasto amplían el camino desde el espacio intervelloso hasta el origen de las arterias espirales en las arterias radiales (tercio interno del miometrio); todos estos cambios son efectuados en dos etapas: 1) conversión de los segmentos deciduales de las arteriolas espirales por una primera oleada de migración endovascular del trofoblasto, durante la semana 10-12 de gestación; y 2) conversión de los segmentos miometriales por una oleada posterior, en el segundo trimestre (15-16 semanas). Este proceso está asociado con una extensa

formación de material fibrinoide y degeneración de la capa muscular en las paredes arteriales.

En los embarazos complicados con preeclampsia, los cambios vasculares sólo se encuentran de manera habitual en los segmentos deciduales de las arterias uteroplacentarias; por esto los segmentos miometriales de dichas arterias se quedan con su arquitectura musculoesquelética, haciéndolas con ello sensibles a las respuestas hormonales y restringiendo el suministro de sangre al feto. El factor fisiopatológico inicial clave es la isquemia placentaria, lo que conduce a liberación de factores placentarios y desequilibrio de factores angiogénicos que causan la disfunción endotelial generalizada que caracteriza a la preeclampsia.⁵⁵⁻⁵⁷

La célula endotelial es la principal protagonista de la historia de la preeclampsia; ha pasado de ser un simple mosaico de la pared vascular, a ser un complicado sistema productor de multitud de factores séricos y receptor de gran cantidad de moléculas que van a modular funciones tan importantes como la agregación plaquetaria, la activación de factores de la coagulación, la regulación del tono vasomotor y funciones inmunológicas, entre otras.

La lesión celular endotelial vascular reduce la síntesis de agentes vasodilatadores, incrementa la respuesta a los vasoconstrictores, deteriora la síntesis de anticoagulantes endógenos y aumenta la producción de pro-coagulantes, lo que provoca isquemia cerebral, hepática y disfunción renal. Hay una disminución variable del flujo sanguíneo renal y una disminución en la filtración glomerular, con la consiguiente elevación relativa de creatinina y ácido úrico plasmáticos. En casos de enfermedad aparece proteinuria más o menos marcada y mayor permeabilidad a proteínas como transferrina y globulinas.⁵⁸

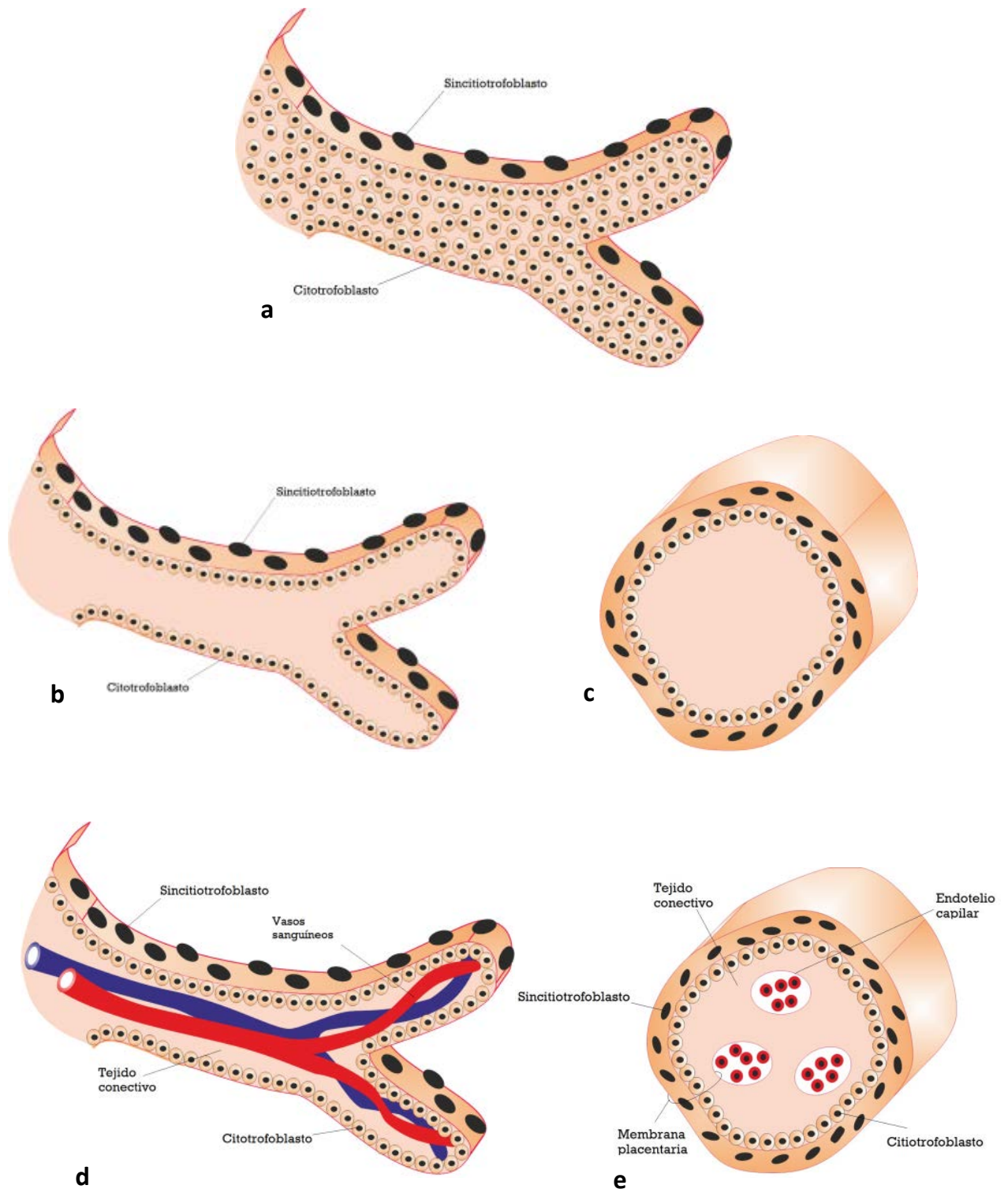


Figura 2. Representación esquemática de la formación de vellosidades. a) Vellosidad trofoblástica primaria; el trofoblasto se ha diferenciado en sincitiotrofoblasto y citotrofoblasto. b) Vellosidad trofoblástica secundaria, corte longitudinal; existe invasión de células sincitiotrofoblásticas. c) Vellosidad secundaria, corte transversal. d) Vellosidad trofoblástica terciaria, corte longitudinal; las células citotrofoblásticas experimentan una transición epitelial a endotelial. e) Vellosidad trofoblástica terciaria, corte transversal.

La lesión endotelial favorece la activación y la liberación de potentes factores vasoactivos y mitogénicos que desencadenan, a su vez, la formación de factores de crecimiento y la liberación de productos de origen placentario. La angiogénesis, es decir, la formación de nuevos vasos sanguíneos del endotelio preexistente, es esencial para el desarrollo normal de la placenta. Se piensa que dos de los factores de crecimiento angiogénico, el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y el factor de crecimiento placentario (PlGF), contribuyen a la proliferación normal del trofoblasto e implantación; el desequilibrio de estos factores tiene un rol crucial en la preeclampsia.

La disfunción endotelial subyacente se explica por alteraciones en la formación de óxido nítrico.⁵⁹ Se demostró que una mayor producción del factor de necrosis tumoral alfa provoca disfunción endotelial generalizada, favorece la síntesis de endotelina y reduce la vasodilatación inducida por la acetilcolina. Las alteraciones que provoca el factor de necrosis tumoral alfa en el flujo de electrones de la mitocondria provoca daño oxidante, libera radicales libres y promueve la peroxidación de lípidos, los cuales dañan directamente la célula endotelial. Las concentraciones de factor de necrosis tumoral alfa se elevan significativamente en mujeres con preeclampsia. El aumento de estrés oxidante, con disfunción endotelial consecuente, produce un número importante de radicales libres, esto último también es favorecido por la isquemia placentaria sostenida.

Muchos factores, tales como la inflamación, producción de citoquinas, dislipidemia, homocisteína elevada, niveles de calcio y el desequilibrio entre tromboxanos y prostaciclina. han sido implicados en la etiología de la preeclampsia. Durante el embarazo la placenta funciona como el mayor recurso de pro-oxidantes y la síntesis de antioxidantes endógenos.^{60,61}

2. Niveles de Homocisteína como Predictores

La homocisteína elevada en plasma ha sido implicada en los cambios vasculares compatibles con aterosclerosis y disfunción endotelial similar a los cambios de la placenta en la preeclampsia.

La homocisteína es un aminoácido esencial azufrado, originado metabólicamente de la metionina de las proteínas dietéticas que, en su mayoría, son de origen animal; además de ser precursor y componente de péptidos y proteínas que se requieren para el crecimiento de células y tejidos del cuerpo humano, desempeña una importante función metabólica al participar en un sistema de transferencia de grupos metilo.

La homocisteína es metabolizada a través de dos posibles vías: la remetilación y la transulfuración. La vía de la remetilación permite la recuperación de metionina; se trata de una reacción catalizada por la homocisteína metiltransferasa (metionina sintasa) y representa un punto metabólico que le confiere singular importancia: se produce una interrelación entre cofactores derivados de vitaminas del complejo B, la vitamina B12, que en forma de metilcobalamina es el donante directo del grupo metilo a la homocisteína; el ácido fólico, que en forma de N5-metiltetrahidrofolato sirve de fuente del grupo metilo para la formación de la metilcobalamina; y la vitamina B6, en la forma de fosfato de piridoxal, como cofactor en el proceso de regeneración del N5-metiltetrahidrofolato. La vía de la transulfuración representa la alternativa en el caso de que la metionina esté en relativo exceso en el organismo y no se requiera su recuperación, permite la síntesis del aminoácido cisteína.^{62,63} (Fig. 3).

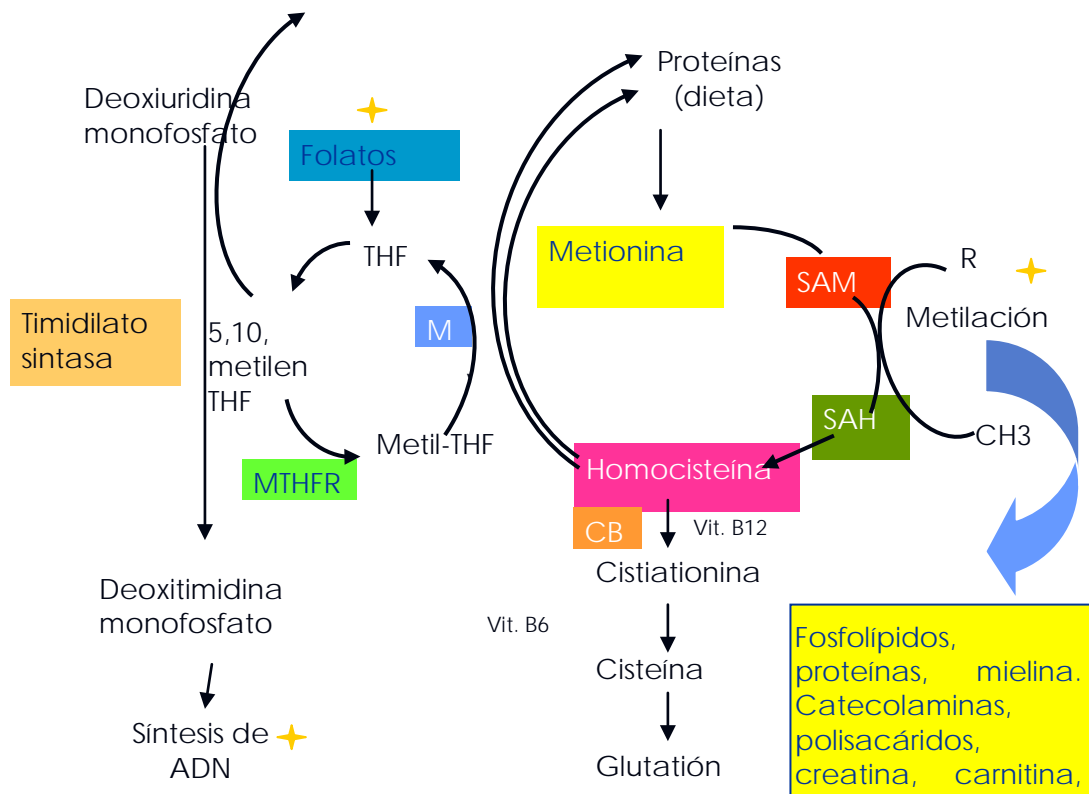


Figura 3. Ciclo del metabolismo de los folatos.

En la mayoría de los estudios clínicos relacionados con este metabolito se determina la concentración plasmática de homocisteína total, de la cual casi el 70-90% corresponde a la ligada a proteína, el 5-10% a la homocisteína, el 5 al 10% a la homocisteína-cisteína y sólo el 1% a la homocisteína reducida. La no ligada a proteína es filtrada en los glomérulos renales y la mayor parte es reabsorbida en los túbulos, por lo que sólo muy pequeñas cantidades se excretan por la orina. Resulta de interés una vía específica en células endoteliales que implica al óxido nítrico, este importante mensajero químico en presencia de oxígeno reacciona con el grupo sulfidrilo de la homocisteína formando la S-nitroso homocisteína, bloqueando posibles reacciones.

Algunos estudios han comprobado el incremento en la incidencia de hiperhomocisteinemia en pacientes con preeclampsia de aproximadamente el 20-30%. Los valores normales de homocisteína dependen del grupo étnico, edad, área geográfica

y factores genéticos, siendo en promedio de 5 a 10 $\mu\text{mol/L}$.⁵⁵⁻⁸⁵ La hiperhomocisteinemia puede ser generada por un daño vascular;^{60,61} sin embargo, hay estudios donde no se ha podido corroborar la asociación entre hiperhomocisteinemia y preeclampsia.⁸⁶⁻⁸⁸ La hiperhomocisteinemia se ha asociado con otras complicaciones como desprendimiento placentario y muerte fetal intrauterina.⁸⁹

Otros estudios han analizado la asociación entre la homocisteína y la dimetilarginina asimétrica con el óxido nítrico, sugiriendo que podría ser responsable parcial de la etiología de la preeclampsia y que podría representar un marcador de su severidad.^{90,91}

La hiperhomocisteinemia puede resultar del defecto genético de las enzimas que participan en la síntesis de homocisteína, el metabolismo o deficiencia de ácido fólico, vitamina B6 y B12.⁹²

Existen pocos estudios que hayan definido los valores de normalidad durante la gestación, y no hay consenso en estos trabajos, ya que están realizados en diferentes momentos del embarazo, en poblaciones muy distintas y con dietas y cargas genéticas diversas. Por ello, es importante establecer los valores de referencia de homocisteína (y de sus vitaminas determinantes) y definir los valores de homocisteína plasmática total considerados como hiperhomocisteinemia en cada población a estudiar.⁹³

En este sentido, Lachmeijer *et al.*⁹⁴ determinaron la concentración media de homocisteína (en micromoles por litro) y encontraron niveles de 5.6 (IC del 95%, 3.9-7.3) entre las 8 y 16 semanas de gestación; de 4.3 (IC 95%, 3.5-5.3) de las 20 a las 28 semanas; de 5.5 (IC 95% 3.3-7.5) de las 36 a las 42 semanas; y de 7.9 (IC 6.2-9.6) en las no embarazadas. Esta concentración depende de varios factores, tales son la

suplementación diaria de ácido fólico, hemodilución, niveles bajos de albumina, mecanismos endocrinológicos y tasa de filtrado glomerular.⁹⁴

La suplementación con folato, que las gestantes realizan durante el primer trimestre como profilaxis de los defectos del tubo neural, puede producir al inicio del embarazo un descenso de la concentración de homocisteína plasmática, que aumenta en los siguientes trimestres, conforme disminuyen las concentraciones de folatos.⁹⁵⁻⁹⁷

El folato, vitamina hidrosoluble requerida para el óptimo desarrollo y crecimiento y que tiene como característica que no se puede producir de novo,⁹⁸ así como las vitaminas del grupo B (B2, B6 y B12) están implicados en el ciclo metabólico de la metionina; la deficiencia de una o varias, principalmente del folato, es capaz de producir hiperhomocisteinemia.^{99,100}

El ácido fólico reduce probablemente el riesgo de preeclampsia mejorando la función placentaria y endotelial, directa o indirectamente mediante la disminución de los niveles séricos de homocisteína.¹⁰¹

El metabolismo de aminoácidos puede estar afectado por los cambios adaptativos del embarazo, por el crecimiento fetal y por los requerimientos metabólicos del mismo, pero también se puede afectar de forma diferente frente a los trastornos hipertensivos del embarazo.^{102,103} Durante los estados hipertensivos del embarazo los cambios metabólicos se caracterizan por elevados niveles de homocisteína, lo que explicaría su posible papel en la génesis de la preeclampsia, ya que la hiperhomocisteinemia genera la disfunción endotelial típica de estos estados; sin embargo, su mecanismo no está claro. La hiperhomocisteinemia también ha sido asociada a defectos del tubo neural, así como a condiciones caracterizadas por vasculopatía placentaria, lo que podría originar desprendimiento placentario y aborto recurrente. De otra parte, la concentración de homocisteína también depende del

estado nutricional de la paciente, particularmente de la Vitamina B12 y del ácido fólico.¹⁰⁴

3. Ingesta de Folatos Durante el Embarazo

Está bien documentado que la ingesta de folatos durante el embarazo reduce los defectos del tubo neural,^{14,105,106} tal como lo demuestran múltiples estudios alrededor del mundo desde los inicios de los años noventa.¹⁰⁷ A inicios del nuevo siglo, el gobierno Japonés recomendó la ingesta de 400 µg/día de ácido fólico a todas las pacientes con deseo de embarazo. Otras medidas preventivas se refieren a la fortificación de alimentos, como las harinas con ácido fólico, estrategia no muy bien aceptada y que no se ha convertido en rutina;¹⁰⁸ sin embargo, en México desde el 2006 se ha adoptado tal medida preventiva, fortificando con ácido fólico todas las harinas.

En este sentido, el estudio de Dekker y Morris determinó que sólo un 43% de la población tomaba folatos previos al embarazo, y un 67% lo hacía después de confirmado el embarazo.¹⁰⁹

De otra parte, se ha descrito que la administración diaria de 4 mg de folatos puede prevenir el 72% de los defectos del tubo neural recurrentes.^{110,111}

La mayoría de los folatos en la dieta están presentes como poliglutamatos, que son menos absorbidos que los monoglutamatos. El monoglutamato se obtiene mediante la hidrólisis. El ácido fólico (ácido pteroilmonoglutámico) es la forma sintética farmacéutica de la vitamina, y es la forma que se encuentra en los suplementos vitamínicos y se emplea en el enriquecimiento de los alimentos. La biodisponibilidad media de los folatos alimentarios se encuentra en torno al 50%, debido a la necesaria conversión a monoglutamatos, previa a su absorción. La del ácido fólico, en cambio, es casi del 100%. Las concentraciones de folato sérico son muy variables y dependen de la ingestión diaria. Personas sin deficiencia pueden

presentar valores plasmáticos bajos y personas con deficiencia los pueden tener normales. No obstante, unos valores bajos suelen representar la primera etapa del balance negativo en folatos y preceden al déficit tisular.

El folato intraeritrocitario es mucho más estable, sólo está disminuido cuando hay ingesta baja, malabsorción, aumento en las necesidades o interacción medicamentosa mantenida durante meses. Los valores plasmáticos de folato se consideran indicadores de la ingesta reciente de folato. Según diversos autores se establecen como normales los valores superiores a 6 ng/ml, como déficit moderado los valores entre 3 y 6 ng/ml, y como déficit importante los valores inferiores a 3 ng/ml. Los valores de folato intraeritrocitario se consideran indicadores de las reservas de vitamina en el organismo, ya que el glóbulo rojo capta el folato durante su formación en la médula ósea y mantiene la concentración constante durante un promedio sus 120 días de. Se consideran concentraciones normales las superiores de 150 ng/ml, aunque algunos autores rebajan esta cifra a 125 ng/ml.¹¹²

La vitamina B12 sólo resulta sintetizada por los microorganismos, y puede adquirirse mediante la ingestión de carnes en las cuales ya existe vitamina acumulada y la ingestión de vegetales contaminados con microorganismos. En muchos países, el requerimiento mínimo de ácido fólico son 400 microgramos, desde antes de la concepción hasta el final de la semana 12 de gestación, para prevenir defectos del tubo neural. Los niveles bajos de folatos son asociados con un incremento en la concentración total de homocisteína en plasma, un factor asociado a complicaciones en el embarazo y al desarrollo de preeclampsia.

La influencia de los factores genéticos adquiere cierta relevancia en el caso de los folatos. De las enzimas que participan en los diferentes procesos bioquímicos y metabólicos, la metil-tetrahidrofolatorreductasa (MTFHR) regula la cantidad de folato intracelular para la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos y convierte al 5,10-metilentetrahidrofolato a 5-metilentetrahidrofolato, un donador de grupo metilo

necesario para la conversión de homocisteína a metionina durante la síntesis de proteínas, participando así en el ciclo metabólico de la metionina. La enzima mantiene los niveles normales de folato reducido y homocisteína.

La enzima MTHFR presenta dos mutaciones que intervienen en el metabolismo: 1) Polimorfismo C677T de la MTHFR; esta mutación, descrita por Kang *et al.* en 1988, presenta una transición C a T en el nucleótido C677T que permite la sustitución de la alanina por la valina. Los homocigotos (10-15%) para este defecto expresan una variante termolábil de la enzima, y la actividad enzimática está reducida comparada con la normal. Los valores plasmáticos de folato están ligeramente disminuidos y por tanto los de homocisteína se hayan elevados. La variante heterocigota (40-45%) carece de relevancia clínica. 2) Polimorfismo A1298 de la MTHFR; esta mutación, menos conocida hasta la fecha y descrita en 1998 por Van der Put *et al.*, da lugar a una menor actividad de la MTHFR. Ni homocigotos ni heterocigotos presentan mayores concentraciones de homocisteína. Los individuos homocigotos con mutaciones TT, o heterocigotos con el genotipo CT, tienen menor actividad de MTHFR y, en general, niveles inferiores de folatos, en comparación con el genotipo CC. El significado clínico de este polimorfismo parece depender de la ingesta de folatos en la dieta.^{113,114} Este polimorfismo podría ser un factor contribuyente al peso bajo al nacer y también podría verse afectado por el consumo de ácido fólico diario.¹¹⁵

Además se ha investigado el rol de la susceptibilidad genética a la preeclampsia, analizando el papel de la substitución del nucleótido 677 del gen de la MTHFR, y la inserción par de la base 68 en el nucleótido 844 del gen de la Enzima Cistationina beta sintetasa y la mutación del Factor V de Leiden, no encontrándose asociación de riesgo incrementado para la preeclampsia, tanto de forma independiente como combinada.¹¹⁶

La hiperhomocisteinemia es más frecuente en las mujeres de raza negra, así como también son más frecuentes los niveles bajos de ácido fólico y altos niveles de Vitamina B12, esto podría explicar la alta incidencia de preeclampsia en esta raza.

Hiperhomocisteinemia se ha encontrado en pacientes hipertensas, involucrando la promoción de la activación celular, hipercoagulabilidad, estrés oxidativo, disfunción endotelial, proliferación y peroxidación de células lisas.¹¹⁷

El polimorfismo C667T de la MHHFR es un factor de riesgo para el desarrollo de preeclampsia en Egipto, sin embargo hay un estudio donde se concluye que la hiperhomocisteinemia asociada a estas mutaciones no explica la alta asociación de hiperhomocisteína y preeclampsia.¹¹⁸ Además, otro estudio no encontró una asociación entre estos polimorfismos y la preeclampsia; sin embargo, en la población Australiana no pare ser un factor de riesgo.¹¹⁹

Estudios de Estados Unidos y Canadá han comprobado que la administración de multivitamínicos con ácido fólico reducen el riesgo de trastornos hipertensivos del embarazo o preeclampsia,^{120,121} sin embargo un estudio llevado a cabo en 1998, no encontró asociación entre la ingesta de multivitamínicos y los trastornos hipertensivos del embarazo. En un estudio prospectivo de cohorte no observaron una incidencia menor de trastornos hipertensivos del embarazo con la administración de altas concentraciones de folatos durante el primer trimestre del embarazo o durante la semana 13 y 21 de gestación.¹²²

En resumen, las mujeres que podrían beneficiarse con altas dosis de folatos son:

1. Mujeres con alteraciones genéticas con alto riesgo de defectos de tubo neural.
2. Antecedentes de DTN o historia familiar de DTN.
3. Enfermedades de malabsorción, como Intestino irritable.
4. Obesidad mórbida.

5. Pacientes que toman medicamentos antiepilépticos.
6. Pacientes que toman medicamentos antagonistas de folatos, como metotrexato.
7. Tabaquismo
8. Pacientes del Norte de China o celtas.

Se desconoce el mecanismo por el cual la administración de ácido fólico consigue reducir la preeclampsia, pero se cree que es porque mejora la placentación y las funciones sistémicas endoteliales, ya sea de forma directa o indirecta bajando los niveles de homocisteína.¹²³⁻¹²⁵

JUSTIFICACIÓN

La preeclampsia representa una enfermedad con altas morbilidad y mortalidad que requiere medidas preventivas y diagnósticas oportunas para reducir las complicaciones materno-fetales que la caracterizan; su incidencia supone hasta un 15-20% en países desarrollados.¹²⁶

Bodnar *et al.*, siguiendo estudios publicados desde 1997, reportó que el uso regular de multivitamínicos que contienen ácido fólico, antes de la semana 16 de gestación, reduce un 45% la preeclampsia si se compara con las pacientes que no lo usan; en este estudio no se realizaron pruebas de mutaciones genéticas ni niveles de homocisteína.¹²⁷

A partir de estos estudios se generaron muchas preguntas y teorías acerca del uso de ácido fólico como factor preventivo para la preeclampsia; Dekker y Morris consideran que la administración de ácido fólico durante el primer trimestre del embarazo, o inicios del segundo, mejorarían la perfusión placentaria lo que generaría una mejor anatomía placentaria y, por ende, una mejor función endotelial, logrando así disminuir las posibilidades de preeclampsia.¹⁰⁹

De estos datos se genera la pregunta ¿Qué otros factores podrían afectar los niveles de ácido fólico, generando con ello un aumento en la incidencia de preeclampsia?

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS

H0. Entre las mujeres con trastornos hipertensivos del embarazo, conocer los niveles de homocisteína sérica, así como los niveles de ácido fólico séricos durante el primer y tercer trimestre del embarazo no ayuda a estimar las posibilidades de desarrollar algún estado hipertensivo del embarazo.

H1. Entre las mujeres con trastornos hipertensivos del embarazo, conocer los niveles de homocisteína sérica, así como los niveles de ácido fólico séricos durante el primer y tercer trimestre del embarazo ayuda a estimar las posibilidades de desarrollar algún estado hipertensivo del embarazo.

OBJETIVOS

- Primero.** Determinar los valores de homocisteína sérica en ambos grupos durante el primer y tercer trimestre del embarazo.
- Segundo.** Determinar si existe una correlación de los niveles de homocisteína sérica con el desarrollo de algún estado hipertensivo del embarazo cuando se administran durante el primer trimestre diferentes dosis de ácido fólico.
- Tercero.** Determinar la prevalencia de enfermedad hipertensiva en el embarazo en pacientes mexicanas manejadas con la administración de 5 mg de ácido fólico o de 1mg de ácido fólico durante el primer trimestre de embarazo.
- Cuarto.** Determinar la prevalencia de mutaciones de la enzima MTHFR en pacientes de ambos grupos.
- Quinto.** Determinar la relación entre mutaciones de la enzima MTHFR y los niveles séricos de homocisteína y su relación con trastornos hipertensivos del embarazo.

Sexto. Correlacionar los factores de riesgo reportados en la literatura con el desarrollo de trastornos hipertensivos del embarazo.

Séptimo. Determinar la prevalencia de preeclampsia según los grupos de edad: adolescente (menor de 20 años), óptimo (de 20 a 35 años) y añosa (de 36 o más años) y contrastar dichas prevalencias.

MATERIAL Y MÉTODOS

PACIENTES

El estudio se ha realizado con 110 pacientes embarazadas pertenecientes a la población general que acudieron a control prenatal, en el Servicio de Obstetricia del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”, en el periodo comprendido desde junio de 2010 hasta julio de 2012, momento en el que finalizó tras el parto de la última paciente que participó en el estudio.

Distribución de las Pacientes

Las pacientes fueron distribuidas de manera aleatoria simple, probabilística, mediante tabla de Excel de números aleatorios con la función aleatorio, en dos grupos: el Grupo A y el Grupo B. A las pacientes del Grupo A se les administró 1 mg de ácido fólico diariamente, a partir del primer trimestre del embarazo y hasta la resolución del mismo. Las pacientes del Grupo B recibieron 5 mg de ácido fólico, con las mismas características en la toma. En ambos grupos, el control prenatal y el seguimiento fueron los mismos, además se proporcionó a cada paciente el medicamento y una agenda de control (Anexo 1) para registrar la ingesta del mismo y asegurar el apego al tratamiento.

MÉTODOS

Diseño del Estudio

Este trabajo de investigación es de tipo ensayo clínico, longitudinal, prospectivo, triple ciego y analítico comparativo.

Control Prenatal

Primera Consulta

Se inició la primera consulta de control prenatal cumplimentando la historia clínica (Anexo 2), con medición de tensión arterial, peso, talla, índice de masa

corporal (IMC), solicitando exámenes de laboratorio de rutina (Biometría Hemática, Carga Rápida de Glucosa, Examen General de Orina, VDRL, VIH, Grupo y Rh). Se determina la edad gestacional. Se randomizan los pacientes y se procede a la entrega del ácido fólico.

Se realiza determinación cuantitativa de:

- Homocisteína sérica
- Mutación del gen MTHFR
- Niveles intraeritrocitarios de Vitamina B
- Ultrasonido obstétrico

Visitas Subsecuentes

En cada consulta de control prenatal se realizó medición y monitorización de tensión arterial e interrogatorio intencionado de signos y síntomas de vasoespasmo (cefalea, tinitus, fosfenos, edema, dolor epigástrico).

Se solicitó carga rápida de glucosa entre la semana 24 y 28 del embarazo y, si existía alteración de la misma, curva de tolerancia.

Durante el segundo y tercer trimestres del embarazo se realizaron ultrasonidos obstétricos para valoración de edad gestacional y anatomía fetal.

Nacimiento

A la resolución del embarazo de cada paciente, se obtuvo el diagnóstico al egreso, vía de nacimiento, estado y peso del recién nacido y registro de las posibles complicaciones.

Definición de Variables

Se consideraron como **variables dependientes** las siguientes:

- Preeclampsia (variable dependiente principal, cualitativa).
- Otros estados hipertensivos del embarazo (variable dependiente secundaria, cualitativa).

Los criterios diagnósticos para definir los diferentes estados hipertensivos del embarazo, así como la Preeclampsia fueron los planteados por el Programa Nacional de la Hipertensión de los Estados Unidos de América, los cuales se indican a continuación:

Hipertensión Gestacional (HG). Presentar niveles de presión sistólica de 140 mmHg o mayor, o, presión diastólica mayor de 90 mmHg con mediciones separadas por un período de 6 horas, después de las 20 semanas de gestación en una mujer con valores previos de tensión arterial normales.

Preeclampsia. Presencia de hipertensión con proteinuria asociada con otros síntomas, tales como edema, problemas visuales, cefalea y dolor epigástrico, además de anormalidades detectadas en el laboratorio, como aumento de las enzimas hepáticas, trombocitopenia y proteinuria. Esta última se establece por la presencia de 0.3 g de proteínas urinarias en una muestra de 24 horas.

Preeclampsia Leve. Presión sistólica igual o mayor a 140 mmHg, o una diastólica de 90mmHg, confirmadas en dos tomas separadas por un mínimo de 6 horas, además ha de existir proteinuria de 300 mg, o superior, en proteínas urinarias de 24 horas, o proteínas de +1 o +2 en tirilla de análisis urinario.

Preeclampsia Severa. hipertensión con presiones sistólicas por encima de 160 mmHg y diastólicas de 110 mmHg, tomadas en dos ocasiones con un lapso de 6 horas entre las tomas, proteinuria de 5 g en orina de 24 horas, o de +3 con tirilla urinaria en 2 tomas al azar con una separación de al menos 4 horas entre las tomas, oliguria con un volumen de 500 ml en 24 horas, edema pulmonar o cianosis, alteraciones

hepáticas, visuales o cognitivas, dolor en epigastrio o en cuadrante superior derecho, trombocitopenia y retraso en el crecimiento intrauterino.

Las **variables independientes** analizadas son:

- Niveles séricos de homocisteína (expresados en $\mu\text{mol/L}$, cuantitativa).
- Niveles séricos de ácido fólico (expresados en nmol/L , cuantitativa).
- Mutaciones del Gen de la enzima MTHFR (cualitativa).
- Edad (expresada en años, cuantitativa).
- Edad (estratificada por grupos de edad, cualitativa).
- Aumento de peso (expresado en Kg: diferencia entre el peso corporal inicial y final, cuantitativa).
- Paridad (expresada en grupos: primíparas vs multíparas; cualitativa).
- Antecedentes de preeclampsia.

Criterios de Inclusión

1. Pacientes cursando embarazo del primer trimestre que acudan al control prenatal.
2. Pacientes que consintieran participar en el protocolo y lo expresaran mediante la firma del consentimiento informado.

Criterios de No Inclusión

1. Pacientes con antecedentes de hipertensión previa.
2. Enfermedad cardiovascular.
3. Diabetes Mellitus.
4. Enfermedades crónico degenerativas.
5. Embarazo múltiple.
6. Tratamiento con drogas antifolatos, como metrotexate o antiepilépticos.
7. Enfermedad renal.

8. Pacientes mayores de 40 años.

Criterios de Exclusión

1. Pacientes que no hayan consumido el medicamento de forma adecuada.
2. Incumplimiento a sus visitas de control prenatal.
3. Pacientes que culminaron su embarazo en otra Institución de Salud.
4. Pacientes que hayan renunciado a su participación en el estudio.

Método Analítico

Complemento de Ácido Fólico

Las muestras de ácido fólico son preparaciones del Laboratorio A.F. Valdecasas, suministrados como lotes de cantidades específicas de 1 y 5 mg. A las pacientes se les entregaba el medicamento y una hoja de recordatorio de tomas (Anexo 1); en cada consulta se les proporcionaba una nueva dotación, realizando el control prenatal de manera habitual.



Figura 1. Presentación de ácido fólico por la compañía Valdecasas.

Medición de Folatos, Homocisteína y Polimorfismo de la MTHFR

Durante la semana 12 y 26 de gestación, se obtuvieron las muestras para medición basal de ácido fólico, homocisteína y polimorfismo genético de la MTHFR de acuerdo a los siguientes procedimientos:

Determinación de Homocisteína.¹²⁸ Se obtuvo una muestra de 5 ml de sangre por punción venosa; para poder realizar la determinación de homocisteína, la sangre fue centrifugada a 4.300 rpm durante 10 minutos a 4°C; se separó el plasma (obtenido de sangre anticoagulada con EDTA) y fue colocado en un tubo de plástico; se almacenó a -30°C hasta su procesamiento. Se utilizaron 150 microlitros de plasma para la determinación por Inmunoensayo de Fluorescencia Polarizada (FPIA) con estuches marca “ABBOTT IMx Homocisteína” y se cuantificó en el analizador de Autoinmunoensayos IMx System modelo 8389-03. Valores de referencia: 5-15 $\mu\text{mol/L}$ con una sensibilidad analítica de 0.5 $\mu\text{mol/L}$.

Medición de Folatos. En todos los casos, se obtuvo una muestra de 5 ml por punción venosa, previa limpieza del pliegue de flexión del codo con alcohol etílico. La muestra fue colocada en un tubo con EDTA como anticoagulante al inicio y al final del estudio. Se determinó el hematocrito y después se tomó una alícuota de 0.1 ml y se añadieron 2 ml de ácido ascórbico al 1%, preparado inmediatamente antes de la dilución, para hemolizar las células sanguíneas y cuantificar el folato intraeritrocitario; durante todo el proceso las muestras fueron protegidas de la luz. Los 4.9 ml restantes fueron centrifugados a 1500 rpm durante 10 minutos, obteniéndose el plasma para la medición de folatos y vitamina B12. Las muestras se colocaron en tubos de plástico y se mantuvieron a -35°C. (Fig. 5)

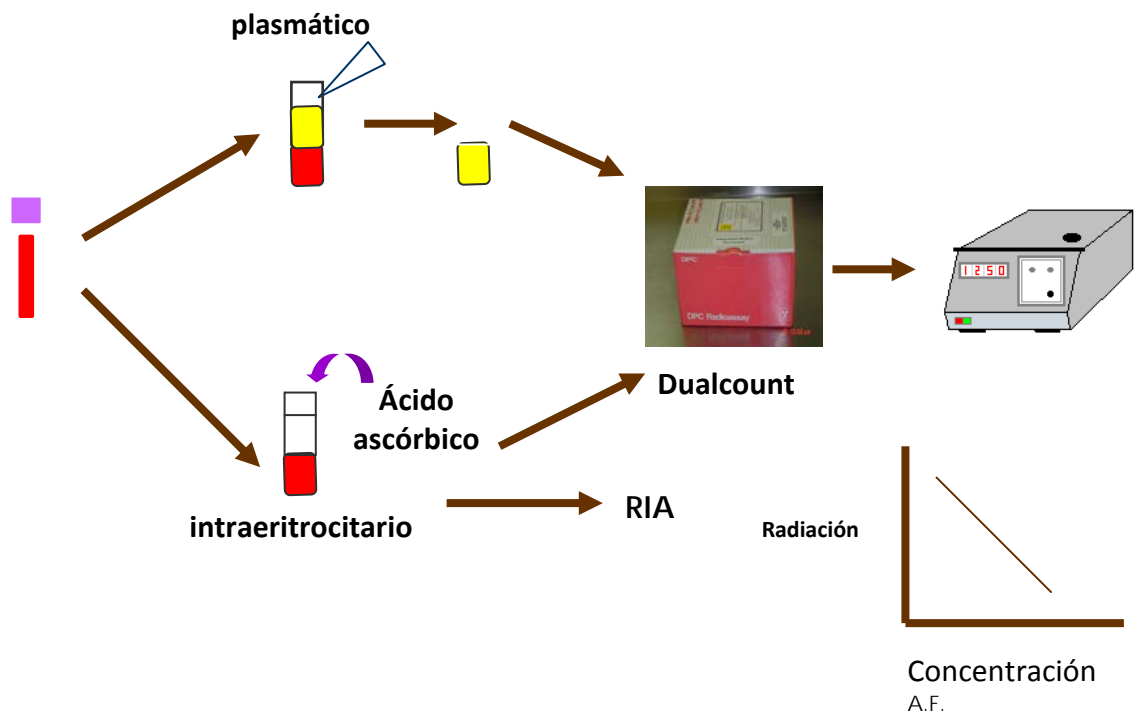


Figura 2. Análisis de folatos. Dual Count Vitamina B12 y Folatos. Siemens.

Las determinaciones de folato y vitamina B12 se realizaron por radioinmunoensayo (RIA) de fase sólida (Dual Cont) obtenido de *Diagnostic Products Corporation* (Los Ángeles, California E. U. A.), éstos incluyen un control liofilizado y controles CONG DPC con controles bajo, medio y alto para ambas vitaminas. Los valores de folato plasmático y vitamina B12 fueron tomados directamente de la curva estándar. El valor intraeritrocitario se obtuvo multiplicando por el factor de dilución dividido entre el hematocrito. El valor de referencia del folato plasmático es de 0.0294-0.038 nmol/L, el de folato intraeritrocitario de 396.4-1585.8 nmol/L, y el valor de referencia de la vitamina B 12 es de 148-701 pmol/L.

Análisis del Polimorfismo del Gen de la Enzima MTHFR. La MTHFR es una flavoproteína esencial para el mantenimiento de la metionina sintetasa.¹²⁹ La mutación de la MTHFR consiste en una sustitución de alanina por valina en el codón 677 de la enzima y genera un sitio HinfI en el gen, por lo que puede ser identificada

por PCR-RFLP's (reacción en cadena de la polimerasa y restricción de fragmentos de longitud polimórfica).

Se tomaron 5 ml de sangre, previo ayuno y se mantuvieron en refrigeración a 4°C hasta su determinación, la extracción de ADN se realizó mediante la técnica de TSNT. La cantidad de ADN se cuantificó en geles de agarosa al 1% en el fotodocumentador Gel-Doc 2000. Para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se utilizaron los iniciadores MTHFR-1 (5`-TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGA-3`) (3`-AGGCGTCTGTGGAAGAGGAATG-5`); se analizaron 5 µl del producto amplificado en geles de agarosa al 1%, esperando obtener una banda de 198 pares de bases (pb). El resto del amplificado se sometió a digestión con la enzima HinfI, a 37°C durante 12 horas. Posteriormente, se tomaron 7 µl del producto de la digestión y se analizaron en geles de poliacrilamida al 12% en condiciones no desnaturalizantes. La sustitución de alanina por valina de la forma mutante crea un sitio de restricción para la enzima HinfI, por lo que el producto amplificado de 198 pb se dividió en un fragmento de 175 pb y otro de 23 pb, teñidos con bromuro de etidio. Este último fragmento, dado su tamaño corto, se perdió al correr el gel. En individuos homocigotos sanos (C/C) sólo se observa un fragmento que mide 198 pb, en los heterocigotos (C/T) se generan dos fragmentos, uno de 198 pb y otro de 175 pb, y en el homocigoto (T/T) para la mutación, se produce un solo fragmento de 175 pb.

La genotipificación de la MTHFR se llevó a cabo con la técnica de Donnelly and Rock (Figs. 6,7).

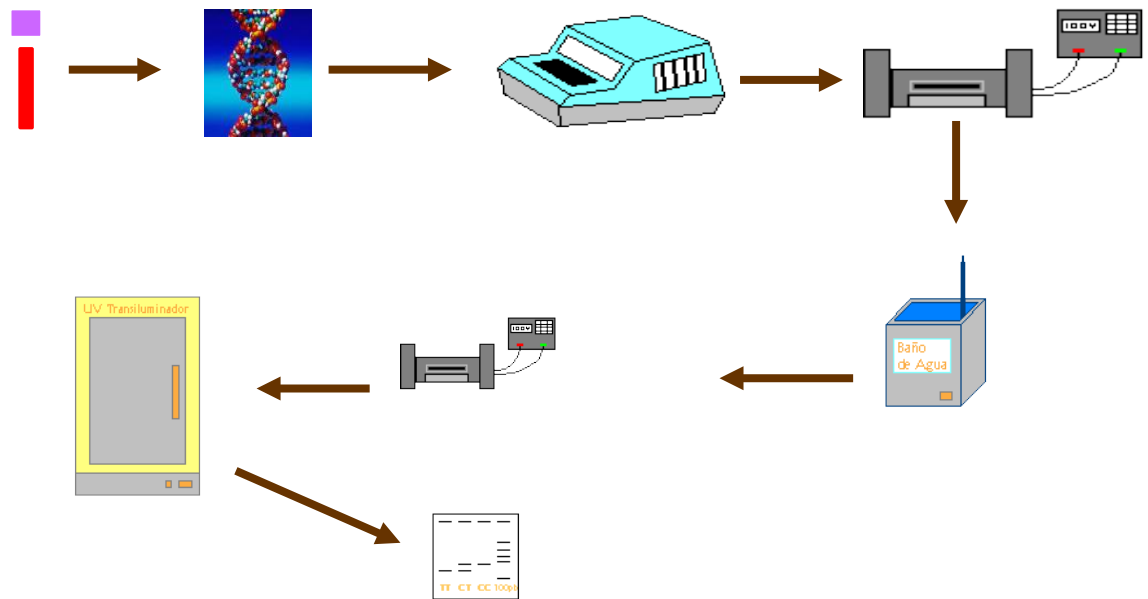


Figura 3. Genotipificación de la mutación de la MTHFR.

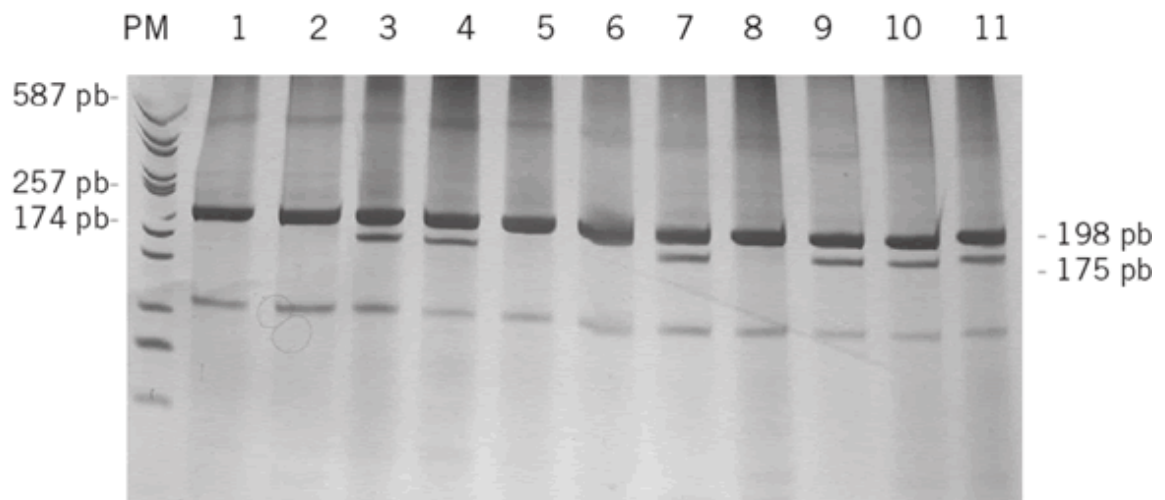


Figura 4. Genotipos de los pacientes obtenidos por análisis de PCR/RFLP en gel de poliacrilamida al 15% en el diagnóstico de la mutación C677T de la enzima MTHFR. Las líneas 1, 2, 5, 6 y 8 presentan muestras de pacientes homocigotos normales (677CC) por presentar solamente la banda de 198 pares de base; líneas 3, 4, 7, 9, 10 y 11 presentan muestras de heterocigotos (677CT) por presentar las bandas de 198 y 175 pares de base.

Determinación del Tamaño de la Muestra

El tamaño de la muestra se obtuvo utilizando la fórmula para el cálculo del tamaño de muestra para un ensayo clínico. Ya que la prevalencia de la enfermedad hipertensiva gestacional varía de país a país, incluso de estado a estado, reportándose prevalencias promedio para México del 7.29% con una precisión del 0.05, se esperaría encontrar una prevalencia para México entre 2 y 12%. Por ello, se debe encontrar la proporción estimada de cada uno de los grupos que permita considerar como significativamente diferentes los datos por fuera de este rango.

$$n = \frac{(Z\alpha\sqrt{p_1q_1} + Z\beta\sqrt{p_2q_2})^2}{(p_1 - p_2)^2}$$

Utilizando la fórmula para un ensayo clínico etapa 2, con un valor $z\alpha$ de 1.96 con nivel de significancia del 95% para dos colas, y un valor $z\beta$ de 0.84 con una potencia del 80%, y una proporción esperada de 0.12 para un grupo y de 0.02 para el otro, se requieren 55 sujetos de estudio para cada tratamiento.

Consideraciones Éticas

Este protocolo de investigación fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León con el registro: GI10-006, y es adecuado a los principios éticos de las Buenas prácticas Clínicas y a las regulaciones nacionales vigentes. Además, se han mantenido de forma confidencial los datos sensibles, dando cumplimiento a las regulaciones establecidas por el Instituto de Transparencia de la Información. Todas las pacientes firmaron el Consentimiento Informado (Anexo 3) de forma apropiada, consignando en el expediente clínico el proceso y dejando aclarada cualquier tipo de duda.

Método Estadístico

Análisis Descriptivo

Los resultados obtenidos se ingresaron en una base de datos desarrollada en el programa Excel 2010 y, posteriormente, se analizaron mediante el programa SPSS en su versión 20 (SPSS, Inc, Armon; NY).

Las variables cualitativas se presentan con su distribución de frecuencias y porcentajes, las variables cuantitativas previa comprobación de su distribución con la prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov Smirnov se describen con media y desviación estándar (DE) y las que no siguen una distribución normal con mediana y rango intercuartil (RIQ).

Análisis Univariado Comparativo de Factores de Riesgo para Trastorno Hipertensivo del Embarazo entre los Grupos Divididos por Dosis de Ácido Fólico

Se evaluó la asociación entre variables cualitativas con la prueba *Chi*-cuadrado o Test exacto de Fisher para tablas 2x2. La comparación de medias se realizó mediante la prueba *t* de Student para muestras independientes, o U de Mann Whitney en el caso de variables no paramétricas; el estudio de la normalidad se realizó mediante el test de bondad de ajuste de Kolmogorov – Smirnov.

Estudio de las Variables Independientes con cada una de las Variables Dependientes

Para cada una de las variables dependientes se ajustó un modelo de regresión logística binaria para estudiar las variables independientes relacionadas con cada evento. Para las variables numéricas se determinaron los valores de referencia normales, bajos y elevados para poder crear variables ficticias (dummy), al igual que para cada una de las variables politómicas. Se introdujeron en el modelo aquellas variables consideradas como factores de riesgo que en el análisis univariado presentaron un valor de $p \leq 0.05$, o aquellas que el marco teórico justificara su uso.

VARIABLES EVALUADAS EN LOS MODELOS DE REGRESIÓN LOGÍSTICA:

VARIABLES DEPENDIENTES:

- Preeclampsia (variable dependiente principal, cualitativa).
- Trastorno Hipertensivo del Embarazo (variable dependiente secundaria, cualitativa).

VARIABLES INDEPENDIENTES:

- Homocisteína baja (niveles séricos bajos de homocisteína, menores a 5 micromoles por litro, cualitativa).
- Homocisteína normal (niveles séricos normales de homocisteína, entre 5 y 15 micromoles por litro, cualitativa).
- Homocisteína alta (niveles séricos elevados de homocisteína, mayores de 15 micro moles por litro, cualitativa).
- Ácido fólico (niveles intraeritrocitarios de ácido fólico: 0 normal, 1 elevado, cualitativa).
- Aumento de peso inadecuado (aumento de peso durante el embarazo según su Índice de Masa Corporal inicial: 0 adecuado, 1 inadecuado, cualitativa).
- Proteinuria (niveles elevados de proteínas en orina: 0 ausente, 1 presente, cualitativa).
- Grupo de ácido fólico (dosis diaria de ácido fólico administrada: 0=1 mg, 1=5 mg, cualitativa).
- Antecedente de preeclampsia (antecedente de preeclampsia: 0 ausente, 1 presente, cualitativa).
- Primigesta (antecedente de paridad: 0 múltipara, 1 primigesta, cualitativa).
- Edad Ideal (edad de la madre gestante: 0=> de 34 años y < de 20 años, 1=20-34 años, cualitativa).

- Menores de 20 (edad de la madre gestante: 0=más de 19 años, 1=< 20 años, cualitativa).
- Mayores de 34 años (edad de la madre gestante: 0=<34 años, 1=>34 años, cualitativa).

En todos los contrastes de hipótesis se rechazó la hipótesis nula con un error de tipo I o error $\alpha \leq 0.05$.

ANEXO 1

HOJA DE REGISTRO DE ÁCIDO FÓLICO



Julio

Instrucciones:

Marque **SI** tomo el medicamento o **NO** en caso contrario.

lun..	mar..	mié..	jue..	vie..	sáb..	dom..
1 <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	2 <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	3 <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	4 <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	5 <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	6 <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	7 <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No
8 <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	9 <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	10 <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	11 <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	12 <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	13 <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	14 <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No
15 <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	16 <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	17 <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	18 <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	19 <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	20 <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	21 <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No
22 <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	23 <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	24 <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	25 <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	26 <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	27 <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	28 <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No
29 <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	30 <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No	31 <input type="radio"/> Si <input type="radio"/> No				

ANEXO 2

07/2010



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
HOSPITAL UNIVERSITARIO
PROTOCOLO ACIDO FÓLICO-PREECLAMPSIA

No. PACIENTE:		
GRUPO:	A	B

FICHA DE IDENTIFICACIÓN

FECHA	D	M	A		
NOMBRE COMPLETO					
DIRECCION					
COLONIA					
CIUDAD					
CODIGO POSTAL					
TELEFONO (s)					
FECHA DE NACIMIENTO	D	M	A		
ESTADO CIVIL	CASADA	SOLTERA	UNION LIBRE	DIVORCIADA	VIUDA
OCUPACION	ESTUDIANTE	EMPLEADA	HOGAR	PENSIONADA	OTRA
RELIGION	CATOLICA	CRISTIANA	EVANGELISTA	JUDIA	OTRA

ESTUDIO SOCIOECONÓMICO

ESCOLARIDAD	PRIMARIA	SECUNDARIA	PREPARATORIA	LICENCIATURA	OTRA
LUGAR DE TRABAJO					
INGRESO DIARIO					
SERVICIOS MEDICOS	SSA	IMSS	ISSSTE	NINGUNO	OTRO

NUCLEO FAMILIAR (Gente que vive con ella)

PARENTESCO	EDAD	ESCOLARIDAD	OCUPACIÓN

TIPO DE VIVIENDA	PROPIA	RENTADA	OTRA
ZONA GEOGRAFICA	RURAL	URBANA	SUBURBANA

No. PACIENTE:

ANTECEDENTES GINECOBSTÉTRICOS

MENARQUIA	
RITMO	X
REGULAR	SI NO
FUM (dd/mm/aa)	
CONFIABLE	SI NO
ACOS PREVIO/EMB	SI NO

IVSA:	
CS:	
DOC:	AÑO: R:
VITAMINAS:	
VACUNAS:	
ANT. DE PREECLAMPSIA:	S / N

MPF/AÑO	DIU/	PASTILLAS/	PARCHES/	SPCB/	INYECC/	VASECT/	OTRO/
---------	------	------------	----------	-------	---------	---------	-------

GESTA:	PARTO:	CESÁREA:	ABORTO:	ECTÓPICO:	PREMATUROS:	HIJOS VIVOS:	MULTIPLES:
--------	--------	----------	---------	-----------	-------------	--------------	------------

AÑO	LUGAR	SEMANAS	PESO	SEXO	VIA DE NACIMIENTO	INDICACION
G1:				M / F	P / C	
G2:				M / F	P / C	
G3:				M / F	P / C	
G4:				M / F	P / C	
G5:				M / F	P / C	

No. PACIENTE:

ANTECEDENTES HEREDOFAMILIARES

ENFERMEDAD	(X)	PARENTEZCO
DIABETES MELLITUS		
HIPERTENSION ARTERIAL		
ALTERACIONES GENÉTICAS		
INFERTILIDAD		
TUBERCULOSIS		
PROBLEMAS DEL CORAZÓN		
PROBLEMAS DEL RIÑÓN		
CÁNCER		
OTRO		

ANTECEDENTES PERSONALES NO PATOLÓGICOS

	(X)	(ANTES, DURANTE O DESPUÉS DEL EMBARAZO)
TABACO		
ALCOHOL		
DROGAS		
TRANSFUSIÓN		INDICACIÓN:
ALERGIAS		ESPECIFICAR:

ANTECEDENTES PERSONALES PATOLÓGICOS

ENFERMEDAD	(X)	ESPECIFIQUE	AÑO DX	TRATAMIENTO	ACTUALMENTE
PROBLEMAS CARDÍACOS					
HIPERTENSIÓN ARTERIAL					
PROBLEMAS PULMONARES					
GASTRITIS/ULCERAS					
PROBLEMAS INTESTINALES					
PROBLEMAS EN EL RIÑÓN					
PROBLEMAS EN EL HÍGADO					
INFECCION GINECOLÓGICA					
ANEMIA					
OBESIDAD					
CÁNCER					
DEPRESIÓN					
ARTRITIS					

CIRUGIA	FECHA	TIPO/CAUSA
	1	
	2	
	3	

NOMBRE: _____

NO. PACIENTE: _____

GRUPO: _____

FECHA: _____

SEMANAS	CEFALEA	TINITUS	FOSFENOS	EDEMA	DOLOR EPIGASTRIO	NAUSEA	VOMITO	DIARREA	DISURIA	POLIAQUIURIA	TENESMO	DISNEA	FATIGA	SANGRADO	SLTV	TENSIÓN ARTERIAL	PESO	TALLA	IMC	ALTURA DE FONDO	POSICION Y PRESENTACION	FCF	ACTIVIDAD UTERINA	MOV. FETALES	SEMANAS/FUM	SEMANAS/US	GESTA	OTROS DIAGNÓSTICOS	
<12																													
12 A 16																													
>16 A 20																													
>20 A 24																													
>24 A 28																													
>28 A 32																													
>32 A 35																													
>35 A 37																													
>37																													
>38																													
>39																													
>40																													
>41																													

ULTRASONIDOS

FECHA	SEMANAS	FECHA	ACT	FECHA	ACT	FECHA	ACT	FECHA	ACT	FECHA	ACT	FECHA	ACT	FECHA	ACT
US1/															
US2/															
US3/															
US4/															
US5/															

SEMANA 12		
MEDICIONES	FECHA	RESULTADO
ÁCIDO FÓLICO		
HOMOCISTEINA		
MTFHR		

SEMANA 26		
MEDICIONES	FECHA	RESULTADO
ÁCIDO FÓLICO		

OBSERVACIONES: _____

ANEXO 3



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN MÉDICA
TÍTULO DEL PROTOCOLO:

Disminución de preeclampsia mediante la administración temprana de 5-mg de ácido fólico en la población noreste de México

Investigador principal: DRA. HILDA CRISTINA OCHOA BAYONA

Sede donde se realizará el estudio: Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González"

Nombre del paciente: _____

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación médica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto. Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO: Prevenir el alto índice de incidencia de la enfermedad y su asociación a complicaciones que pueden conllevar a muertes maternas.

OBJETIVO DEL ESTUDIO: Disminuir la incidencia de preeclampsia y procurar el bienestar materno-fetal con un control prenatal adecuado.

BENEFICIOS DEL ESTUDIO:

En estudios realizados anteriormente por otros investigadores se ha observado que: la ingesta de vitaminas y antioxidantes pueden reducir en cierto porcentaje la incidencia de preeclampsia.

Este estudio permitirá que en un futuro otros pacientes puedan beneficiarse del conocimiento obtenido al comprobar que la ingesta de una dosis mayor de ácido fólico disminuya la incidencia de la enfermedad.

PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

En caso de aceptar participar en el estudio se le realizarán algunas preguntas sobre usted, sus hábitos y sus antecedentes médicos, se llevará el control prenatal habitual, y además de ello, se le realizarán exámenes de sangre para medición basal de ácido fólico, homocisteína y polimorfismo genético de la MTHFR (metiltetrahidrofolato reductasa).

DEPARTAMENTO DE GINECO-OBSTETRICIA

Av. Francisco I. Madero pte. s/n y Av. Gonzalitos, Col. Mitras Centro, C.P. 64460
Monterrey, N.L., México Apartado Postal 1-4469, Tel: (81) 8346 3443 (directo),
Conmutador 8346 7800 ext. 157-206, Fax: (81) 8346 3443



COMITÉ DE ÉTICA





UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO

RIESGOS ASOCIADOS CON EL ESTUDIO:

Este estudio consta de las siguientes fases

La primera implica inicio del control prenatal, con toma de sangre para exámenes y valores base, donde se puede presentar equimosis (moretones) al momento de la extracción de sangre.

La segunda parte del estudio consiste en el seguimiento del curso del embarazo, detectando alteraciones y tratando las mismas, además de un adecuado apego a la ingesta de ácido fólico.

Al finalizar el embarazo, ver la incidencia de enfermedad en ambos grupos, comparando las variables descritas.

ACLARACIONES

- Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria.
- No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la invitación.
- Si decide participar en el estudio puede retirarse en el momento que lo desee, -aun cuando el investigador responsable no se lo solicite-, informando las razones de su decisión, la cual será respetada en su integridad.
- No tendrá que hacer gasto alguno durante el estudio.
- No recibirá pago por su participación.
- En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo, al investigador responsable. La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación de cada paciente, será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores.
- Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la

Carta de Consentimiento Informado anexa a este documento.

En caso de dudas o aclaraciones comunicarse al:
0448112165404, con la Dra. Karina Lissete De Luna Gutiérrez
0448110800055, con la Dra. Hilda Cristina Ochoa Bayona

SUB-DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN

COMITÉ DE ÉTICA
COMITÉ DE INVESTIGACIÓN

DEPARTAMENTO DE GINECO-OBSTETRICIA
Av. Francisco I. Madero pte. s/n y Av. Gonzalitos, Col. Mitras Centro, C.P. 64460
Monterrey, N.L., México Apartado Postal 1-4489, Tel: (81) 8346 3443 (directo),
Conmutador 8346 7800 ext. 157-206, Fax: (81) 8346 3443



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

PROTOCOLO

Disminución de preeclampsia mediante la administración temprana de 5 mg de ácido fólico en la población noreste de México

Yo, _____ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

Firma del participante o del padre o tutor

Fecha

Testigo

Fecha

Testigo

Fecha

Esta parte debe ser completada por el Investigador (o su representante):

He explicado al Sr(a) _____ la naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apego a ella.

Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento.

Firma del investigador

Fecha

DEPARTAMENTO DE GINECO-OBSTETRICIA
Av. Francisco I. Madero pte. s/n y Av. Gonzalitos, Col. Mitras Centro, C.P. 64460
Monterrey, N.L., México Apartado Postal 1-4469, Tel: (81) 8346 3443 (directo),
Conmutador 8346 7800 ext. 157-206, Fax: (81) 8346 3443



SUBDIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN

COMITÉ DE ÉTICA



RESULTADOS

ESTUDIO DESCRIPTIVO

Se estudiaron un total de 110 mujeres pertenecientes a la consulta de ginecología y obstetricia del Hospital Universitario "Jose Eleuterio Gonzalez" de Monterrey Nuevo León, México, que acudieron a control prenatal en su primer trimestre de embarazo, no incluyéndose aquellas con antecedente previo de hipertensión arterial, enfermedad cardiovascular, diabetes mellitus, embarazo múltiple actual, tratamientos con drogas antifolatos, enfermedad renal diagnosticada, ni mayores de 40 años de edad.

Por lo tanto el estudio estadístico se ha realizado a las 110 pacientes que comenzaron su control prenatal desde su primer trimestre de embarazo hasta el alta hospitalaria post parto.

Características de la Población

La población de estudio se dividió en dos grupos de 55 pacientes cada uno: el **Grupo A**, con administración de 1 mg de ácido fólico diariamente a partir del primer trimestre del embarazo y hasta la resolución del mismo, y **Grupo B**, con administración de 5 mg de ácido fólico e iguales características en la toma.

En ambos grupos se encontró homogeneidad en todas las variables, tanto en las socio-demográficas (estado civil, origen, residencia, nivel de estudios, servicio médico, etc.), como en los antecedentes personales patológicos y no patológicos, y en los factores de riesgo para enfermedad hipertensiva gestacional (Tablas 1 y 2, Figs. 8-13).

De otra parte, en lo referente al lugar de origen de las pacientes, el 83% del Grupo A eran oriundas del Estado de Nuevo León, frente al 81.1% del Grupo B. Al evaluar la presencia de antecedentes heredofamiliares relevantes, tales como diabetes, hipertensión, infertilidad, tuberculosis, cáncer y enfermedades cardíacas,

tiroideas o renales, al igual que la ingesta de tabaco, alcohol y drogas, o la existencia de transfusiones sanguíneas previas, alergias, enfermedades intestinales, cirugías, ciclo menstrual regular y uso de anticonceptivos hormonales previos, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos.

En la Tabla 1 se describen los valores iniciales del estudio en cuanto a edad, peso IMC, tensión arterial, antecedentes de preeclampsia y número de gestaciones, mostrando la homogeneidad inicial entre ambos grupos de estudio.

Tabla 1.				
TABLA DESCRIPTIVA (HOMOGENEIDAD INICIAL)				
Variable		Grupo 1mg (n=55)	Grupo 5mg (n=55)	P
Edad		26.53 ± 7.46	24.62 ± 6.86	0.17
Peso Inicial		62.45 ±12.78	61.97 ± 10.14	0.83
IMC Inicial		24.62 ± 4.69	24.35 ± 3.80	0.75
TA Sistólica Inicial		100 (100-110)	100 (100-110)	0.38*
TA Diastólica Inicial		70 (60-70)	70 (60-70)	0.91*
Antecedente de Preeclampsia	Sí	2 (3.6%)	2 (3.6%)	1**
	No	53/96.4%	53/96.4%	
Gestación	Primigesta	24 (43.6%)	27 (49.1%)	0.72**
	Múltipara	31 (56.4%)	28 (50.9%)	

T de Student para muestras independientes (media y desviación estándar); *U de Mann Whitney (mediana y rango intercuartil); **Estadístico Exacto de Fisher; IMC: Índice de Masa Corporal; TA: Tensión Arterial.

La Tabla 2 muestra la comparación de los factores de riesgo para enfermedad hipertensiva del embarazo entre ambos grupos, volviendo a observar la homogeneidad de datos, sin diferencias significativas entre los dos grupos de estudio.

TABLA 2.
FACTORES DE RIESGO PARA EHG

Variable		Grupo 1mg (n=55)	Grupo 5mg (n=55)	*p
Edad <20		11 (20%)	12 (21.8%)	1
Edad >34		7 (12.7%)	4 (7.3%)	0.52
Edad Ideal 20 – 34		37 (67.3%)	39 (70.9%)	0.83
Gestaciones	Primigesta	24 (43.6%)	27 (49.1%)	0.70
	Múltipara	31 (56.4%)	28 (50.9%)	
Antecedente de Preeclampsia		2 (3.6%)	2 (3.6%)	1
Aumento de Peso Inadecuado		17 (30.9%)	26 (47.3%)	0.11
Proteinuria		4 (7.3%)	6 (10.9%)	0.74
Ac. Fólico Intra-Eritrocitario	Elevado	5 (9.1%)	6 (10.9%)	1
	Normal	50 (90.9%)	49 (89.1%)	
Homocisteína Normal		10 (18.2%)	4(7.3%)	0.15
Homocisteína Baja		44 (80%)	49 (89.1%)	0.29
Homocisteína Alta		1 (1.8%)	2 (3.6%)	1

*Test exacto de Fisher; EHG: Enfermedad Hipertensiva Gestacional.

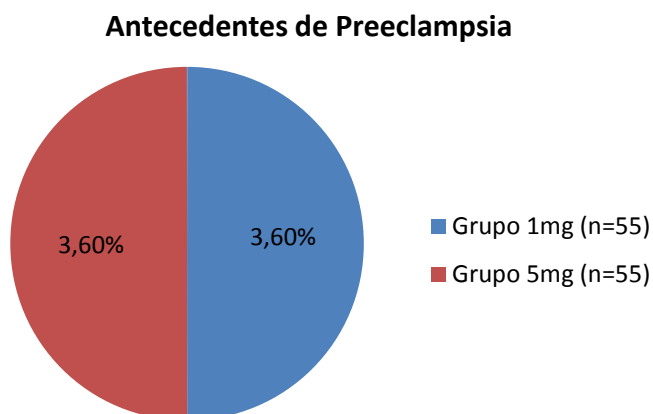


Figura 1. Distribución del factor de riesgo antecedentes de preeclampsia entre los dos grupos de estudio: Grupo que recibió 1 mg de ácido fólico y Grupo que recibió 5 mg de ácido fólico.

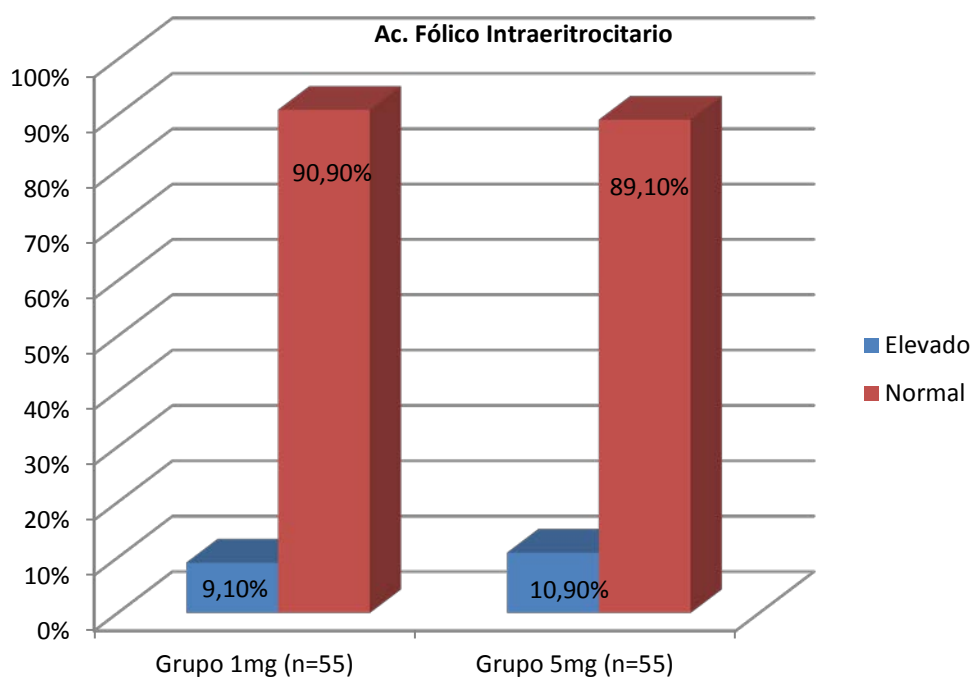


Figura 9. Distribución del factor de riesgo ácido fólico intraeritrocitario entre los dos grupos de estudio: Grupo que recibió 1 mg de ácido fólico y Grupo que recibió 5 mg de ácido fólico.

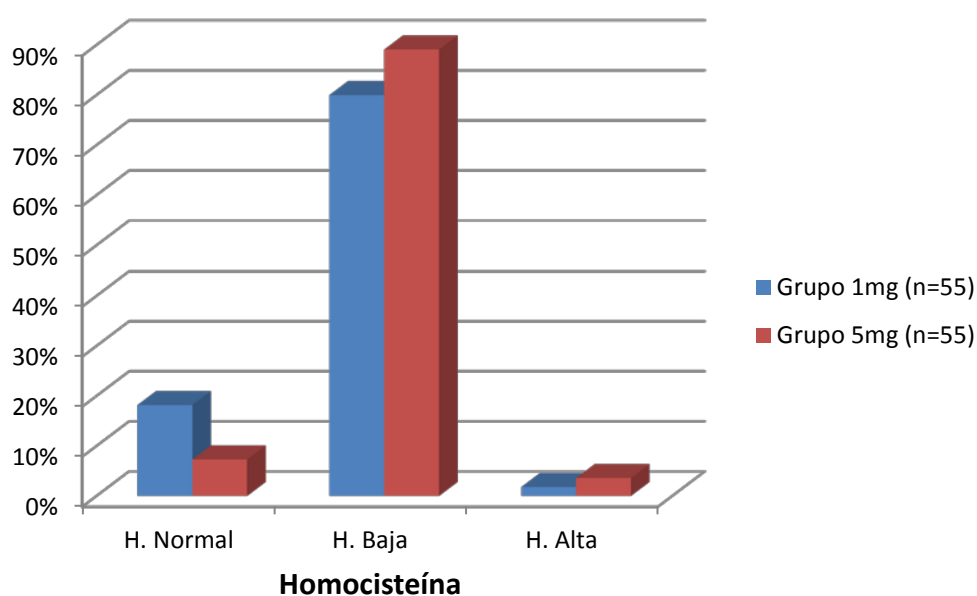


Figura 10. Distribución del factor de riesgo ácido fólico intraeritrocitario entre los dos grupos de estudio: Grupo que recibió 1 mg de ácido fólico y Grupo que recibió 5 mg de ácido fólico.

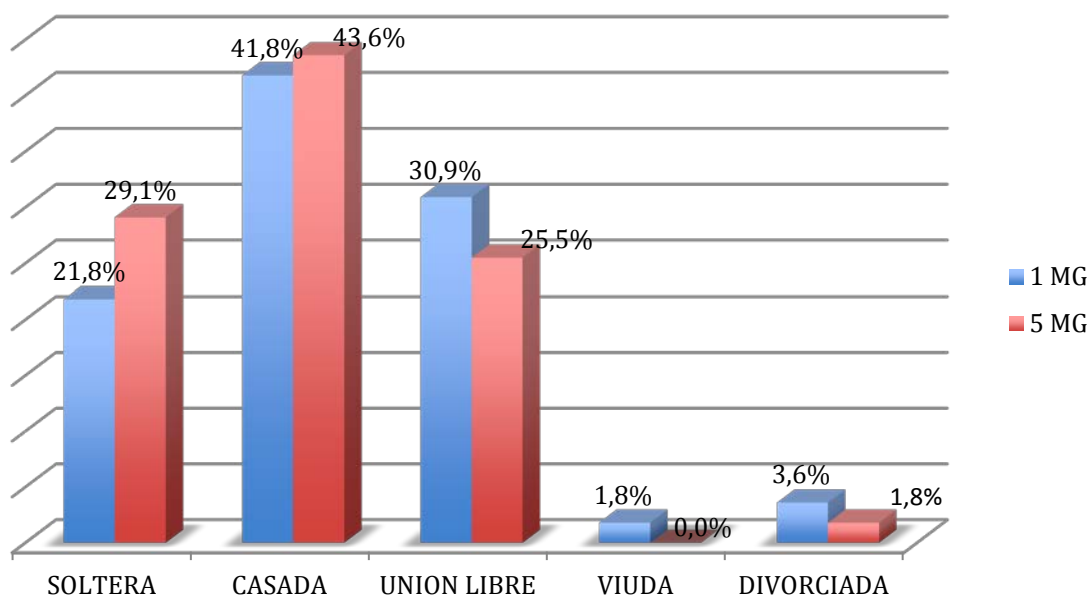


Figura 11. Distribución porcentual de la población en estudio, según grupo y estado civil. 1MG: Grupo que recibió 1 mg de ácido fólico; 5MG: Grupo que recibió 5 mg de ácido fólico. n=110 pacientes (55 por grupo).

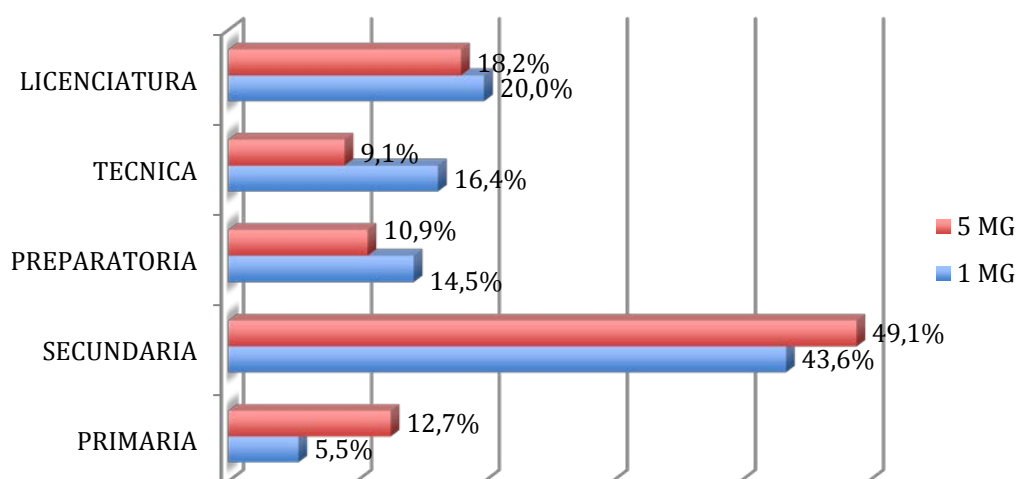


Figura 12. Distribución porcentual de la población en estudio, según grupo y nivel académico. 1MG: Grupo que recibió 1 mg de ácido fólico; 5MG: Grupo que recibió 5 mg de ácido fólico. n=110 pacientes (55 por grupo).

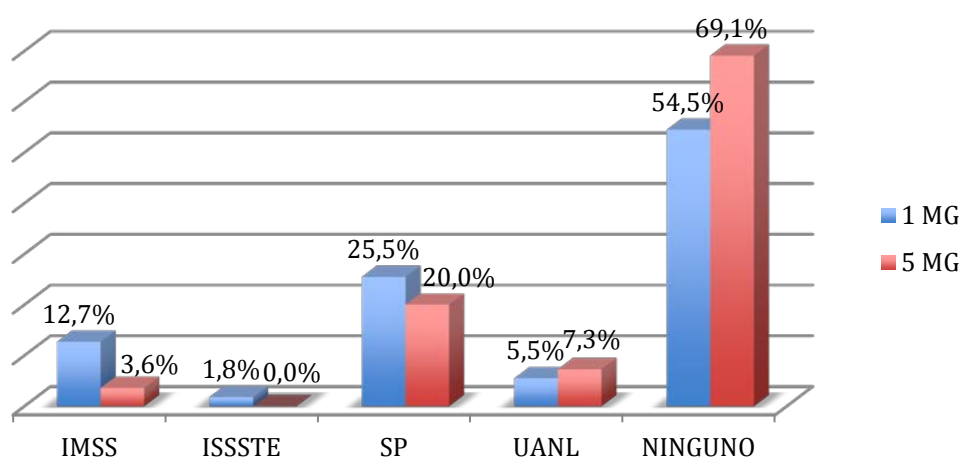


Figura 2. Distribución porcentual de la población en estudio, según grupo y servicio médico. 1MG: Grupo que recibió 1 mg de ácido fólico; 5MG: Grupo que recibió 5 mg de ácido fólico. IMSS: Instituto Mexicano del Seguro Social; ISSSTE: Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado; SP: Seguro Popular; UANL: Universidad Autónoma de Nuevo León. n=110 pacientes (55 por grupo).

De las 110 gestantes, 102 (92.7%) tuvieron un embarazo normo-evolutivo, 3 pacientes (2.7%) presentaron hipertensión gestacional, 1 (0.9%) presentó preeclampsia leve y 4 pacientes (3.6%) tuvieron preeclampsia severa, ninguna desarrolló síndrome de HELLP.

La variable de interés más importante, identificada como la proporción de enfermedad hipertensiva del embarazo, mostró diferencias aparentes entre ambos grupos, pero no llegaron a ser estadísticamente significativas ($p=0.06$) por el estadístico exacto de Fisher, observando un 2% de prevalencia de enfermedad hipertensiva en el grupo tratado con 1mg de ácido fólico frente a un 13% en el grupo tratado a dosis altas (Tabla 3; Figs. 14,15).

TABLA 3.						
Genotipo MTHFR, EHG y Homocisteína. Comparación entre los Grupos con Suplementación de 1mg y 5mg de Ácido Fólico						
Variable		GRUPO 1mg (n=55)	GRUPO 5mg (n=55)	P	OR	IC
MTHFR	C/C	15 (27.3%)	14 (25.5%)	0.96	---	---
	C/T	28 (50.9%)	28 (50.9%)		---	---
	T/T	12 (22.6%)	13 (23.6%)		---	---
EHG	Normo-evolutivo	54 (98.2%)	48 (87.3%)	0.09	---	---
	EHG	1 (1.8%)	7 (12.7%)	0.06	0.12	0.01-1.06
Tipo de EHG	Hipertensión Gestacional	0 (0%)	3 (5.5%)			
	Preeclampsia Leve	1 (1.8%)	1 (1.8%)			
	Preeclampsia Severa	0 (0%)	3 (5.5%)			
Homocisteína Inicial¹		3.74 (3.2-4.9)	3.87 (3.3-4.7)	0.54*		
Homocisteína Final¹		3.70 (3.0-4.6)	3.35 (2.6-4.1)	0.03*		

¹: $\mu\text{mol/L}$; Chi cuadrado de Pearson; Test exacto de Fisher para tablas de 2x2; *U de Mann Witney (mediana y rango intercuartil). EHG: Enfermedad Hipertensiva Gestacional; MTHFR: 5,10-metilentetrahidrofolato reductasa.

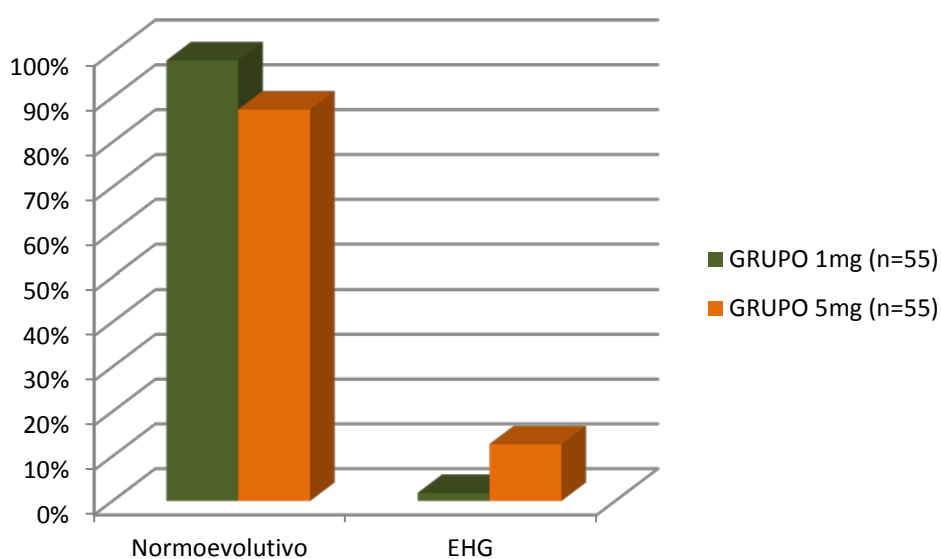


Figura 14. Distribución de las pacientes según el desarrollo del embarazo, normoevolutivo o con enfermedad hipertensiva gestacional (EHG), entre los dos grupos de estudio: Grupo que recibió 1 mg de ácido fólico y Grupo que recibió 5 mg de ácido fólico.

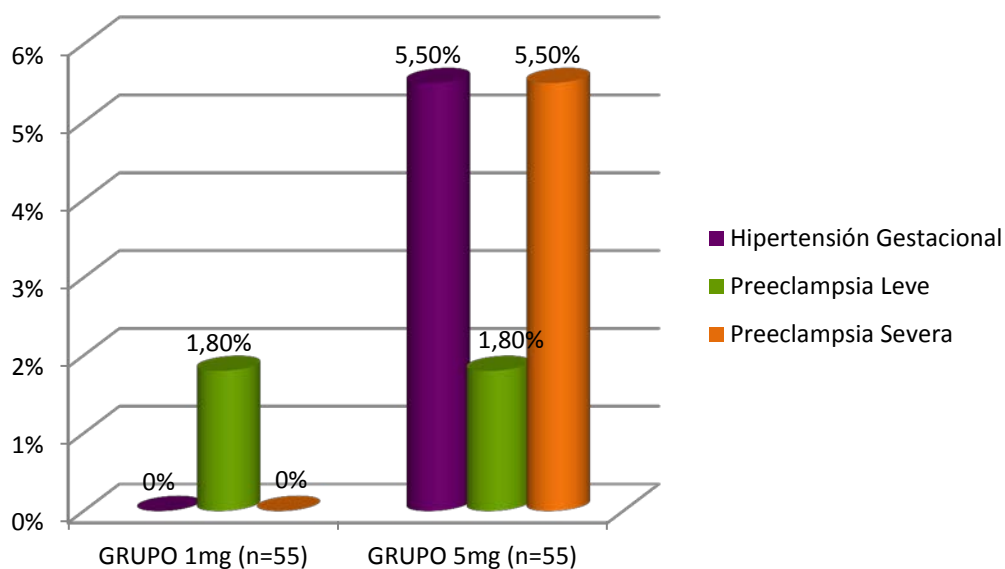


Figura 15. Distribución porcentual de las pacientes que desarrollaron enfermedad hipertensiva gestacional, distinguiendo los diferentes tipos, entre los dos grupos de estudio: Grupo que recibió 1 mg de ácido fólico y Grupo que recibió 5 mg de ácido fólico.

En relación con los valores de homocisteína, los iniciales fueron similares en ambos grupos, pero la homocisteína final fue mayor en el grupo de 1 mg con

respecto al grupo de 5 mg, siendo la diferencia estadísticamente significativa (Tabla 3; Fig. 16).

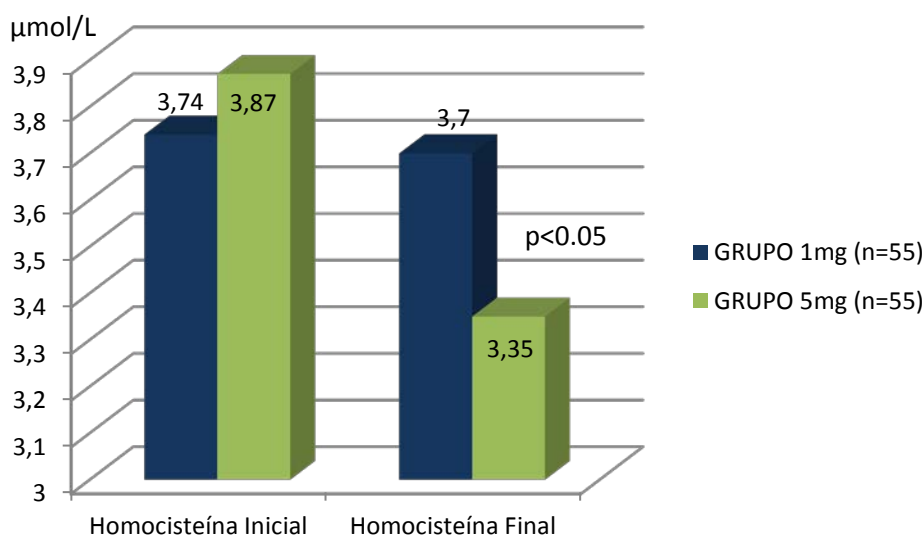


Figura 16. Comparación de los valores de homocisteína, inicial y final, entre los dos grupos de estudio: Grupo que recibió 1 mg de ácido fólico y Grupo que recibió 5 mg de ácido fólico.

El genotipo predominante de la enzima MTHFR en ambos grupos (1 mg y 5 mg) fue C/T, presentándose en 28 pacientes (50.9%) de cada grupo (Tabla 3; Fig. 17).

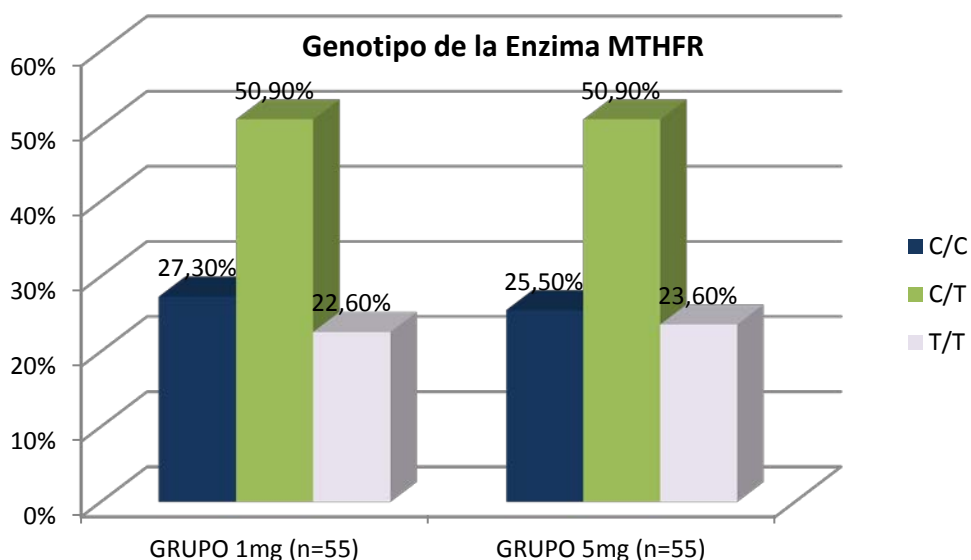


Figura 17. Distribución porcentual de los diferentes genotipos de la enzima MTHFR las pacientes que desarrollaron enfermedad hipertensiva gestacional, distinguiendo los diferentes tipos, entre los dos grupos de estudio: Grupo que recibió 1 mg de ácido fólico y Grupo que recibió 5 mg de ácido fólico.

Fin de la Gestación y Datos Perinatales

En cuanto al tipo de parto desencadenado en nuestra muestra se han obtenido los siguientes resultados, el 48.2% de las gestantes acabaron en parto eutócico, el 1.8% en parto instrumentado, y el 50% en cesárea. Las principales indicaciones de cesárea fueron: 22 pacientes (20%) por presentar desproporción céfalo-pélvica debido a estrechez pélvica, 12 (10.9%) por haber tenido una cesárea previa, 4 (3.6%) por sufrimiento fetal agudo, 3 (2.7%) por producto pélvico, y 3 (2.7%) a consecuencia de preeclampsia severa. El peso medio de los recién nacidos fue de 3227 g \pm 407.

ESTUDIO ANALÍTICO

Análisis Univariado

Al realizar el análisis de resultados hemos utilizado dos variables dependientes que son: Enfermedad Hipertensiva Gestacional y Preeclampsia.

Cada una de estas variables se ha comparado en las gestantes pertenecientes a los Grupos A y B, es decir, tratadas con 1 y 5 mg de ácido fólico, respectivamente; además, se han comparado aquellas con EHG contra las que no presentaban EHG, las variables independientes con las que han sido relacionadas son los factores de riesgo para EHG y preeclampsia.

Análisis Univariado para Enfermedad Hipertensiva Gestacional

Como se ha indicado en el análisis descriptivo de las 110 pacientes que han participado en el estudio, 8 (7.2%) han desarrollado enfermedad EHG y 5 (4.5%) preeclampsia.

Al analizar los factores de riesgo para EHG, como son ser primigesta, mayor de 34 años de edad o menor de 20 años, tener sobrepeso – obesidad, presentar alcoholismo y tabaquismo, o poseer una baja escolaridad, no se encontraron

diferencias estadísticamente significativas entre el grupo que presentó enfermedad hipertensiva (n=8) y el grupo que no presentó esta patología (n=102). Sólo la historia personal de preeclampsia mostró ser estadísticamente significativa ($p=0.02$), presentándose en el 25% de las pacientes con antecedentes de EHG; sin embargo, únicamente el 2% de las pacientes sin antecedentes de EHG mostraron preeclampsia.

El control prenatal no se consideró como un factor de riesgo, ya que las pacientes que se incluyeron en el estudio estaban en el primer trimestre del embarazo y debieron seguir un control prenatal estricto hasta su finalización (Tabla 4; Figs. 18-20).

Tabla 4.					
Factores de Riesgo entre Pacientes con EHG vs Embarazo Normoevolutivo					
Variable	EHG n=8	Normoevolutivo n=102	p	OR	IC (95%)
Edad <20 años	1 (12.5%)	22 (21.6%)	1	0.51	0.06-4.45
Edad >34 años	2 (25%)	9 (8.8%)	0.18	3.4	0.60-19.63
Edad Ideal (20 – 34 años)	5 (62.5%)	71 (69.6%)	0.70	0.72	0.16-3.23
Primigesta	3 (37.5%)	48 (47.1%)	0.72	0.67	0.15-2.97
Antecedente de preeclampsia	2 (25%)	2 (2%)	0.02	16.6	1.98-139.69
Aumento de Peso Inadecuado	5 (62.5%)	38 (37.3%)	0.25	2.80	0.63-12.41

Chi cuadrado de Pearson; Test exacto de Fisher para tablas 2x2; EHG = Enfermedad Hipertensiva Gestacional.

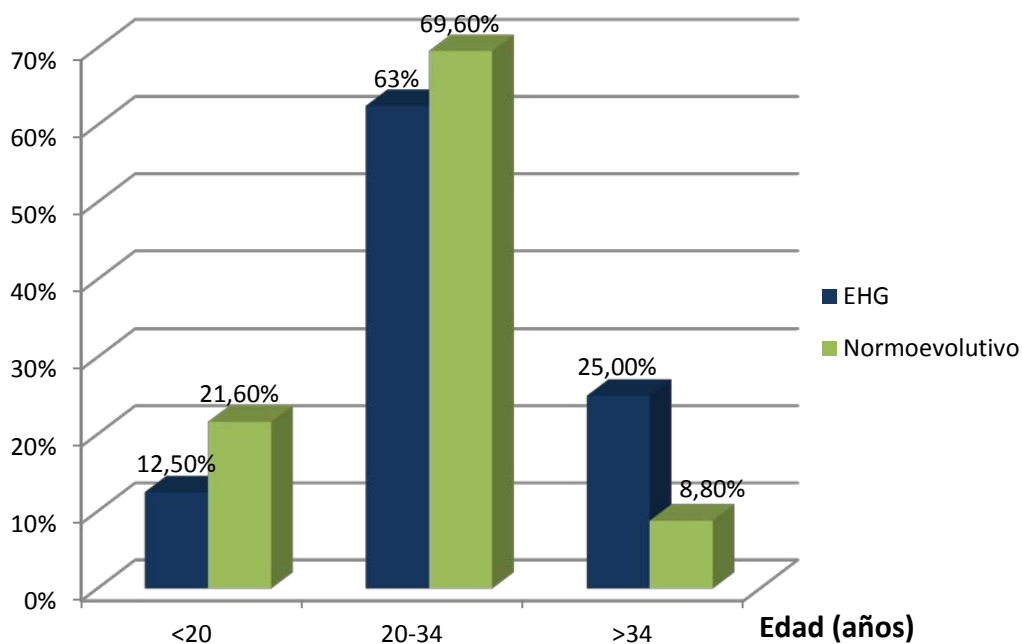


Figura 18. Distribución porcentual, de las pacientes que desarrollaron enfermedad hipertensiva gestacional y de las que presentaron un embarazo normoevolutivo, entre los diferentes grupos de edad.

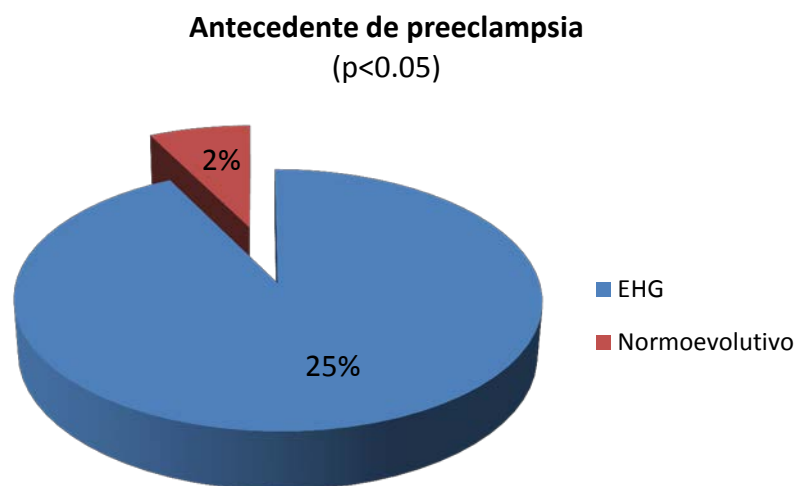


Figura 19. Distribución porcentual de las pacientes que tenían antecedente de preeclampsia, entre el grupo de pacientes que desarrolló enfermedad hipertensiva gestacional y el grupo que presentó un embarazo normoevolutivo.

Aumento de Peso Inadecuado

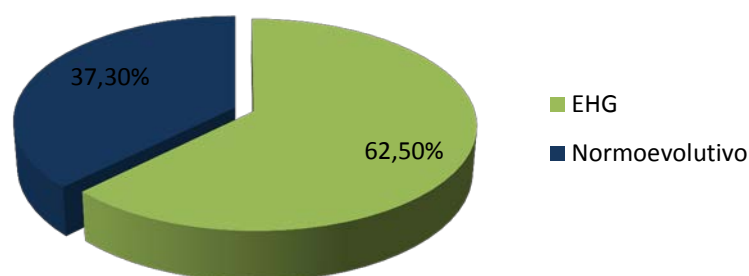


Figura 20. Distribución porcentual de las pacientes que mostraron un incremento de peso inadecuado, entre el grupo de pacientes que desarrolló enfermedad hipertensiva gestacional y el grupo que presentó un embarazo normoevolutivo.

Los niveles de folatos y vitamina B12 al inicio del tratamiento no mostraron significancia estadística alguna; sin embargo, en la segunda medición los niveles de ácido fólico fueron mayores en el Grupo B (tratado con 5 mg de ácido fólico), con diferencias estadísticamente significativas ($p=0.04$). Los niveles de vitamina B12 finales se mantuvieron similares en ambos grupos. (Tabla 5; Fig. 21).

TABLA 5. Comparación de Folatos y Vitamina B12 entre Pacientes con Suplementación de 1 y 5 mg de Ácido Fólico			
Variable	Grupo 1mg (n=55)	Grupo 5mg (n=55)	P
Ac. Fólico inicial ¹	795 (592.1-966)	824.4 (640.7-1071)	0.23
Ac. Fólico final ¹	1144.1 (884.5-1300.8)	1229.8 (1079.6-1481.8)	0.04
Vit. B12 Inicial ²	400.8 (272.7-553.1)	399.5 (291.3-552.3)	0.74
Vit. B12 Final ²	266.1 (198-338.5)	279 (220.1-392.9)	0.18

¹:nmol/L; ²: pmol/L; **t de Student para muestras independientes (media y desviación estándar; U de Mann Witney (mediana y rango intercuartil); Ac.: ácido; Vit.: vitamina.

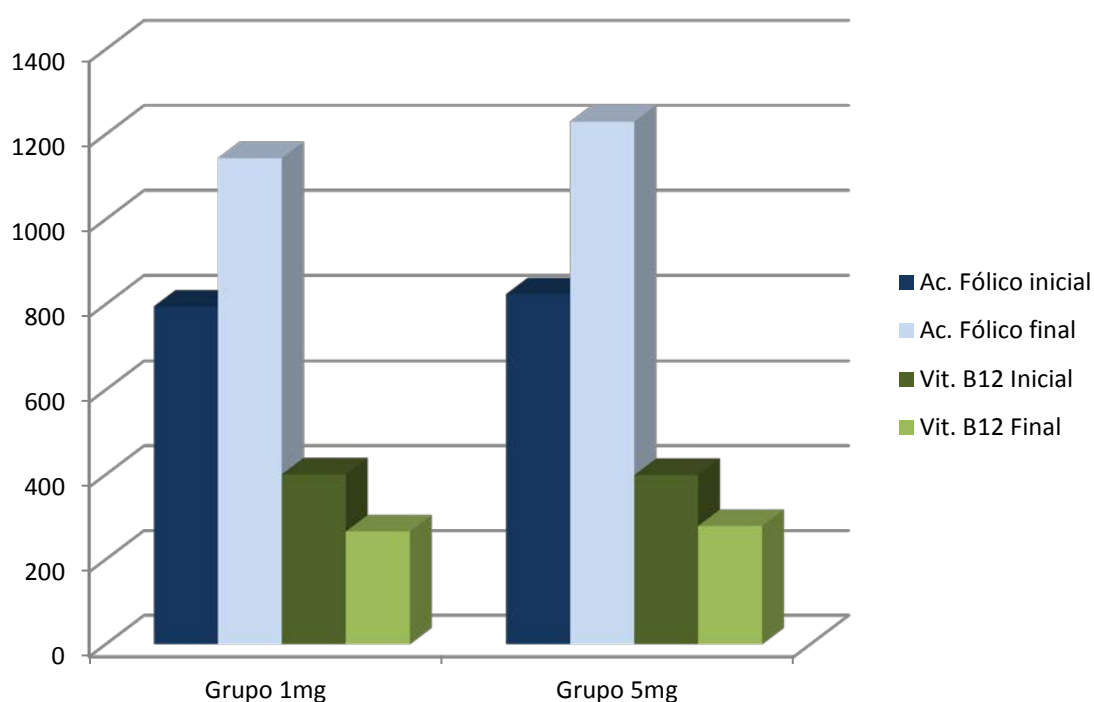


Figura 21. Comparación entre los niveles de ácido fólico inicial y final (nmol/L) y vitamina B12 inicial y final (pmol/L), entre los dos grupos de estudio: Grupo que recibió 1 mg de ácido fólico y Grupo que recibió 5 mg de ácido fólico.

Al hacer la comparación de los niveles de ácido fólico y vitamina B12 entre aquellos que padecieron EHG y aquellos que no, se observan diferencias estadísticamente significativas desde el inicio en los niveles séricos de ácido fólico ($p=0.008$), con una mediana para el grupo con EHG de 6.07, frente a 19.68 para el grupo que se mantuvo normoevolutivo; los valores de la última medición se mantuvieron semejantes. Además, en cuanto a los valores de vitamina B12, en la primera medición fueron mayores en el grupo con EHG, pero la diferencia no mostraba significación estadística; sin embargo, al terminar el estudio los valores de vitamina B12 siguieron siendo superiores, alcanzando una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.04$) (Tabla 6; Figs. 22,23).

TABLA 6.
Comparacion de Folatos, Vit.B12 y Homocisteina entre Pacientes con EHG y Embarazo Normoevolutivo.

Variable	EHG (n=8)	Normoevolutivo (n=102)	P
Ac. Fólico Sérico Inicial ¹	6.07 (5.34-8.35)	19.68 (15.23-21.62)	0.008*
Ac. Fólico Sérico Final ¹	6.15 (5.47-13.66)	20 (15.89-24.0)	0.005*
Ac. Fólico Intra-Eritrocitario Inicial ¹	831.1 ± 298.4	1251.5 ± 376.2	0.0001
Ac. Fólico Intra-Eritrocitario Final ¹	1207.9 ± 394.2	1104.8 ± 275	0.47
Vit. B12 Inicial ²	428.4 ± 189.3	516.9 ± 228	0.33
Vit. B12 Final ²	376.1 (284.9-572.2)	265.2 (204.5-355.4)	0.04*
Homocisteína Inicial ³	4.08 ± 1.3	4.39 ± 1.63	0.51
Homocisteína Final ³	3.49 (2.7-4.07)	3.44 (2.83-4.29)	0.95*

¹:nmol/L; ²: pmol/L; ³: μmol/L; *U de Mann Witney (mediana y rango intercuartil); t de Student para muestras independientes (media y desviación estándar); EHG= Enfermedad Hipertensiva Gestacional; Ac.: ácido; Vit.: vitamina.

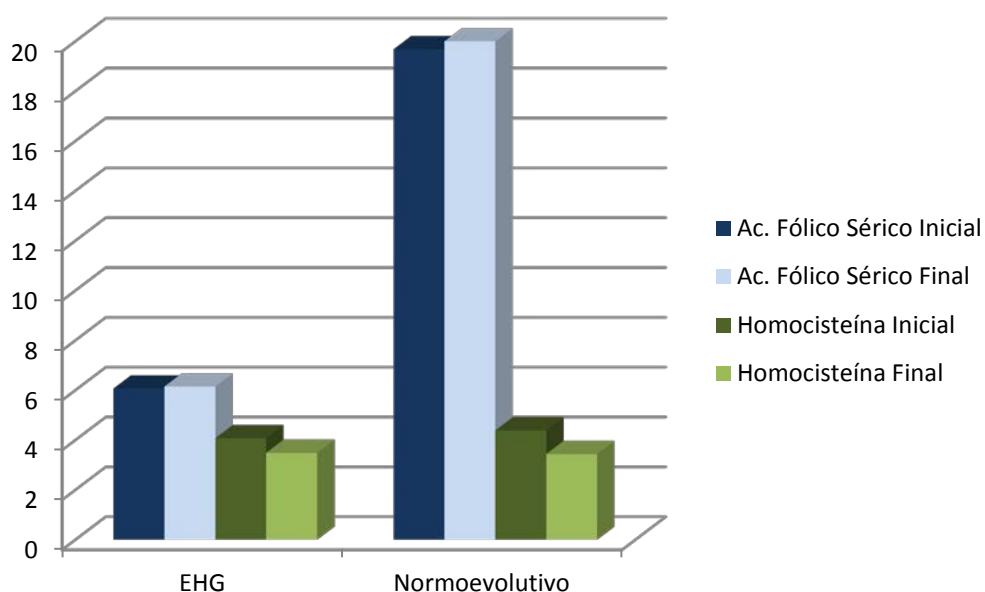


Figura 22. Comparación entre los niveles de ácido fólico sérico inicial y final y homocisteína inicial y final, entre el grupo de pacientes que desarrolló enfermedad hipertensiva gestacional y el grupo que presentó un embarazo normoevolutivo.

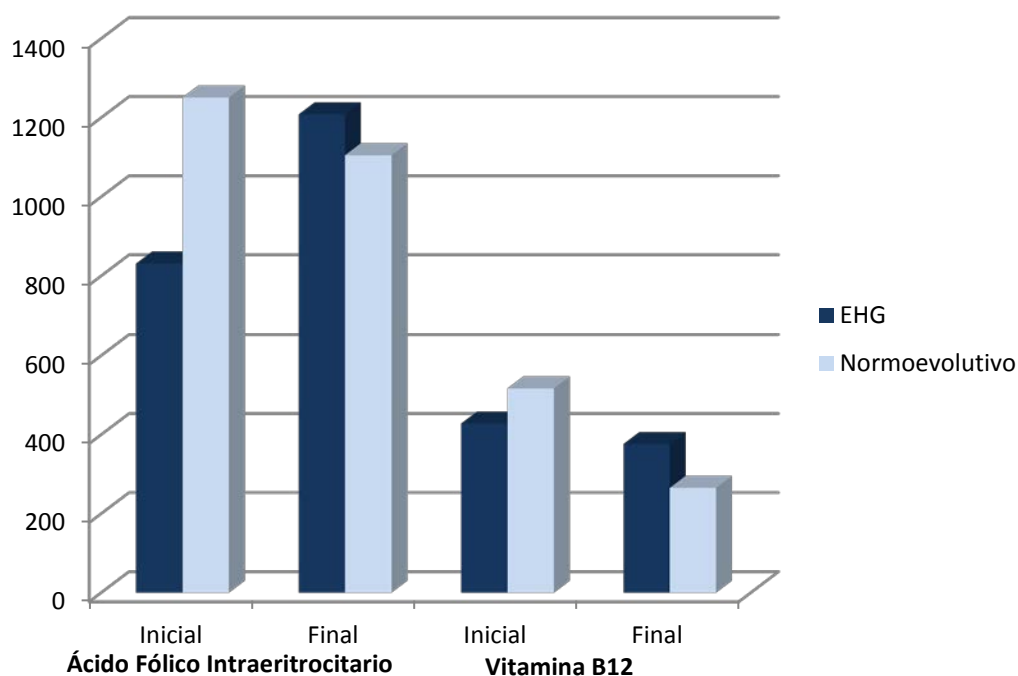


Figura 23. Comparación entre los niveles de ácido fólico intraeritrocitario, inicial y final (nmol/L), y vitamina B12, inicial y final (pmol/L), entre el grupo de pacientes que desarrolló enfermedad hipertensiva gestacional y el grupo que presentó un embarazo normoevolutivo.

Cuando se compara el genotipo predominante de la enzima MTHFR entre las pacientes que padecieron EHG y las normoevolutivas se observa que se sigue manteniendo la predominancia del genotipo C/T, con casi un 51% en cada grupo (Tabla 7; Fig. 24).

TABLA 7. Genotipo MTHFR en Pacientes con EHG y Embarazo Normoevolutivo.			
Genotipo MTHFR	EHG (n=8)	Normoevolutivo (n=102)	P
C/C	1 (12.5%)	28 (27.5%)	0.48
C/T	4 (50%)	52 (51%)	
T/T	3 (37.5%)	22 (21.6%)	

Chi cuadrado de Pearson; EHG: Enfermedad Hipertensiva Gestacional; MTHFR: 5,10-metilentetrahidrofolato reductasa.

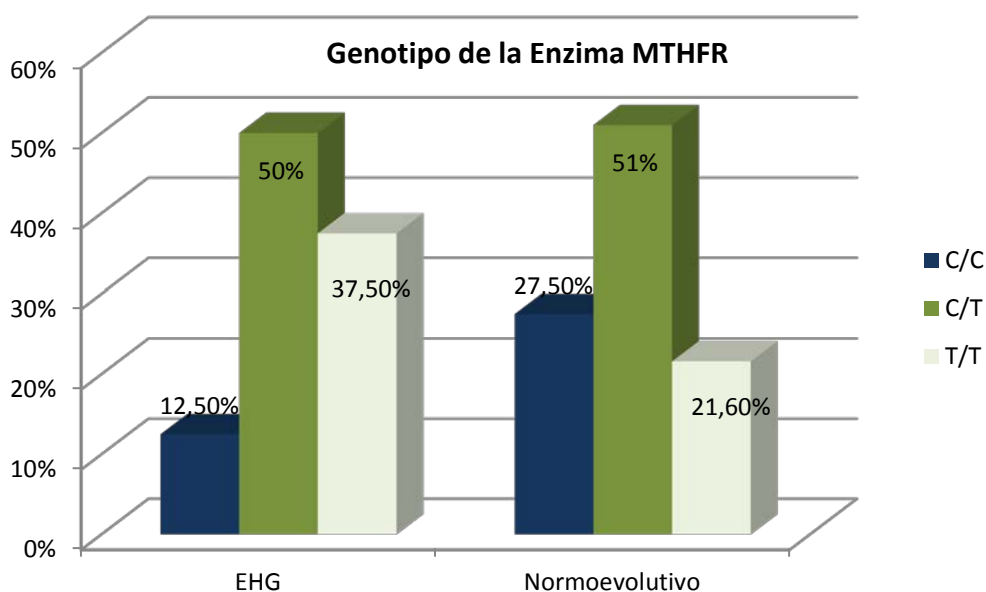


Figura 24. Comparación de la presencia de los distintos genotipos de la enzima MTHFR entre el grupo de pacientes que desarrolló enfermedad hipertensiva gestacional y el grupo que presentó un embarazo normoevolutivo.

Al subdividir la población en tres grupos de edad: uno con pacientes menores de 20 años, otro con edades entre 20 y 34 años y el tercero con pacientes mayores de 34 años, observamos diferencias estadísticamente significativas ($p=0.04$) entre las proporciones de hipertensión gestacional, preeclampsia leve, preeclampsia severa y embarazo normoevolutivo entre cada uno de los grupos de edad; las pacientes menores de 20 años y las de 20 a 34 años de edad presentaron un embarazo normoevolutivo en el 95.7% y el 93.4%, respectivamente, y en aquellas mayores de 34 años la proporción de embarazo normoevolutivo fue solamente del 81.8% (Tabla 8).

Por otra parte, existe una diferencia considerable respecto a padecer preeclampsia severa, la cual mostró valores del 0%, 2.6% y 18.2% para las pacientes menores de 20 años, las de 20 a 34 años y las mayores de 34 años de edad, respectivamente (Tabla 8; Fig. 25).

TABLA 8.				
Proporción de Enfermedad Hipertensiva Gestacional por Grupos de Edad				
Embarazo	< 20	20 - 34	> 34	P
Normoevolutivo	22 (95.7%)	71 (93.4%)	9 (81.8%)	0.04
Hipertensión Gestacional	0 (0%)	3 (3.9%)	0 (0%)	
Preeclampsia Leve	1 (4.3%)	0 (0%)	0 (0%)	
Preeclampsia Severa	0 (0.0%)	2 (2.6%)	2 (18.2%)	
Total	23	76	11	110
Chi cuadrado de Pearson.				

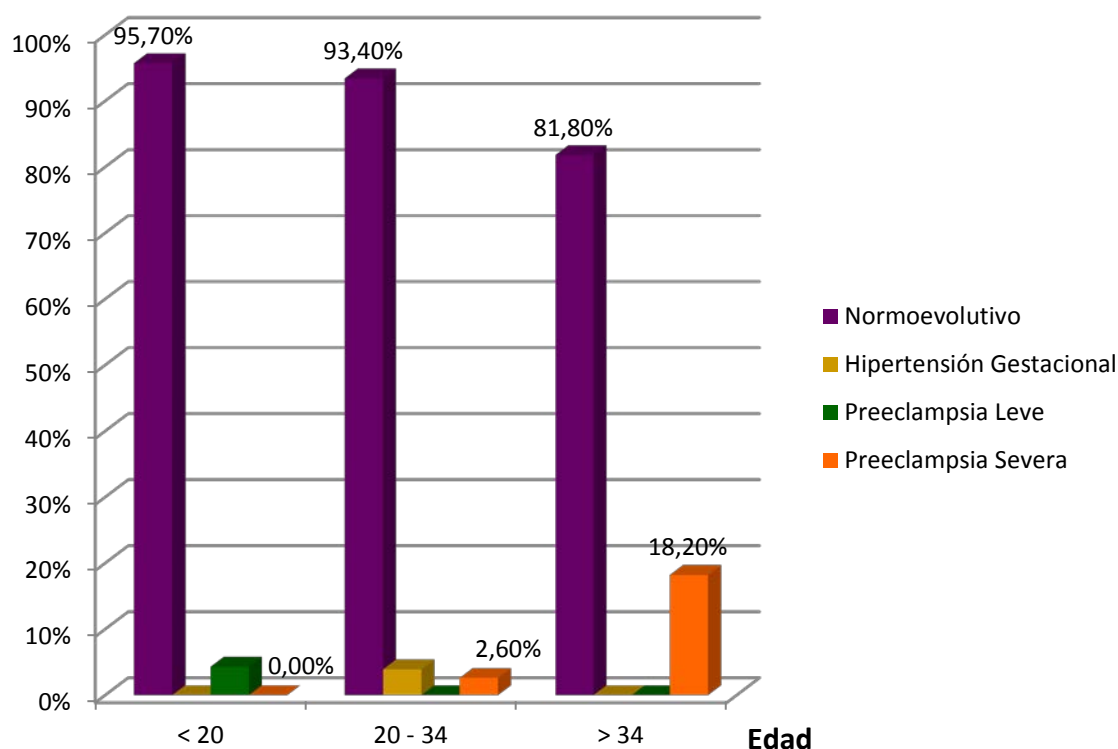


Figura 25. Comparación entre la presencia de los distintos tipos de enfermedad hipertensiva gestacional y embarazo normoevolutivo en relación con los diferentes grupos de edad de las pacientes.

Análisis Univariado de la Variable Preeclampsia

El análisis descriptivo de las 110 pacientes que han participado en el estudio revela que 5 de ellas (4.5%) desarrollaron preeclampsia.

La comparación entre las pacientes con preeclampsia y las que presentaron un embarazo normoevolutivo muestra unos niveles de homocisteína y vitamina B12 similares, tanto al inicio como al final del tratamiento; sin embargo, los niveles de folatos, tanto iniciales como finales, presentaron diferencias estadísticamente significativas; así, en el caso del ácido fólico sérico inicial se obtuvo una mediana de 5.68 para las pacientes con preeclampsia y de 19.49 para las que presentaron un embarazo normoevolutivo ($p < 0.005$); con respecto al ácido fólico sérico final, la mediana fue de 5,9 para las pacientes con preeclampsia y de 20 para las que

presentaron un embarazo normoevolutivo ($p < 0.005$); asimismo, con respecto al ácido fólico intraeritrocitario inicial, la mediana fue de 837 para las pacientes con preeclampsia y de 1381 para las que presentaron un embarazo normoevolutivo ($p \leq 0.0001$) (Tabla 9; Figs. 26-28).

TABLA 9. Comparación de Folatos, Vitamina B12 y Homocisteína entre Pacientes con Preeclampsia y Embarazo Normoevolutivo.			
Variable	Preeclampsia (n=5)	Normoevolutivo (n=105)	P
Ac. Fólico Sérico Inicial¹	5.68 (5.3-7.19)	19.49 (15.1-21.75)	0.004*
Ac. Fólico Sérico Final¹	5.9 (4.78-6.68)	20 (15.88-24)	0.002*
Ac. Fólico Intra-Eritrocitario Inicial¹	836.9 ± 299	1381.3 ± 377.9	≤0.0001
Ac. Fólico Intra-Eritrocitario Final¹	1196.2 ± 394.9	1288.7 ± 100.3	0.60
Vitamina B12 Inicia²	434.8 ± 191.3	420.1 ± 245.7	0.88
Vitamina B12 Final²	286.6 (217-1274.6)	265.3 (207.3-357.2)	0.30*
Homocisteína Inicial³	4.05 ± 1.29	5.13 ± 1.65	0.07
Homocisteína Final³	4 (3.49-8.1)	3.43 (2.79-4.21)	0.16*

¹:nmol/L; ²: pmol/L; ³: μmol/L; *U de Mann Witney (mediana y rango intercuartil); t de Student para muestras independientes (media y desviación estándar); Ac.: ácido.

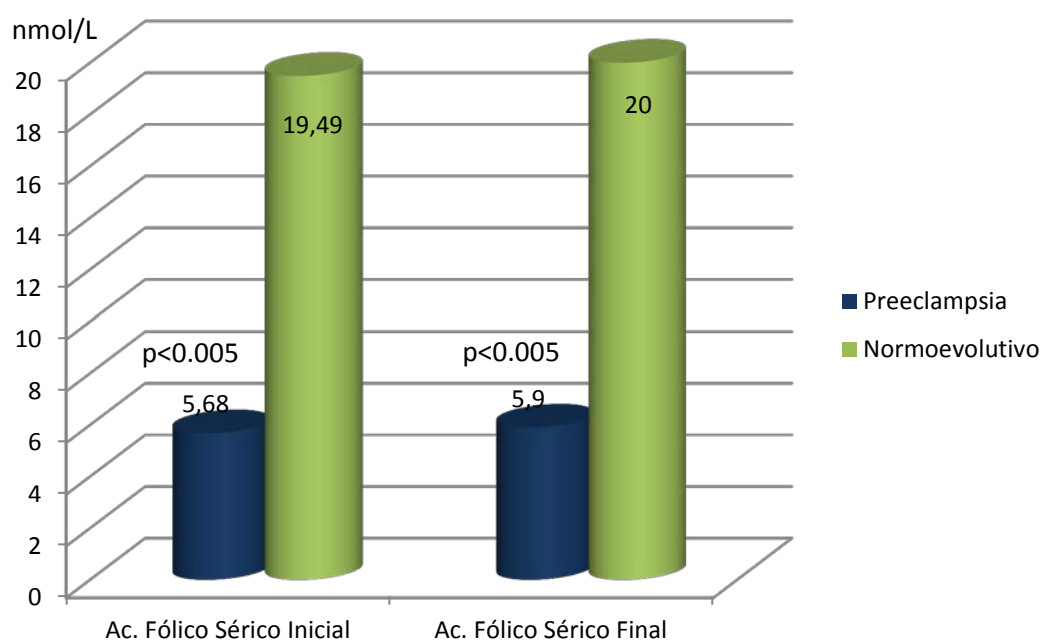


Figura 26. Comparación de los niveles de ácido fólico sérico, inicial y final, entre las pacientes con preeclampsia y las que presentaron un embarazo normoevolutivo.

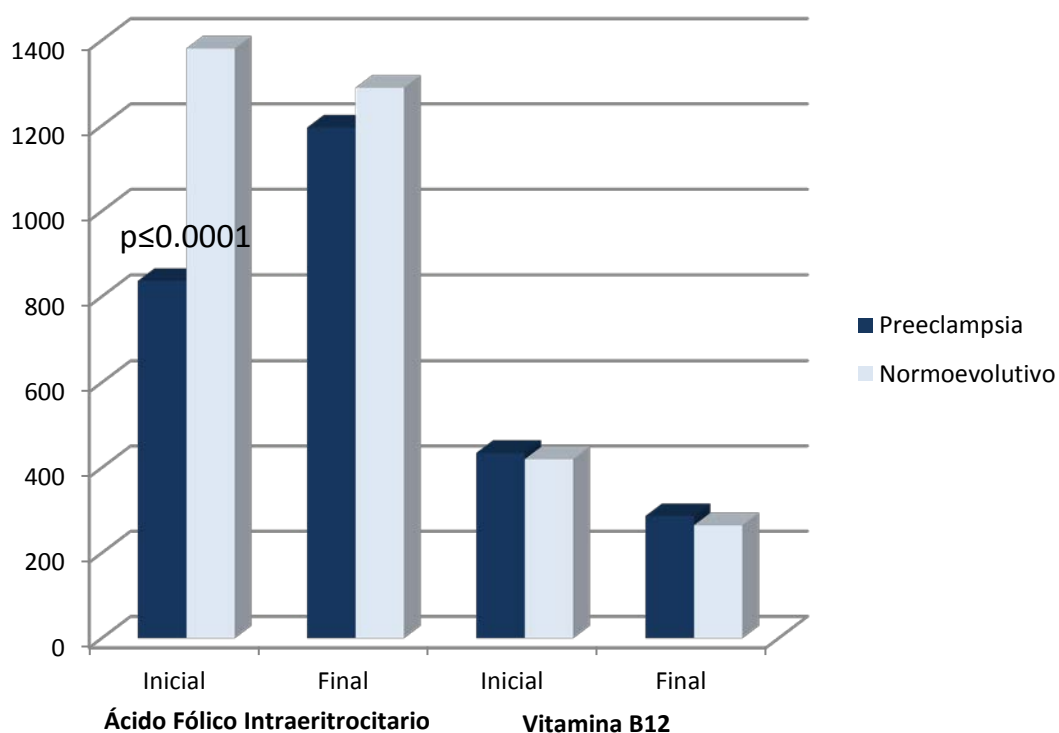


Figura 27 Comparación de los niveles de ácido fólico intraeritrocitario, inicial y final (nmol/L), y de vitamina B12, inicial y final (pmol/L), entre las pacientes con preeclampsia y las que presentaron un embarazo normoevolutivo.

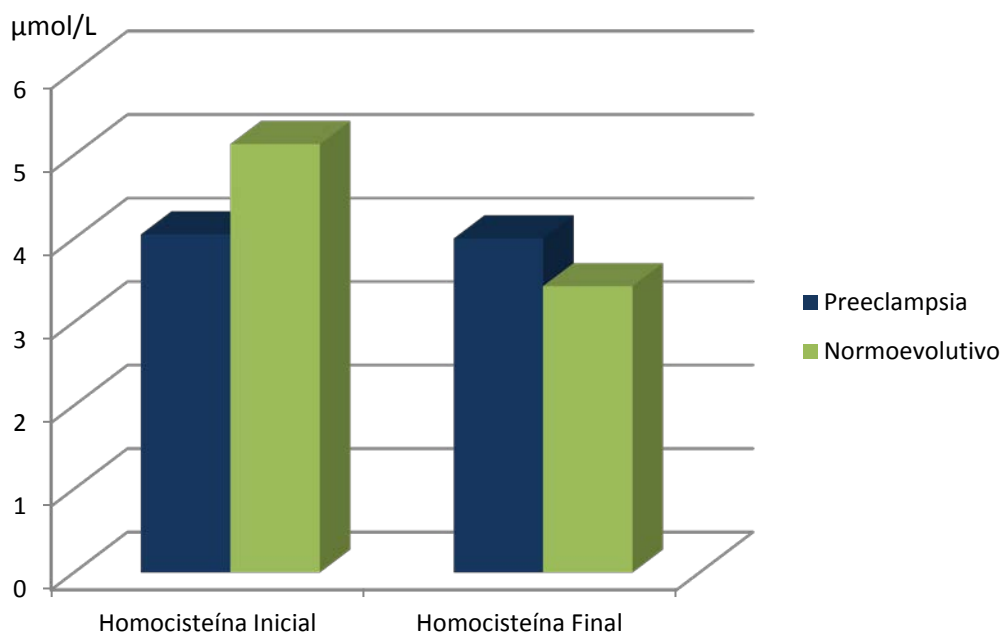


Figura 28 Comparación de los niveles de homocisteína, inicial y final, entre las pacientes con preeclampsia y las que presentaron un embarazo normoevolutivo.

El genotipo predominante de la enzima MTHFR en ambos grupos (preeclampsia vs normoevolutivos) fue C/T, presentándose en 2 (40%) y en 54 pacientes (51.4%) para cada uno de estos grupos (Tabla 10; Fig. 29).

TABLA 10.			
Genotipo MTHFR en Pacientes con Preeclampsia y Embarazo Normoevolutivo			
Variable	Preeclampsia (N=5)	Normoevolutivo (N=105)	P
C/C	0 (0%)	29 (27.5%)	0.09
C/T	2 (40%)	54 (51.4%)	
T/T	3 (60%)	22 (21.0%)	

Chi cuadrado de Pearson; EHG=Enfermedad Hipertensiva Gestacional; MTHFR: 5,10-metilentetrahidrofolato reductasa.

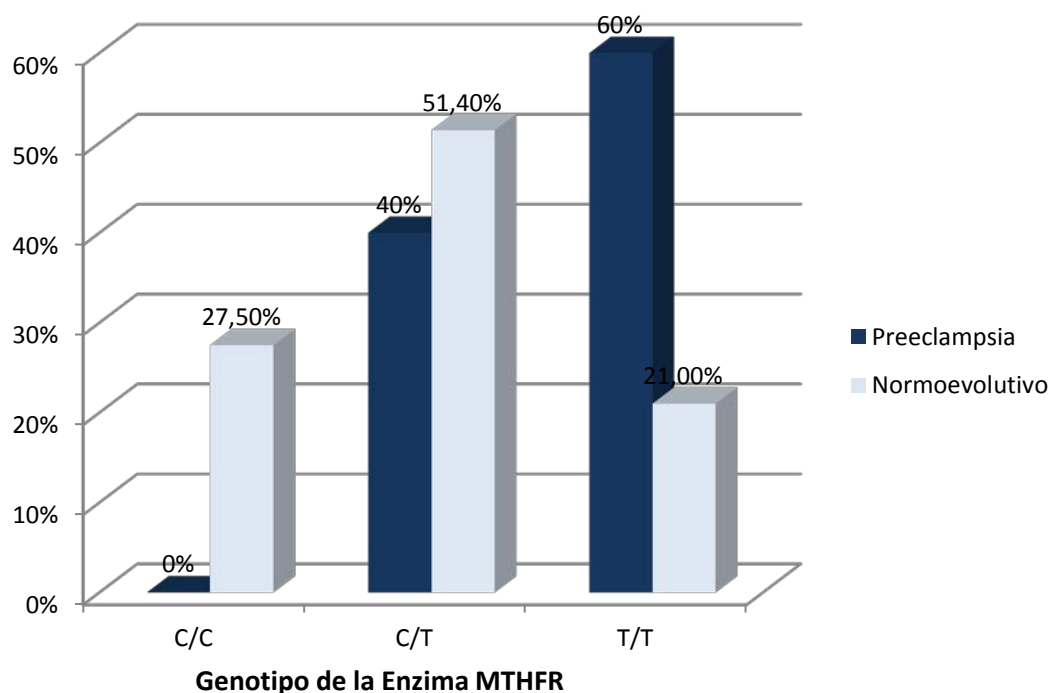


Figura 29. Comparación de la presencia de los distintos genotipos de la enzima MTHFR entre el grupo de pacientes que desarrolló enfermedad hipertensiva gestacional y el grupo que presentó un embarazo normoevolutivo.

Se ha realizado un modelo de regresión logística binaria, utilizando como variable dependiente la enfermedad hipertensiva del embarazo, e incluyendo como covariables: antecedente de preeclampsia, ácido fólico a dosis altas (5mg) y edad mayor de 34 años, es decir, aquellas variables que al dicotomizarlas y compararlas con el estadístico Chi cuadrado mostraron una diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0.05$) respecto a la presencia o ausencia de enfermedad hipertensiva del embarazo, o aquellas que el marco teórico justificó su utilización en el modelo de regresión. Al evaluar posibles interacciones o posibles efectos de confusión, teniendo la limitante de la baja proporción de enfermedad hipertensiva del embarazo ($0.072=7.2\%$), se logró modelizar con una significancia de 0.003 sobre los coeficientes del modelo, con un valor de R cuadrado de Cox y Snell de 0.12 y un valor de Nagelkerke de 0.300, con un porcentaje de clasificación global del 92.7%, con una especificidad del 99% y una sensibilidad del 12.5 %, mostrando valores de OR para el

antecedente de preeclampsia de 26.66, así como para el uso de dosis altas de ácido fólico de 17.37 y la edad mayor a 34 años de 5.61 (Tabla11).

Al realizar el modelo de regresión logística binaria, utilizando como variable dependiente la preeclampsia, debido a la baja prevalencia de preeclampsia (0.45=4.54%), no se logró conseguir un modelo con esfericidad significativa.

Tabla 11.					
Modelo de Regresión Logística Binaria con EHG como Variable Dependiente					
Variable Independiente Categórica	B	Valor de "P" Asociado al Contraste	OR	IC al 95% de la OR	
				Inferior	Superior
Antecedente de Preeclampsia	3.28	0.013	26.66	1.98	358.43
5 mg Ácido Fólico	2.85	0.03	17.37	1.18	255.15
>34 años	1.72	0.09	5.61	0.74	42.46
Constante	-5.22	0.000	0.005	---	---

Variablen en la ecuación del modelo de regresión logística binaria.

DISCUSIÓN

Los trastornos hipertensivos del embarazo sobresalen como las causas principales de morbilidad materna y perinatal, son causa importante de discapacidad crónica y muerte en las madres, además de importantes y graves complicaciones en recién nacido que incluyen prematuridad, retraso en el crecimiento intrauterino y desprendimiento de placenta. Hasta el momento no existen estrategias preventivas o curativas para estos padecimientos.¹³⁰

La necesidad de disminuir la incidencia de complicaciones maternas y fetales por los trastornos hipertensivos del embarazo es una prioridad de salud. Se estima que sólo en México ocurrieron en el año 2011, 1044 defunciones por esta razón, con una mortalidad materna estimada de 48.9 por cada 100.000 niños nacidos vivos.¹³¹

De otra parte, la incidencia de la preeclampsia en sus dos variedades, leve o severa, es del 5 al 8%, o incluso hasta un 10%, con una importante tasa de mortalidad materna y fetal, además de prematuridad, retraso en el crecimiento intrauterino y desprendimiento de placenta.¹³²

La incidencia de enfermedad hipertensiva del embarazo encontrada en este trabajo fue del 7.3%, similar al reportado por la literatura, porcentaje del cual el 2.7% corresponde a hipertensión gestacional, el 1.8% a preeclampsia leve y el 2.7% a preeclampsia severa. Al igual que los factores de riesgo sociodemográficos, personales patológicos y ginecobstétricos, no se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos y tampoco con lo publicado en la literatura.¹³³

El riesgo de recurrencia de la enfermedad está relacionado con el antecedente de preeclampsia previa. Se ha descrito una recurrencia del 25 al 65% entre las pacientes que padecieron preeclampsia severa previa, y del 5 al 7% entre las pacientes con preeclampsia leve previa; estos datos contrastan con la frecuencia de menos del 1% en las pacientes con un embarazo previo normoevolutivo. En nuestro estudio se reportaron dos pacientes con preeclampsia con antecedente de

preeclampsia, esto representa un 25% de las pacientes que presentaron preeclampsia ($p=0.001$), resultados que son similares a los publicados por otros autores.¹⁰⁰

En relación con los factores de riesgo, es bien conocido y constatado en la literatura que los extremos de la vida reproductiva de la mujer están asociados con trastornos hipertensivos;⁴⁰ sin embargo, nuestro estudio no identificó como factores de riesgo a las menores de 20 años ni a las mayores de 34 años de edad.

Ácido Fólico, Homocisteína y Vitamina B12 como Predictores

A pesar de las décadas de investigación sobre la enfermedad, la capacidad de los clínicos para predecir la preeclampsia, antes de la aparición de los síntomas, no ha mejorado significativamente.^{134,135}

Güven *et al.*,¹¹¹ en 2009, demostraron que los niveles de homocisteína son mayores en pacientes con preeclampsia en el tercer trimestre comparados con los de mujeres embarazadas sanas; por ello se ha sugerido que los niveles de homocisteína podrían usarse como predictores de Preeclampsia.¹³⁶⁻¹⁴¹ Se piensa que estos niveles promueven la disfunción endotelial característica de la preeclampsia, así como el retraso en el crecimiento intrauterino; sin embargo, en el presente trabajo de investigación no hemos encontrado tal incremento, los niveles de homocisteína en las pacientes con preeclampsia estaban dentro de los valores normales.

Otros estudios también describen niveles altos de homocisteína en embarazos tempranos, asociándolos con el desarrollo posterior de preeclampsia leve.¹⁴² Asimismo, se ha observado hiperhomocisteinemia leve en pacientes con preeclampsia.¹⁴³ Sin embargo, nuestros hallazgos no concuerdan con dichas publicaciones, dado que los niveles de homocisteína en la primer muestra no establecieron una relación directa con el desarrollo de preeclampsia; no obstante, este hecho podría probablemente deberse a los niveles normales de ácido fólico

intraeritrocitario encontrado en las mujeres, como resultado de una dieta enriquecida con ácido fólico.

Papel del Ácido Fólico

Mujawar *et al.*¹²³ demostraron que los niveles de homocisteína sérica, ácido fólico y vitamina B12 están alterados en la preeclampsia; además, la situación de hiperhomocisteinemia junto con valores bajos de ácido fólico se ha relacionado con preeclampsia.¹³⁸⁻¹⁴¹ Sin embargo, hay estudios, como el publicado con Zhiwen *et al.*¹⁴⁴ en 2013, donde no encuentran relación entre los niveles de ácido fólico y la hiperhomocisteinemia, siendo estos resultados concordantes con los del presente trabajo de investigación. En este sentido, la recomendación de administrar suplementos de ácido fólico para reducir la posibilidad de preeclampsia, con la finalidad de bajar las concentraciones de homocisteinemia,³⁶ no ha dado resultado en nuestro trabajo, en ninguno de los dos grupos hemos encontrado valores bajos de ácido fólico; por ello, podemos igualar nuestros resultados a los publicados por Mujawar *et al.*¹²³ en 2011, donde reportan que concentraciones séricas de homocisteinemia tienen una correlación negativa insignificante en pacientes preeclámpticas.^{41,123}

Finalmente, la ingesta de folatos se ve ampliamente afectada por factores sociodemográficos y de comportamiento.^{42,43} En México, desde 1996, suplementan harinas con dosis de ácido fólico como parte del programa de prevención de defectos de tubo neural, dado que esto forma parte del esquema básico de alimentación en México. En EUA hasta un 20% no consume suplementos de ácido fólico y su incidencia es igual que la del resto de la población, lo que apoya la observación de que los niveles de ácido fólico no tienen un papel predictivo para el desarrollo de la preeclampsia.⁴⁴

Hoy en día se acepta que la hiperhomocisteinemia es un factor de riesgo cardiovascular, que causa daño endotelial a través de venas y arterias por una capacidad disminuida para incorporar deoxiuridina,¹⁴⁵ incluyendo la vasculatura placentaria, por tal motivo es importante considerar dosificaciones más elevadas de ácido fólico durante el embarazo, como factor protector de aparición de preeclampsia.^{146,147}

La suplementación de ácido fólico con L-arginina podría prevenir la preeclampsia por el mejoramiento en la función endotelial.¹⁴⁸

Como ya se ha mencionado, existen evidencias de la presencia de hiperhomocisteinemia en pacientes con preeclampsia; sin embargo, un estudio realizado en Canadá no ha encontrado beneficio en la reducción de preeclampsia a pesar de que sus alimentos están fortificados con ácido fólico; esto hace sugerir que la administración exógena de ácido fólico no tiene un impacto importante en el desarrollo de preeclampsia. No obstante, sirven de pauta para realizar estudios randomizados, ciegos y con placebo, para establecer realmente la dosis y su relación con la preeclampsia. Actualmente, la dosis recomendada diaria de ácido fólico por la Nueva Guía de riesgos maternos es de 5mg.¹⁴⁹

Es importante mencionar que aunque existen múltiples trabajos de investigación que tratan de esclarecer la etiología de los diferentes trastornos hipertensivos del embarazo, aún no poseen carácter preventivo ni curativo, tal como lo comentan Briceño y Briceño;¹⁴³ además se deberá estabilizar y seleccionar apropiadamente a las pacientes y, para ello, hay que tener en cuenta la gravedad de las madres y de los fetos, iniciándose inductores de maduración pulmonar con la administración de antihipertensivos, como el sulfato de magnesio, y monitorización apropiada de pruebas de laboratorio; una vez hecho esto, finalmente se decidirá sobre la vía de nacimiento y el momento adecuado.¹⁴³

Asociación de la Mutación de la MTHFR con el Desarrollo de Trastornos Hipertensivos del Embarazo

Una de las mutaciones más frecuentes de la 5,10-metilentetrahidrofolato reductasa es la substitución de C por T en el nucleótido 677 (C677T). Esta incidencia es baja en la población negra.¹⁵⁰⁻¹⁵⁵

El estado homocigoto para la variante termolábil de la MTFHR constituye un factor de riesgo de preeclampsia, asociado a hiperhomocisteinemia. En relación con los resultados obtenidos se demostró que los grupos eran homogéneos y no había diferencia significativa en la frecuencia del alelo T. En nuestro estudio se ha podido comprobar que la mutación más frecuentemente hallada fue la mutación C/T, y ésta fue donde se reportó el mayor número de casos de preeclampsia. Esta mutación se ha relacionado con niveles de homocisteína mayores, tanto maternos como fetales, en pacientes con preeclampsia severa, comparado con pacientes con preeclampsia leve y grupos control. Todo ello ha generado diferentes estudios, los cuales reportan que la administración de ácido fólico y vitamina B6 ha demostrado ser eficaz en la evolución de pacientes con preeclampsia; a pesar de que su incidencia es la misma, su evolución ha sido mejor.¹⁵⁶ Sin embargo, otros estudios indican que dicha administración ni reduce la incidencia ni favorece la evolución, siendo estos resultados semejantes a los nuestros.

Limitaciones

El estudio presenta varias limitaciones, en la primera planteamos conseguir mayor tamaño de muestra para los grupos tratados con distintas dosis de ácido fólico. Además se demostró que las dosis altas de ácido fólico no redujeron el índice de preeclampsia, y se observó una tendencia hacia lo contrario, donde se presentaron proporciones mayores de enfermedad hipertensiva en el embarazo, aunque no estadísticamente significativas. Creemos que este resultado está ocasionado por la primera limitante planteada, por lo cual se propone un estudio en

búsqueda de equivalencias de proporciones respecto a enfermedades hipertensivas del embarazo en grupos con dosis diferentes de folatos. Se demostró además que las mutaciones de la MTHFR son las mismas a las reportadas en la literatura, demostrando con ello que no existe la necesidad de hacer más investigación para el estudio demográfico de las mutaciones de la MTHFR.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

- PRIMERA.** La administración temprana de 5mg de ácido fólico no disminuye el riesgo de desarrollar trastornos hipertensivos del embarazo, en comparación con la administración de 1mg, dado que no se ha podido rechazar la hipótesis nula.
- SEGUNDA.** La prevalencia de enfermedad hipertensiva del embarazo es del 2% para el grupo tratado con 1mg de ácido fólico y del 13% en el grupo tratado con dosis altas.
- TERCERA.** Nuestros resultados no demuestran que los niveles de homocisteína sérica estén relacionados con el desarrollo de enfermedad hipertensiva del embarazo.
- CUARTA.** No existe correlación entre las mutaciones de la enzima MTHFR y el desarrollo de enfermedades hipertensivas del embarazo.
- QUINTA.** Al analizar los factores de riesgo para enfermedad hipertensiva del embarazo, el único factor que demuestra correlación con el desarrollo de enfermedad hipertensiva del embarazo es el antecedente de preeclampsia.
- SEXTA.** No hemos podido demostrar correlación entre los niveles de folatos y vitamina B12 al inicio del tratamiento y el desarrollo de enfermedades hipertensivas del embarazo.
- SÉPTIMA.** El genotipo predominante de la enzima MTHFR en ambos grupos de suplementación de ácido fólico (1 mg y 5 mg) es C/T, ocurriendo en el 50.9% de las pacientes de cada grupo. Y cuando se hace la comparación

entre aquellas que padecieron enfermedad hipertensiva del embarazo y las que no, se sigue manteniendo la predominancia del mismo genotipo.

OCTAVA. No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre las proporciones de patología hipertensiva gestacional y embarazo normoevolutivo en cada uno de los grupos, observando que los dos grupos menores de 35 años presentan un embarazo normoevolutivo en aproximadamente el 94% de las pacientes cada uno; sin embargo, este porcentaje baja al 81% para el grupo de pacientes mayores de 35 años.

RESUMEN

RESUMEN

TÍTULO: Efecto del ácido fólico sobre la incidencia de trastornos hipertensivos en el embarazo del Hospital Universitario de Monterrey, Nuevo León, México.

INTRODUCCIÓN

Los estados hipertensivos del embarazo son condiciones médicas que se han descrito desde hace más de 3000 años; Hipócrates, describió las convulsiones, Celso en el siglo I, asocia convulsiones y muerte fetal. Galeno diferenció la epilepsia de la preeclampsia. De Sauvage en 1739 introdujo el término eclampsia.

Epidemiología. Los trastornos hipertensivos del embarazo representan un desafío epidemiológico, en especial, la preeclampsia, la cual es la complicación médica más frecuente del embarazo, reportándose hasta en un 5 a 12% de los embarazos. La mortalidad materna debida a preeclampsia es hasta del 44% y las causas son hemorragia posparto, desprendimiento prematuro de placenta, coagulopatía, insuficiencia renal, encefalopatía hipertensiva, hemorragia intracerebral, síndrome de HELLP y rotura de hematoma hepático. En relación a la mortalidad perinatal se reporta hasta en el 27,8% siendo sus principales causas prematuridad, restricción de crecimiento intrauterino y peso bajo al nacer.

En México, en 2011, la Dirección General de Información en Salud de la Secretaría de Salud, reportó 236 defunciones debidas a patología hipertensiva durante el embarazo, lo que corresponde al 24.4% del total de defunciones maternas.

Definiciones. En la actualidad aún permanecen confusas para los clínicos las diferentes categorías y definiciones relacionadas con los estados hipertensivos del embarazo; es por eso que esta tesis se basa en las definiciones del Programa Nacional para la Educación de la hipertensión de Estados Unidos.

Factores de Riesgo. Los trastornos hipertensivos del embarazo se presentan principalmente en primigestas, en pacientes con embarazos múltiples, antecedente de preeclampsia, hipertensión crónica, diabetes pregestacional, enfermedades de tejido conectivo y vascular, nefropatías, síndrome antifosfolípidos, obesidad, edad mayor o igual a 35 años, raza afroamericana, sobrepeso, inadecuado control prenatal, periodo intergenésico corto o largo.

Medidas Preventivas. Es clara la necesidad de contar con medidas preventivas para reducir el número de complicaciones; sin embargo, la prevención primaria no es posible dado que no conocemos la etiología, solo la anticoncepción es eficaz. En relación a medidas de prevención secundaria tenemos los diferentes marcadores bioquímicos. Entre éstos, el más estudiado en los últimos 5 años es la homocisteína sérica.

Fisiopatología. Sigue siendo un misterio, las teorías más aceptadas son: invasión trofoblástica anormal de los vasos uterinos, intolerancia inmunitaria entre los tejidos maternos y fetoplacentarios, mala adaptación de la madre a los cambios cardiovasculares o inflamatorios del embarazo, deficiencia de aminoácidos en la dieta, influencia genéticas o desarrollo aberrante de las vellosidades sincitiotrofoblásticas causando una inadecuada barrera placentaria.

La placentación atípica genera un aumento en la resistencia vascular periférica y, a su vez, hipertensión arterial; este proceso es vulnerable a la respuesta inflamatoria, defensa antioxidante, división celular, síntesis de proteínas y de ADN. A partir de esta observación, se postula que una deficiencia de folatos está asociada con un incremento de la apoptosis de las células trofoblásticas.

El compromiso en la perfusión placentaria por respuesta inflamatoria de las arteriolas parece ser la base en la patogenia. En los embarazos complicados con preeclampsia los cambios vasculares sólo se encuentran de manera habitual en los

segmentos deciduales de las arterias uteroplacentarias; por esto, los segmentos miometriales de dichas arterias se quedan con su arquitectura musculoesquelética haciéndolas sensibles a las respuestas hormonales, y el suministro de sangre al feto se encuentra restringido. El factor fisiopatológico inicial clave, es la isquemia placentaria, lo que conduce a liberación de factores placentarios y desequilibrio de factores angiogénicos, que causan la disfunción endotelial generalizada característica de la preeclampsia.

La lesión celular endotelial vascular reduce la síntesis de agentes vasodilatadores, incrementa la respuesta a los vasoconstrictores, deteriora la síntesis de anticoagulantes endógenos y aumenta la producción de pro-coagulantes, lo que provoca isquemia cerebral y hepática, y disfunción renal. Hay una disminución variable del flujo sanguíneo renal y una disminución en la filtración glomerular con la consiguiente elevación relativa de creatinina y ácido úrico plasmáticos. En casos de enfermedad aparece proteinuria más o menos marcada y mayor permeabilidad a proteínas, como transferrina y globulinas.

Muchos factores, tales como la inflamación, producción de citoquinas, dislipidemia, homocisteína elevada, niveles de calcio y el desequilibrio entre tromboxanos y prostaciclina han sido implicados en la etiología de la preeclampsia.

Niveles de Homocisteína como Predictores. La homocisteína es un aminoácido esencial, azufrado y originado metabólicamente de la metionina de las proteínas dietéticas. Algunos estudios han comprobado un incremento en la incidencia de hiper-homocisteinemia en pacientes con preeclampsia en aproximadamente un 20-30%, y sus valores normales dependen del grupo étnico, edad, área geográfica y factores genéticos. La hiperhomocisteinemia puede resultar del defecto genético de las enzimas que participan en la síntesis de homocisteína, el metabolismo o deficiencia de ácido fólico, vitamina B6 y B12, es decir, de una mutación de la metil-tetrahidrofolatorreductasa (MTFHR) la cual regula la cantidad de folato intracelular

para la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos, y convierte al 5,10-metilentetrahidrofolato a 5-metilentetrahidrofolato, un donador de grupo metilo necesario para la conversión de homocisteína a metionina durante la síntesis de proteínas, participando así en el ciclo metabólico de la metionina. Esta enzima mantiene los niveles normales de folato reducido y homocisteína. Dicha enzima presenta dos mutaciones que intervienen en el metabolismo: 1) Polimorfismo C677T de la MTHFR; esta mutación la describieron Kang et al. en 1988, con una transición C a T en el nucleótido C677T, que permite la sustitución de la alanina por la valina. Los homocigotos (10-15%) para este defecto expresan una variante termolábil de la enzima, y la actividad enzimática está reducida comparada con la normalidad. Los valores plasmáticos de folato están ligeramente disminuidos y por tanto los de homocisteína se hayan elevados. El significado clínico de este polimorfismo parece depender de la ingesta de folatos en la dieta.

Además se ha analizado el rol de la susceptibilidad genética a la preeclampsia, analizando el papel de la substitución del nucleótido 677 del gen de la MTHFR, y la inserción par de la base 68 en el nucleótido 844 del gen de la Enzima Cistationina beta sintetasa y la mutación del Factor V de Leiden, no encontrándose asociación de riesgo incrementada para la preeclampsia, tanto de forma independiente como combinada. Razón por la cual la administración de ácido fólico para reducir la preeclampsia es desconocida, sin embargo, se cree que es por el mejoramiento de la placentación y de las funciones sistémicas endoteliales, ya sea de forma directa o indirecta, bajando los niveles de homocisteína.

JUSTIFICACIÓN

Bodnar reportó que el uso regular de multivitamínicos que contenían ácido fólico antes de la semana 16 de gestación, reducían un 45% la preeclampsia en comparación con aquellas pacientes que no lo usaban; este estudio no condujo pruebas de mutaciones genéticas ni niveles de homocisteína. A partir de estos

estudios se generaron muchas preguntas y teorías acerca del uso de ácido fólico como factor preventivo para la preeclampsia. De estos datos se genera la pregunta. ¿Qué otros factores pudieran afectar los niveles de ácido fólico, generando con esto un aumento en la incidencia de preeclampsia?

OBJETIVO

Determinar los valores de homocisteína y si existe una correlación de estos niveles con el desarrollo de algún estado hipertensivo del embarazo. Permitiendo además determinar la prevalencia de enfermedad hipertensiva en pacientes mexicanas manejadas con diferentes dosis de ácido fólico durante el primer trimestre de embarazo. Analizar la prevalencia de mutaciones de la enzima MTHFR y su correlación con los niveles de homocisteína con el desarrollo de EHE. Finalmente valorar la prevalencia de preeclampsia según los grupos de edad para contrastar dichas prevalencias.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se trata de un ensayo clínico, longitudinal, prospectivo, triple ciego que incluyó 110 pacientes embarazadas las cuales fueron aleatorizadas en dos grupos, el primero se administró 1 mg de ácido fólico diariamente y al segundo grupo se le administraron 5 mg de ácido fólico. Durante la primera consulta se realizó historia clínica completa además de los exámenes prenatales de rutina. Como parte del estudio se determinó, homocisteína sérica, mutación del gen MTHFR, niveles intraeritrocitarios de Vitamina B y ultrasonido obstétrico. Durante las visitas subsecuentes se realizó monitorización de la presión arterial.

RESULTADOS

En ambos grupos se encontró homogeneidad, 102 pacientes (92.7%) tuvieron un embarazo normoevolutivo, 3 pacientes (2.7%) presentaron hipertensión

gestacional, 1 (0.9%) presentó preeclampsia leve y 4 pacientes (3.6%) tuvieron preeclampsia severa, ninguna desarrollo síndrome de HELLP.

Se observó un 2% de prevalencia de EHE, sin embargo no mostró diferencias aparentes entre ambos grupos ($p=0.06$). Al analizar los factores de riesgo para enfermedad hipertensiva del embarazo, como ser primigesta, mayor de 34 años, menor de 20 años, sobrepeso – obesidad, alcoholismo, tabaquismo o escolaridad baja, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo que presentó enfermedad hipertensiva ($n=8$) y el grupo que no presentó esta patología ($n=102$). Solo la historia personal de preeclampsia mostró ser estadísticamente significativa ($p=0.02$) presentándose en el 25% de las pacientes con enfermedad hipertensiva este antecedente, frente al 2% de las pacientes que no tenían antecedente de preeclampsia.

Al hacer la comparación de niveles de ácido fólico y vitamina B12 entre aquellos que padecieron enfermedad hipertensiva del embarazo y aquellos que no, se encontraron diferencias significativas desde el inicio en los niveles séricos de ácido fólico ($p=0.008$), con una mediana para el grupo enfermo de 6.07 contra 19.68 para el grupo normoevolutivo, manteniendo valores semejantes en la última medición.

El genotipo predominante de la enzima MTHFR en ambos grupos (1 mg y 5 mg) fue C/T, presentándose en el 50.9% de las pacientes de cada uno. Y cuando se hace la comparación entre aquellas que padecieron enfermedad hipertensiva del embarazo y las que no, se sigue manteniendo la predominancia del mismo genotipo.

Al subdividir la población por grupos de edad: uno con pacientes menores de 20 años, otro con aquellas de edad entre 20 y 34 años, y el tercero con pacientes mayores de 34 años, observamos diferencias estadísticamente significativas ($p=0.04$) entre las proporciones de hipertensión gestacional, preeclampsia leve, preeclampsia severa y embarazo normoevolutivo en cada uno de los grupos; las pacientes menores

de 20 años y las de 20 a 34 años de edad presentaron embarazo normoevolutivo en el 95.7% y 93.4%, respectivamente; sin embargo, en las pacientes mayores de 34 años la proporción de embarazo normoevolutivo fue solamente del 81.8%. Además se obtuvo una diferencia considerable respecto a padecer preeclampsia severa, con valores de 0%, 2.6% y 18.2% para los grupos de <20, 20-34 y >34 años, respectivamente.

CONCLUSIONES

1. La administración temprana de 5mg de ácido fólico no disminuye el riesgo de desarrollar trastornos hipertensivos del embarazo, en comparación con la administración de 1mg.
2. La prevalencia de la enfermedad hipertensiva del embarazo fue del 2% para el grupo tratado con 1mg de ácido fólico y de un 13% en el grupo tratado a dosis altas.
3. No se demostró que los niveles de homocisteína sérica estuvieran relacionados con el desarrollo de enfermedad hipertensiva del embarazo.
4. No existe correlación entre mutaciones de la enzima MTHFR con el desarrollo de enfermedad hipertensiva del embarazo.
5. Al analizar los factores de riesgo para enfermedad hipertensiva del embarazo, el único factor que demostró correlación con el desarrollo de enfermedad hipertensiva del embarazo fue el antecedente de preeclampsia.
6. No se demostró correlación entre los niveles de folatos y vitamina B12 al inicio del tratamiento con el desarrollo de enfermedad hipertensiva del embarazo.
7. El genotipo predominante de la enzima MTHFR en ambos grupos (1 mg y 5 mg) fue C/T, presentándose en 28 pacientes (50.9%) de cada grupo. Y cuando se hace la comparación entre aquellas que padecieron enfermedad hipertensiva del embarazo y las que no, se sigue manteniendo la predominancia del mismo genotipo.

8. No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre las proporciones de patología hipertensiva gestacional y embarazo normoevolutivo en cada uno de los grupos, observando que los dos grupos menores de 35 años presentan un embarazo normoevolutivo en aproximadamente el 94% de las pacientes cada uno; sin embargo, este porcentaje baja al 81% para el grupo de pacientes mayores de 35 años.

REFERENCIAS MÁS RELEVANTES

Secretaría de Salud. Norma Oficial Mexicana de los Servicios de Planificación Familiar. NOM-005-SSA-2-1993. México D.F.: Secretaría de Salud; 1994.

Xiao R, Sorensen TK, Williams MA, Luthy DA. Influence of pre-eclampsia on fetal growth. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2003;13:157-62.

Brown MA, Lindheimer MD, de Swiet M, Van Assche A, Moutquin JM. The classification and diagnosis of the hypertensive disorders of pregnancy: statement from the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP). *Hypertens Pregnancy.* 2001;20:ix-xiv.

Holmes VA, Wallace JM, Alexander HD, Gilmore WS, Bradbury I, Ward M, et al. Homocysteine is lower in the third trimester of pregnancy in women with enhanced folate status from continued folic acid supplementation. *Clin Chem.* 2005;51:629-34.

Huppertz B. Placental origins of preeclampsia: challenging the current hypothesis. *Hypertension.* 2008;51:970-5.

Gershov D, Kim S, Brot N, Elkou KB. C-Reactive protein binds to apoptotic cells, protects the cells from assembly of the terminal complement components, and sustains an antiinflammatory innate immune response: implications for systemic autoimmunity. *J Exp Med.* 2000;192:1353-64.

SUMMARY

SUMMARY

TÍTULO: Effect of folic acid on the impact of hypertensive disorders in pregnancy of the university hospital of Monterrey, Nuevo León, México.

INTRODUCTION

The hypertensive diseases are medical conditions that have been described for more than 3000 years ago; Hippocrates described seizures, Celso in the first century, associated seizures and fetal death. Galen differentiated the epilepsy from pre-eclampsia. De Sauvage in 1739 introduced the term eclampsia.

Epidemiology. Hypertensive disorders of pregnancy represent an epidemiological challenge, especially preeclampsia, which is the most common medical complication of pregnancy, reporting up to 5-12% of pregnancies. Maternal mortality due to preeclampsia is up 44% and the causes are postpartum hemorrhage, premature placental release, coagulopathy, renal failure, hypertensive encephalopathy, bleeding from intracerebral, HELLP syndrome and hepatic rupture hematoma. In relation to perinatal mortality is reported to 27.8% and its main causes are prematurity, intrauterine growth restriction and low birth weight [2].

In Mexico, in 2011, the General of Health Information of the Ministry of Health reported 236 deaths from hypertensive disease during pregnancy, corresponding to 24.4% of all maternal deaths.

Definitions. Currently still remains confusing to clinicians the different categories and definitions related to hypertensive diseases; is why, this thesis is based on the definitions of the National Programme for Education of hypertension in the United States.

Risk Factors. Hypertensive disorders of pregnancy history of preeclampsia, chronic hypertension, preexisting diabetes, connective tissue and vascular disease, renal disease, antiphospholipid syndrome, obesity, greater than or equal to 35 years age and race afro occur mainly in primiparous, in patients with multiple pregnancies, overweight, inadequate prenatal care, short or long intergenetic period.

Preventive Measures. Is clear the need for preventive action to reduce the number of complications measures, however, primary prevention is not possible because we know the etiology, is only effective contraception. Regarding secondary prevention measures there are different biochemistry markers. Among these the most studied in the last five years is serum homocysteine.

Pathophysiology. It remains a mystery, the most accepted theories are; Abnormal trophoblastic invasion of the uterine vessels, immune intolerance between maternal and fetoplacental tissues, maladaptive mother to cardiovascular or inflammatory changes of pregnancy, dietary deficiency of amino acids and genetic influence or by aberrant development of villi causing syncytiotrophoblastic one inadecuada placental barrier.

Placentation atypical generates an increase in peripheral vascular resistance, hypertension, this process is vulnerable to inflammatory responses, antioxidant defenses, cell division, protein synthesis and DNA. From this observation, it is postulated that folate deficiency is associated with increased apoptosis of trophoblastic cells.

The commitment in placental perfusion inflammatory response of arterioles appears to be based in the pathogenesis. In pregnancies complicated by preeclampsia vascular changes only found regularly in the decidual segments of the uteroplacental arteries; so myometrial segments of arteries to remain with their musculoskeletal architecture thereby making them sensitive to hormonal responses and blood supply

is restricted fetus. The key starting pathophysiological factor, is the placental ischemia, leading to release of placental imbalance factors and angiogenic factors, that cause generalized endothelial dysfunction characterized preeclampsia.

The vascular endothelial cell injury reduces synthesis of vasodilating agents, increases the response to vasoconstrictors, deteriorates anticoagulants endogenous synthesis and increases the production of pro-coagulants, causing cerebral ischemia, hepatic and renal dysfunction. There is a variable decrease in renal blood flow and decreased glomerular filtration with the consequent relative elevation of plasma creatinine and uric acid. In cases of illness more or less marked proteinuria and increased permeability to proteins such as transferrin and globulins appears.

Many factors, such as inflammation, cytokine production, dyslipidemia, elevated homocysteine, calcium and the imbalance between prostacyclin and thromboxanes have been implicated in the etiology of preeclampsia.

Homocysteine Levels as Predictors. Homocysteine is an essential amino acid, sulfur methionine metabolically originated from dietary protein. Studies have shown an increased incidence of hyperhomocysteinemia in patients with preeclampsia by about 20-30%, and normal values depend on ethnicity, age, geographic area and genetic factors. Hyperhomocysteinemia may result from genetic defects of the enzymes involved in the synthesis of homocysteine metabolism or folic acid deficiency, vitamin B6 and B12 that is a mutation of methyl tetrahydrofolate reductase (MTHFR) which regulates the amount of intracellular folate for the synthesis of proteins, nucleic acids and converted to 5,10-methylenetetrahydrofolate to 5-methylenetetrahydrofolate, a methyl donor group necessary for the conversion of homocysteine to methionine for protein synthesis, thus participating in the metabolic pathway of methionine. This enzyme maintains normal levels of reduced folate and homocysteine. This enzyme has two mutations involved in metabolism: 1) C677T polymorphism of MTHFR; this mutation was described by Kang et al in 1988, with a C

to T transition at nucleotide C677T, which allows the substitution of alanine by valine. Homozygotes (10-15%) for this defect expressing a thermolabile variant of the enzyme, and the enzyme activity is reduced compared to normal. Plasma folate levels are slightly decreased and therefore have elevated homocysteine. The clinical significance of this polymorphism seems to depend on folate intake in the diet.

We also report the role of genetic susceptibility to preeclampsia, analyzing the role of the 677 nucleotide substitution in the MTHFR gene, and inserting 68 base pair at nucleotide 844 of the gene for the enzyme cystathionine synthetase and beta mutation of the Factor V Leiden, no association was found increased risk for preeclampsia, either independently or in combination. The reason why the administration of folic acid to reduce preeclampsia is unknown, but is believed to be for the improvement of placentation and endothelial systemic functions, either directly or indirectly by lowering homocysteine levels.

JUSTIFICATION

Bodnar reported regular use of multivitamins containing folic acid before 16 weeks of gestation, reduced by 45% preeclampsia compared with those patients who did not use, this study did not lead evidence of genetic mutations and homocysteine levels. From these studies many questions and theories about the use of folic acid as a preventive factor for preeclampsia were generated; from these data the question is generated. What other factors might affect levels of folic acid, generating this increased incidence of preeclampsia?

OBJETIVE

Determine the values of homocysteine also if there is a correlation of these levels with the development of a hypertensive state of pregnancy. Allowing also determine the prevalence of hypertensive disease in Mexican patients managed with different doses of folic acid during the first trimester of pregnancy. To determine the

prevalence of mutations in the MTHFR enzyme and its correlation with homocysteine levels with the development of EHE. Finally determine the prevalence of preeclampsia according to age groups to contrast these prevalences.

MATERIAL AND METHODS

This is a clinical, longitudinal, prospective, triple-blind trial involving 110 pregnant patients which were randomized into two groups, the first 1 mg daily folic acid was administered and the second group was administered 5 mg of folic acid. During the first visit complete prenatal checkups history was made. As part of the study determined serum homocysteine, MTHFR gene mutation, intraerythrocytic Levels of Vitamin B and obstetric ultrasound. During subsequent visits blood pressure monitoring was performed.

RESULTS

In both groups homogeneity was found, 83% of managed with 1 mg of folic acid were native of Nuevo León, against 81.1% of patients managed with 5mg. 102 patients (92.7%) had a normal pregnancy, 3 patients (2.7%) had gestational hypertension, 1 (0.9%) had mild preeclampsia and 4 patients (3.6%) had severe preeclampsia, HELLP syndrome no cases were reported.

2% prevalence of EHE however showed no apparent differences between the two groups ($p = 0.06$). In analyzing the risk factors for hypertensive disease of pregnancy as primigravida, age 34, age less than 20 years, overweight - obesity, alcoholism, smoking, low education, no statistically significant differences between the group presented hypertensive disease found ($n = 8$) and the group that did not present this pathology ($n = 102$). Only the personal history of preeclampsia showed statistically significant ($p = 0.02$) appearing in 25% of patients with hypertensive disease history of this, compared to 2% who had no hypertensive disease of pregnancy

When comparing levels of folic acid and vitamin B12 among those who suffered hypertensive disease of pregnancy and those who do not show significant differences from baseline in serum levels of folic acid ($p = 0.008$) with a median for the group 19.68 6.07 sick against for which remained normoevolutivo maintaining similar values in the last measurement.

The predominant enzyme MTHFR genotype in both groups (1 mg and 5 mg) was C / T presenting 28 (50.9%) for each of these. And when comparing those suffered hypertensive disease of pregnancy and which retains no predominance of the same genotype is made.

By subdividing the population by age into three groups: one with patients under 20 years, the second those aged between 20 and 34 years and the third with patients older than 34 years, we observed statistically significant difference ($p = 0.04$) between the proportions gestational hypertension, mild preeclampsia, severe preeclampsia and pregnancy normoevolutivo each of the groups, patients under 20 years and those aged 20-34 years old have a pregnancy normoevolutivo 95.7% and 93.4% respectively and those older than 34 normoevolutivo years pregnancy ratio of only 81.8%, also a considerable difference from developing severe preeclampsia with values of 0, 2.6 and 18.2% for the groups of <20, 20-34 and > DE34 years respectively.

CONCLUSIONS

1. Early administration of 5mg of folic acid does not reduce the risk of developing hypertensive disorders of pregnancy, compared with administration of 1mg.
2. The prevalence of hypertensive disease of pregnancy was 2% for the group treated with 1mg of folic acid group and 13% in the high dose group.
3. Not established that serum homocysteine levels were related to the development of hypertensive disease of pregnancy.

4. No correlation between mutations of MTHFR enzyme with the development of hypertensive disease of pregnancy.
5. In analyzing the risk factors for hypertensive disease of pregnancy, the only factor that showed correlation with the development of hypertensive disease of pregnancy was a history of preeclampsia.
6. No correlation was found between the levels of folate and vitamin b12 at baseline with the development of pregnancy hypertensive disease.
7. The predominant genotype of the MTHFR enzyme in both groups (1 mg and 5 mg) was C/T presenting 28 (50.9%) for each of these. And when comparing those suffered hypertensive disease of pregnancy and which retains no predominance of the same genotype is made.
8. No statistically significant differences ($p > 0.05$) between the proportions of hypertensive disease or pregnancy normoevolutivo each of the groups, noting that the two groups under 35 had a normoevolutivo pregnancy by about 94% for both and those found older than 35 years 81%.

REFERENCIAS MÁS RELEVANTES

Secretaría de Salud. Norma Oficial Mexicana de los Servicios de Planificación Familiar. NOM-005-SSA-2-1993. México D.F.: Secretaría de Salud; 1994.

Xiao R, Sorensen TK, Williams MA, Luthy DA. Influence of pre-eclampsia on fetal growth. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2003;13:157-62.

Brown MA, Lindheimer MD, de Swiet M, Van Assche A, Moutquin JM. The classification and diagnosis of the hypertensive disorders of pregnancy: statement from the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP). *Hypertens Pregnancy.* 2001;20:ix-xiv.

Holmes VA, Wallace JM, Alexander HD, Gilmore WS, Bradbury I, Ward M, et al. Homocysteine is lower in the third trimester of pregnancy in women with enhanced folate status from continued folic acid supplementation. *Clin Chem.* 2005;51:629-34.

Huppertz B. Placental origins of preeclampsia: challenging the current hypothesis. *Hypertension.* 2008;51:970-5.

Gershov D, Kim S, Brot N, Elkon KB. C-Reactive protein binds to apoptotic cells, protects the cells from assembly of the terminal complement components, and sustains an antiinflammatory innate immune response: implications for systemic autoimmunity. *J Exp Med.* 2000;192:1353-64.

REFERENCIAS

1. **Secretaría de Salud.** Norma Oficial Mexicana de los Servicios de Planificación Familiar. NOM-005-SSA-2-1993. México D.F.: Secretaría de Salud; 1994.
2. **Secretaría de Salud/INEGI.** Mortalidad Materna. México D.F.: Secretaría de Salud/INEGI; 1990-1997.
3. National high blood pressure education program working group report on high blood pressure in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1990;163:1691-712.
4. **ACOG Committee on Obstetric Practice.** ACOG practice bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. Number 33, January 2002. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Int J Gynaecol Obstet.* 2002;77:67-75.
5. **Leeman L, Fontaine P.** Hypertensive disorders of pregnancy. *Am Fam Physician.* 2008;78:93-100.
6. **Schroeder BM; American College of Obstetricians and Gynecologists.** ACOG Practice bulletin on diagnosing and managing preeclampsia and eclampsia. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Am Fam Physician.* 2002;66:330-331.
7. **Lindheimer M, Cunningham F, Roberts J, Chesley L.** Chesley's hypertensive disorders in pregnancy. Lindheimer MD, Roberts JM, Cunningham FG, editors. Stamford, Conn.: Appleton & Lange; 1999.
8. **Ananth CV, Savitz DA, Bowes WA Jr.** Hypertensive disorders of pregnancy and stillbirth in North Carolina, 1988 to 1991. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1995;74:788-93.
9. **Ostlund I, Haglund B, Hanson U.** Gestational diabetes and preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2004;113:12-6.
10. **Morgan-Ortiz F, Calderón-Lara SA, Martínez-Félix JI, González-Beltrán A, Quevedo-Castro E.** Factores de riesgo asociados con preeclampsia: estudio de casos y controles. *Ginecol Obstet Mex.* 2010;78:153-159.
11. **Dekker G, Sibai B.** Primary, secondary, and tertiary prevention of pre-eclampsia. *Lancet.* 2001;357:209-15.
12. **Thangaratinam S, Coomarasamy A, Sharp S, O'Mahony F, O'Brien S, Ismail KM, et al.** Tests for predicting complications of pre-eclampsia: a protocol for systematic reviews. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2008;8:38.
13. **González AL, Ulloa-Galván G, Alpuche G, Romero-Arauz JF.** Factores de riesgo para preeclampsia. Análisis multivariado. *Ginecol Obstet Mex.* 2000;68:357-62.
14. **López-Carbajal MJ, Manríquez-Moreno ME, Gálvez-Camargo D, Ramírez-Jiménez E.** Factores de riesgo asociados con preeclampsia. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2012;50:471-6.
15. **Stone JL, Lockwood CJ, Berkowitz GS, Alvarez M, Lapinski R, Berkowitz RL.** Risk factors for severe preeclampsia. *Obstet Gynecol.* 1994;83:357-61.
16. **Högberg U, Innala E, Sandström A.** Maternal mortality in Sweden, 1980-1988. *Obstet Gynecol.* 1994;84:240-4.

17. **Konje JC, Obisesan KA, Odukoya OA, Ladipo OA.** Presentation and management of eclampsia. *Int J Gynaecol Obstet.* 1992;38:31-5.
18. **Furuhashi N, Suzuki M, Kono H, Tanaka M, Takahashi T, Hiruta M.** Clinical background of preeclampsia in Japanese women. *Clin Exp Hypertens B.* 1982;1:505-10.
19. **Pepe F, Cinquerrui G, Panella M, Pepe G, Panella P.** A clinical and epidemiological study on eclampsia in the obstetrics and gynecology department of Catania in the years 1978-1983. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 1985;12:55-7.
20. **Xiao R, Sorensen TK, Williams MA, Luthy DA.** Influence of pre-eclampsia on fetal growth. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2003;13:157-62.
21. **Rasmussen S, Irgens LM.** Fetal growth and body proportion in preeclampsia. *Obstet Gynecol.* 2003;101:575-83.
22. **Pacheco J.** Concepto actual sobre el manejo de la hipertensión inducida por el embarazo. *Hipertensión.* 1995;1:110-7.
23. **Secretaría de Salud.** Norma Oficial Mexicana para la Atención de la Mujer durante el Embarazo, Parto, Puerperio y del Recién Nacido. NOM-007-SSA. México: Secretaría de Salud; 1993.
24. **Instituto Mexicano del Seguro Social. Dirección de Prestaciones Médicas.** Manual de Procedimientos para la Vigilancia Materno Infantil. México, D.F.: Instituto Mexicano del Seguro Social. Dirección de Prestaciones Médicas; 1995.
25. **Brown MA, Lindheimer MD, de Swiet M, Van Assche A, Moutquin JM.** The classification and diagnosis of the hypertensive disorders of pregnancy: statement from the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP). *Hypertens Pregnancy.* 2001;20:ix-xiv.
26. **Grill S, Rusterholz C, Zanetti-Dallenbach R, Tercanli S, Holzgreve W, Hahn S, et al.** Potential markers of preeclampsia - a review. *Reprod Biol Endocrinol.* 2009;7:70.
27. **Bjelland I, Tell GS, Vollset SE, Refsum H, Ueland PM.** Folate, vitamin B12, homocysteine, and the MTHFR 677C->T polymorphism in anxiety and depression: the Hordaland Homocysteine Study. *Arch Gen Psychiatry.* 2003;60:618-26.
28. **Walker ID.** Thrombophilias and preeclampsia. In Lyall F, Belfort M, editors. *Pre-eclampsia, Etiology and Practice.* Cambridge: Cambridge University Press; 2007. p. 183.
29. **Duarte-Mote J, Díaz-Meza S, Rubio-Gutiérrez J, Lee-Eng V.** Preeclampsia y disfunción endotelial. Bases fisiopatológicas. *Med Int Mex.* 2006;22:220-30.
30. **Griffith TM, Chaytor AT, Bakker LM, Edwards DH.** 5-Methyltetrahydrofolate and tetrahydrobiopterin can modulate electrotonically mediated endothelium-dependent vascular relaxation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005;102:7008-13.
31. **Carty DM, Delles C, Dominiczak AF.** Novel biomarkers for predicting preeclampsia. *Trends Cardiovasc Med.* 2008;18:186-94.
32. **Scholl TO, Leskiw M, Chen X, Sims M, Stein TP.** Oxidative stress, diet, and the etiology of preeclampsia. *Am J Clin Nutr.* 2005;81:1390-6.

33. **Kennedy D, Koren G.** Identifying women who might benefit from higher doses of folic acid in pregnancy. *Can Fam Physician.* 2012;58:394-7.
34. **Larciprete G, Gioia S, Angelucci PA, Brosio F, Barbati G, Angelucci GP, et al.** Single inherited thrombophilias and adverse pregnancy outcomes. *J Obstet Gynaecol Res.* 2007;33:423-30.
35. **Hague WM.** Homocysteine and pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2003;17:459-69.
36. **de la Calle M, Usandizaga R, Sancha M, Magdaleno F, Herranz A, Cabrillo E.** Homocysteine, folic acid and B-group vitamins in obstetrics and gynaecology. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2003;107:125-34.
37. **Holmes VA, Wallace JM, Alexander HD, Gilmore WS, Bradbury I, Ward M, et al.** Homocysteine is lower in the third trimester of pregnancy in women with enhanced folate status from continued folic acid supplementation. *Clin Chem.* 2005;51:629-34.
38. **Victor RG.** Systemic hypertension: Mechanisms and diagnosis. In: Bonow RO, Mann DL, Zipes DP, Libby P, editors. Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine. 9th ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier; 2011. Chap. 45.
39. **Arnadottir GA, Geirsson RT, Arngrimsson R, Jonsdottir LS, Olafsson O.** Cardiovascular death in women who had hypertension in pregnancy: a case-control study. *BJOG.* 2005;112:286-92.
40. **Rosell-Juarte E, Brown-Bonora R, Hernandez AP.** Factores de riesgo de la enfermedad hipertensiva del embarazo. *Archivo Médico de Camagüey.* 2006;10:5.
41. **Khalil A, Cowans NJ, Spencer K, Goichman S, Meiri H, Harrington K.** First trimester markers for the prediction of pre-eclampsia in women with a-priori highrisk. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2010;35:671-9.
42. **Peralta Pedrero ML, Guzmán Ibarra MA, Cruz Alvear A, Martínez García MC.** Utilidad para establecer el diagnóstico y severidad de los síntomas y signos más frecuentes de la paciente preecláptica. *Gac Med Mex.* 2004;140:513-7.
43. **Poon LC, Kametas NA, Chelemen T, Leal A, Nicolaides KH.** Maternal risk factors for hypertensive disorders in pregnancy: a multivariate approach. *J Hum Hypertens.* 2010;24:104-110.
44. **Sánchez Nuncio HR, Pérez-Toga G, Pérez-Rodríguez P, Vázquez-Nava F.** Impacto del control prenatal en la morbilidad y mortalidad neonatal. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2005;43:377-80.
45. **Huppertz B.** Placental origins of preeclampsia: challenging the current hypothesis. *Hypertension.* 2008;51:970-5.
46. **Walker MC, Smith GN, Perkins SL, Keely EJ, Garner PR.** Changes in homocysteine levels during normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;180:660-4.
47. **Yamamoto K, Isa Y, Nakagawa T, Hayakawa T.** Folic acid fortification ameliorates hyperhomocysteinemia caused by a vitamin B6-deficient diet supplemented with L-methionine. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2012;76:1861-5.

48. Scorsatto M, Uehara SK, Luiz RR, de Oliveira GM, Rosa G. Fortification of flours with folic acid reduces homocysteine levels in Brazilian women. *Nutr Res.* 2011;31:889-95.
49. Chuang CZ, Boyles A, Legardeur B, Su J, Japa S, Lopez SA. Effects of riboflavin and folic acid supplementation on plasma homocysteine levels in healthy subjects. *Am J Med Sci.* 2006;331:65-71.
50. De Bree A, Verschuren WM, Blom HJ, Kromhout D. Lifestyle factors and plasma homocysteine concentrations in a general population sample. *Am J Epidemiol.* 2001;154:150-154.
51. Dekker GA, de Vries JI, Doelitzsch PM, Huijgens PC, von Blomberg BM, Jakobs C, et al. Underlying disorders associated with severe early-onset preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 1995;173:1042-8.
52. Patrick TE, Powers RW, Daftary AR, Ness RB, Roberts JM. Homocysteine and folic acid are inversely related in black women with preeclampsia. *Hypertension.* 2004;43:1279-82.
53. Roberts JM, Cooper DW. Pathogenesis and genetics of pre-eclampsia. *Lancet.* 2001;357:53-6.
54. Baksu A, Taskin M, Goker N, Baksu B, Uluocak A. Plasma homocysteine in late pregnancies complicated with preeclampsia and in newborns. *Am J Perinatol.* 2006;23:31-5.
55. Gurbuz A, Karateke A, Mengulluoglu M. Elevated plasma homocysteine levels in preeclampsia and eclampsia. *Int J Gynaecol Obstet.* 2004;87:165-6.
56. Herrmann W, Hübner U, Koch I, Obeid R, Retzke U, Geisel J. Alteration of homocysteine catabolism in pre-eclampsia, HELLP syndrome and placental insufficiency. *Clin Chem Lab Med.* 2004;42:1109-16.
57. Hietala R, Turpeinen U, Laatikainen T. Serum homocysteine at 16 weeks and subsequent preeclampsia. *Obstet Gynecol.* 2001;97:527-9.
58. Voutilainen S, Rissanen TH, Virtanen J, Lakka TA, Salonen JT; Kuopio. Low dietary folate intake is associated with an excess incidence of acute coronary events: The Kuopio Ischemic Heart Disease Risk Factor Study. *Circulation.* 2001;103:2674-80.
59. Durga J, Bots ML, Schouten EG, Kok FJ, Verhoef P. Low concentrations of folate, not hyperhomocysteinemia, are associated with carotid intima-media thickness. *Atherosclerosis.* 2005;179:285-92.
60. Domagala TB, Undas A, Libura M, Szezklick A. Pathogenesis of vascular disease in hyperhomocysteinemia. *J Cardiovasc Risk.* 1998;5:239-47.
61. Partyka R, Chmiel B, Sikora J, Grabowska T, Wróbel B, Praisner A, et al. Lipofuscin, homocysteine and tissue polypeptide specific antigen in gestational hypertension. *Neuro Endocrinol Lett.* 2007;28:311-4.
62. Steegers-Theunissen RP, Van Iersel CA, Peer PG, Nelen WL, Steegers EA. Hyperhomocysteinemia, pregnancy complications, and the timing of investigation. *Obstet Gynecol.* 2004;104:336-43.

63. **D'Anna R, Baviera G, Corrado F, Ientile R, Granese D, Stella NC.** Plasma homocysteine in early and late pregnancies complicated with preeclampsia and isolated intrauterine growth restriction. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2004;83:155-8.
64. **De Vries JL, Dekker GA, Huijgens PC, Jakobs C, Bloomberg BM, Van Geijn HP.** Hyperhomocysteinaemia and protein S deficiency in complicated pregnancies. *Br J Obstet Gynecol.* 1997;104:1248-54.
65. **Mao D, Che J, Li K, Han S, Yue Q, Zhu L, et al.** Association of homocysteine, asymmetric dimethylarginine, and nitric oxide with preeclampsia. *Arch Gynecol Obstet.* 2010;282:371-5.
66. **Mollin DL, Ross GI.** Serum Vitamin B12 Concentrations in leukaemia and in some other haematological conditions. *Br J Haematol.* 1995;1:155-72.
67. **Bolander-Gouaille C.** The homocysteine metabolism. In: Bolander-Gouaille C, editor. Focus on Homocysteine and the Vitamins. Paris: Springer; 2002. p. 20.
68. **Bailey LB, Gregory JF 3rd.** Folate metabolism and requirements. *J Nutr.* 1999;129:779-82.
69. **Brattström L.** Pregnancy-related decrease in total plasma homocysteine. *Am J Clin Nutr.* 2003;77:993; author reply 993-4.
70. **Hazra A, Kumar S.** Folic acid revisited. *Indian J Pharmacol.* 2001;33:322-42.
71. **Wen SW, Chen XK, Rodger M, White RR, Yang Q, Smith GN, et al.** Folic acid supplementation in early second trimester and the risk of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2008;198:45. e1-7.
72. **Ray JG, Mamdani MM.** Association between folic acid food fortification and hypertension or preeclampsia in pregnancy. *Arch Intern Med.* 2002;162:1776-7.
73. **Djukic A.** Folate-responsive neurologic diseases. *Pediatr Neurol.* 2007;37:387-97.
74. **Lira P, Barrena N, Foradori A, Gormaz G, Grebe G.** Deficiencia de folatos en el embarazo: efecto del ácido fólico suplementario. *Sangre (Barc).* 1989;34:24-7.
75. **González-Gross, Sola R, Castillo MJ.** Folato: una vitamina en constante evolución. *Med Clin (Barc).* 2002;119:627-35.
76. **Antoniades C, Shirodaria C, Warrick N, Cai S, de Bono J, Lee J, et al.** 5-Methyltetrahydrofolate rapidly improves endothelial function and decreases superoxide production in human vessels: effects on vascular tetrahydrobiopterin availability and endothelial nitric oxide synthase coupling. *Circulation.* 2006;114:1193-201.
77. **Rajkovic A, Catalano PM, Malinow MR.** Elevated homocysteine levels with preeclampsia. *Obstet Gynecol.* 1997;90:168-71.
78. **Wang J, Trudinger BJ, Duarte N, Wilcken DE, Wang XL.** Elevated circulating homocyst(e)ine levels in placental vascular disease and associated pre-eclampsia. *BJOG.* 2000;107:935-8.

79. **Jacques PF, Selhub J, Bostom AG, Wilson PW, Rosenberg IH.** The effect of folic acid fortification on plasma folate and total homocysteine concentrations. *New Engl J Med.* 1999;340:1449-54.
80. **Czeizel AE, Puhó EH, Langmar Z, Acs N, Banhidy F.** Possible association of folic acid supplementation during pregnancy with reduction of preterm birth: a population-based study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2010;148:135-40.
81. **Lucock M.** Folic acid: nutritional biochemistry, molecular biology, and role in disease processes. *Mol Genet Metab.* 2000;71:121-38.
82. **Merchant AT, Msamanga G, Villamor E, Saathoff E, O'brien M, Hertzmark E, et al.** Multivitamin supplementation of HIV-positive women during pregnancy reduces hypertension. *J Nutr.* 2005;135:1776-81.
83. **Ray JG, Laskin CA.** Folic acid and homocysteine metabolic defects and the risk of placenta abruption, pre-eclampsia and spontaneous pregnancy loss: a systematic review. *Placenta.* 1999;20:519-29.
84. **Mito N, Takimoto H, Umegaki K, Ishiwaki A, Kusama K, Fukuoka H, et al.** Folate intakes and folate biomarker profiles of pregnant Japanese women in the first trimester. *Eur J Clin Nutr.* 2007;61:83-90.
85. **Langley-Evans SC, Langley-Evans AJ.** Use of folic acid supplements in the first trimester of pregnancy. *J R Socr Promot Health.* 2002;122:181-6.
86. **MRC vitamin Study Research Group.** Prevention of neural tubal defects: results of the Medical Research Council Vitamin Study. MRC Vitamin Study Research Group. *Lancet.* 1991;338:131-7.
87. **Antony AC.** In utero physiology: role of folic acid in nutrient delivery and fetal development. *Am J Clin Nutr.* 2007;85:598S-603S.
88. **Hernández-Díaz S, Werler MM, Louik C, Mitchell AA.** Risk of gestational hypertension in relation to folic acid supplementation during pregnancy. *Am J Epidemiol.* 2002;156:806-12.
89. **Prasmusinto D, Skrablin S, Hofstaetter C, Fimmers R, Van der Ven K.** The methylenetetrahydrofolate reductase 677 C--T polymorphism and preeclampsia in two populations. *Obstet Gynecol.* 2002;99:1085-92.
90. **Galal AF, Eldin MZ, Mokhtar M.** Prothombin, Factor V Lieden, and Methylene Tetrahydrofolate reductase (MTHFR) Gene polymorphisms as risk factor of Preeclampsia in Alexandria, Egypt. *Fertil Steril.* 2008;89 Suppl:S10.
91. **Glanville T, Yates Z, Ovadia L, Walker JJ, Lucock M, Simpson NA.** Fetal folate C677T methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and low birth weight. *J Obstet Gynaecol.* 2006;26:11-4.
92. **Kim YJ, Williamson RA, Murray JC, Andrews J, Pietscher JJ, Peraud PJ, et al.** Genetic susceptibility to preeclampsia: roles of cytosineto-thymine substitution at nucleotide 677 of the gene for methylenetetrahydrofolate reductase, 68-base pair insertion at

- nucleotide 844 of the gene for cystathionine beta-synthase, and factor V Leiden mutation. *Am J Obstet Gynecol*. 2001;184:1211-7.
93. **Matos A, Ferreira J, Portelinha A, Cerdeira AS, Braga J, Patrício B, et al.** Study of C677T methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphism in preeclampsia. *Pregnancy Hypertens*. 2011;1:284.
 94. **Lachmeijer AM, Arngrímsson R, Bastiaans EJ, Pals G, ten Kate LP, de Vries JI, et al.** Mutations in the gene for methylenetetrahydrofolate reductase, homocysteine levels, and vitamin status in women with a history of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2001;184:394-402.
 95. **Kaiser T, Brennecke SP, Moses EK.** C677T methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism is not a risk factor for pre-eclampsia/eclampsia among Australian women. *Hum Hered*. 2001;51:20-2.
 96. **Hernández-Díaz S, Toh S, Cnattingius S.** Risk of pre-eclampsia in first and subsequent pregnancies: prospective cohort study. *BMJ*. 2009;338:b2255.
 97. **Wen SW, Champagne J, Rennicks White R, Coyle D, Fraser W, Smith G, et al.** Effect of folic acid supplementation in pregnancy on preeclampsia: the folic acid clinical trial (FACT). *J Pregnancy*. 2013; 2:198.
 98. **Morris CD, Jacobson SL, Anand R, Ewell MG, Hauth JC, Curet LB, et al.** Nutrient intake and hypertensive disorders of pregnancy: evidence from a large prospective cohort. *Am J Obstet Gynecol*. 2001;184:643-51.
 99. **Doshi SN, McDowell IF, Moat SJ, Lang D, Newcombe RG, Kredan MB, et al.** Folate improves endothelial function in coronary artery disease: an effect mediated by reduction of intracellular superoxide? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21:1196-202.
 100. **Ashworth JR, Warren AY, Johnson IR, Baker PN.** Plasma from pre-eclamptic women and functional change in myometrial resistance arteries. *Br J Obstet Gynaecol*. 1998;105:459-61.
 101. **Graham IM, Daly LE, Refsum HM, Robinson K, Ueland PM, Palma-Reis RJ, et al.** Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. *JAMA*. 1997;277:1775-81.
 102. **Olthof MR, Bots ML, Katan MB, Verhoef P.** Effect of folic acid and betaine supplementation on flow-mediated dilation: a randomized, controlled study in healthy volunteers. *PLoS Clin Trials*. 2006;1:e10.
 103. **Jacobsen DW, Gatautis VJ, Green R, Robinson K, Savon SR, Secic M, et al.** Rapid HPLC determination of total homocysteine and other thiols in serum and plasma: sex differences and correlation with cobalamin and folate concentrations in healthy subjects. *Clin Chem*. 1994;40:873-81.
 104. **Leclerc D, Odièvre M, Wu Q, Wilson A, Huizenga JJ, Rozen R, et al.** Molecular cloning, expression and physical mapping of the human methionine synthase reductase gene. *Gene*. 1999;240:75-88.

105. **Audibert F.** Screening for pre-eclampsia: the quest for the Holy Grail? *Lancet*. 2005;365:1367-9.
106. Confidential Enquiry into Stillbirths and Deaths in Infancy. 8th annual report. London: Maternal and Child Health Research Consortium; 2001.
107. **Redman CW, Sargent IL.** Latest advances in understanding preeclampsia. *Science*. 2005;308:1592-4.
108. **The American College of Obstetricians and Gynecologists.** Hypertension in Pregnancy. Washington: The College; 1996. Technical Bulletin No:219.
109. **Dekker AG, Morris NH.** Medical conditions associated with hypertensive disorders of pregnancy. In: Sibai BM, editor. Hypertensive Disorders in Women. Philadelphia: W.B. Saunders; 2001. p. 85.
110. **Emonts P, Seaksan S, Seidel L, Thoumsin H, Gaspard U, Albert A, et al.** Prediction of maternal predisposition to preeclampsia. *Hypertens Pregnancy*. 2008;27:237-45.
111. **Guyen MA, Coskun A, Ertas IE, Aral M, Zencirci B, Oksuz H.** Association of maternal serum CRP, IL-6, TNF-alpha, homocysteine, folic acid and vitamin B12 levels with the severity of preeclampsia and fetal birth weight. *Hypertens Pregnancy*. 2009;28:190-200.
112. **Teran E, Escudero C, Moya W, Flores M, Vallance P, Lopez-Jaramillo P.** Elevated C-reactive protein and pro-inflammatory cytokines in Andean women with pre-eclampsia. *Int J Gynaecol Obstet*. 2001;75:243-9.
113. **Gershov D, Kim S, Brot N, Elkou KB.** C-Reactive protein binds to apoptotic cells, protects the cells from assembly of the terminal complement components, and sustains an antiinflammatory innate immune response: implications for systemic autoimmunity. *J Exp Med*. 2000;192:1353-64.
114. **Galazios G, Papazoglou D, Giagloglou K, Vassaras G, Maltezos E, Anastasiadis P.** Interleukin-6 levels in umbilical artery serum in normal and abnormal pregnancies. *Int J Gynaecol Obstet*. 2002;78:147-51.
115. **Zeeman GG, Alexander JM, McIntire DD, Devaraj S, Leveno KJ.** Homocysteine plasma concentration levels for the prediction of preeclampsia in women with chronic hypertension. *Am J Obstet Gynecol*. 2003;189:574-6.
116. **Khosrowbeygi A, Ahmadvand H.** Positive correlation between serum levels of adiponectin and homocysteine in pre-eclampsia. *J Obstet Gynaecol Res*. 2013;39: 641-6.
117. **Cotter AM, Molloy AM, Scott JM, Daly SF.** Elevated plasma homocysteine in early pregnancy: a risk factor for the development of severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2001;185:781-5.
118. **Yilmaz H, Unlücerçi Y, Gürdöl F, Isbilen E, Isbir T.** Association of pre-eclampsia with hyperhomocysteinaemia and methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T polymorphism in a Turkish population. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2004;44:423-7.

119. Hogg BB, Tamura T, Johnston KE, Dubard MB, Goldenberg RL. Second-trimester plasma homocysteine levels and pregnancy-induced hypertension, preeclampsia, and intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol*. 2000;183:805-9.
120. Vollset SE, Refsum H, Irgens LM, Emblem BM, Tverdal A, Gjessing HK, et al. Plasma total homocysteine, pregnancy complications, and adverse pregnancy outcomes: the Hordaland Homocysteine study. *Am J Clin Nutr*. 2000;71:962-8.
121. Sorensen TK, Malinow MR, Williams MA, King IB, Luthy DA. Elevated second-trimester serum homocyst(e)ine levels and subsequent risk of preeclampsia. *Gynecol Obstet Invest*. 1999;48:98-103.
122. Dodds L, Fell DB, Dooley KC, Armson BA, Allen AC, Nassar BA, et al. Effect of homocysteine concentration in early pregnancy on gestational hypertensive disorders and other pregnancy outcomes. *Clin Chem*. 2008;54:326-34.
123. Mujawar SA, Patil VW, Daver RG. Study of serum homocysteine, folic acid and vitamin b(12) in patients with preeclampsia. *Indian J Clin Biochem*. 2011;26:257-60.
124. Timmermans S, Jaddoe VW, Mackenbach JP, Hofman A, Steegers-Theunissen RP, et al. Determinants of folic acid use in early pregnancy in a multi-ethnic urban population in The Netherlands: the Generation R study. *Prev Med*. 2008;47:427-32.
125. Erdogan M, Ustüner I, Cengiz B, Söylemez F, Cavdar AQ. Effects of nutrition on zinc, folic acid, and vitamin B12 levels during pregnancy. *Biol Trace Elem Res*. 2006;109:105-13.
126. Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Pre-eclampsia. *Lancet*. 2005;365:785-99.
127. Bodnar LM, Tang G, Ness RB, Harger G, Roberts JM. Periconceptional multivitamin use reduces the risk of preeclampsia. *Am J Epidemiol*. 2006;164:470-7.
128. Gudnason V, Stansbie D, Scott J, Bowron A, Nicaud V, Humphries S. C677T (thermolabile alanine/valine) polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): its frequency and impact on plasma homocysteine concentration in different European populations. *Atherosclerosis*. 1998;136:347-54.
129. Andersson A, Hultberg B, Brattström L, Isaksson A. Decreased serum homocysteine in pregnancy. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*. 1992;30:377-9.
130. Bergen NE, Jaddoe VW, Timmermans S, Hofman A, Lindemans J, Russcher H, et al. Homocysteine and folate concentrations in early pregnancy and the risk of adverse pregnancy outcomes: the Generation R Study. *BJOG*. 2012;119:739-51.
131. Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk for vascular disease: probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA*. 1995;274:1049-57.
132. Branum AM, Bailey R, Singer BJ. Dietary supplement use and folate status during pregnancy in the United States. *J Nutr*. 2013;143:486-492.
133. Caniggia I, Winter J, Lye SJ, Post M. Oxygen and placental development during the first trimester: implications for the pathophysiology of pre-eclampsia. *Placenta*. 2000; 21 Suppl:S25-30.

134. **Suzuki Y.** Could the supplementation of L-arginine plus folic acid improve reduced endothelial function seen in preeclampsia? *Pregnancy hypertens* 2012;2:268.
135. **Koren G, Goh YI, Klieger C.** Folic acid: the right dose. *Can Fam Physician.* 2008; 54:1545-7.
136. **Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, et al.** A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet.* 1995;10:111-3.
137. **Giles WH, Kittner SJ, Ou CY, Croft JB, Brown V, Buchholz DW, et al.** Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism (C677T) and total homocysteine concentration among African-American and white women. *Ethn Dis.* 1998;8:149-57.
138. **Grandone E, Margaglione M, Colaizzo D, Cappucci G, Paladini D, Martinelli P, et al.** Factor V Leiden, C>T MTHFR polymorphism and genetic susceptibility to preeclampsia. *Thromb Haemost.* 1997;77:1052-4.
139. **Stevenson RE, Schwartz CE, Du YZ, Adams MJ, Jr.** Differences in methylenetetrahydrofolate reductase genotype frequencies, between Whites and Blacks. *Am J Hum Genet.* 1997;60:229-30.
140. **Powers RW, Minich LA, Lykins DL, Ness RB, Crombleholme WR, Roberts JM.** Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, folate, and susceptibility to preeclampsia. *J Soc Gynecol Invest.* 1999;6:74-9.
141. **Sohda S, Arinami T, Hamada H, Yamada N, Hamaguchi H, Kubo T.** Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and preeclampsia. *J Med Genet.* 1997;34:525-6.
142. **Leeda M, Riyazi N, de Vries JL, Jakobs C, van Geijn HP, Dekker GA.** Effects of folic acid and vitamin B6 supplementation on women with hyperhomocysteinemia and a history of preeclampsia or fetal growth restriction. *Am J Obstet Gynecol.* 1998;179:135-9.
143. **Briceño Pérez C, Briceño Sanabria L.** Conducta obstétrica basada en evidencias. Preeclampsia leve: manejo expectante ¿hospitalario o ambulatorio? *Ginecol Obstet Mex.* 2006; 74:537-45.
144. **Zhiwen Li, Rongwei Ye, Le Zhang, Hongtian Li, Jianmeng Liu, Aiguo Ren.** Folic acid supplementation during early pregnancy and the risk of gestational hypertension and preeclampsia. *Hypertension* 2013;61:873-879.
145. **Makedos G, Papanicolaou A, Hitoglou A, Kalogiannidis I, Makedos A, Vrazioti V, et al.** Homocysteine, folic acid and B12 serum levels in pregnancy complicated with preeclampsia. *Arch Gynecol Obstet.* 2007;275: 121-4.
146. **Czeizel AE, Dudás I.** Prevention of the first occurrence of neural-tube defects by periconceptional vitamin supplementation. *N Engl J Med.* 1992;327:1832-5.
147. **Blundell G, Jones BG, Rose FA, Tunball N.** Homocysteine mediated endothelial cell toxicity and its amelioration. *Atherosclerosis.* 1996;122: 163-72.
148. **Fernández M, Fernández G, Diez-Ewald M, Torres E, Vizcaíno G, Fernández N, et al.** Concentraciones de homocisteína plasmática en embarazadas y su relación con el

- desarrollo de preeclampsia. Efecto de la administración prenatal de ácido fólico. *Invest Clin*. 2005;46:187-95.
149. **Acilmis YG, Dikensoy E, Kutlar A, Balat O, Cebesoy FB, Ozturk E, et al.** Homocysteine, folic acid and vitamin B12 levels in maternal and umbilical cord plasma and homocysteine levels in placenta in pregnant women with pre-eclampsia. *J Obstet Gynaecol Res*. 2011;37:45-50.
 150. **López-Quesada E, Also-Rayó E, Vilaseca MA.** Hiperhomocisteinemia en el embarazo como factor de riesgo de preeclampsia. *Med Clin (Barc)* 2003;121:350-5.
 151. **Catov JM, Nohr EA, Bodnar LM, Knudson VK, Olsen SF, Olsen J.** Association of periconceptional multivitamin use with reduced risk of preeclampsia among normal-weight women in the Danish National Birth Cohort. *Am J Epidemiol*. 2009; 169:1304-11.
 152. **Bailey LB, Gregory JF 3rd.** Polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase and other enzymes: metabolic significance, risks and impact on folate requirement. *J Nutr*. 1999;129:919-22.
 153. **Stegers-Theunissen RP, Smith SC, Steegers EA, Guilbert LJ, Baker PN.** Folate affects apoptosis in human trophoblastic cells. *BJOG*. 2000;107:1513-5.
 154. **Di Simone N, Maggiano N, Caliandro D, Riccardi P, Evangelista A, Carducci B, et al.** Homocysteine induces trophoblast cell death with apoptotic features. *Biol Reprod*. 2003;69:1129-34.
 155. **Di Simone N, Riccardi P, Maggiano N, Piacentani A, D'Asta M, Capelli A, et al.** Effect of folic acid on homocysteine-induced trophoblast apoptosis. *Mol Hum Reprod*. 2004;10:665-9.
 156. **Klingler M, Blaschitz A, Campoy C, Caño A, Molloy AM, Scott JM, et al.** The effect of docosahexaenoic acid and folic acid supplementation on placental apoptosis and proliferation. *Br J Nutr*. 2006;96:182-90.